**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA ALIMENTOS**

DAMIÃO WETIMANE NGULUVE

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA, PRODUÇÃO *IN VITRO* DE GASES DA
FERMENTAÇÃO ENTÉRICA E ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA DE
GRAMINEAS FORRAGEIRAS TROPICAIS**

Pirassununga

2014

DAMIÃO WETIMANE NGULUVE

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA, PRODUÇÃO *IN VITRO* DE GASES DA FERMENTAÇÃO ENTÉRICA E
ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA DE GRAMINEAS FORRAGEIRAS TROPICAIS**

VERSÃO CORRIGIDA

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos da USP, como requisito para
a obtenção do Título de Doutor em Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade
Animal

Orientador: Prof. Dr. Valdo Rodrigues Herling

**Pirassununga
2014**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Serviço de Biblioteca e Informação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo

N576c Nguluve, Damião Wetimane
Composição química, produção *in vitro* de gases da fermentação entérica e ácidos graxos de cadeia curta de gramíneas forrageiras tropicais / Damião Wetimane Nguluve. -- Pirassununga, 2014.
106 f.
Tese (Doutorado) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo.
Departamento de Zootecnia.
Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal.
Orientador: Prof. Dr. Valdo Rodrigues Herling.

1. Ácidos graxos 2. Digestibilidade *in vitro*, 3. Forragens tropicais 4. Gases ruminais 5. Manejo do pasto 6. Nutrição animal. I. Título.

DEDICATÓRIA

À minha família que ficou aprovada na prova de “endurance” durante os anos que minha ausência parecia eterna, no longínquo além mar. Na tristeza e na vida atabalhoada do mundo em que vivemos, souberam esperar com optimismo e esperança.....a esperança que os filósofos definiram de forma simples, como “Última coisa a morrer!”. Esta é a minha família! Que acreditou em mim e na minha palavra:

Minha esposa,

Meus filhos,

Minha mãe,

Meus irmãos,

Meus sobrinhos...

Em fim aos que carregam este nome histórico “Nguluve”. Guerreiros, nê? Desde os recônditos de Maimelane!

Fiz isto por vocês e por aqueles que vão trilhar este caminho cheio de subtilezas, mas gratificante!

AGRADECIMENTOS

Endereço os meus sinceros agradecimentos a TODOS os que directa ou indirectamente contribuíram, individual, coletiva e institucionalmente, para este belo efeito:

1. Instituição:
 - a. Universidade de São Paulo Campi de Pirassununga (FZEA) e Piracicaba (ESALQ) pelo acolhimento;
 - b. Departamento de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA/USP), pelo Ensino e Aprendizagem;
 - c. Ministério de Agricultura de Moçambique e o Instituto de Investigação Agrária de Moçambique (IIAM);
 - d. Diretoria de Ciências Animais do IIAM
 - e. Ministério de Ciência e Tecnologia de Moçambique
 - f. Ministério de Ciência e Tecnologia e o CNPq, Brasil.
2. Aos Excelentíssimos Professores:
 - a. Prof. Dr. Valdo R Herling (FZEA/USP)
 - b. Prof. Dr. Carlos GS Pedreira (ESALQ/USP)
 - c. Prof. Dr. Ives CS Bueno (FZEA/USP)
 - d. Prof. Dr. Adibe Abdalla (CENA/USP)
 - e. Prof. Dr. Pedro Herinque (FZEA/USP)
 - f. Prof. Dr. Luiz G Nussio (ESALQ/USP)
 - g. Prof. Dr. Francisco Monterio (ESALQ/USP)
 - h. Prof. Dr. Patricia S Menezes (EMBRAPA/SUDESTE)
 - i. Prof. Dr. César de Lima (FZEA/USP)
 - j. Prof. Dr. James P Muir (TAMU/STEPHENVILE/TEXAS)

Estes Professores contribuíram directamente no sucesso deste trabalho que está em suas mãos! Agradeço a sua humanidade, de todo o coração. Há sentimentos humanos que a linguagem humana “ainda” não consegue expressar e esses sentimentos incubam no meu âmago e não encontro palavras no léxico das línguas que falo para expressá-las. *Thank you so much, you are great and reference forever!! Большое спасибо!!*

3. Aos meus grupos de pesquisa que arduamente trabalharam com afinho na colheita de dados sob chuvas, sol escaldante e noites frias:
 - i. Grupo de pesquisa em pastos (GP²): Alidson F Sampaio, Ana F Faria, Débora C Bastos, Diego N Pequeno, Liliailna da Silva, Mariana Abdal, Valdo (son) da Silva e aos estagiários de iniciação científica que ajudaram nesta pesquisa.
 - ii. Grupo de experimentação em forragicultura e pastagens (GEFEP): Bárbara Ramos, Cezar Rocha, Fábio de Oliveira, Jéssica Coldebello, Jessica Betti, Gabriela Strozzi, Renata Fergata, Syeda Hussein, Vanessa Piotto e aos estagiários de iniciação científica que ajudaram nesta pesquisa.
 - iii. Ao staff dos Laboratórios: Diegão, Marquinho, Natálie, Priscila, Rafael, Roseli, Rosilda e Vanessa (bibliotecária).
 - iv. Aos meus compatriotas que tocaram serenata nas horas de incertezas: Baptista Bina e Atanasio Vidane
4. À minha esposa e à minha mãe pela paciência e sabedoria. Aos meus filhos eis a referência para citar!
5. À Nube Garzon pelo back and forward da análise estatística, foste muito paciente.
6. A todos excelentíssimos amigos e colegas (em Moçambique e no Brasil) que me ajudaram e deram o seu apoio incondicional e incansável, mas que a menção de seus nomes não consta nesta singela e honrosa lista. Vocês não são ANÔNIMOS eu vos conheço e reconheço de nome!
I deeply appreciate your outstanding contribution! Yes be acknowledged, you deserve!!

Damião W Nguluve

São Paulo, 06 de Novembro de 2014, Brasil

RESUMO

NGULUVE, D. W. **Composição química, produção *in vitro* de gases da fermentação entérica e ácidos graxos de cadeia curta de gramíneas forrageiras tropicais.** 2014. 106 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2014.

A análise de alimentos para ruminantes consiste na caracterização da sua composição química, que varia em função da edafoclimatologia e manejo agrotécnico ao longo do tempo. O manejo de desfolhação (28 e 42 dias), o genótipo e estações constituem fonte de variação da degradabilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), acúmulo de gases no rúmen (PG), metano (CH₄) e do perfil dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), com reflexos na eficiência da produção animal. A introdução dessas práticas no cultivo dos gêneros *Brachiarias* e *Cynodon* pode disponibilizar forragem de boa qualidade nutricional, com baixos teores de fibra. As dietas baseadas nas gramíneas tropicais são ricas em fibra e trazem controvérsias nos sistemas de produção de ruminantes, pela emissão de dióxido de carbono (CO₂) e de CH₄ entéricos, com efeito de estufa (GEE) na atmosfera, proposto para reduzir pela comunidade internacional. Contudo, a mitigação dos GEE exige a quantificação da sua produção por área, animal e por ano. Economicamente, o CH₄ entérico é uma perda de 2-12% de energia que poderia ser convertida em produto animal. O objetivo do estudo foi descrever e explicar os efeitos da frequência de desfolhação (28 e 42 dias), genótipo e estações do ano na composição química, DIVMS, PG, CH₄, no perfil dos AGCC e no fator de partição (FP) da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, *Brachiaria* híbrida cv. Mulato II (Convert HD 364[®]) e do Tifton 85 (*Cynodon spp.*), cultivados em 2012/2013. A matéria seca (MS%) da forragem cortada a cada 42 dias aumentou nos dois anos de experimento e diminuiu para o Marandu e o Mulato II. A matéria mineral (MM) na forragem aumentou em corte de 42 dias e no 2º ano. A matéria orgânica (MO) foi maior para o Marandu e Mulato II nas duas frequências de corte, comparada com a do Tifton 85. As médias mais baixas de fibra em detergente neutro (FDN), ácido (FDA) e extrato etéreo (EE) foram observadas no corte de 28 dias segundo a ordem: FDN, MM, FDA Tifton 85 > Marandu > Mulato e para DIVMS foi Marandu > Mulato II > Tifton 85 no outono-inverno. A PG foi superior para todos os genótipos na primavera-verão em relação ao outono-inverno. Contrariamente, o CH₄ teve aumentos de 11,7% (Marandu), 29,2% (Mulato) e 41,4% (Tifton 85), no outono-inverno. O volume de CH₄ das espécies foi diferente nas colheitas de 28 d de rebrotação. O FP variou pouco entre frequências, mas sim com as estações do ano. A relação estequiométrica do acetato, propionato, e butirato foi 6,2:3,0:1,0 (estação) a 7,5:3,2:1,0 (ano). As relações acetato: propionato e TAGCC: MSD tiveram padrão de variação constante ao longo dos tratamentos. Conclui-se que a DIVMS e o perfil de AGCC são menos afetados pelas estações do ano do que pelas frequências de corte e estas práticas tendem a melhorar a qualidade da forragem colhida na frequência de rebrotação mais longa. Os teores de PB, CC, MO, EE foram altos nas duas frequências de corte e no inverno.

Palavras-chave: Ácidos graxos, digestibilidade *in vitro*, forragens tropicais, gases ruminais, manejo do pasto, nutrição animal.

ABSTRACT

NGULUVE, D. W. **Chemical Composition, *in Vitro* Rumen Gas Production, Short Chain Volatile Fatty Acids of Tropical Forage Grasses.** 2014. 106 f. PhD (Thesis) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2014.

Ruminant feed analysis characterizes nutritional quality as described by its chemical composition (CC). The CC of forage grasses, however, varies with edaphoclimatic, agronomic management (soil fertility, irrigation and harvesting frequency), which can change dry matter degradability (DMD), rumen gas production (GP), CH₄, and volatile fatty acids (VFA) profile in the rumen, impacting animal production efficiency. The introduction of such practices in *Brachiaria* and *Cynodon* spp. Production system may enhance the production of green, high quality and nutritional forage. Hydrolyzed forage results in VFA, the energy that generate milk and meat. However, tropical grasses diets, rich in fiber, contribute for green house gas (GHG) and bring controversies in the system associated to the atmosphere global warming. The international community calls for GHG reduction quantifying the amount produced in the system. Economically, the emission of CH₄ by the animal represents 2-12% energy loss that could be converted into animal products. The objective of the study is to describe and explain the effects of clipping frequency (28 and 42 days interval), season and year on CC, GP, CH₄, *in vitro* DMD and PF of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, *Brachiaria* Hybrid cv. Mulato II (Convert HD 364[®]) and Tifton 85 [*Cynodon dactylon* (L.)], under intensive management, from 2011 to 2013. Forage desfoliated at 42 days (d) intervals increased dry matter (DM) and ash (MM) content of Tifton 85 and *Brachiaria* sp., respectively. Organic matter (MO) of Marandu and Mulato II is high on both cutting frequencies compared to that of Tifton 85. The lowest NDF, ADF and EE were recorded at 28d forage regrowth. The ranking of NDF, MM, FDA for forage was Tifton 85 > Marandu > Mulato and IVDMD (Marandu > Mulato II > Tifton 85) in autumn-winter. Gas production was high for all species in summer-spring than autumn-winter, while CH₄ increased 11.7% (Marandu), 29.2% (Mulato II) and 41.4% (Tifton 85), in autumn-winter. Harvesting at 28 d interval changed CH₄ yield for the species. The FP varied slightly between frequencies, but with the seasons. The averages of acetic, propionic, butyric acids followed stoichiometric relationship of 6.2: 3.0: 1.0 to 7.5: 3.2: 1.0 for season and year. The acetate to propionate and AGCC to MSD ratio had constant pattern but changed over treatments. We conclude that fertilized and irrigated grasses' IVDMD and VFA are less affected by the seasons than the harvesting frequencies and these practices improve the quality of harvested forage in both regrowth frequencies. Forage PB, CC, MO and EE are higher in both summer and winter as well as in the long cutting interval.

Keywords: Animal nutrition, enteric fermentation, *in vitro* digestibility, methane, tropical forage grasses, volatile fatty acids.

SUMÁRIO

RESUMO	6
ABSTRACT	7
1 CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	10
1.1 Introdução	10
1.2 Hipótese	12
1.3 Objetivo Geral	12
1.4 Objetivos específicos	12
1.5 Referência	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1 Descrição dos genótipos em estudo	14
2.1.1 <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu.....	14
2.1.2 <i>Brachiaria</i> Híbrida cv. Mulato II.....	14
2.1.3 <i>Cynodon dactylon</i> cv. Tifton 85.....	15
2.2 Frequência de cortes	16
2.3 Irrigação das pastagens	17
2.4 Valor nutritivo	19
2.5 Produção Ruminal de Gases.....	21
2.6 Ácidos Graxos de Cadeia Curta (AGCC).....	22
2.7 Fator de Partição (FP)	24
2.8 Técnica de produção in vitro de metano	24
2.9 Referência	26
3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE <i>Brachiaria brizantha</i> CV. MARANDU, <i>Brachiaria</i> HÍBRIDA CONVERT HD 364 CV. MULATO II E <i>Cynodon dactylon</i> (L.) CV. TIFTON 85 MANEJADOS NA FREQUÊNCIA DE CORTE.....	32
3.1 Introdução	34
3.2 Material e Métodos.....	35
3.2.1 Local, delineamento experimental e manejo agrônomo das parcelas	35
3.2.2 Análise bromatológica	37
3.2.3 Análise estatística	37
3.3 Resultados e Discussão.....	37
3.3.1 Matéria seca (MS) e matéria mineral (MM)	38
3.3.2 Fibra em detergente neutro e ácida, matéria orgânica, conteúdo celular e hemicelulose.....	42
3.3.3 Proteína Bruta (PB) e Extrato etéreo (EE)	52
3.3.4 Correlação das variáveis químicas.....	54
3.3.5 Conclusão.....	55
3.3.6 Referência	55
4 DEGRADABILIDADE E PRODUÇÃO <i>IN VITRO</i> DE GASES DE <i>Brachiaria Brizantha</i> CV. MARANDU, <i>Brachiaria</i> HÍBRIDA CONVERT HD 364 CV. MULATO II E <i>Cynodon dactylon</i> (L.) CV. TIFTON 85 MANEJADOS NA FREQUÊNCIA DE CORTE	58

4.3 Resultados e Discussão	64
4.3.1 Degradabilidade <i>in vitro</i> de matéria seca (DIVMS).....	64
4.3.2 Produção de gases da fermentação entérica	68
4.3.3 Fator de Partição	73
4.3.5 Conclusão.....	77
4.4 Referência	78
5.1 Introdução	83
5.2 Material e métodos	84
5.2.1 Local e manejo agrônomo.....	84
5.2.2 Fermentação <i>in vitro</i> do substrato, líquido ruminal e meio de cultura.....	85
5.3 Resultados e Discussão	87
5.3.1 Ácidos graxos de cadeia curta (AGCC).....	87
5.3.2 Produção total de ácidos graxos e relação com a degradabilidade <i>in vitro</i> de matéria seca de forragem	99
5.3.3 Coeficiente de correlação entre os produtos de fermentação	102
5.4 Conclusão.....	103
5.5 Conclusões gerais e implicações.....	104
5.6. Referência	105

1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1 Introdução

O crescimento da população mundial e o aumento do poder aquisitivo têm impulsionado a demanda por carnes e seus derivados. Embora o sector pecuário responda de forma satisfatória é preciso produzir alimentos suficientes para mais animais, num processo de intensificação que melhore a produtividade das pastagens e do gado, pois a economia brasileira tem forte participação do PIB agropecuário. Segundo a FAO (2014), o efetivo bovino brasileiro é estimado em 211.279.082 de cabeças, com a taxa anual de crescimento de 3% (ANUALPEC, 2013). Deste efetivo, 80% dos animais abatidos destinam-se ao consumo interno. Cerca de 170 milhões de ha (20% do território nacional) de pastagens são utilizados, representando importante fator de produção e principal fonte energética para ruminantes. Segundo Aguiar (2013), o gênero *Brachiaria* ocupa 50% dessas áreas.

A irrigação contribui no melhoramento da produtividade e da qualidade das plantas forrageiras, principalmente nas condições tropicais. A pouca utilização da rega pelos produtores está aliada ao conflito entre os objetivos da produção e os custos da tecnologia, produzir grãos e a produção animal, crescimento urbano e o turismo. Todos estes fatores condicionam à escassez de água, além de poder torná-la ambientalmente imprópria para o uso. Contudo, o uso da irrigação tem efeito aditivo na quantidade e qualidade nutricional do pasto, como foi reportado por Soares et al. (2002) em Tifton 85; Dupas et al. (2010) em capim-marandu, e Lopes et al. (2012) em capim-elefante irrigado e de sequeiro.

O uso da irrigação por si só não é suficiente para produzir forragem em quantidade e qualidade. Ela deve ser complementada pela melhoria da fertilidade do solo, pois a umidade do solo é eficientemente aproveitada e melhora os rendimentos e a qualidade químico-nutricional do pasto (SOHM et al., 2014). Pesquisas em solos tropicais indicam que eles são pobres em nutrientes disponíveis no sistema planta-solo-planta (NORONHA et al., 2010) com reflexos negativos da produtividade animal em pasto (PRIMAVESI et al., 2008) e do animal. A interação do déficit hídrico e infertilidade dos solos gera a sazonalidade do pasto ao longo do ano (WILLOUGHBY, 1959), o que inviabiliza a produção animal em pasto, muito comum nos países cuja economia é fundamentalmente baseada na agricultura.

O intervalo de desfolhação da planta forrageira é uma prática de manejo que contribui na perenidade na produção e no aproveitamento do pasto no momento balanceado entre o conteúdo de carboidratos e de proteínas. A coleta da forragem na idade apropriada permite que se capte o momento exato quando este balanço se observa, pois adiar a desfolhação para períodos posteriores

resulta em pasto fibroso, com baixa concentração de proteína, e é um desperdício de pasto, pois o animal não vai utilizar esse pasto para a manutenção das funções vitais e produção biológica.

A seleção de espécies e ou cultivares/variedades com ótimo valor nutritivo, a utilização da planta forrageira mais jovem, e a conservação adequada podem ser alternativas para melhorar a qualidade da forragem, uma vez que se conservam os teores de nutrientes digeríveis, melhora a utilização da dieta e aumenta a eficiência alimentar (KNAPP et al., 2014). Aliado à qualidade e valor nutritivo da forragem, durante a digestão há perdas de energia pela produção de gases. Os gases da fermentação entérica (metano-CH₄ e CO₂) são produzidos durante a digestão microbiana dos carboidratos no rúmen (ELLIS et al., 2008), pois dietas proteicas, lipídicas e concentrados produzem quantidades desprezíveis de gases comparadas com os carboidratos (WOLIN, 1960). Segundo Aghsaghali e Nacer (2011), o CH₄ produzido pela fermentação representa a perda de 13-15 % de energia bruta do alimento ingerido. Estima-se em 25g CH₄ kg⁻¹ MS consumida e 160 g CH₄ novilha⁻¹ dia⁻¹ (BEAUCHIMIN; MCGINN, 2006) e 13,3 g ovino⁻¹ dia⁻¹ (LOCKYER, 1997). Do total de CH₄ produzido pelo ruminante, 87% é produzido no rúmen e 13% no intestino grosso (AGHSAGHALI; NACER, 2011). Por outro lado, o CH₄ é reconhecido como sendo 23 vezes mais potente para o aquecimento global que o CO₂ (IPCC, 2006) e constitui preocupação para os governos, cuja produção pecuária é baseada em sistemas pastoris, e que tenham compromissos internacionais com a redução da emissão dos GEE (LOVETT et al., 2006).

Nos trópicos existe pouco registro da correlação da digestibilidade *in vitro*, produção de gases da fermentação entérica e produção de ácidos graxos de cadeia curta em pastagens, apenas menciona-se que sistema pastoril produz mais CH₄ em relação ao confinamento, devido ao caráter fibroso das dietas comparativamente ao uso de concentrados (síntese de propionato, que serve de dreno de H₂ resultante da hidrólise de hexoses no rúmen). Embora exista a vontade de mitigar a produção GEE pela pecuária, pouco se sabe quanto de CH₄ o capim tropical pode gerar. Por outro lado, detalhes dos efeitos da frequência de desfolhação, das estações do ano, da irrigação e adubação do pasto na produção de gases e parâmetros de fermentação também são escassos. Assim, quantificar experimentalmente e disponibilizar essas informações à comunidade científica e produtora é importante, principalmente em regiões onde a produção de ruminantes tem como base alimentar o pasto.

1.2 Hipótese

A utilização de frequência de corte e os genótipos forrageiros altera a composição química, produção *in vitro* de gases da fermentação ruminal e do CH₄ e os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no decorrer das estações do ano e nos anos de três espécies de plantas forrageiras.

1.3 Objetivo Geral

O objetivo geral do presente estudo foi de descrever e explicar efeitos das frequências de desfolhação e irrigação, baseado na produção de metano e valor nutritivo dos capins Marandu, Mulato II e Tifton 85 para disponibilizar estratégias de planejamento e de manejo dessas forrageiras de forma a contribuir para o aumento da produção nos sistemas que utilizam os ruminantes em pasto.

1.4 Objetivos específicos

- a) Determinar a composição química dos capins marandu, Mulato II e Tifton 85;
- b) Determinar a degradabilidade dos mesmos capins pela técnica de produção *in vitro* de gases;
- c) Determinar a produção de gases totais e metano;
- d) Determinar a produção dos principais ácidos graxos de cadeia curta e o fator de partição

1.5 Referência

AGHSAGHALI, A. M.; NACER, M. S. Factors Affecting Mitigation of Methane Emission from Ruminants. I. Feeding Strategies. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, Faisalabad, v. 6, n. 9, p. 888-908, 2011.

AGUIAR, A. P. A. O pasto do vizinho está se degradando. In: ANUÁRIO DA PECUÁRIA BRASILEIRA (ANUALPEC). **Anuário Estatístico da Pecuária de Corte**. 20 ed. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2013, p. 35–39.

ANUÁRIO DA PECUÁRIA BRASILEIRA (ANUALPEC). **Anuário estatístico da pecuária de corte**. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2013.

BEAUCHEMIN, K. A.; MCGINN, S. M. Methane emissions from beef cattle: effects of fumaric acid, essential oil, and canola. **Journal of Animal Science**, Illinois, v. 84, p. 1489-1496, 2006.

DUPAS, E. et al. Dry matter yield and nutritional value of Marandu grass under nitrogenfertilization and irrigation in cerrado in São Paulo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, n. 12, p. 2598-2603, 2010.

ELLIS, J. L. J. et al. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **FAO country profile**, 2014. Roma. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/home/E>>. Acesso em: 13 jan. 2014.

KNAPP, J. R. et al. Enteric methane in dairy cattle production: quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. **Journal of Dairy Science**, Illinois, v. 97, p. 3231–3261, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-7234>>. Acesso: 22 maio 2014.

INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE (IPCC). **Revised IPCC guidelines for national greenhouse gas inventories**, 2006. (Workbook, v. 2, module 4, Agriculture). Disponível em: <<http://www.ipcc-nggip.iges.or.jp>>. Acesso em: 12 de mar. 2011.

LOPES, R. S. et al. Efeito da irrigação e adubação na disponibilidade e composição bromatológica da massa seca de lâminas foliares de capim-elefante. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, n. 1, p. 20-29, 2005.

LOVETT, D. K. et al. A systems approach to quantify greenhouse gas fluxes from pastoral dairy production as affected by management regime. **Agricultural Systems**, Cambridge, v. 88, p. 156-179, 2006.

NORONHA, N.C. et al. Recovery of degraded pasture in Rondônia: macronutrients and productivity of *Brachiaria brizantha*. **Revista Brasileira de Ciências de Solo**, Brasília, v. 34, p. 1711-1720, 2010.

PRIMAVESI, O. et al. Adubação e produção de *Paspalum* em dois níveis de fertilidade de Latossolo vermelho-amarelo: estabelecimento e manutenção. **Ciência agrotécnica**, Lavras, v. 32, n. 1, p. 242-250, 2008.

SOARES FILHO, V. C.; RODRIGUES, L. R. A.; PERRI, S. H. V. Produção e valor nutritivo de dez gramíneas forrageiras na região do Noroeste do Estado de São Paulo. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, n. 5, p. 1377-1384, 2002.

SOHM, G. et al. Yield and quality of irrigated bermudagrass as a function of nitrogen rate. **Agronomy Journal**, Madison, v. 106, n. 4, p. 1489–1496, 2014. Disponível em: <http://www.Doi:10.2134/agronj13.0580>. Acesso em: 01 Jul. 2014.

WILLOUGHBY, W. M. Limitations to animal production imposed by seasonal fluctuations in pasture and by management procedures. **Australian Journal of Agricultural Research**, Queensland, v. 10, n. 2, p. 248 – 268, 1959.

WOLIN, M. J. A theoretical rumen fermentation balance. **Journal of Dairy Science**, Illinois, v. 43, p. 1452-459, 1960.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Descrição dos genótipos em estudo

2.1.1 *Brachiaria brizantha* cv. Marandu

O capim-marandu é uma *Brachiaria brizantha* [*Brachiaria brizantha* (Hochst ex A. Rich) Stapf. cv. Marandu] com origem na África Subsaariana, onde os solos apresentam níveis de fertilidade considerados bons. O nome Marandu, dado ao cultivar, deriva da palavra Guarani (língua nativa do Brasil) que significa “novidade”. O cultivar vem sendo estudado pela Embrapa desde 1979 e foi lançado em 1984 pelo Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte/Campo Grande e pelo Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados/Planaltina (NUNES et al., 1984).

As gramíneas do gênero *Brachiaria* são as mais cultivadas nas savanas neotropicais da América. Elas ocupam cerca de 80 milhões de ha de pastagens na América latina (BODDEY et al., 2004) e cerca de 50 % das pastagens no Brasil são ocupados por *Brachiaria* (AGUIAR, 2013) em forma de monocultura o que torna o agro-ecossistema bastante propenso à instabilidade. Devido ao risco associado à monocultura (exemplo de doenças e pragas), há uma busca constante por cultivares promissores no sentido de biodiversificar as plantas forrageiras com potencial para produção de pasto de qualidade e adaptado aos efeitos edafoclimáticos e do animal (NEVES, 2007). O cultivar Marandu apresenta alto potencial de produção, vigor de rebrotação e qualidade nutricional, resistência à cigarrinha das pastagens, resposta satisfatória à aplicação de fertilizantes, habilidade de cobertura do solo com domínio sobre invasoras, adaptação às condições de baixa a média fertilidade, bom desempenho em condições de sombreamento e boa qualidade forrageira (BOTREL et al., 1999). É uma planta pouco tolerante às temperaturas baixas e, portanto não indicada para regiões com ocorrência de geadas. A temperatura ótima para seu crescimento é de 30°C, sendo que temperaturas inferiores a 25°C causam redução na taxa de crescimento.

Quanto ao fator de partição, houve variação de 0,60 a 2,45, sendo que quanto mais nova a forragem maior é o fator de partição. Embora o potencial da produção de massa de forragem e subsequentemente a produção animal sejam relativamente documentados para genótipos forrageiros tropicais, pouco se conhece do potencial do Marandu na produção de metano, AGCC e outros parâmetros da fermentação ruminal em condições do uso da técnica de produção de gases *in vitro*.

2.1.2 *Brachiaria* Híbrida cv. Mulato II

O capim-mulato é o primeiro híbrido desenvolvido a partir do gênero *Brachiaria* e originado do cruzamento de *Urochloa ruziziensis* (Germain & Evrard) [sinônimo *Brachiaria ruziziensis*

(Germain e Evrard); clone 44-6] e *Brachiaria brizantha* [*Urochloa brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) R. D. Webster [sinônimo *Brachiaria brizantha* (A. Rich.) Stapf] ou CIAT 6297. A *Brachiaria* híbrida Convert HD 364 “cv. Mulato II” (CIAT 36087) é o resultado de três gerações de cruzamentos e seleção realizadas pelo Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), a partir de cruzamentos iniciados em 1989 entre *Brachiaria ruziziensis* (Clone 44-6 tetraploide sexual e a *B. decumbens* cv. Basilisk, tetraplóide apomítica. As progênes sexuais deste primeiro híbrido cruzaram-se, através de polinização aberta, com híbridos sexuais e acessos de *Brachiaria*, o que permitiu a seleção de um clone apomítico que, comercialmente designou-se Convert HD 364 ou “cv. Mulato II”.

Argel et al. (2007) destacam que o cultivar foi desenvolvido com o objetivo de obter material vegetal com maior plasticidade agro-ecológica, alto valor nutricional, alta produção de massa de forragem e sementes de boa qualidade. Salienta-se que o Mulato II estabelece-se bem desde o nível do mar até altitudes de 1800 m, em regiões tropicais úmidas, com altas precipitações e em clima subúmido com 5-6 meses secos e precipitações anuais na ordem de 700 mm. Argel et al. (2007) fazem referência que o cultivar destaca-se por sua boa adaptação à maior parte de solos incluindo os ácidos, de baixa fertilidade e com saturação moderada de umidade e resiste a várias espécies de cigarrinhas presentes na Colômbia e no Brasil, embora seja moderadamente susceptível a fungos foliares (*Rhizoctonia* sp.).

A gramínea responde à adubação, particularmente ao nitrogênio, em aplicações anuais fracionadas entre 100 e 150 kg ha⁻¹ de N e 50 kg ha⁻¹ de P, de acordo com a fertilidade do solo. O Mulato II tem demonstrado produções entre 10,0 e 27,0 Mg MS ha⁻¹ano⁻¹, com 20% produzidos durante a época seca (VENDRAMINI et al., 2012). Embora adaptado aos trópicos, sua produção de matéria seca e valor nutritivo foram ainda pouco avaliados (VENDRAMINI et al., 2013), quando cultivado sob manejo de cortes e sob manejo de irrigação.

2.1.3 *Cynodon dactylon* cv. Tifton 85

O capim Tifton 85 [(*Cynodon dactylon* (L.) Pers. x *Cynodon transvaalensis* Burt Davy)] é um híbrido F1 interespecífico entre Tifton 68 (*Cynodon transvaalensis*) e o *Cynodon dactylon*, denominado “PI 290884”. O cultivar foi descrito como tendo altura média a alta, com colmos maiores, folhas mais largas e finas de coloração verde bastante escura que outros híbridos do capim bermuda (SOLLENBERGER et al., 2005).

O *Cynodon* é uma gramínea perene, estolonífera, com grande massa foliar, hastes grandes, rizomas bem desenvolvidos que conservam as reservas de carboidratos solúveis e nutrientes, e que proporcionam resistência à seca, geada, queimadas e baixa intensidade de pastejo (altura do resíduo)

(BURTON et al., 1993). O desenvolvimento deste híbrido baseou-se em critérios como produtividade, valor nutritivo, tolerância ao pastejo e produção de feno. Como características morfofisiológicas e exigências em solos e clima, o Tifton 85 apresenta persistência e plasticidade ecológica, podendo tornar-se invasora de outras culturas; exigência média a alta em fertilidade de solo; melhor adaptabilidade em climas adversos, propagação quase que exclusivamente vegetativa (ROCHA et al., 2002). Tem rendimento de cerca de 20,0 Mg MS ha⁻¹ de ano⁻¹ de e produz forragem e feno de boa qualidade para a maior parte de herbívoros domésticos (bovinos, ovinos, caprinos e equinos). O gênero *Cynodon* apresenta nas condições do Brasil um elevado potencial produtivo por animal e por área e grande flexibilidade de manejo e melhor distribuição estacional de crescimento (CORSI; NUSSIO, 1993).

As boas características reportadas sobre o Tifton 85 (BURTON et al., 1993; SOLLENBERGER et al., 2005), agregadas ao fato de o cultivar ser adaptado à produção de feno e pastejado pela maioria dos animais domésticos (monogástricos: aves e suínos) e a possibilidade de ser moído e incluído nas rações, torna o Tifton-85 um produto comercial de alto valor agregado. Dispondo-se de água para irrigação, luz e fertilizantes nitrogenados pode-se produzir o Tifton 85 durante todo o ano sem grandes variações tanto da produção de matéria seca como do valor nutritivo, especialmente nos trópicos. Ele coloniza a área e não permite que outras espécies de plantas invadam o seu território e resiste ao pisoteio e pastejo intenso. O pisoteio na época chuvosa permite a brotação de novos clones a partir dos entrenós enterrados com as patas dos animais e estimula o enraizamento e cobertura local mais rápida e homogênea.

2.2 Frequência de corte

A escolha da intensidade e da frequência de desfolhação deve ser uma prática de manejo que deve ser efetuada com base em experiência de campo e conhecimento da espécie forrageira específica e clima local. Intensidades e cortes frequentes podem conduzir ao perecimento da pastagem, principalmente quando os meristemas são frequentemente removidos. Desfolhações lenientes favorecem o ganho de peso, contudo provocam o desperdício de massa de forragem (MF), dado que o gado pode apenas pastejar a parte menos profunda e mais tenra do extrato herbáceo. Segundo Man e Wiktorsson (2003), a melhor frequência de desfolhação deve ser aquela que prima pelo balanço entre a produção de MF e a qualidade da forragem, pois a produção da MF aumenta quando a frequência de corte for menor e a qualidade da forragem decresce quanto maior for o intervalo entre cortes.

Existe uma diferença no tempo de rebrotação e vigor entre desfolhação mecânica e a desfolhação feita pelo animal. Desfolhações feitas por máquinas demoram a bastante para a rebrotação e alcance da altura para a colheita, visto que o corte com as máquinas elimina as folhas, meristemas e colmos e deixa pouca área folhar remanescente, ativa para fotossíntese. Nestas condições a frequência de corte tem que ser por um período aproximadamente de 30-40 dias, como o que acontece em situações de fenação. Contrariamente, a desfolhação por animais seja na lotação contínua ou na rotativa, permitem rápida recuperação da cobertura do dossel, devido à existência de área folhar remanescente nos perfilhos, que continua ativa fotossinteticamente.

A qualidade da forragem pode ser melhorada pela desfolhação da planta forrageira menos madura, a seleção de variedades ou espécies que têm digestibilidade superior (por exemplo, milho ou sorgo com nervura central da folha de cor vermelha) e armazenamento adequado, especialmente ensilagem, para conservar teor de nutrientes digeríveis, melhorar a utilização da dieta e aumentar a eficiência alimentar (KNAPP et al., 2014). Diferentes espécies forrageiras atingem a maturidade em função de clima, adubação, irrigação e em diferentes idades e isso tem reflexo na qualidade do alimento.

A frequência de corte afeta também a quantidade de FDN na forragem. De acordo com Toro Valásquez (2009), o capim-marandu colhido aos 28, 35 e 42 dias apresentou teores de 580,0; 680,0 e 700,0 g FDN kg⁻¹MS de janeiro a maio e 620,0-650,0; 680,0-700,0 g FDN kg⁻¹MS de abril a junho, sendo que menores teores de FDN foram obtidos aos 28 dias de desfolhação e no mês de janeiro. Os autores obtiveram mesma tendência para os outros parâmetros nutricionais, tais como menor tempo de colonização (3 h), maior fração solúvel de carboidratos (255,0 e 210,0 g kg⁻¹ MS) para 28 e 42 dias, respectivamente. Da Silveira et al (2010), em estudo de altura e frequências de corte de *Panicum* (25 and 50 cm) concluíram que o corte a 25 cm produziu perfilhos mais leves do que o corte a 50 cm, mas produziu maior número de perfilhos por planta, embora com reduzida taxa de alongamento do colmo, comprimento de lâmina foliar e número de folhas vivas por perfilho em relação ao corte de 50 cm. O prolongamento da frequência de corte em gramíneas tropicais estimula o alongamento dos colmos em detrimento do valor nutritivo (FARIA et al., 2013).

2.3 Irrigação das pastagens

A irrigação das pastagens é uma prática que tem sido colocada em segundo plano pelos produtores. Esta situação deve-se provavelmente ao conflito existente entre os objetivos da produção versus os custos em infraestruturas de irrigação. Associa-se aos fatores acima mencionados a questão da competitividade entre a produção de culturas e a produção de gado. Os produtores de gado têm

que fazer escolha entre a produção de leite e a produção de carne, dois produtos com exigência em alimentos pouco diferenciados. O crescimento da população urbana e o turismo são também fatores que condicionam à escassez de água para os diferentes fins para além de fatores ambientais que tornam a água imprópria para o uso devido à salinidade. Contudo, a irrigação pode proporcionar mais valia ao sistema de produção pela diminuição da necessidade de compra de suplementos e uso de silagens e fenos, prolongando assim, período de pastejo na época seca.

O efeito da irrigação em comparação com os sistemas de produção a sequeiro tem sido bastante significativo e constitui também diferencial nos rendimentos que daí advém, tanto do ponto de vista da quantidade e qualidade de forragem produzida. Lopes et al. (2012), comparando tratamentos de capim-elefante irrigado e não irrigado e adubados, concluíram que com a irrigação o capim-elefante produziu 26,0 Mg MS ha⁻¹, superiores a 23,0 Mg MS ha⁻¹ produzidos em tratamento a sequeiro e houve 4% de aumento da PB do tratamento irrigado em relação ao não irrigado. Neste experimento os resultados de FDN e FDA foram 660,0 e 700,0 g FDN kg⁻¹ MS e 330-357,0 g FDA kg⁻¹ MS para o tratamento irrigado e o não irrigado respectivamente. Estes resultados mostram que elevadas doses de nutrientes, juntamente com a irrigação, aceleram o desenvolvimento da planta forrageira em condições apropriadas de luminosidade e temperatura.

Segundo Dupas et al. (2010), em pastagens de capim-marandu irrigadas e sem irrigação sob adubação nitrogenada, a produção de forragem do tratamento irrigado foi superior (19,0 Mg ha⁻¹) em relação a do não irrigado (8,0 de Mg ha⁻¹). Os mesmos autores concluíram que o valor nutritivo teve a mesma tendência em função da disponibilidade de água, sendo 680,0 g FDN kg⁻¹ de MS para o irrigado e adubado e 610 g FDN kg⁻¹ de MS para o tratamento não irrigado. A proteína bruta foi de 110 PB kg⁻¹ de MS para irrigado e 104 g kg⁻¹ de MS para o não irrigado. Soares Filho et al. (2002) obtiveram os seguintes resultados em testes de irrigação para o Tifton-85 e Marandu: Produção de MS: (Tifton-85: 13,4 vs. 1,3 Mg ha⁻¹ e Marandu: 11,4 vs. 1,6 Mg ha⁻¹); CP (Tifton-85: 125,0 vs. 124,0 g kg⁻¹ MS e Marandu: 106,0 vs. 97,0 g kg⁻¹ MS); FDN (Tifton-85: 749,0 vs. 747,0 g kg⁻¹ MS e Marandu: 702,0 vs. 694,0 g kg⁻¹ de MS); FDA (Tifton-85: 423,0 vs. 387,0 g kg⁻¹ MS e Marandu: 420,0 vs. 385,0 g kg⁻¹ de MS) e DIVMS (Tifton-85: Não diferiu entre as espécies nas águas, apenas houve diferença na época seca (610,0 x 650,0 g kg⁻¹ de MS para Tifton85 e Marandu, respectivamente). Altos teores de FDN podem constituir problema para o consumo, dado que a FDN correlaciona-se com a ingestão da MS, enquanto que a FDA pode limitar a digestibilidade da forragem.

2.4 Valor nutritivo

Definido como a capacidade (quantitativa e qualitativa) que os alimentos possuem para prover nutrientes que sustentam o organismo (RODRIGUES e VIEIRA, 2006). Entende-se por sustentar o organismo a garantia de suas funções metabólicas vitais, sejam fisiológicas e/ou produtivas. Os mesmos autores indicam que o valor nutritivo associa-se aos conceitos de fontes de carboidratos, proteína, minerais, lipídeos e desempenho animal (atributo biológico do valor nutritivo) e por isso refere-se a um atributo biológico e não físico-químico. Por outro lado, é preciso entender que alimentos são compostos bioquímicos sintetizados pelas plantas e posteriormente armazenados nos seus tecidos e que a caracterização pode ser feita com a análise bromatológica, principalmente para controle de qualidade, avaliação nutricional e quantificação de determinadas propriedades nutritivas dos alimentos individuais.

Os métodos de medição dos alimentos datam há mais de 100 anos e têm se aperfeiçoado ao longo dos tempos. A introdução dos métodos de Van Soest et al. (1961) permite fracionar os alimentos em diferentes entidades nutricionais e de acordo com as suas classes, se são proteínas, compostos fibrosos e não fibrosos, do uso dos métodos ácidos detergentes. Mais tarde introduziu-se o fracionamento das fibras e proteínas para permitir que se melhore a caracterização dos mesmos. Esses avanços foram estimulados pela desvantagem que se observava no método do Weende, que analisava os alimentos para ruminantes até ao nível de fibra bruta (FB), quando esta é ainda potencialmente digestível pelos ruminantes, pois contem na sua matriz estrutural entidades tais como FDN, pectinas e hemicelulose, potencialmente degradadas no rúmen com a participação da microflora gastrointestinal dos ruminantes.

O Cornell Net Carbohydrates and Protein System (CNCPS) e o National Research Council (NRC) são dois métodos mais usados e que caracterizam o valor nutritivo dos alimentos, tanto os concentrados como as plantas forrageiras com base nas suas composições químicas (ex: MS, FDN, FDA, LDA, PB, EE, extrato livre de nitrogênio) e o desempenho (GMD) ou exigências (EB e EM) dos animais de diferentes classes (novilhas, reprodutores) e níveis de produção (gados de corte e leite). Segundo Fox et al. (2004), o CNCPS é um modelo matemático que estima as necessidades nutricionais dos animais baseado em várias situações de produção, composição dos alimentos e estado fisiológico dos animais (lactação, prenhes, e crescimento). Assim, do ponto de vista de análise de alimentos os carboidratos fibrosos (CF) e não fibrosos (CNF) são fracionados a partir da análise sequencial do FDN (TYLUTKI et al., 2008). Os dados experimentais compilados de vários estudos são usados para prever as taxas fracionais (carboidratos: A; B1-3 e C) de CF e CNF e a proteína bruta é dividida também em 5 frações (A; B1-3 e C). Contrariamente ao CNCPS, o NRC publica

periodicamente tabelas de exigências nutricionais dos animais domésticos, utilizadas pelos pesquisadores, extensionistas, nutricionistas, produtores para determinar o valor nutritivo dos alimentos. O NRC fornece equações que relacionam aspectos da função ruminal para o desempenho animal. Os estudos de digestibilidade dos alimentos com o uso técnicas *in vitro*, *in vivo* e *in situ*, usando marcadores, técnicas de produção de gases, cinética ruminal, entre outros, apenas visam caracterizar o efeito da quantidade e qualidade dos alimentos e a sua correlação com as respostas dos animais em pastejo, nas baias metabólicas ou em confinamento.

Segundo Gerdes (1999), o capim-marandu possui valor nutritivo superior, comparado com algumas forrageiras tropicais. Por esses motivos, destaca-se nos sistemas de produção de bovinos no Brasil (FLORES et al., 2008). Herrero et al. (2001), em plantas de 4-6 semanas, reportaram teores de PB e digestibilidade da matéria seca de 120,0 e 550,0 g kg⁻¹ MS, respectivamente. De Brito et al. (2003) encontraram na *Brachiaria brizantha* inteira os seguintes níveis de conteúdos em nutrientes em g. kg⁻¹ MS: PB - 130,0; FDN - 720,0; digestibilidade *in sacco* da MS – 570 e digestibilidade *in sacco* da FDN 360,0. Em outro estudo Malafala et al. (1997) encontraram nesta espécie colhida aos 60 dias de idade, níveis de PB de 75,0 g kg⁻¹ MS e FDN 805,0 g kg⁻¹ MS. Sá et al. (2011) constataram em *Brachiaria brizantha* cv. Marandu 522,0 e 737,0 DMS g kg⁻¹ MS para os tempos de incubação de 24 e 76 h respectivamente.

O valor nutricional do Convert HD 364 “cv. Mulato II” é alto, em comparação com outras gramíneas tropicais, apresentando 100,0 e 160,0 g PB kg⁻¹ MS e digestibilidade *in vitro* de 550,0 e 660,0 g kg⁻¹ MS em rebrotes de 25 a 30 dias, respectivamente. O consumo por bovinos em pastejo é alto, o que se traduz em produções significativamente maiores de leite em condições similares de uso, em relação a cultivares de *Brachiaria* como cv. Xaraés (*Brachiaria brizantha* CIAT 26110). Em estudos feitos na Colômbia, o Convert HD 364 “cv. Mulato II” tem demonstrado boas características para a produção de feno (ARGEL et al., 2007). As informações sobre a produção de CH₄, dos AGCC, degradabilidade e valor nutritivo do Mulato II são escassas, visto que o cultivar é pouco pesquisado por ter sido recentemente desenvolvido.

Segundo Nogueira et al. (2006), o feno de *Cynodon* apresentou digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) da ordem de 250,0-480,0 (24 h) e 430,0 -710,0 (96 h) g kg⁻¹ MS. e fator de partição (FP) de 2,9-2,9 e 3,9 e 3,8 mg matéria seca digerida por grama CH₄ nos mesmos tempos de medição. Toro Velásquez et al.(2009) observaram valores de produção *in vitro* pelo Tifton 82 de 169 e 246 mL CH₄ g⁻¹ de substrato incubado durante 48 e 96 h, respectivamente. Os mesmos autores concluíram que o Tifton 85 com idades de 28 e 42 dias de rebrotação produziu 252 e 226 mL CH₄ g⁻¹ de substrato.

2.5 Produção Ruminal de Gases

O metano (CH_4) produzido como resultado da digestão microbiana dos alimentos, especialmente os carboidratos no rúmen representa uma perda de energia pelo animal (ELLIS et al., 2008), dado que a produção de gás a partir da fermentação de proteínas e lipídeos é pequena em comparação com a fermentação carboidratos (WOLIN, 1960). O CH_4 é reconhecido como um potente gás de efeito estufa (GEE). Segundo Aghsaghali e Nacer (2011), o metano é 23 vezes mais potente para o aquecimento global que o CO_2 e a sua produção pela fermentação entérica representa a perda de energia bruta do alimento em 13-15 %. Estima-se a produção de $25\text{ g CH}_4\text{ kg}^{-1}\text{ MS}$ consumida e média de $160\text{ g CH}_4\text{ novilha}^{-1}\text{ dia}^{-1}$ (BEAUCHIMIN; MCGINN, 2006) e $13,3\text{ g ovino}^{-1}\text{ dia}^{-1}$ (LOCKYER, 1997). Do total de CH_4 produzido pelo ruminante 87% é produzido no rúmen e 13 % no intestino grosso (AGHSAGHALI; NACER, 2011). Segundo (AGHSAGHALI; NACER, 2011) a grande liberação de CH_4 tem se tornado uma das principais preocupações quanto à redução das perdas energéticas pelos ruminantes (75 g de ganho de peso e 1litro de leite perdidos por dia). A produção dos ácidos acéticos e butírico envolvem a liberação de grande quantidade de H_2 no rúmen e as bactérias metanogênicas presentes no rúmen utilizam H_2 e CO_2 para produzirem o CO_2 e CH_4 com a participação das bactérias metanogênicas presentes no rúmen. Esses gases são eliminados para a atmosfera durante a eructação.

Sabe-se que dietas à base de concentrados produzem poucas quantidades de CH_4 , pois o H_2 residual da atividade fermentativa microbial no ruminal é usado de forma competitiva para a síntese do propionato pela via que produz os ácidos fumárico, succínico, oxalacético e o málico (PATRA; SAXENA, 2010). Quando o processo fermentativo resulta no ácido propiônico, há “captura” competitiva de H_2 do meio, resultando em uma relação inversa significativa entre propionato e metano (WHITELAW et al., 1984). A relação entre o volumoso e o concentrado pode influenciar a fermentação ruminal, sendo, contudo, esperado menor proporção de metano com o aumento da proporção de concentrados na dieta (PEDREIRA et al., 2005). Rações ricas em grãos e/ou de carboidratos solúveis influenciam os parâmetros fermentativos no rúmen, com o aumento da taxa de passagem e inibição de algumas populações de protozoários ciliados e bactérias metanogênicas (VAN SOEST, 1994).

A melhoria na qualidade de forragem para ruminantes constitui um desafio na medida em que ela pode reduzir a produção de CH_4 entérico e por via disso, as perdas de energia e a consequente melhoria na produtividade animal. Portanto, as práticas corretas de manejo visando melhorar a produtividade animal, com a redução da emissão de CH_4 são de grande relevância para os sistemas de

produção animal e para a preservação do ambiente. Assim, é de suma importância o conhecimento dos mecanismos de síntese de CH_4 , bem como os fatores que afetam sua produção.

Tecnologias de produção de ruminantes visando mitigar a produção excessiva de CH_4 pela digesta têm sido identificadas e testadas (BEAUCHIMIN; MCGINN, 2005). Bueno, Cabral Filho e Godoy (2010) observaram correlação negativa entre teor de tanino de leguminosas na produção de CH_4 . A ação dos taninos na redução da emissão do CH_4 pelos ruminantes pode ser atribuída à redução na degradação da matéria orgânica com diminuição na produção de H_2 , pela formação de complexos com proteínas e fibras, tornando-as resistentes à degradação ou pelo efeito inibitório à população de metanogênicas. A produção reduzida de CH_4 em dietas com a inclusão de taninoníferas deve-se também à redução de ingestão do alimento pelo animal, visto que grande parte dessas plantas possui efeito depreciativo (sabor amargo), o que se torna prejudicial para a eficiência de degradação da fibra e o aproveitamento das dietas fibrosas pelos animais (PATRA; SAXANA, 2011; BUNGLAVAN; DUTTA, 2013). Os óleos vegetais também têm sido testados para efeitos de redução de produção de CH_4 , contudo sua inclusão deve seguir uma recomendação cuidadosa, pois óleos em excesso na alimentação dos ruminantes tem sido também um problema pela redução da ingestão da MS e aumento na taxa de passagem.

Diferentes autores apontam variação significativa da produção de CH_4 entérico estimada “*in vitro*” e “*in vivo*” pelas gramíneas tropicais. Em estudos com ovinos, Bueno et al. (2005) observaram 323,9 a 348,5 mL $\text{CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ MO}$, tendo como substrato a *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk, enquanto Sá et al. (2011) constataram em *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, 76,1 e 180,6 mL $\text{CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ MO}$ para os tempos de 24 e 76 h respectivamente. Segundo Nogueira et al. (2006), o feno de *Cynodon* com 130,0 g PB kg^{-1} MS produziu 196,0 e 268,0 mL de gases totais (GT) por grama de matéria orgânica em 24 e 96 h, respectivamente.

Toro Velásquez et al. (2009) observaram valores de produção *in vitro* pelo Tifton 85 de 169 e 246 mL $\text{CH}_4 \text{ g}^{-1}$ de substrato incubado durante 48 e 96 h, respectivamente. Os mesmos autores concluíram que o Tifton 85 com idades de 28 e 42 dias de rebrotação produziu 252 e 226 mL $\text{CH}_4 \text{ g}^{-1}$ de substrato.

2.6 Ácidos Graxos de Cadeia Curta (AGCC)

Os AGCC são produzidos no rúmen como resultado da fermentação microbiana. No processo a energia é conservada na forma de adenosina trifosfato (ATP) e posteriormente utilizada pela flora microbiana. Os principais produtos da fermentação ruminal dos alimentos são AGCC, constituídos na sua maioria pelos ácidos acéticos ($\text{CH}_3\text{-COOH}$), propiônico ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-COOH}$) e

butírico ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$). Estes ácidos resultam da glicólise de mono e polissacarídeos (açúcares simples e complexos) dos alimentos. O dióxido de carbono (CO_2) e CH_4 são os produtos finais da degradação destes ácidos, principalmente o acético e o butírico, resultando no CO_2 e no H_2 . Os AGCC representam a principal fonte energética dos ruminantes, estimada em 50 a 70% da energia total digestível. Contudo, o ácido propiônico é o mais eficiente do ponto de vista de conservação e disponibilização de energia para o animal, pois ele não é convertido em CH_4 (NOGUEIRA et al., 2006). As bactérias metanogênicas ao catalisarem este processo gastam 5-13 % de energia derivada dos carboidratos que seria aproveitada pelo animal para o seu metabolismo.

A hidrólise de uma molécula de glicose fermentado no rúmen resulta em duas moléculas de piruvato, duas moléculas de ácido acético, duas moléculas de propionato e uma molécula de butirato. Portanto, a fermentação ruminal é um processo anaeróbico que converte os carboidratos em, principalmente, ácidos acético, propionato e butírico na proporção aproximada de 70:20:10, respectivamente, sendo que os três ácidos representam 95% do total dos AGCC produzidos no rúmen (ELLIS et al., 2008).

No entanto, a relação acetato: propionato obtido para substratos semelhantes pode alterar o volume de gases, em que substratos com maior capacidade de produção de acetato, elevados teores de Carboidratos fibrosos (CF), produzem maior quantidade de gases quando comparados aos substratos ricos em carboidratos não fibrosos (CNF), os quais proporcionam maior produção de propionato e, conseqüentemente, menor produção de gases. Segundo Van Soest (1994) e Kozloski (2002), as proporções molares de AGCC produzidas no ambiente ruminal variam de 45 a 75%, 15 a 45% e 11 a 13% para o acetato, propionato e butirato, respectivamente. A reação estequiométrica que descreve a fermentação dos carboidratos e parede celular, resultando em hexoses da fermentação foi descritas da seguinte forma por Hungate (1966):

A riqueza das dietas em fibra permite a proliferação das bactérias celulolíticas, contrariamente às amilolíticas que proliferam em dietas à base de amido, onde o incremento dos

teores do ácido propiônico é alto (MIRZAEI-AGHASAGHALI; MAHERI-SIS, 2011). Plantas forrageiras mais fibrosas ou mais velhas estimulam a atividade das bactérias fibrolíticas. Quando as forrageiras são mais novas com teores mais elevados de PB em detrimento das frações fibrosas ocorre redução na síntese de CH_4 (VAN SOEST, 1994). Animais alimentados com dietas bem balanceadas como ocorre em confinamentos bem conduzidos podem produzir menos metano comparativamente aos animais em pastejo. Segundo Kozloski (2002) os AGCC constituem um resíduo da fermentação microbiana, entretanto para o ruminante representam a principal fonte de energia. O mesmo autor concluiu que a energia presente nos AGCC representa em torno de 75 a 80% da energia originalmente presente nos carboidratos fermentados e, normalmente, contribuem em 50 a 70% da energia digestível do alimento.

2.7 Fator de Partição (FP)

A razão entre a matéria orgânica degradada e o volume total de gases produzidos pela fermentação é designada de fator de partição (FP). O FP é um indicador de eficiência de síntese microbiana (BLÜMMEL et al., 1997). Quando os valores do FP são altos, isso indica que maior quantidade de matéria orgânica degradada é incorporada na massa microbiana por volume de gás produzido (MAKKAR, 2004). De forma contrária, menor FP indica maior produção de gases que se reflete em menor eficiência do processo fermentativo, com aumento na produção de CO_2 e metano (BLUMEL et al., 1997).

De acordo com Makkar (2004), o FP deve variar de 2,74 a 4,41 mg MO degradável por mL de gás produzido. Segundo Abdalla et al. (2012), altos valores de FP indicam que a solubilização do alimento contribuiu para a baixa degradação da matéria seca, produção de gases e inibição da fermentação ruminal. Os alimentos que apresentam alta degradação *in vitro* e baixa produção de gases apresentam fator de partição mais elevado, maior consumo pelos animais, maior eficiência de síntese microbiana, menor produção de CO_2 e CH_4 , e maior produção de ácidos graxos de cadeia curta (BLÜMMEL et al., 2005). Nogueira et al. (2006) constataram para o feno de *Cynodon* fator de partição (FP) de 2,9-2,9 e 3,9 e 3,8 mg matéria seca digerida por grama CH_4 nos mesmos tempos de medição.

2.8 Técnica de produção *in vitro* de metano

A técnica de produção de gases *in vitro* (TPGIV) é baseada na fermentação do substrato (alimento do animal), incubado em frascos de vidro com o conteúdo ruminal contendo

microrganismos ruminais e soluções de tamponante e meio nutritivo (macro e micronutrientes). A técnica é utilizada há bastante tempo com a finalidade de determinar a produção total *in vitro* dos gases da fermentação, CH₄, AGCC, cinética de degradação de MO e o fator de partição (ERWIN et al., 1961; McBEE, 1953 e WILKINS, 1974). A técnica de produção *in vitro* de gases tem importância na análise de alimentos dos ruminantes pelo fato de ser um procedimento rápido; possibilita maior controle das condições experimentais de fermentação. Ela pode ser executada com centenas de amostras, ao mesmo tempo, maior número de repetição para sustentar as diferenças estatísticas entre os tratamentos; permite medir a produção de gases e correlacioná-la à degradação *in vitro* de alimentos; podem-se obter de forma indireta medidas da cinética de fermentação entérica dos alimentos (RYMER et al., 2006; STORM et al., 2012).

A técnica tem sido objeto de aperfeiçoamento constante ao longo das últimas décadas. A produção de gases entéricos fora medida usando manômetros ou a estimativa do volume dos gases produzidos de forma manual (McBEE, 1953; HUNGATE, 1966). Em estudos da produção de gases pelos microrganismos do rúmen, Wilkins (1973) usou e descreveu o método da determinação da produção *in vitro* de gases usando o transdutor da pressão com seringa acoplada ao frasco com amostra. Pell and Scholfied (1993) aprimoraram a técnica e introduziram o uso de sensores individuais conectados aos computadores interativos e aos frascos incubados com amostra para medir ou monitorar a produção de gases de fermentação ruminal (CH₄ e CO₂). Theodorou et al (1994) melhoraram a técnica com a introdução da leitura da pressão pelo leitor “PRESSDATA” conectado ao transdutor e à seringa para permitir a leitura da pressão do volume total dos gases produzidos no frasco. Mauricio et al. (1999), eliminando o uso de seringa, introduziram a captura direta de dados do volume e da pressão nos frascos pelo computador, permitindo a leitura e armazenamento dos dados no Excel.

A TPGIV tornou-se um instrumento importante na avaliação dos alimentos para ruminantes. Ela fornece informações importantes ao combinar as perdas de energia contida nos alimentos (dietas do animal) na produção de CH₄ e o tipo ou características do alimento ingerido pelo animal. Outra importância da técnica é de permitir avaliar o volume de gases produzido, o que constitui uma grande contribuição para a determinação dos GEE, especialmente o metano entérico. Blummel e Becher (1997) concluíram que a técnica tem a vantagem de prever o consumo voluntário (75-82 %) dos animais quando se correlaciona à produção de CH₄ com a FDN dos alimentos.

2.9 Referência

ABDALLA, A. L. et al. Methane production and microbial evaluation by q-PCR of *in vitro* incubations of tannin-rich plants. **Microbial Ecology in Health and Disease**, Sweden, v. 19, n. 1, p. 32, 2007.

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**, Edinburgh, v. 44, p. 953–964, 2012. Disponível em: < [www/htl.doxDOI 10.1007/s11250-011-9992-0](http://www.htl.doxDOI.org/10.1007/s11250-011-9992-0)>. Acesso: 12 mar. 2014.

AGHSAGHALI, A. M.; NACER, M. S. Factor affecting mitigation of methane emission from ruminants. i. feeding strategies. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, Faisalabad, v. 6, n. 9, p. 888-908, 2011.

AGUIAR, A. P. A. O pasto do vizinho está se degradando. In: ANUÁRIO DA PECUÁRIA BRASILEIRA (ANUALPEC). **Anuário estatístico da pecuária de corte**. 20 ed. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2013. p. 35–39.

ARGEL, P. J. et al. Cultivar Mulato II (*Brachiaria* hybrid CIAT 36087): High-quality forage grass, resistant to the spittlebug and adapted to well-drained acid tropical soils. Cali, Colombia: International Center for Tropical Agriculture, 2007.

BEAUCHEMIN, K. A.; MCGINN, S. M. Methane emissions from beef cattle: Effects of fumaric acid, essential oil, and canola. **Journal of Animal Science**, Illinois, v. 84, p. 1489-1496, 2006.

BEAUCHEMIN, K. A. et al. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Queensland, v. 48, n. 2, p. 21-27, 2008. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1071/EA07199>>. Acesso em: 23 dez. 2011.

BLÜMMEL, M.; GIVENS, D. I.; MOSS, A. R. Comparison of methane produced by straw fed sheep in open-circuit respiration with methane predicted by fermentation characteristics measured by an *in vitro* gas procedure. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 123, p. 379-390, 2005.

BLÜMMEL, M.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. In vitro gas production: a technique revisited. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 77, p. 24-34, 1997. Disponível em: [http://www.doi: 10.1111/j. 1439-0396.1997.tb00734. X](http://www.doi.org/10.1111/j.1439-0396.1997.tb00734.x). Acesso em: 12 jan. 2011.

BLÜMMEL, M.; BECKER, K. The degradability characteristics of fifty-four roughages and roughage neutral-detergent fibres as described by in vitro gas production and their relationship to voluntary feed intake. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 77, p. 757-768. 1997.

BODDEY, R. M. et al. Nitrogen cycling in *Brachiaria* pastures: the key to understanding the process of pasture decline. **Agriculture Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 103, p. 389-403, 2004.

BOTREL, M. A.; ALVIM, M. J.; XAVIER, D. X. Avaliação de gramíneas forrageiras na região sul de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 4, p. 683-689, 1999.

BUENO, I. C. S. et al. Influence of inoculum source in a gas production method. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 123, n. 124, p. 95–105, 2005.

BUENO, I. C. S. et al. Comparison of *in situ* and *in vitro* dry matter rumen degradability of three distinct quality hays in sheep. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, México, v. 12, p. 321–332, 2010.

BUNGLAVAN, S. J.; DUTTA, N. Use of tannins as organic protectants of proteins in digestion of ruminants. **Journal of Livestock Science**, Índia, v. 4, p. 67-77, 2013. Disponível em < http://livestockscience.in/wp-content/uploads/Buglavan_tannin.pdf>. Acessado 10 dez. 2014.

BURTON, G. W.; GATES, R. N.; HILL, G. M. Registration of ‘Tifton 85’ Bermudagrass. **Crop Science**, Madison, v. 33, p. 644-645, 1993.

CORSI, M.; NUSSIO, L. G. Manejo do capim elefante: Correção e adubação do solo. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGENS, 10. 1993, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ. p. 87-116, 1993.

DA SILVEIRA, M. C. T. et al. Effect of cutting interval and cutting height on morphogenesis and forage accumulation of guinea grass (*Panicum maximum*). **Tropical Grasslands**, Willington, v. 44, p. 103–108, 2010.

DE BRITO BRAS, C. J. F. A.; RODELLA, R. A.; DESCHAMPS, F. C. perfil químico da parede celular e suas implicações na digestibilidade de *Brachiaria brizantha* e *Brachiaria humidicola*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 6, p. 1835-1844, 2003 (Supl. 2).

DUPAS, E. et al. Dry matter yield and nutritional value of Marandu grass under nitrogen fertilization and irrigation in cerrado in São Paulo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, n. 12, p. 2598-2603, 2010.

ELLIS, J. L. et al. Aspects of rumen microbiology central to mechanistic modelling of methane production in cattle. **The Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 146, p. 213-233, 2008.

EMERY, E. M.; KROERNER, W. Gas Chromatographic determination of trace amounts of the lower fatty acids in water. **Journal of Analytical Chemistry**, Moscovo, v. 33, n. 1, p. 146-147, 1961.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: EMBRAPA Produção de Informação, 1999. 412 p.

ERWIN, E. S.; MARCO, G. J. ; EMERY, E. M. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. **Journal of Dairy Science**, Illinois, v. 44, p. 1768-1770. 1961.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). Disponível em: <http://faostat3.fao.org/download/Q/QA/E>. Acessado em 12 ago. 2014.

FARIA, A. F. G. et al. Morphogenic response of two *Brachiaria* genotypes to clipping frequency. **Tropical grasslands-Forrages Tropicais**, Brisbane, v. 1, p. 71-73, 2013.

FLORES, R. S. et al. Animal performance, forage yield and structural characteristics in the palisadegrass cvs. Marandu and Xaraés submitted to grazing intensities. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, n. 8, p. 1355-1365, 2008.

FOX, D. G. et al. The Cornell Net Carbohydrate and Protein System model for evaluating herd nutrition and nutrient excretion. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 112, p. 29-78, 2004.

GERDES, L. **Algumas características agrônômicas, morfológicas e de valor nutritivo dos capins Marandu, Setária e Tanzânia**. 1999. 81 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 1999.

HERRERO, M. et al. Measurements of physical strength and their relationship to the chemical composition of four species of *Brachiaria*. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 92, n. 3-4, p. 149–158. 2001.

HUNGATE, R. E. **The rumen and its microbes**. New York: Academic Press, 1966. 533 p.

INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE (IPCC). **Revised IPCC guidelines for national greenhouse gas inventories**. 2006. (Workbook, v. 2, modul 4. Agriculture). Disponível em: <<http://www.ipcc-nggip.iges.or.jp>>. Acesso: 25 jan. 2011.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. Santa Maria: UFSM, 2002. 140 p.

LANZAS, C. et al. A revised CNCPS feed carbohydrate fractionations cheme for formulating rations for ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 136, p. 167–190, 2007.

LOCKYER, D. R. Methane emissions from grazing sheep and calves. **Agricultura Ecology & Environment**, Amsterdam, v. 66, p. 11-18, 1997.

LOPES, R. S. et al. Efeito da irrigação e adubação na disponibilidade e composição bromatológica da massa seca de lâminas foliares de Capim-Elefante. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, n. 1, p. 20-29, 2005.

MALAFIA, P. A. M.. et al. Determinação e cinética ruminal das frações protéicas de alguns alimentos para ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 26, n. 6, p. 1243-1251. 1997.

MAKKAR, H. P. S. Development, standardization and validation of nuclear based technologies for estimating microbial protein supply in ruminant livestock for improving productivity. In: MAKKAR, H. P. S.; CHEN, X. B. (Eds.). **Estimation of microbial protein supply in ruminants using urinary purine derivatives**. Kluwer: FAO/IAEA, Academic Publisher, 2004. p. 2–13.

MAN, V. N.; WIKTORSSON, H. Forage yield, nutritive value, feed intake and digestibility of tree grass species as affected by harvest frequency. **Tropical Grasslands**, Washington, v. 37, p. 101-110, 2003.

MAURICIO, R. M. et al. A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 79, n. 4, p. 321-330, 1999.

MCBEE, R. H. Manometric method for the evaluation of microbial activity in the rumen with application to utilization of cellulose and hemicelluloses. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 1, n. 1, p. 106–110, 1953.

MIRZAEI-AGHASAGHALI, A.; MAHERI-SIS, N. Factors affecting mitigation of methane from ruminants I: Feeding strategies. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, Faisalabad, v. 6, n. 9, p. 888-908, 2011.

NEVES, R. L. G. **Produtividade, valor nutritivo e características físicas da forragem do capim-Xaraés [*Brachiaria brizantha* (Hochstex A. Rich.). Stapf.] em resposta a estratégias de pastejo sob lotação intermitente**. 2007. 95 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

NOGUEIRA, U. T.; MAURÍCIO, R. M.; GONÇALVES, L. C. Comparação de substratos com diferentes quantidades de carboidratos solúveis utilizando a técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 58, n. 4, p. 663-641, 2006.

NOGUEIRA, U. T. et al. Predição da degradação da matéria seca pelo volume de gases utilizando a técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 58, n. 5, p. 901-909, 2006.

NUNES, S.G.; BOOCK, A.; PENTEADO, M.I.O. **Brachiaria brizantha cv Marandu**. 1ª ed. Campo Grande, MS: EMBRAPA-CNPQC, 1984. 31p. (Documentos, 21).

ØRSKOV, E. R.; McDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighed according to rate of passage. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 92, n. 2, p. 499-503, 1997.

PATRA, A. K.; SAXENA, J. A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. **Phytochemistry**, Kidlington, v. 71, n. 11-12, p.1198-222, 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**, Cambridge, v. 91, n. 1, p. 24-37, 2011.

PEDREIRA, C. G. S. Gênero *Cynodon*. In: FONSECA, D. M.; MARTUSCELLO, J. A. (Eds.). **Plantas forrageiras**. Viçosa, MG: UFV, 2010, p.78-130.

PEDREIRA, M. S. et al. Aspectos relacionados com a emissão de metano de origem ruminal em sistemas de produção de bovinos. **Arquivos of Veterinary Science**, Curitiba, v. 10, n. 3, p. 24-32, 2005.

PELL, A. N.; SCHOFIELD, P. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion *in vitro*. **Journal Dairy Science**, Illinois, v. 76, n. 7, p. 1063-1073, 1993.

KNAPP, J. R. et al. Enteric methane in dairy cattle production: quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. **Journal of Dairy Science**, Illinois, v. 97, p. 3231–3261, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-7234>>. Acesso em: 22 mai. 2014.

RESENDE, R. M. S.; DO VALLE, C. B.; JANK, L. Melhoramento de forrageiras tropicais. Embrapa Campo Grande, MS: Embrapa, 2008. 293 p.

RYMER, C. et al. *In vitro* cumulative gas production techniques: History, methodological considerations and challenges. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 123-124, p. 9–30, 2005.

ROCHA, G. P. et al. Adubação nitrogenada em gramíneas do gênero *Cynodon*. **Ciência Animal Brasileira**, Goiás, v. 3, n. 1, p. 1-9, 2002.

RODRIGUES, M. T.; VIEIRA, T. M. Fracionamento de alimentos. In: BERCHIELLI, T. T. (Ed.). **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 353 p.

SÁ, J. F. et al. Cinética da fermentação *in vitro* do capim-Marandu em diferentes idades de corte. **Acta scientiarum**, Maringá, v. 33, n. 3, p. 225-231, 2011.

SOARES FILHO, V. C.; RODRIGUES, L. R. A.; PERRI, S. H. V. Produção e valor nutritivo de dez gramíneas forrageiras na região do Noroeste do Estado de São Paulo. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, n. 5, p. 1377-1384, 2002.

SOLLENBERGER, L. E. et al. New *Cynodon* forages for the subtropics and tropics. In: INTERNACIONAL CONFERENCE LIVESTOCK IN THE TROPICS, 1995, Gainesville. **Proceedings...** Florida, 2005, p. 222.

STORM, I. M. L. D. et al. Methods for measuring and estimating methane emission from ruminants. **Animals**, Massachusetts, v. 2, p. 160-183, 2012.

THEODOROU, M. K. et al. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetic of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 48, n. 2, p. 185-197, 1994.

TORO VELÁSQUEZ, P. A. et al. Cinética da fermentação e taxas de degradação de forrageiras tropicais em diferentes idades de corte estimadas pela técnica de produção de gases *in vitro*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 38, n. 9, p. 1695-1705, 2009.

TYLUTKI, T. P. et al. Cornell net carbohydrate and protein system: a model for precision feeding of dairy cattle. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 143, p. 174-202, 2008.

VENDRAMINI, J. M. B. et al. Forage accumulation, nutritive value, and persistence of 'Mulato II' brachiariagrass in northern Florida. **Crop Science**, Madison, v. 52, p. 914-922, 2012.

VENDRAMINI, J. M. B. et al. Herbage accumulation, nutritive value and persistence of Mulato II in Florida. **Tropical Grasslands – Forrajes Tropicales**, Brisbane, v. 1, p. 123-124, 2013.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2th ed. Ithaca, NY: University Press, 1994.

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

VAN SOEST, P. J. Development of a comprehensive system of feed analysis and its application to forages. **Journal of Animal Science**, Illinois, v.26, p.119-128, 1967.

WILKINS, J. Pressure transducer method for measuring gas production by microorganisms. **Journal of Applied Microbiology**, Washington, DC, v. 27, n. 1, p. 135–140, 1974.

WHITELAW, F. G. et al. Methane formation in faunated and ciliate-free cattle and its relationship with rumen volatile fatty acid proportions. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 52, p. 261-275, 1984.

WOLIN, M. J. A theoretical rumen fermentation balance. **Journal Dairy Science**, Illinois, v. 43, p. 1452-459, 1960.

3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE *Brachiaria brizantha* CV. MARANDU, *Brachiaria* HÍBRIDA CONVERT HD 364 CV. MULATO II E *Cynodon dactylon* (L.) CV. TIFTON 85 MANEJADOS NA FREQUÊNCIA DE CORTE

RESUMO

A análise de volumosos para ruminantes é importante na sua caracterização nutricional, dada à variação de sua composição química, em função do clima, solo e manejo. A frequência de corte e as estações de ano podem ser fontes de variação do valor nutritivo das gramíneas tropicais, com reflexos negativos na reprodução e na produção animal. O objetivo deste estudo foi descrever e explicar efeitos das frequências de desfolhação (28 e 42 dias de intervalos de corte) e estações do ano (Primavera, Verão, Outono e Inverno) na composição químico-bromatológica da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, *Brachiaria* híbrida Convert HD 364 “cv. Mulato II” e Tifton-85 [(*Cynodon dactylon* (L.))], cultivados em 2012/2013 em parcelas de 20 m² cada e em 4 blocos completamente aleatorizados, em área experimental da USP/ESALQ – Piracicaba/SP. O teor de matéria seca (MS%) da forragem aumentou, quando a frequência de desfolhação passou de 28 (926,4 e 939,7 g MS kg⁻¹ MS) para 42 dias (927,8 e 938,3 g MS kg⁻¹ MS), em 2011/12 e 2012/13, respectivamente. A variação sazonal entre os anos e frequências de corte foi observada, exceto no Verão, Outono e Inverno de 2012. O intervalo de corte mais longo diminuiu a MS Marandu e Mulato II. A MM aumentou no maior intervalo entre cortes e no 2º ano. A MO do Marandu e Mulato II aumentou nas duas frequências de corte em relação ao Tifton-85, mesmo no outono-inverno. Os teores de FDN (619,4 g kg⁻¹ MS), FDA (322,3 g kg⁻¹ MS), PB (109,5 g kg⁻¹ MS), EE (10,6 g kg⁻¹ MS), MO (882,4 g kg⁻¹ MS), CC (332,7 g kg⁻¹ MS) no corte de 28 dias foram baixos. As médias de FDN e FDA do marandu, independentemente das frequências de cortes, foram similares às de Mulato II ($\leq 650,0$ g kg⁻¹ MS), mas inferiores às de Tifton-85 (722,3 g FDN kg⁻¹ MS e 377,0 g FDA kg⁻¹ MS). As espécies tiveram maiores conteúdos de FDN (Tifton-85: 715,6 g kg⁻¹ MS), PB (Tifton-85: 177,5 g kg⁻¹ MS), MM (Marandu: 129,5 g kg⁻¹ MS), MO (Tifton-85: 896,6 g kg⁻¹ MS) e CC (Mulato II: 409,5 g kg⁻¹ MS) no Inverno. Os teores de PB, CC, MO, EE foram altos nas duas frequências e na estação seca. Elevados teores de FDN e FDA do Tifton-85 devem-se à presença de folhas finas e maior quantidade de talos (colmos), no intervalo de corte de 42 dias.

Palavras-chave: Análise de forragens, frequência de corte, gramíneas tropicais, valor nutritivo.

CHEMICAL COMPOSITION OF *Brachiaria Brizantha* CV. MARANDU, *Brachiaria* HYBRID CONVERT HD 364 CV. MULATO II AND *Cynodon dactylon* (L.) CV. TIFTON 85 UNDER CLIPPING FREQUENCY

ABSTRACT

The objective of the study was to evaluate chemical composition of plot established and sprinkler irrigated *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, *Brachiaria* hybrid Convert HD 364 “cv. Mulato II” and Tifton 85 (*Cynodon dactylon* (L.)), under clipping intervals (28 and 42 days), designed as grass x clipping factors in a 4 random blocks, at University of São Paulo, Piracicaba (Brazil), from 2011 to 2012/13. Dry matter (DM) increased at 42 days (939.7 g MS kg⁻¹ MS), in 2011/12. Year and season variations were observed except in summer, fall and winter in 2012. Clipping at 42 days increased DM of Marandu and Mulato II. Tifton 85 had increased DM in both clippings. Ash (MM) increased with harvesting stage and season of the year. Organic matter (OM) was higher for Marandu and Mulato II in spring for both clipping frequency. Low averages of neutral detergent fiber (NDF-619, 4 g kg⁻¹ MS), acid detergent fiber (ADF-322, 3 g kg⁻¹DM), crude protein (CP-109.5 g kg⁻¹DM), ether extract (EE-10.6 g kg⁻¹ MS), organic matter (OM-882.4 g kg⁻¹ MS) and cellular content (CC-332.7 g kg⁻¹ MS) were obtained for 28 days clipping interval. The average NDF and ADF for Marandu and Mulato II, across cutting frequencies were low relative to Tifton 85 (722. 3 g kg⁻¹DM-FDN and 377. 0 g kg⁻¹DM-ADF). Grasses increased FDN (Tifton 85: 715. 6 g kg⁻¹ DM), CP (Tifton 85: 177.5g kg⁻¹ DM), MM (Marandu: 129. 5g kg⁻¹ DM), OM (Tifton 85: 896. 6g kg⁻¹ DM) and CC (Mulato II: 409. 5g kg⁻¹ DM) in winter. Suplementary irrigation and nitrogen application kept CP, CC, OM, EE values high, even during the dry season.

Keywords: Clipping frequency, chemical composition, forage analysis, nutritive value, tropical grasses

3.1 Introdução

A demanda mundial por alimentos de origem animal, como carnes e derivados, tem aumentado. O Brasil, segundo a FAO (2014), tem contribuído para suprir essa demanda criando, criando e terminando bovinos de uma população de 211 milhões de cabeça, em 170 milhões de hectares de pastagens (ANUALPEC, 2013). Assim, as pastagens constituem-se na principal fonte energética para ruminantes, de custo mais barato e de relevância à economia do país. Portanto, conhecer suas características nutritivas torna-se imperativo, considerando-se que as áreas de pastagens têm sua grande extensão localizada em condições edafoclimáticas adversas, como baixa fertilidade, deficiência hídrica (STONE et al., 2012) e baixo fotoperíodo no outono e inverno, associado às temperaturas mínimas limitantes com efeito negativo na produção e qualidade nutricional do pasto (GUENNI et al., 2002). Mesmo durante a primavera e verão, época do ano que os pastos têm disponível luz, ainda em determinados momentos podem ocorrer baixas temperaturas e deficiência hídrica. A introdução de técnicas agrônômicas como a irrigação e a adubação do solo melhoram os níveis de produção (STONE et al., 2012) e incrementam a qualidade nutricional no pasto (WOODARD e SOLLENBERGER, 2011).

O gênero *Brachiaria*, por ocupar aproximadamente 50% das áreas de pastagens do Brasil (AGUIAR, 2013), é utilizado preferencialmente sob pastejo direto, enquanto o gênero *Cynodon*, devido suas características morfológicas tem sido mais implantado em campos de fenação. Em sistemas de produção animal em pasto, a avaliação química da forragem traz o benefício do manejo alimentar balanceado, mesmo porque ocorre variação da sua qualidade ao longo do ano.

O valor nutritivo das plantas forrageiras relaciona-se às características intrínsecas da fração fibrosa, à genética e à estrutura da planta, relação folha: colmo, teores de fibra em detergente ácido (FDA) e fibra em detergente neutro (FDN) (HUHTANEN et al., 2011). Nos trópicos há a necessidade de informações e registros da composição química das plantas forrageiras, base da produção animal nos trópicos e consideradas de baixa qualidade nutricional, além daquelas relacionadas à frequência de desfolhação e irrigação do pasto. O objetivo do presente trabalho foi descrever as respostas em conteúdo químico-nutricional de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, *Brachiaria* híbrida CONVERT 634[®] cv. Mulato II e *Cynodon dactylon* cv. Tifton-85 manejados nas frequências de corte, irrigados e adubados com o nitrogênio.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Local, delineamento experimental e manejo agrônômico das parcelas

O experimento foi implantado no Campus Administrativo de Piracicaba, da Universidade de São Paulo (22°42'30''S, 47°30'00'' W e 546 m de altitude). Dados climáticos observados durante o período experimental foram registrados (Tabela 1) pela estação meteorológica situada a 1,8 km da área experimental. O clima é classificado pelo sistema Köppen como Cwa (Mesotérmico úmido subtropical, de inverno seco). O solo é do tipo Nitossolo vermelho (EMBRAPA, 1999) com as seguintes características químico-físicas, segundo a análise do solo (0-20 cm), realizado em 2010 no laboratório de solos e nutrição de plantas da ESALQ: textura argilosa a muito argilosa; pH (CaCl₂)= 5,5; Matéria orgânica (MO, g dm⁻³)= 24,0; Fósforo (P-método de resina, mg dm⁻³)= 38,0; [K, =6,0, Ca=75,0; Mg=25,0; H+Al=34,0; SB (soma de bases)=106,0; CTC(capacidade de troca catiônica do solo)=140 mmol_c dm⁻³]; V% (saturação por base)=76,0; SO₄=8,0 mg dm⁻³; Argila=431,0 g kg⁻¹; Limo=199,0 g kg⁻¹ e Areia=370,0 g kg⁻¹.

Tabela 1 - Médias mensais de temperatura máxima e mínima, e total mensal da precipitação durante o período experimental (Piracicaba, SP).

Dados Climáticos	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.	Out.	Nov.	Dez.	Jan.	Fev.	Mar.
2011/12												
T °C Máxima	29,2	25,9	24,6	27,0	28,1	30,3	29,6	29,4	30,7	29,2	33,1	31,6
T °C Mínima	17,5	12,5	9,3	12,8	13,2	12,9	17,1	16,6	18,6	18,5	20,1	18,8
Precipitação (mm)	131,2	29,0	48,8	3,0	30,8	1,7	193,9	155,3	153,4	214,9	138,7	61,5
2012/13												
T °C Máxima	29,8	26,2	24,5	26,4	28,7	30,6	33,0	30,9	33,1	30,3	32,6	31,6
T °C Mínima	18,0	13,9	14,0	11,2	11,9	14,6	17,9	18,1	21,3	19,4	20,4	20,0
Precipitação (mm)	159,2	57,8	158,0	24,7	0,0	40,9	70,3	97,9	191,4	224,7	110,7	135,8

Fonte: LEB - ESALQ - USP (2013)

O registro dos dados climatológicos e do balanço hídrico durante a fase experimental é apresentado na tabela 1 e figura 1. A temperatura média do mês mais quente foi superior a 22°C e a do mês mais frio inferior a 18°C. O experimento foi estabelecido no ano de 2010 e as amostragens nas parcelas experimentais foram realizadas no período de 2011/12 a 2012/13. O desenho experimental foi fatorial, envolvendo dois fatores genótipos forrageiros [capins marandu, Tifton-85 e Mulato II (Convert HD364[®])] e duas frequências de corte (28 e 42 dias), com blocos completos casualizados e 4 repetições. As parcelas experimentais eram de 4 m x 5 m (20 m²) e a colheita das amostras era feita usando 2 quadrados de ferro de 0,75 m² por unidade experimental, com tesouras, a 10 cm da superfície do solo. Após o corte a forragem era pesada, subamostrada (300-350 g) e

colocada em sacos de pano e trazida ao laboratório para secagem em estufa de ventilação forçada de ar a 60 °C durante 72 horas, até massa constante. Após este período, as amostras foram moídas em moinho de facas do tipo Wiley mill (Marconi, SP, Brasil) com o diâmetro do crivo de 1 mm, acondicionadas em “zip-locks” e levadas para a análise químico-bromatológica.

Figura 1 - Balanço hídrico de Abril de 2011 a Abril de 2013, Piracicaba, SP. ETP - Evapotranspiração Potencial; ETR: Evapotranspiração de Referencia (Fonte: LEB – ESALQ/ USP, Piracicaba, 2013).

Após cada colheita, as parcelas eram uniformizadas e limpas, à altura pré-determinada do dossel, utilizando-se uma segadeira (Segadeira AW SG 90 Kawashima) acoplada ao microtrator (Micro-Trator MWG 722 GE700; SP, Brasil). O manejo das parcelas depois do corte consistiu na adubação manual, em lanço, imediatamente após o corte de uniformização, usando 400 kg N ha⁻¹ ano⁻¹ na forma de nitrato de amônio (NH₄NO₃), parcelados em 33,3 e 44,4 kg de N ha⁻¹ para os tratamentos de 42 e 28 dias, respectivamente, seguidos de irrigação por aspersão. O manejo da irrigação do experimento foi baseado no monitoramento das condições hídricas do solo por meio de seis tensiômetros instalados em duas parcelas de cada genótipo, a 30 cm de profundidade. As parcelas eram irrigadas por aspersão para minimizar o estresse hídrico, fornecendo 8 a 12 mm de lâmina de água, quando os tensiômetros registrassem valores de potencial hídrico no solo entre 0,30 e 0,40 kPa.

3.2.2 Análise bromatológica

A análise bromatológica das amostras foi realizada no Laboratório de Ciências Agrárias, Departamento de Zootecnia da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA) da Universidade de São Paulo, Campus de Pirassununga (21°59' S e 47°26' O e altitude 634 m). Foram analisados os teores de matéria seca (MS) a 105°C, de cinzas (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), segundo a AOAC (2005). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e de fibra em detergente ácido (FDA) foram determinados segundo a método descrito por Van Soest et al. (1991), modificadas para os aparelhos A2000 e A20001 Filter Bag Technique-Methods 12 e 13 (ANKOM Technology Corporation, Macedon, NY, USA) (ANKOM, 2013), respectivamente. A hemicelulose (HE=%FDN-%FDA), a matéria orgânica (MO=100%-%CINZAS) e o conteúdo celular (CC=100%-%FDN) foram estimados pela diferença segundo Hall (2000). A matéria seca foi calculada após secagem em estufa a 105-106 °C. Todas as variáveis da análise bromatológica tiveram seus teores corrigidos com base na MS.

3.2.3 Análise estatística

Os dados do experimento foram analisados usando o procedimento GLIMMIX do Statistical Analysis System, SAS (LITTEL et al., 2006). As médias dos tratamentos foram estimadas pelo método dos mínimos quadrados utilizando o comando LSMEANS e a comparação entre elas foi feita por meio da probabilidade da diferença ("PDIF"), usando o teste "t-Student" com nível de 5% ($P \leq 0,05$) de probabilidade, segundo Tukey. Considerou-se como efeito fixo, o cultivar, frequência de corte, época do ano, e suas interações, e aleatório bloco, baseado no seguinte modelo:

$$Y = \mu + S_i + F_j + S_i F_j + E_l + E_i S_j + E_l F_j + S_i F_j E_l + A_k + A_k S_i + A_k F_j + A_k E_l + A_k S_i F_j + A_k S_i F_j E_l + e_{ijkl}$$

Onde: Y_{ijkl} = Média da resposta; μ = Média geral; S_i = Espécies (i = Marandu, Mulato II e Tifton 85); F_j = Frequências de cortes (j = 28 e 42 dias); E_l = Estações de ano (l = primavera, verão, outono e inverno); A_k = Efeito do ano (k = 2012 e 2013); $S_i F_j$; $F_j E_l$; $A_k S_i$; $A_k F_j$; $A_k E_l$ = Interações espécies e frequências, estações e ano; $A_k S_i F_j$ = interação ano, espécies e frequência de cortes; $A_k S_i F_j E_l$ = interação quádrupla e e_{ijkl} = Erro aleatório do experimento.

3.3 Resultados e Discussão

No ano de 2012/13, as precipitações mais baixas foram registradas nos meses de julho (3,0 mm) e setembro (1,7 mm), e nenhuma ocorrência de precipitação registrada em agosto (0,0 mm). As

precipitações mais altas foram registradas em janeiro de 2011/12 e 2012/13 na ordem de 214,9 mm e 224,7 mm, respectivamente. As médias mensais de temperatura máxima e mínima, e total mensal da precipitação durante o período experimental (Piracicaba, SP) são apresentadas na Tabela 1.

O teste “F” dos efeitos das espécies, frequência de corte, ano e estação do ano e suas interações nas médias das variáveis respostas químico-bromatológicas é apresentado na Tabela 1. As variáveis dependentes tiveram interações significativas ao nível de $P < 0,05$. Contudo, no presente trabalho são apresentadas todas as combinações com diferenças significativas até a interação da terceira ordem.

Tabela 2 - Teste “F”: Efeitos fixos de variáveis bromatológicas.

Fontes de Variação	Variáveis Respostas*								
	MS	MM	FDN	FDA	MO	CC	PB	EE	HE
Espécies (S)	Ns	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	Ns
Freq. de corte (F)	Ns	Ns	0,0163	0,0004	Ns	0,0105	0,0003	0,0020	Ns
S x F	0,0001	0,0001	Ns	Ns	0,0001	Ns	Ns	Ns	Ns
Estação do ano (E)	0,0003	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	Ns
E x S	Ns	0,0002	0,0001	0,0001	0,0004	0,0001	0,0012	0,0001	Ns
E x F	0,0001	Ns	0,0003	Ns	Ns	0,0001	0,0001	0,0281	Ns
E x S x F	Ns	0,0001	0,0081	Ns	0,0001	0,0204	Ns	0,0001	0,0288
Ano (A)	Ns	0,0008	0,0001	0,0005	0,0006	0,0001	0,0011	Ns	Ns
A x E	0,0001	0,0002	0,0016	0,0051	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	Ns
Ano x s	0,6301	0,0093	0,0042	0,0012	0,0075	0,0005	0,0143	0,0093	0,5482
Ano x F	0,7836	0,2779	0,0001	0,0001	0,2665	0,1695	0,0001	0,2779	0,0087
A x E x S	Ns	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0250	Ns	0,0001
A x E x F	0,0003	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0187
A x E x S x F	Ns	Ns	0,0001	0,0062	Ns	0,0001	0,0002	0,0009	Ns

* $P=0,05$ de significância pelo teste “T”; MM-matéria seca; MM-cinzas; FDN-fibra em detergente neutro; FDA-fibra em deternte ácida; MO-matéria orgânica; CC-conteúdo celular; PB-proteína bruta; EE-extrato etéreo e HE-hemicelulose.

3.3.1 Matéria seca (MS) e matéria mineral (MM)

Houve efeitos da estação do ano ($P=0,0003$) e das interações espécie vs. frequência de corte, estação do ano vs. frequência de corte, ano vs. estação do ano ($P=0,0001$) e ano vs. estação do ano vs. frequência de corte ($P=0,0003$) nos teores médios de MS das forrageiras avaliadas.

No ano 2011/12, considerando a frequência de corte de 28 dias, as médias ponderadas dos teores de MS das espécies foram maiores ($P < 0,05$; Tabela 3) no outono ($944,5 \text{ g kg}^{-1}$ MS), seguidas pelas médias de primavera ($935,9 \text{ g kg}^{-1}$ MS), verão ($929,9 \text{ g kg}^{-1}$ MS) e inverno ($926,4 \text{ g kg}^{-1}$ MS). Na frequência de corte de 42 dias, os maiores teores foram constatados na primavera ($939,7 \text{ g kg}^{-1}$ MS), seguidos do outono ($937,4 \text{ g kg}^{-1}$ MS), verão ($935,4 \text{ g kg}^{-1}$ MS) e Inverno ($928,8 \text{ g kg}^{-1}$ MS). Em 2012/13, verificou-se comportamento semelhante para as duas frequências de corte avaliadas,

sendo os maiores teores observados no verão (936,3 g kg⁻¹ MS), outono (931,6 g kg⁻¹ MS) e inverno (938,9 g kg⁻¹ MS), diferindo daqueles encontrados na primavera (927,8 g kg⁻¹ MS), $P \leq 0,05$.

Exceto no outono de 2011/12, os teores de MS dos capins avaliados foram superiores para a frequência de corte de 42 dias. O tempo mais prolongado de crescimento contribuiu para que as plantas tivessem maiores teores de MS. Para o ano de 2012/13, independentemente da estação do ano, os teores de MS para as duas frequências de corte foram semelhantes, supostamente devido ao efeito da irrigação e adubação na redução ou aumento de MS numa das frequências de corte. Entre os anos e para as frequências de corte 28 e 42 dias, os maiores teores de MS ocorreram na primavera e outono de 2011/12. Em 2012/13, os maiores teores foram observados no verão e inverno para 28 dias, enquanto que para 42 dias, apenas no inverno os teores foram superiores.

Para os teores de matéria mineral (MM) houve efeitos de espécie, estação do ano ($P=0,0001$), ano ($P=0,0008$) e das interações espécie vs. frequência de corte ($P=0,0001$), estação do ano vs. espécie, ano vs. espécie ($P=0,0002$), estação do ano vs. espécie vs. frequência de corte ($P=0,0001$), ano vs. estação do ano vs. espécie, ano vs. estação do ano vs. frequência de corte ($P=0,0001$), Tabelas 3, 4 e 5.

O maior teor de MM foi observado no inverno e no verão de 2011 (Tabela 3), na amostragem de 28 dias de rebrotação (120,7 e 117,4 g de MM kg⁻¹ de MS, respectivamente), comparado com as outras estações; sendo a média mais baixa registrada no outono (109,1 g MM kg⁻¹ MS), época com temperatura e umidade mínimas registradas (Tabela 1). Contudo, no mesmo ano e no corte a cada 42 dias o teor mais elevado de MM foi registrado na primavera (117,3 g MM kg⁻¹ MS) e verão (117,7 g MM kg⁻¹ MS), sendo semelhantes ao teor observado para o outono (113,4 g MM kg⁻¹ MS) e superiores aos valores de inverno (111,6 g MM kg⁻¹ MS).

Em 2012, o máximo teor de MM foi registrado no inverno em cortes de 42 dias (125,2 g MM kg⁻¹ MS) e o menor teor na primavera (111,2 g MM kg⁻¹ MS), no verão (116,8 g MM kg⁻¹ MS) e outono (114,8 g MM kg⁻¹ MS). Na frequência de corte de 28 dias, no mesmo ano, o maior teor de MM foi observado no verão (124,4 g MM kg⁻¹ MS) e o menor na primavera (112,0 g MM kg⁻¹ MS), sendo a MM do outono (121,8 g MM kg⁻¹ MS) e inverno (116,8 g MM kg⁻¹ MS) intermediários e diferentes apenas da média de verão.

Segundo Rassini (2004), a produção de massa de forragem e as características nutricionais das plantas forrageiras são fortemente influenciadas pelas estações de ano, condições do clima, principalmente na época da estacionalidade, associada às baixas temperaturas e ao baixo fotoperíodo na época seca. O mesmo autor relata que a maior parte das espécies forrageiras interrompe completamente o crescimento no inverno, mesmo quando irrigadas.

O capim-marandu apresentou maior teor de MM no verão (124,3 g Kg⁻¹ MS) e inverno (123,1 g Kg⁻¹ MS), quando cortado a 28 dias de intervalo de rebrotação, enquanto que na primavera (115,4 g Kg⁻¹ MS) e outono (116,3 g Kg⁻¹ MS) a MM não foi diferente ($P>0,05$) (Tabela 3). No intervalo de 42 dias os maiores teores foram observados no inverno (123,4 g Kg⁻¹ MS), verão (121,8 g Kg⁻¹ MS) e outono (118,3 g Kg⁻¹ MS). O capim-marandu apresentou maiores teores de MM na primavera (115,4 g Kg⁻¹ MS) e Verão (124,3 g Kg⁻¹ MS), quando cortado a cada 28 dias, e no outono (118,6 g Kg⁻¹ MS) e inverno (123,4 g Kg⁻¹ MS) nos cortes intercalados por 42 dias.

Tabela 3 - Composição química de gramíneas forrageiras, considerando as frequências de corte, estação do ano e ano.

Frequência de Cortes								
Análise	28 Dias				42 Dias			
	Estações do Ano							
Química	P	V	O	I	P	V	O	I
..... g kg ⁻¹ MS.....								
2011/12								
MS	935,9 Bb†	929,9 Cb‡	944,5 Aa†	926,4 Cb‡	939,7 Aa†	935,4 Ba†	937,4 ABb†	928,8 Ca‡
MM	112,5 Bb†	117,4 Aa‡	109,1 Bb‡	120,7 Aa†	117,3 Aa†	117,7 Aa†	113,4 ABa†	111,6 Bb†
FDN	647,2 Bb‡	667,3 Ab†	623,5 Cb‡	619,4 Cb‡	662,5 Ba‡	678,8 Aa‡	640,9 Ca‡	623,7 Da‡
FDA	331,3 BCB‡	371,7 Aa†	338,2 Bb‡	322,3 Cb‡	365,8 Aa†	370,4 Ab‡	360,2 Aa†	340,7 Ba†
MO	887,4 ABa†	882,6 BCa†	890,9 Aa†	879,4 Cb‡	882,7 Bb‡	882,3 Ba‡	886,6 ABb†	888,4 Aa†
CC	352,8 Ba†	332,7 Ca‡	376,5 Aa†	380,4 Aa†	337,5 Cb†	321,2 Db†	359,0 Bb†	376,4 Ab†
PB	151,4 Ba†	128,6 Cb‡	109,5 Db‡	180,6 Aa†	128,6 Ca‡	135,1 Ca†	156,7 Ba†	167,3 Aa‡
EE	13,1 Ba†	10,6 Cb‡	15,5 Aa†	15,2 Aa†	9,3 Cb‡	12,6 Ba†	15,1 Aa†	13,7 ABb†
2012/13								
MS	927,8 Bb‡	936,3 Ab†	931,6 Ab‡	938,9 Aa†	927,8 Bb‡	936,3 Ab†	931,6 Ab‡	938,9 Aa†
MM	112,0 Ca†	124,4 Aa†	121,8 ABa†	116,8 BCB‡	111,2 Bb‡	116,8 Bb†	114,8 Bb†	125,2 Aa†
FDN	698,0 Aa†	662,1 Bb‡	663,8 Ba†	649,3 Ba†	671,8 Bb†	701,6 Aa†	656,7 Bb†	664,1 B†
FDA	375,6 Aa†	368,6 Ab‡	368,5 Aa†	326,8 Bb†	362,9 Bb‡	385,5 Aa†	343,1 BCB‡	330,4 Ca‡
MO	887,9 Aa†	875,6 Cb‡	878,2 BCB‡	883,2 ABa†	888,8 Aa†	8832 Ba‡	885,2 ABa†	874,9 Cb‡
CC	301,9 Ca‡	337,9 ABa†	336,2 Bb†	350,7 Aa‡	328,2 Ab‡	298,4 Bb‡	343,4 Aa‡	335,9 Ab‡
PB	128,3 Db†	142,8 Ca†	152,8 Ba†	167,1 Ab†	119,3 Bb‡	114,8 Bb‡	150,8 Ab‡	143,8 Ab‡
EE	11,4 Ca‡	16,6 Aa†	13,7 Ba‡	13,0B Cb‡	10,7 Bb†	13,6 Ab†	13,7 Aa‡	14,0 Aa†

As médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem ($P\leq 0,05$) entre as estações do ano dentro de cada frequência de corte. Médias seguidas pela mesma letra minúsculas na linha não diferem entre as frequências de corte dentro da mesma estação do ano. Médias seguidas do mesmo script (†‡) não diferem entre anos dentro da mesma estação. MM- matéria mineral; MO- matéria orgânica; CC- conteúdo celular; FDN- fibra em detergente neutro; FDA- fibra em detergente ácido; EE- extrato etéreo. P-primavera; V-verão; O-outono; I-inverno.

A MM do Mulato II não teve variação ($P>0,05$) entre as estações do ano na frequência de 28 dias, enquanto que na de 42 dias, no verão, outono e inverno, tiveram teores semelhantes e superiores aos teores médios na primavera. Em todas as estações do ano, os teores de MM foram superiores ($P<0,05$) na frequência de corte de 28 dias.

Para o capim-Tifton-85 os teores médios de MM na frequência de corte de 28 dias foram superiores para o verão em relação à primavera e outono, e semelhantes aos de inverno. Para a frequência de corte de 42 dias os teores médios de MM foram superiores na primavera em relação às demais estações do ano. Diferentemente dos capins Marandu e Mulato II, o capim-Tifton-85 apresentou maiores teores de MM na frequência de corte de 42 dias em todas as estações do ano, exceto no verão. Os teores mais elevados de MM foram obtidos para o capim-marandu no verão (124,2 g kg⁻¹MS) e inverno (130,9 g kg⁻¹MS), em 2011/12 e 2012/13, respectivamente (Tabela 4). Houve variação crescente de MM ao longo das estações, sendo que em 2012/13 houve maior acúmulo.

Em 2011/12, o capim-mulato apresentou teores semelhantes no decorrer das estações do ano, enquanto que em 2012/13, os maiores teores foram observados no verão, outono e inverno. Entre os anos e estações do ano não houve variação de MM, sendo que a MM no verão, outono e inverno de 2012/13 foi semelhante a de 2011/12 em todas as estações. O Tifton-85 apresentou maior teor de MM na primavera de 2011/12 e no verão e outono de 2012/13. Na primavera e inverno de 2011/12 os teores de MM foram superiores aos encontrados em 2012/13, e foram semelhantes no verão, enquanto que no outono, os maiores teores foram observados em 2012/13.

Quanto maior a diversidade dos elementos químicos que compõem a MM da forragem e a sua concentração, melhor será para os animais, pois podem resultar em maior proveito dos minerais disponíveis na planta para a atividade fisiológica dos animais. Balieiro Neto et al. (2007), em capim-Tifton-85 irrigado e fertilizado (200 kg N ha⁻¹), obtiveram teores médios de MM de 28,2 g kg⁻¹MS (média de cortes no período de dezembro a julho), mas com maior variação estacional de MM no verão (13,2 g MM kg⁻¹ MS) e outono (34,2 g MM kg⁻¹ MS), teores considerados inferiores em relação aos resultados médios obtidos neste experimento, sugerindo diferenças causadas pelo nitrogênio aplicado e o perfil químico do solo.

Entre as espécies forrageiras, o Tifton-85 apresenta menor média do conteúdo de MM em relação às outras espécies, tanto no intervalo de corte de 28 dias (94,0 g kg⁻¹ MS) como no de 42 dias (100,1 g kg⁻¹ MS), valores obtidos na primavera e outono, respectivamente. Embora os capins Marandu e Mulato II tenham apresentado conteúdos similares de MM, o Mulato foi o que apresentou o pico de MM entre as espécies, com teor 131,6 g kg⁻¹ MS, no inverno.

Outros fatores que determinam a MM das plantas forrageiras é sua idade, a espécie considerada, umidade do solo, dose e fonte de adubos. A baixa concentração de elementos minerais na planta pode ser devido a sua menor disponibilidade no solo, reduzida capacidade genética da planta em assimilar e acumular os elementos ou indicativo de baixa exigência do elemento mineral. Da mesma forma, elevadas concentrações são indicativos de excesso de disponibilidade no solo, alta

capacidade genética da planta para altas taxas de acumulação ou elevada exigência para o crescimento da planta. A disponibilidade dos minerais depende da sua existência no solo e de umidade, pois ela facilita a mobilidade dos elementos nutritivos no complexo de troca catiônica. A elevada disponibilidade dos minerais no solo aliada a alta solubilidade permite que esses elementos se situem em níveis altos nas plantas, desde que não se observe antagonismo entre eles e resulte em risco para a saúde do animal. A MM observada na primavera e outono na frequência de desfolhação de 28 dias pode ser devido ao maior acúmulo de MM nos tecidos em crescimento do que no inverno e na idade mais avançada das plantas, com menor conteúdo de minerais nos seus tecidos. A rega e a umidade do solo permitem maior mobilidade dos nutrientes, e consequentemente maiores teores destes elementos nos tecidos das plantas.

3.3.2 Fibra em detergente neutro e ácido, matéria orgânica, conteúdo celular e hemicelulose

Para os teores de fibra em detergente ácido e neutro houve efeitos de espécie ($P=0,0001$), frequência de corte (FDN, $P=0,0163$; FDA, $P=0,0004$), estação do ano ($P=0,0001$), ano (FDN, $P=0,0001$; FDA, $P=0,0005$), e das interações estação do ano vs. espécie ($P=0,0001$), estação do ano vs. frequência de corte (FDN, $P=0,0003$), ano vs. espécie (FDN, $P=0,0016$; FDA, $P=0,0051$), estação do ano vs. espécie vs. frequência de corte (FDN= $0,0081$), ano vs. estação do ano vs. espécie ($P=0,0001$), ano vs. estação do ano vs. frequência de corte ($P=0,0001$), Tabela 2.

Os teores de fibra em detergente ácido (FDA) e neutro (FDN) correlacionam-se negativamente com a digestibilidade e ingestão dos alimentos, respectivamente. Na primavera e verão de 2011/12 a FDN foi de 647,2 e 667,3 g kg⁻¹ MS, teores superiores aos observados em outono e inverno (623,5 e 619,4 g kg⁻¹ MS), no corte aos 28 dias, mas não superaram a média de FDN dos cortes da forragem aos 42 dias de idade, em todas as estações do ano (Tabela 3). No ano de 2012 as plantas forrageiras apresentaram maior teor de FDN na primavera e verão para as frequências de corte de 28 e 42 dias, respectivamente. Comparativamente, no ano de 2012/13 os teores de FDN foram superiores apenas na primavera, outono e inverno de 2011/12 para a frequência de corte de 28 dias, enquanto que na frequência de corte de 42 dias, os teores de FDN foram superiores em todas as estações no ano de 2012/13, com uma variação de 664,1 g kg⁻¹ MS (inverno) a 701,6 g kg⁻¹ MS (verão).

Com 28 dias de intervalo de rebrotação (Tabela 4), o capim-marandu apresentou teores de FDN na primavera (667,4g kg⁻¹ MS) e verão (669,5 g kg⁻¹ MS) superiores aos das estações de outono (624,2 g kg⁻¹ MS) e inverno (603,5 g kg⁻¹ MS). As médias de FDN entre as frequências de corte para

o capim-marandu foram semelhantes nas estações do ano ($P>0,05$), exceto no verão. Portanto, o verão foi determinante na variação do teor de FDN entre as frequências de corte.

O capim-marandu apresentou variação da FDN nas estações do ano (Tabela 5). O diapasão de variação foi de 602,9 g kg⁻¹ MS (inverno) a 668,7 g kg⁻¹ MS (verão) de 2011 e 601,2 g kg⁻¹ MS (inverno) 691,4 g kg⁻¹ MS (verão), em 2012. Nas estações de primavera, verão e outono de 2012, os teores de FDN do capim-marandu aumentaram 5,4%; 3,3%, e 6,6%, respectivamente, em relação a 2011/12. Entre junho e setembro de 2012/13 ocorreu a menor queda das chuvas e menor temperatura mínima (agosto), o que proporcionou aumento de FDN nas forrageiras. Embora o Marandu tenha sido irrigado e fertilizado com N, pode-se esperar aumento de FDN nos tecidos devido ao stress térmico provocado pela oscilação das temperaturas. No entanto, Reis et al. (2013) reportaram 714,0-720,0 g de FDN kg⁻¹ MS em Marandu irrigado e com doses de fertilização nitrogenada, teores superiores aos reportados neste experimento, indicando que o capim-marandu cultivado nas condições específica deste experimento, apresentou melhor (teoricamente) qualidade nutritiva dado possuir menor conteúdo de FDN, e consequentemente pode ser mais consumido em relação àquele reportado por Reis et al. (2013).

O conteúdo médio de FDN do Mulato II, na primavera e verão, foi semelhante ($P>0,05$) e superior ao conteúdo de outono-inverno no corte de 28 dias de rebrotação (Tabela 4). O conteúdo de FDN aumentou em 6,6%; 4,2% e 16,0% no verão, inverno e primavera, em relação ao outono, respectivamente, quando o Mulato II foi cortado aos 42 dias de intervalo de rebrotação. No corte com 42 dias de intervalo, as médias de FDN do capim-mulato II, no verão e inverno, foram superiores aos observados no intervalo de 28 dias. Nas outras estações as médias foram semelhantes ($P>0,05$). Em 2011/12, os teores de FDN do Mulato II são maiores ($P<0,05$) no verão comparadas com as médias das outras estações (Tabela 5). Sendo que as médias dessas duas estações foram na ordem de 590,5 - 595,8 g kg⁻¹ MS (outono-inverno). No ano 2011/12 as médias de FDN foram menores que as de 2012/13, em todas as estações do ano. Este padrão de acúmulo de FDN pelo cultivar Mulato II é semelhante ao padrão do capim-marandu, pois as duas espécies obtiveram valores altos de FDN no verão em comparação com as outras estações do ano e entre os anos de estudo.

Para o capim-Tifton 85 cortado a cada 28 dias, os teores médios de FDN não foram significativamente diferentes entre as estações do ano ($P<0,05$), Tabela 4. Na desfolhação realizada no intervalo de 42 dias, na primavera (716,1g kg⁻¹ MS) e verão (722,3 gkg⁻¹ MS) os teores foram iguais ($P>0,05$) e superiores aos teores no inverno (701,9 g kg⁻¹ MS), enquanto aqueles obtidos no outono (687 g kg⁻¹MS) foram semelhantes aos de primavera ($P>0,05$), Tabela 4. Na comparação de frequências de corte, apenas no verão houve superioridade para as médias de 42 dias, sendo que nas demais estações os teores médios de FDN foram semelhantes ($P>0,05$). Ao longo das estações do ano

não houve diferenças significativas entre as médias de FDN do capim-tifton 85, nos dois anos avaliados, exceto no inverno de 2011/12 (Tabela 5). Os teores médios de FDN foram semelhantes nos dois anos avaliados para todas as estações do ano. Uma tendência similar foi reportada por Sohm et al. (2014) em Bermudagrass irrigado e fertilizado (N), com variações de FDN menores ao longo dos anos nas doses baixas de N, mas com maior variação quando as doses de N eram acima de 500 kg ha⁻¹ por ano. Quando mais N era aplicado menor era a variação de FDN entre as datas de desfolhação.

Tabela 4 - Composição química de plantas forrageiras cortadas em duas frequências de corte, nas estações dos anos 2011/12 e 2012/2013.

Composição		Estações do Ano											
		P	V	O	I	P	V	O	I	P	V	O	I
Química		Marandu				Mulato II				Tifton-85			
		g kg ⁻¹ MS.....											
		28 dias											
MM		115,4 Bb†	124,3 Ab†	116,3 Bb†	123,1 Ab†	127,5 Aa†	131,6 Aa†	130,6 Aa†	131,6 Aa†	94,0 Cb‡	106,8 Ac†	99,6 BCc†	101,5 ABc†
MO		884,6 Ab‡	875,7 Bb†	883,7 Ab†	876,9 Bb†	872,5 Ac†	868,4 Ac†	869,4 Ab‡	868,4 Ac†	906,1 Aa†	893,2 Ca‡	900,4 ABa†	898,5 BCa†
FDN		667,4 Ab†	669,5 Ab‡	624,2 Bb†	603,5 Cb†	638,7 Ac†	629,1 ABc‡	609,3 BCb†	600,5 Cb‡	711,8 Aa†	696,5 Aa‡	697,4 Aa†	699,4 Aa†
FDA		356,6 Aa†	374,7 Aa‡	356,4 Ba†	310,7 Cb‡	325,9 BCb‡	357,9 Ab†	339,7 Bb†	306,8 Cb‡	377,8 Aa†	377,7 Aa‡	363,9 ABa†	356,0 Ba†
CC		332,6 Cb†	330,5 Cb†	375,8 Bb†	396,5 Aa†	361,3 Ba†	370,9 Ba†	390,7 Aa†	399,5 Aa†	288,2 Ac†	304,5 Ac†	302,6 Ac†	300,7 A†b
HE		310,8 Aa†	294,8 Ab‡	267,9 Bb‡	292,8 Ab‡	312,4 Aa†	271,8 Bc‡	269,6 Bb‡	293,7 Ab‡	334,0 Aa†	317,8 Ba†	333,4 ABa†	343,3 Aa†
EE		13,0 Aa†	13,7 Aa†	13,6 Ab‡	12,9 Ab‡	12,9 Ba†	11,6 Bb‡	16,9 Aa†	16,2 Aa†	10,8 Bb‡	14,5 Aa†	13,4 Ab†	13,2 Ab†
		42 dias											
MM		110,1 Bb‡	121,8 Ab†	118,6 Aa†	123,4 Aa†	118,4 Ba‡	128,5 Aa†	123,5 ABA‡	129,2 Aa†	114,2 Aab†	101,6 Bc‡	100,1 Bb†	102,6 Bb†
MO		889,9 Aa†	878,3 Bb†	881,5 Bb†	876,6 Bb†	881,6 Ab†	871,5 Bc†	876,5 Ab†	870,8 Bb†	885,8 Bab‡	898,4 Aa†	899,9 Aa†	897,5 Aa†
FDN		653,8 Bb†	690,6 Ab†	627,3 Cb†	600,0CDc†	631,6 BCc†	657,8 Ac†	617,3 Cb†	643,2 ABb†	716,1 ABa†	722,3 Aa†	701,9 BCa†	687,9 Ca†
FDA		363,9 Aab†	376,6 Ab†	345,5 Bb‡	324,3 Cb†	344,6 ABa†	358,0 Ac†	337,5 Bb†	318,5 Cb†	384,5 ABa†	399,2 Aa†	372,0 BCa†	363,9 Ca†
CC		346,3 Ca†	309,4 Db†	372,7 Bb†	399,5 Aa†	368,4 ABa†	342,2 Ca‡	382,7 Aa†	356,9 BCb†	283,9 BCb†	277,8 Cc‡	298,1 ABb‡	312,1 Ac†
HE		289,9 ABb†	314,0 Aab†	281,9 Bb‡	276,3 Bb‡	287,0 Bb‡	299,8 Bb†	279,9 Bb‡	324,7 Aa†	331,6 Aa†	323,0 Aa†	329,9 Aa†	324,5Aa‡
EE		9,4 Bb‡	15,3 Aa†	15,2 Aa†	15,1 Aa†	13,2 ABA†	12,9 Bb‡	15,7 Aa†	13,8 ABab‡	7,5 Bb‡	11,1 Ac‡	12,1 Ab†	12,6 Ab†

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre as estações do ano dentro da mesma forrageira. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não diferem entre as espécies dentro da mesma estação do ano e frequência de corte ($P \leq 0,05$). Médias com mesmo script (†‡) não diferem entre si, na comparação de frequências de corte dentro de cada frequência de corte. MM- matéria mineral; MO- matéria orgânica; CC-conteúdo celular; FDN- fibra em detergente neutro; FDA- fibra em detergente ácido; Extrato etéreo; P-Primavera; V- Verão; O- Outono e I- Inverno.

A composição média de FDN das espécies teve diferenças significativas perante as interações espécie vs. estações do ano vs. frequências de corte (Tabela 4) e entre espécies vs. ano vs. estações do ano (Tabela 5). Os capins Marandu e Mulato II apresentaram teores de FDN semelhantes no outono e inverno no corte de 28 dias. O Marandu teve teores altos de FDN em relação ao Mulato II apenas na primavera e verão. Contudo, a FDN destas espécies foi menor em relação ao do Tifton-85 em todas as estações do ano dentro da frequência de corte de 28 dias. Este padrão de FDN das espécies repetiu-se no corte de 42 dias. Em 2011/12 e 2012, a FDN do Tifton-85 foi superior ao de Marandu e Mulato II em todas as estações; sendo que entre as duas *Brachiarias* não houve diferença no outono e inverno. O conteúdo de FDN nas espécies segue a seguinte ordem decrescente independentemente dos contrastes entre anos, frequências de cortes ou estações do ano: FDN do Tifton-85 > FDN do Marandu > FDN do Mulato II. Os colmos do Tifton-85 podem contribuir para este comportamento, pois eles são mais fibrosos em relação aos dos capins Mulato e Marandu. Observou-se que estes capins têm maior abundância de folhas largas, menor relação colmo: folha, especialmente nos cultivos irrigados e adubados com o nitrogênio, quando a densidade populacional não é regular.

Os teores médios de FDA foram maiores no verão de 2011/12 para cortes a cada 28 dias e na primavera, verão e outono em cortes a cada 42 dias. Em 2012 houve inversão no comportamento, uma vez que na frequência de corte a cada 28 dias as maiores médias ocorreram na primavera, verão e outono e para 42 dias ocorreu no verão. Em 2011/12, para os cortes no intervalo de 42 dias, as médias de FDA foram superiores às médias do corte no intervalo de 28 dias, exceto no verão. Em 2012, os teores médios de FDA foram maiores no verão e inverno em cortes realizados a cada 42 dias. De forma geral, o corte no intervalo de 42 dias apresenta maior teor de FDA em relação ao corte de 28 dias. Entre as estações do ano, o verão tem maior conteúdo médio de FDA em relação às outras estações. Teoreticamente, quando maior a idade da planta maior é o teor de FDA, já que ela se relaciona directamente e de forma crescente com a idade da planta.

O capim-marandu, independentemente da frequência de corte apresentou maiores teores de FDA na primavera e verão, em relação a outono e inverno, na ordem de 356,6 g kg⁻¹ MS e 374,7 g kg⁻¹ MS, respectivamente (Tabela 4). Este comportamento foi também observado no intervalo de corte de 42 dias, onde o outono (345,5 g kg⁻¹ MS) e o inverno (324,3 g kg⁻¹ MS) obtiveram menores teores de FDA em relação às outras estações. Entre as frequências de corte houve variação de FDA no verão, outono e no inverno. A FDA de verão e inverno no corte de 42 dias foi superior aos valores dos cortes de 28 dias. Teores superiores de FDA foram reportados por Sá et al. (2011) em Marandu cultivado em parcelas e cortado aos 20 cm da superfície do solo, com idades de rebrotação de 28 (425,0 g FDA kg⁻¹ MS), 35 (444,0 g FDA kg⁻¹ MS) e 54 (496,0 g FDA kg⁻¹ MS) dias, mas sem

irrigação e aplicação de fertilizantes. Menores teores de FDA obtidos neste experimento (310,7 g FDA kg⁻¹ MS) no Inverno e na primavera (376,6 g FDA kg⁻¹ MS), para 28 e 42 dias de intervalo de corte, respectivamente, podem ter ocorrido devido ao manejo intensivo imposto aos cultivares, uma vez que a irrigação e a adubação nitrogenada suplementares, associada à frequência de corte, provocam redução no conteúdo de celulose, lignina e proteína insolúvel nas plantas forrageiras.

As médias de FDA de Mulato II foram superiores no verão para ambas as frequências de cortes. Na primavera e inverno, os teores de FDA foram maiores no intervalo de corte de 42 dias, no verão foram semelhantes. Independentemente da estação do ano os maiores teores de FDA foram observados no corte de 42 dias, 318 a 357,0 g kg⁻¹ MS vs. 306 a 357,9 g kg⁻¹ MS obtidos no corte de 28 dias. No verão de 2011/12, os teores de FDA foram maiores (372,3 g kg⁻¹ MS) em relação às demais estações, enquanto que em 2012/13, as médias de primavera, verão e outono foram semelhantes às observadas no inverno, que se assemelharam somente às médias de primavera. Entre os anos, o Mulato II apresentou maiores teores de FDA na primavera, outono e inverno de 2012/13 e apenas no verão (372,3 g kg⁻¹ MS) de 2011/12 teve teores de FDA superiores aos de verão de 2012/13 (364,1 g kg⁻¹ MS), tabela 5.

Os teores de FDA do capim-tifton 85 foram maiores na primavera e verão no intervalo de desfolhação de 28 dias, em relação às outras estações (Tabela 4). Esta tendência foi observada também no corte de 42 dias, nas mesmas estações do ano. Valores de FDA do Tifton 85 foram superiores aos valores de Marandu e Mulato II nas duas frequências de desfolhação. No ano de 2011/12 (Tabela 5) o Tifton teve também valores de FDA maiores na primavera e verão em relação às outras estações e em 2012/13 as diferenças foram detectadas apenas entre o inverno (345,8 g kg⁻¹ MS) e as restantes estações, com média de 381,3 g kg⁻¹ MS. E houve diferenças de FDA entre os anos e dentro das estações, sendo a primavera e verão de 2012/13 superiores ao FDA de 2011/12 nas mesmas estações. O conteúdo de FDA das espécies foi diferente entre as frequências de corte dentro das estações ao longo dos anos. Contudo, de forma geral o Tifton-85 apresentou teores de FDA superiores aos de Marandu e do Mulato, em ordem decrescente, como foi observado na FDN das espécies forrageiras, sendo que o Mulato II teve menores conteúdos de FDA e FDN, tanto entre cortes como entre estações do ano.

Para os teores de matéria orgânica (MO), houve efeitos de espécie (P=0,0001), espécie vs. frequência de corte (MO, P=0,0001), estação do ano (P=0,0001), estação do ano vs. espécie (MO, P=0,0004); estação do ano vs. espécie vs. frequência de corte (MO, P=0,0001), ano (MO, P=0,0006); ano vs. estação (0,0001), ano x estação x espécie (P=0,0001) e ano x estação x frequência de corte (P=0,0001).

Os teores de matéria orgânica (MO), em 2011/12, considerando as frequências de corte, foram maiores na primavera e outono, e outono e inverno, nos intervalos de corte de 28 e 42 dias, respectivamente. Para 2012/13, na primavera e inverno, e primavera e outono, os teores de MO foram superiores para 28 e 42 dias respectivamente. Os teores de MO dos capins avaliados foram superiores na primavera e outono de 2011/12 para os cortes realizados a cada 28 dias em relação a 42 dias de intervalo de cortes. No verão os teores foram semelhantes, enquanto que no inverno, intervalo de 42 dias favoreceu maior teor de MO. No ano de 2012/13, para o intervalo de 28 dias, apenas no inverno foi superior a 42 dias, sendo que no verão foram semelhantes. Comparando as médias de MO entre os anos avaliados, observou-se que para o intervalo de 28 dias, os teores de MO foram superiores no verão e outono, semelhantes na primavera e inferior no inverno para o ano de 2011/12. Já para 42 dias, os teores de MO foram semelhantes no verão e outono, inferior na primavera e superior no Inverno para o ano de 2011/12.

O capim-marandu apresentou maior teor de MO na primavera e verão no intervalo de corte de 28 dias, enquanto que para 42 dias os teores foram maiores para primavera em relação às demais estações do ano. Comparativamente, o corte a cada 28 dias favoreceu para maior teor de MO no outono e inverno em relação ao de 42 dias (Tabela 4), com resultados inversos na primavera e verão.

O corte a cada 28 dias para o capim-mulato não teve efeito ($P>0,05$) em seu teor de MO nas estações do ano, enquanto que o corte a cada 42 dias a planta apresentou maior teor de MO na primavera em relação às demais estações do ano. Em todas as estações do ano, os teores de MO foram superiores nos cortes realizados a cada 42 dias. Os teores de MO nas estações do ano foram superiores na primavera e outono para intervalo de 28 dias, enquanto para 42 dias no verão, outono e inverno foram registrados os maiores teores em relação aos dados médios da primavera. Comparando os dados médios de corte a cada 28 dias com aquele realizado a cada 42 dias, observa-se que na primavera e inverno houve superioridade para 28 dias, no outono semelhança e no verão inferioridade. O capim-marandu apresentou maiores teores de MO na primavera, outono e inverno em 2011/12, enquanto que em 2012/13, os teores de MO foram maiores na primavera e outono. O capim-mulato II apresentou maior teor de MO na primavera de 2011/12 e 2012/13 frente às outras estações do ano. Os teores de MO do capim-tifton 85 foi maior no outono de 2011/12 e na primavera e inverno de 2012/13.

O conteúdo celular (CC) da forragem, considerando intervalo de corte de 28 dias, foi superior no outono ($376,5 \text{ g kg}^{-1}\text{MS}$) e inverno ($380,4 \text{ g kg}^{-1}\text{MS}$), comparado aquele encontrado na primavera ($352,8 \text{ g kg}^{-1}\text{MS}$) e verão ($332,7 \text{ g kg}^{-1}\text{MS}$) em 2011/12. Para 2012/13, no verão e no inverno foram observados os maiores teores, sendo o menor teor encontrado na primavera e aquele do outono foi semelhante ao do verão. Para 42 dias, em 2011/12, houve diferença entre todas as estações do ano, e

os teores foram decrescentes do inverno, outono, primavera e verão. Em 2012/13, os menores teores foram observados no verão, frente às outras estações que não diferiram entre si (Tabela 3).

O CC do capim-marandu, independente da frequência de corte, apresentou maior teor no inverno, e menores teores na primavera-verão para 28 dias e verão para cortes a cada 42 dias. Os teores de CC foram superiores para o corte a cada 28 dias no Verão e outono, enquanto que para 42 dias foi na primavera e inverno (Tabela 4). O capim-mulato II teve maior teor de CC no outono e inverno no corte de 28 dias e primavera e outono a cada 42 dias. Cortes no intervalo de 28 dias favoreceram para maior teor de CC no verão, outono e inverno, enquanto que para 42 dias aconteceu na primavera. O capim-tifton 85 não apresentou variação ($P>0,05$) nos teores de CC durante as estações do ano no intervalo de 28 dias, enquanto que no outono e Inverno os teores de CC foram maiores para cortes de 42 dias. O Intervalo de corte de 28 dias favoreceu o capim-tifton 85 a ter maior teor de CC na primavera, verão e outono, enquanto que no Inverno os teores foram maiores para intervalo de 42 dias. Comparando a variação nos teores de CC nos anos avaliados, o capim-marandu apresentou maior teor no outono e inverno, comparado ao teor na primavera e verão de 2011/12. Em 2012/13, o maior teor foi observado no Inverno, os menores na primavera e verão e intermediário no outono. Os teores de CC em 2011/12, para todas as estações do ano, foram superiores aos encontrados em 2012/13. O capim-mulato II apresentou maior teor de CC na primavera e verão de 2011/13, menor no verão e intermediário na primavera. Em 2012/13, os maiores teores foram constatados no outono, enquanto que nas outras estações os teores foram semelhantes entre si (Tabela 5). Maior acúmulo de CC pelas espécies no inverno, nos cortes aos 28 dias sugere que elas possuem crescimento lento, com folhas ricas em açúcares e amido facilmente solúveis, contrariamente ao período de verão, com fluxo de tecidos muito rápido. No caso específico do capim-marandu na frequência de 28 pressupõe rápida colonização do substrato pelas bactérias e maior digestibilidade do cultivar nesta frequência de esfolhação.

O capim-tifton 85 teve maior teor de CC no Inverno de 2011/12 enquanto que em 2012/13 os teores foram iguais nas estações. Em 2011/12, os teores de CC foram superiores na primavera, outono e inverno, enquanto que no verão os teores foram maiores no ano de 2012/13.

As médias de hemicelulose (HE) dos capins forrageiros foram influenciadas pela interação do ano vs. estações do ano vs. espécies ($P=0,0001$) e pela interação ano vs. frequências de corte e espécies ($P=0,0288$), Tabela 3 e 4, respectivamente. As médias de HE obtidas no capim-marandu, nas estações de primavera+verão (PV) e outono+inverno (OI) não foram diferentes ($P=0,05$) entre si, no corte de 28 dias, mas tiveram diferenças significativas com a média de outono, na mesma frequência de corte. Nesta frequência de corte a concentração de HE variou entre 267,9 a 310,8 g kg⁻¹ MS, no Inverno e na primavera, respectivamente. Houve diferenças entre as médias do corte de 42 dias para

o capim-marandu, sendo que não houve diferenças entre a primavera, o outono e o inverno. Mas estas médias foram diferentes da média de verão. As médias variaram entre 276,3 a 314,0 g kg⁻¹ MS. Não houve diferenças significativas entre as médias dos cortes de 28 e 42 dias na primavera (310,8 vs. 289,9 g kg⁻¹ MS) e outono (267,9 vs. 281,9 g kg⁻¹ MS). As médias de primavera, verão e inverno foram diferentes entre os dois cortes.

Em 2011/12, os teores de HE do capim-marandu foram diferenciados entre as estações do ano ($P=0,05$), tabela 5. Contudo, as médias de primavera, verão e Inverno não foram diferentes entre si, mas houve diferenças entre o Inverno e o outono. O intervalo das médias variou de 246,9 a 303 g kg⁻¹ MS, obtidas no outono e na primavera, respectivamente. Em 2012/13, não houve diferenças entre primavera, verão e outono; apenas inverno teve diferenças significativas com as médias de verão e outono. Os teores de HE da primavera e inverno não foram diferentes entre si ($P>0,05$) no capim-mulato II, bem como entre as médias de verão e outono, na frequência de corte de 28 dias (Tabela 4). Sendo as médias variaram entre 269,6 g kg⁻¹ MS no outono e 312,4 g kg⁻¹ MS na primavera. No corte de 42 dias as médias foram diferentes entre si e variam de 279,9 g kg⁻¹ MS, no outono e; 324,7 g kg⁻¹ MS, no inverno. Comparando os cortes obteve-se similaridade das médias de outono (269,6 e 279,9 g kg⁻¹ MS). Contudo as médias de primavera, verão e inverno forma diferentes entre as frequências de 28 e 42 dias de intervalo de cortes. Em 2011/12 não houve diferenças entre os teores de HE entre as estações do ano para o Mulato II (Tabela 4). As diferenças ocorrerem, todavia em 2012/13, sendo que a teores de HE da primavera foram similares aos de verão e outono. Outono por sua vez não teve diferenças com o inverno. A amplitude das médias variou de 283,2 a 334,0 g kg⁻¹ MS. Entre os anos houve apenas diferenças entre as médias de primavera, outono e inverno.

O capim-tifton 85 teve variação de HE entre 317,8 a 343,3 g kg⁻¹ MS, sendo que as médias de primavera, outono e inverno foram similares e diferentes das médias de Verão e Inverno, no corte de 28 dias. Na frequência de 42 dias não houve diferenças significativas entre as médias do capim-tifton 85 ao longo das estações do ano. A concentração de HE foi a mais alta em todas as espécies e em comparação com o corte de 28 dias, do próprio capim-tifton 85. A diferença observada na comparação das médias entre as frequências de corte no capim-tifton 85 foram somente no inverno, contrariamente nas outras estações e cortes (não houve diferenças na primavera, verão e outono entre as duas frequências de corte).

Tabela 5 - Composição química de plantas forrageiras cortadas em duas frequências de corte, nas estações dos anos 2011/12 e 2012/2013.

Composição Química	Estações do Ano											
	P	V	O	I	P	V	O	I	P	V	O	I
	Marandu				Mulato II				Tifton 85			
	g kg-1 MS.....											
	2011/12											
MM	110,6 Bb†	124,2 Aa†	113,7 Bb‡	115,5 Bb‡	122,7 Aa†	129,1 Ab†	123,7 Ab‡	129,5 Ab†	111,5 Aa†	99,4 Ba‡	96,3 Bb‡	103,4 Ba†
MO	889,5 Aa†	875,9 Ba†	886,4 Aa†	884,5 Aa†	877,3 Aa†	870,9 Ba†	876,3 ABa†	870,5 B†	888,5 Cb‡	900,6 AB†	903,7 Aa†	896,6 Ba†
FDN	642,2 Bb‡	668,7 Ab‡	604,5 Cb‡	602,9 Cb†	612,4 Bc‡	639,7 Ac†	595,8 BCB‡	590,5 Cb‡	710,1 Aa†	710,7 Aa†	696,4 Aa†	671,6 Ba‡
FDA	338,7 Cb‡	388,9 Aa†	357,6 Ba†	314,3 Bb‡	328,3 Bb‡	372,3 Ab†	327,3 Bb‡	306,1 Cb‡	378,6 ACa†	351,9 Ac‡	362,9 Ca†	374,1 BCa†
CC	357,8 Ba†	331,3 Cb†	395,5 Aa†	397,1 Aa†	387,6 Ba†	360,2 Ca†	404,3 Aa†	409,5 Aa†	289,9 Bc†	289,2 Bc†	303,6 Bb†	328,4 Ab†
HE	303,5 Ab‡	296,4 Ab‡	246,9 Bb‡	288,6 Aa†	284,1 Ac‡	287,8 Ab‡	268,5 Ab‡	284,4 Aa†	331,5 Aa†	321,9 Aa†	333,6 Aa†	297,5 Ba†
PB	138,7 Ba†	129,5 BCa†	126,4 Cc‡	166,7 Ab†	141,3 Ba†	128,8 Ca†	134,4 BCB†	177,7 Aa†	139,9 Ba†	137,1 Ba†	138,6 Ba‡	177,5 Aa†
	2012/13											
MM	114,9 Ba†	121,9 Bb‡	121,1 Ba†	130,9 Aa†	123,2 Ba†	130,9 Aa†	130,4 ABa†	131,3 Aa†	96,7 Bb‡	109,0 Aa†	103,4 ABa†	100,7 Bb†
MO	885,0 Ab†	878,1 Ba†	878,9 ABb†	869,0 Cb‡	876,8 Aa†	869,0 Ba†	869,6 Bb‡	868,7 Bb†	903,3 Aa†	890,9 Ca‡	896,6 BCB‡	899,3 ABa†
FDN	678,9 Ab†	691,4 Aa†	647,0 Bb†	601,2 Cc†	657,9 Ac‡†	647,2 ABb†	630,9 Bb†	653,2 Ab†	717,8 Aa†	706,9 Aa†	702,9 Aa†	715,7 Aa†
FDA	381,8 Aa†	379,0 Aa†	344,3 Bb‡	320,7 Cb‡	342,2 ABb†	364,1 Ab‡	349,9 Ab†	319,2 Bb†	383,7 Aa†	388,0 Aa†	373,2 Aa†	345,8 Ba‡
CC	321,0 Ca†	308,6 Db‡	352,9 Bb‡	399,9 Aa†	342,0 Ba‡	352,8 Ba†	369,1 Aa‡	346,8 Bb‡	282,3 Ab†	293,0 Ac†	297,1 Ac†	284,4 Ac‡
HE	297,2 ABa†	312,4 Aa†	302,8 Ab‡	280,5 Bc‡	315,8 ^a Ba†	283,2B Cb‡	280,9 Cc†	334,0 Ab‡	334,1 Ba†	318,9 Ba†	329,7 Ba†	369,8 Aa†
PB	116,8 Bc‡	121,5 Bc†	146,1 Ab†	148,3 Ac‡	129,5 Ca†	123,7 Cb†	141,6 Bc†	154,0 Ab‡	124,9 Cb‡	141,2 Ba†	167,6 Aa†	164,0 Aa‡

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si para a mesma espécie, entre as estações e dentro do mesmo ano. Médias seguidas a mesma letra minúscula na linha não diferem entre si entre as espécies na mesma estação, teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Scripts comparam os anos na mesma espécie e estação. MM- matéria mineral; MO- matéria orgânica; CC- conteúdo celular; FDN- fibra em detergente neutro; FDA- fibra em detergente ácido; PB- Proteína bruta; P- Primavera; V- Verão; O- Outono e I- Inverno.

3.3.3 Proteína Bruta (PB) e Extrato etéreo (EE)

Para os teores de proteína bruta e extrato etéreo, houve efeitos de espécie ($P=0,0001$), frequência de corte (PB, $P=0,0003$; EE, $P=0,0020$), estação do ano ($P=0,0001$), ano (PB, $P=0,0011$), estação do ano vs. espécie (PB, $P=0,0012$; EE, $P=0,0001$), estação do ano vs. frequência de corte (PB, $P=0,0001$; EE, $P=0,0281$), ano vs. estação do ano ($P=0,0001$), estação vs. espécie vs. frequência de corte (EE, $P=0,0001$), ano vs. estação do ano vs. espécie (PB, $P=0,0250$), ano vs. estação do ano vs. frequência de corte ($P=0,0001$), tabelas 3 e 5.

Em 2011/12, o teor de PB nos cortes de 28 dias foi relativamente inferior em relação às médias de 2012/13, ao longo das estações do ano, exceto na Primavera e Inverno. Ao longo das estações, as médias nos cortes de 28 dias foram crescentes de acordo com a ordem: Outono, Verão, Primavera e Inverno, sendo diferentes entre si ($P<0,05$). Em 2012/13, entre as estações do ano houve diferença nos teores de PB, sendo em ordem crescente Primavera, Verão, Outono e Inverno. No Verão e Outono, em intervalos de corte de 28 dias, os teores de PB foram maiores em 2012/13, enquanto que na Primavera e Inverno foram semelhantes.

Para a frequência de corte de 42 dias, em 2011/12, os maiores teores de PB foram observados no Inverno que diferiu das demais estações, sendo na primavera e verão os menores teores e semelhantes entre si e diferentes daqueles encontrados no outono. Em 2012, no outono e inverno, foram encontrados os maiores teores de PB que diferiram daqueles observados na primavera e verão. No verão e outono, considerando a frequência de corte de 42 dias, os maiores teores de PB foram observados em 2011/12, enquanto que na primavera e inverno elas foram semelhantes.

O teor de PB da forragem colhida a cada 28 dias teve médias superiores em relação à média daquela colhida a cada 42 dias, devido à idade, à disponibilidade de água e à adubação. O mesmo comportamento foi observado por Stone et al. (2012), na produção de feno do capim-bermuda adubado e cortado aos 30 dias ($18 \text{ g kg}^{-1} \text{ MS}$), em comparação aos cortes de 56 dias ($10,0 \text{ g kg}^{-1} \text{ MS}$). Assim, teores observados neste experimento encontram-se na amplitude encontradas por estes autores.

As médias de PB mais altas dos capins marandu, Mulato II e Tifton 85 foram obtidas no ano de 2011/12, 166,7 (Verão); 177,8 (verão) e 177,5 $\text{g kg}^{-1} \text{ MS}$ (primavera). Contrariamente, as médias mais baixas destas espécies foram no corte de 42 dias na primavera (116,8), verão (123,7) e primavera (124,9 $\text{g kg}^{-1} \text{ MS}$), respectivamente. As datas de desfolhação, mesmo em experimentos irrigados e adubados têm sido a fonte de variação de N nas forragens tropicais (SOHM et al., 20014), contrariando a tese de que a adubação nitrogenada aumenta a PB. No nosso experimento, a variação

climática deve ter afetado o conteúdo de PB entre os anos, uma vez que em 2012/13 os teores de PB foram menores comparados ao ano 2011/12, principalmente na primavera e verão.

Machado e Valle (2012), avaliando o capim-marandu em sucessão à soja, durante a época seca, obtiveram médias de 143.0 g PB kg⁻¹ MS. Portanto, este cultivar, quando irrigado e adubado pode aumentar significativamente seus teores de PB, como observado nesta pesquisa. Segundo Alderman, Boote e Sollenberg (2011), a aplicação de nitrogênio no solo incrementa as quantidades deste elemento no solo, tornando-o assimilável quando a aplicação for acompanhada com a irrigação.

A PB teve variação entre as espécies ao longo das estações e anos. Teores maiores de PB foram apresentados no inverno por pelas três espécies na ordem de 166,7 g kg⁻¹MS (Marandu); 177,7 g kg⁻¹MS (Mulato II) e 177,5 g kg⁻¹MS (Tifton 85), no inverno; e valores baixos ocorreram na primavera (Marandu: 126,4 g kg⁻¹MS) e verão (Mulato II: 128,8 g kg⁻¹MS e Tifton 85: 137,1: g kg⁻¹MS). O ano com melhor conteúdo de PB foi em 201, com valor mais alto de 177,7 g PB kg⁻¹MS obtidos pelo Mulato II, no inverno. Valores mais altos de PB foram obtidos por Da Silva et al. (2012) em Marandu (167,0 g kg⁻¹MS) e Tifton (85187,0 g kg⁻¹MS) no mês de janeiro, mas com grandes variações ao longo dos meses, indicando também o efeito das épocas no conteúdo químico da forragem.

Os teores médios de extrato etéreo (EE) foram superiores no outono e inverno da forragem colhida com 28, em 2011/12. O mesmo foi observado para a frequência de 42 dias, porém os teores de Inverno foram semelhantes aos de Verão (tabela 3). Em 2012/13, maiores teores foram observados no verão e no verão, outono e inverno nas frequências de corte de 28 e 42 dias, respectivamente. Não houve diferenças significativas entre as médias de outono e inverno para a forragem colhida com 42 dias. Em 2011/12, as médias de EE, para o intervalo de 28 dias, foram superiores comparativamente as médias de 2012/13 na primavera, outono e inverno. Com 42 dias de rebrotação, maiores teores foram observados no verão de 2011/12 e na primavera de 2012/13, sendo semelhantes nas outras estações. O teor médio de EE em cada espécie avaliada teve variação ao longo dos intervalos de corte e durante as estações do ano (Tabela 4). O teor médio de EE do capim-marandu foi semelhante entre as estações do ano quando colhido com 28 dias, enquanto que na colheita com 42 dias, os maiores teores foram observados no verão (15,3 g kg⁻¹ MS), outono (15,2 g kg⁻¹ MS) e inverno (15,1 g kg⁻¹ MS), sendo semelhantes entre si e diferentes daqueles da primavera (13,0 g kg⁻¹ MS). Entre as duas frequências de corte, o capim-marandu cortado aos 42 dias teve médias de EE nas estações do ano superiores às médias de 28 dias, com exceção da primavera (9,4 g kg⁻¹ MS).

O estrato etéreo do capim-mulato II teve variação ao longo dos intervalos entre cortes e estações do ano. As médias de EE nos cortes a cada 28 dias, nas estações de primavera e verão, foram semelhantes, sendo inferiores às observadas no outono (16,9 g kg⁻¹ MS) e inverno (16,2 g kg⁻¹

MS). O mesmo comportamento foi observado para 42 dias, porém as médias do inverno foram semelhantes às observadas na primavera e verão. O capim-tifton 85 teve variação no seu conteúdo de EE. As médias de EE foram superiores no verão, outono e inverno para os dois intervalos de corte, sendo semelhantes entre si e diferentes daquela observada na Primavera. Os teores médios de EE nos cortes a cada 42 dias foram inferiores aqueles observados no intervalo de 28 dias (Tabela 4).

3.3.4 Correlação das variáveis químicas

O coeficiente de correlação de Pearson (“*p* de Pearson”) efetuado para estabelecer a correlação entre as variáveis respostas da análise química indica que não existe grau de correlação entre a matéria seca (MS) com a cinza (MM), matéria orgânica (MO), fibras em detergentes neutra (FDN) e ácida (FDA), hemicelulose (HE), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e conteúdo celular (CC), na Tabela 6. Contudo, a MS teve uma tendência ($P=0,067$) à correlação negativa com MM e MO, ou seja, não existe entre esta variável com a outra nenhuma dependência linear entre elas. A cinza (MM) não teve correlação com a MO, FDN, FDA, HE, PB, EE e CC. Esta situação foi também detectada entre a MO com as seguintes variáveis: FDN, FDA, HE, PB, EE e CC.

Tabela 6 - Coeficientes de correlação de Pearson entre as variáveis de composição química.

Variáveis	Variáveis								
	MS	MM	MO	FDN	FDA	HE	PB	EE	CC
MS	1.0	-0,154	-0,154	-0,109	-0,044	-0,064	0,015	-0,121	0,109
MM		1.0	-1,00	-0,048	0,036	-0,066	0,121	0,063	0,048
MO			1.0	0,048	-0,036	0,066	-0,121	-0,063	-0,048
FDN				1.0	0,183	0,729*	-0,383	-0,028	-1,000
FDA					1.0	-0,539	-0,178	0,048	-0,183
HE						1.0	-0,204	-0,057	-0,729
PB							1.0	0,131	0,383*
EE								1.0	0,028
CC									1.0

* $P=0,05$ significante pelo teste “t”; MM-matéria seca; MM-cinzas; MO-matéria orgânica; FDN-fibra em detergente neutro; FDA-fibra em deternte ácida; HE-hemicelulose; PB-proteína bruta; EE-extrato etéreo e CC-conteúdo celular.

A fibra em detergente neutro (FDN) teve correlações positivas com o FDA ($P=0,029$) e com a HE ($P=0,0001$). Contudo, observa-se que a correlação de FDN com FDA é fraca (18,3 %), contrariamente com a HE, onde se detectou uma forte correlação (72,9 %) entre estas duas (FDN e HE) variáveis. As correlações de FDN e HE eram de esperar, dado que a HE é uma fração componente da estrutura de FDN. Ela é um componente desta entidade química e a sua separação exige um tratamento bromatológico específico ou através de fórmulas que estimam pela diferença entre a FDN com a MO (VAN SOEST, 1991). A fibra em detergente neutra teve uma correção negativa com a PB e o CC e não teve correlação com o EE. A fibra em detergente ácida (FDA)

registrou correlações negativas com a HE, a PB e o CC, mas não se correlacionou com o EE, na ordem de -53,9; -17,8; -18,3 e -4,8 %, respectivamente.

3.3.5 Conclusão

Com base nos resultados e discussão apresentados, pode concluir que a matéria seca da forragem aumentou com a extensão do intervalo de cortes de 28 para 42 dias em 2011/12. A variação sazonal entre os anos e frequências de corte foi observada, exceto no Verão, Outono Inverno de 2012/13. O intervalo de corte mais longo aumentou a MS Marandu e Mulato II. A MM aumentou na maior frequência de corte e no 2º ano. A MO do Marandu e Mulato II aumentou nas duas frequências de corte. As médias ponderadas mais baixas de FDN, MS, FDA, PB, EE, MO e CC foram observadas no corte de 28 dias. As médias de FDN e FDA do marandu, independentemente das frequências de cortes, foram similares às de Mulato II, mas inferiores às de Tifton 85. As espécies tiveram maiores conteúdos de FDN (Tifton), PB (Tifton 85), MM (Marandu) MO (Tifton 85) e CC (Mulato II) no Inverno.

As frequência de corte mais longa associada à adubação e irrigação suplementar manteve a forragem verde e conseqüentemente seus valores de PB, CC, MO, EE altos, mesmo na estação seca. Altos valores de FDN e FDA do Tifton 85 devem-se ao fato de esta espécie possuir folhas finas e maior quantidade de talos (colmos) especialmente no intervalo de corte de 42 dias.

O manejo de corte deve ser feito em conformidade com as estações do ano, dado que diferentes estações do mostram uma variação significativa dos parâmetros nutricionais entre as espécies, indicando que cada espécie responde de forma diferente quando submetida a estes tratamentos. Paralelamente, inclusão de adubação e a fertilização suplementar constituem fatores importantes na manutenção do valor nutritivo do pasto.

3.3.6 Referência

ALDERMAN, P. D.; BOOTE, K. J.; SOLLENBERGER, L. E. Regrowth dynamics of Tifton 85 bermudagrass as affected by nitrogen fertilization. **Crop Science**, Madison, v. 51, n. 4, p. 1716-1726, 2011.

AGUIAR, A. P. A. O pasto do vizinho está se degradando. In: ANUÁRIO DA PECUÁRIA BRASILEIRA (ANUALPEC). **Anuário estatístico da pecuária de corte**. 20 ed. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2013. p. 35–39.

ANKOM TECHNOLOGY. Neutral detergent fiber in feeds-filter bag technique (for A2000 and A2000I). Disponível em: <http://www.ankom.com/media/documents/Method_13_NDF_A2000_Rev_E_4-14-11.pdf>. Acesso em: 21 dez. 2013.

ANUÁRIO DA PECUÁRIA BRASILEIRA (ANUALPEC). **Anuário estatístico da pecuária de corte**. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2013.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official Methods of Analysis**. 18th ed. Arlington, VA. USA: AOAC, 2005.

BALIEIRO NETO, G. B. et al. Características agronômicas e viabilidade do Tifton 85 (*Cynodon*spp) irrigado num sistema de produção de leite. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 44, n. 4, p. 235-247, 2007.

DA SILVA, E.A. et al. Chemical composition and photosynthetically active radiation of forage grasses under irrigation. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 41, n. 3, p. 583-591, 2012.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: EMBRAPA Produção de Informação, 1999. 412 p.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). Disponível em <http://faostat3.fao.org/download/Q/QA/E>. Acessado em: 12 ago. 2014.

GUENNI, O.; DOUGLAS MARÍN, D.; BARUCH, Z. Responses to drought of five *Brachiaria* species. I. Biomass production, leaf growth, root distribution, water use and forage quality. I. Biomass production. **Plant and Soil**, Weinheim, v. 243, p. 229–241, 2002.

HALL, M. B. Calculation of non-structural carbohydrate content of feeds that contain non-protein nitrogen. **Feedstuffs**, Bloomington, v. 69, n. 37. p. 12-14, 1997.

LITTELL, R.C. et al. **Statistical Analysis System Institute: SAS: for Mixed Models**. 2nd .ed. Cary: SAS Institute, 2006. 1 CD-ROM.

MACHADO, L. A. Z; DO VALLE, C. B. Desempenho agronômico de genótipos de capim-braquiária em sucessão à soja. **Pesquisa agropecuária brasileira**. Brasília, v. 46, n. 11, p. 1454-1462, 2011.

MAGALHÃES, A. F. et al. Composição bromatológica e concentrações de nutrientes do capim braquiária adubado com nitrogênio e fósforo. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.12, n.4, p.893-907, 2011. Disponível em: <http://www.rbspa.ufba.br>. Acessado em: 23. ago. 2013.

PEREIRA, R.C. et al. Produtividade, composição químico-bromatológica e extração de minerais das cultivares Marandu e Xaraés nas estações do ano. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v. 18, n. 4, p. 570-582, 2011.

RASSINI, J. B. Período de estacionalidade de produção de pastagens irrigadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 8, p. 821-825, 2004.

REIS, G.L. et al. Produção E composição bromatológica do capim-marandu, sob diferentes percentuais de sombreamento e doses de nitrogênio. **Biosciencia Jornal**, Uberlândia, v. 29, Suppl. 1, p. 1606-1615, 2013.

SÁ, J. F. et al. Cinética da fermentação *in vitro* do capim-Marandu em diferentes idades de corte. **Acta scientiarum**, Maringá, v. 33, n. 3, p. 225-231, 2011.

SOHM, G. et al. Yield and quality of irrigated bermudagrass as a function of nitrogen rate. **Agronomy Journal**, Madinson, v. 106, p. 1489-1496, 2014. Disponível em: <<http://www.doi:2134/agronj.13.0580>> Acesso em: 01 jun. 2014.

STONE, K. C. et al. Irrigation and nitrogen impact on Bermudagrass yield response in the Southeastern Coastal Plain. **Transaction of the American Society of Agricultural and Biological Engineers**, St. Joseph, v. 55, n. 3, p. 969-978, 2012.

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

WOODARD, K. R.; SOLLENBERGER, L.E. Broiler litter vs. ammonium nitrate as nitrogen source for bermudagrass hay production: Yield, nutritive value, and nitrate leaching. **Crop Science**, Madinson, v. 51, n. 3, p. 1342-1352, 2011.

4 DEGRADABILIDADE E PRODUÇÃO *IN VITRO* DE GASES DE *Brachiaria Brizantha* CV. MARANDU, *Brachiaria* HÍBRIDA CONVERT HD 364 CV. MULATO II E *Cynodon dactylon* (L.) CV. TIFTON 85 MANEJADOS NA FREQUÊNCIA DE CORTE

RESUMO

A avaliação das características nutricionais dos alimentos é importante no manejo dos sistemas de alimentação de ruminantes em pastos. O manejo com frequências de corte dentro das estações do ano pode ser fonte de variação da degradabilidade *in vitro* de matéria seca (DIVMS), acúmulo de gases no rúmen (PG) e de metano (CH₄), com reflexos na produção animal. O objetivo do trabalho foi avaliar a variação da DIVMS, CH₄, PG e o fator de partição (FP) da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, *Brachiaria* híbrida Convert HD 364 “cv. Mulato II” e *Cynodon dactylon* (L.) cv. Tifton 85. As espécies foram cultivadas no campus da Universidade de São Paulo/Piracicaba, de 2011 a 2013. O delineamento experimental foi em blocos completos e casualizados, com 4 repetições e o experimento em fatorial 2 x 2 x 3 (intervalos de desfolhação - 28 e 42 dias; estações do ano - Primavera+Verão (PV) e Outono +Inverno (OI); espécies forrageiras - *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, *Brachiaria* híbrida Convert HD 364 “cv. Mulato II” e *Cynodon dactylon* (L.) cv. Tifton 85. A produção *in vitro* de gases foi usada para gerar a informação, em Pirassununga/USP. A produção *in vitro* de gases foi usada para gerar a informação, em Pirassununga/USP, incubando amostras em frascos contendo meio de cultura e líquido ruminal de bovinos, em 24 h. A DIVMS foi de 247,0; 242,0 e 223,6 mg g⁻¹ MS para o Marandu, o Mulato II e Tifton 85, respectivamente. A DIVMS variou com estações do ano, com médias menores no OI. A PG e CH₄ foram influenciados pelas estações do ano com médias de 59,4 a 50,5 mL g⁻¹ MS (*Brachiarias*) e 48,1 a 38,5 mL g⁻¹ MS (Tifton 85). Houve interação frequência de corte x estações e anos na produção CH₄. A produção no OI foi superior (42,5-68,3% do total anual) a de PV, à exceção do Tifton-85. Entre frequência de corte apenas na PV houve diferenças. O FP teve pouca variação entre frequências e mais entre as estações do ano. Os cortes a cada 28 dias afetaram a produção de CH₄ pelas espécies. O perfil de fermentação teve taxas altas para o Mulato II e Marandu em relação ao Tifton-85 em todos os tratamentos. Com 24 h de incubação todas as espécies atingiram os seus picos de PG, sendo similar nas *Brachiarias*. 24 h de fermentação *in vitro* podem não ser suficientes para descrever a fermentação de forragens tropicais, AGCC e o perfil de produção de gases entéricos.

Palavras-Chave: *Brachiaria*, degradabilidade *in vitro*, fator de partição, metano entérico, Mulato II

IN VITRO DEGRADABILITY AND GAS PRODUCTION FROM *Brachiaria Brizantha* CV. MARANDU, *Brachiaria* HÍBRIDA CONVERT HD 364 CV. MULATO II E *Cynodon dactylon* (L.) CV. TIFTON 85 UNDER CLIPPING FREQUENCY

ABSTRACT

The *in vitro* dry matter degradability (IVDMD), cumulative gas (GP), enteric methane (CH₄) production and partition factor (PF) are of paramount importance for forage nutritional characterization, in pasture based feeding systems. Clipping management and seasons of the year may be a source of variation on forage IVDMD, GP and CH₄ yields, which pose productivity risk for ruminants. The objective of the present study was to evaluate the level of changes on IVDMS, CH₄ and PF of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, *Brachiaria* hybrid Convert HD 364 “cv. Mulato II” and *Cynodon dactylon* (L.) cv. Tifton 85. The forage were cultivated in plots at University of São Paulo, in Piracicaba, from 2011/12 to 2012/13, in factorial design, involving clipping frequencies (28 e 42 intervals), seasons [(Summer+ Spring, SS) and (Autumn +Winter, AW)], 3 forage genotypes, and 4 replications. The *in vitro* gas production technique was used for data gathering from samples, incubated for 24 h reading time. Degradability experiment was undertaken in Pirassununga campus of USP (154 m altitude). The IVDMD was 247.0; 242.0 and 223.6 mg g⁻¹ DM for Marandu, Mulato II and Tifton 85, respectively. The IVDMD was in AW relative to SS. The GP and CH₄ were influenced by the seasons of the year, averages 59.4 -50.5 mL g⁻¹ DM (*Brachiaria*) and from 48.1 - 38.5 mL g⁻¹ DM (Tifton 85). Methane yield was affected by harvesting frequency x seasons and year. Autumn/winter CH₄ was 42.5-68.3% relative to SS in Marandu and Mulato II, except for Tifton 85. The FP was a constant parameter, no variation between species and cutting intervals, but with seasons. The fermentation profile had higher rates for Mulato II and Marandu relative to Tifton85 across treatments. The *Brachiaria* genus reached GP peak after 24 hr incubation times. Twenty hour *in vitro* incubation may not be enough to describe tropical forage fermentation, AGCC profile and gas production.

Keywords: *Brachiaria*, enteric methane, *in vitro* digestibility, gas production, forage, Mulato II

4.1 Introdução

Os pastos tropicais podem apresentar altos teores de fibra de baixa digestibilidade, comparativamente aos carboidratos não fibrosos. Esse comportamento torna-se mais pronunciado à medida que os intervalos de desfolhação se estendem por longo período, e pode ter efeitos negativos à produção animal a medida que animais de diferentes categorias não têm atingidas suas necessidades nutritivas. A digestibilidade está associada à fração fibrosa do pasto tropical, à eficiência da microflora ruminal (ELGHANDOROU et al., 2013), e à idade da planta forrageira. Estes fatores, que afetam o desempenho animal, avaliado como a capacidade para digerir e metabolizar os alimentos favorecem para menor produção de gases no rúmen, menor fator de partição (FP) e maior relação entre o ácido acético e propiônico (A: P).

O manejo da desfolhação pode prever o possível balanço entre a produção de massa e a qualidade da forragem (VAN MAN; WIKTORSSON, 2003), pois o valor nutritivo da forragem varia em função do intervalo das desfolhações. As dietas fibrosas reduzem o potencial produtivo, por possuírem maior conteúdo de FDN indigestível, maior conteúdo de lignina e FDA e menor quantidade de proteína bruta disponível para o animal e para a microflora ruminal.

Toro Valásquez et al. (2009) concluíram que o capim-marandu, por exemplo, desfolhado no intervalo de 28 dias tem menor tempo de colonização da microflora ruminal (3 h), maior fração solúvel de carboidratos (255,0 e 210,0 g kg⁻¹ MS), maior digestibilidade e produção de CH₄. As bactérias metanogênicas são catalisadoras da produção ruminal do CH₄, reconhecido como gás de efeito estufa (GEE), maléfico aos ecossistemas terrestres. Segundo Aghsaghali e Nacer (2011), o CH₄ é 23 vezes mais potente para o aquecimento global que o CO₂ e a sua produção entérica representa a perda de 2-12 % de energia bruta do alimento. Do total de CH₄ produzido pelo ruminante 87% são produzidos no rúmen e 13 % no intestino grosso (AGHSAGHALI; NACER, 2011).

A fermentação microbiana dos carboidratos ou de molécula de glicose no rúmen resulta em piruvato e destes os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), tais como acético, propiônico e butírico. Nesse processo a energia é conservada na forma de adenosina trifosfato (ATP), e posteriormente utilizada pelo animal; sendo que os três ácidos representam 95% do total dos AGCC produzidos no rúmen (ELLIS et al., 2008). Contudo, o ácido propiônico é o mais eficiente na conservação e disponibilização de energia para o animal, pois ele não é convertido em CH₄ (NOGUEIRA et al., 2006). A riqueza das dietas em fibra permite a proliferação das bactérias celulolíticas, contrariamente às amilolíticas que se proliferam em dietas ricas em amido, com altos teores do ácido propiônico (MIRZAEI-AGHASAGHALI; MAHERI-SIS, 2011) e consequentemente menor produção de CH₄. Quando as plantas forrageiras são mais novas com teores mais elevados de PB, em detrimento das

frações fibrosas, ocorre redução na síntese de CH_4 (VAN SOEST, 1994). Animais alimentados com dietas formuladas e balanceadas produzem menos CH_4 comparativamente aos animais em pastejo.

A introdução de diferentes técnicas de análise de alimentos é valiosa para os sistemas de produção de ruminantes. A técnica de produção *in vitro* de gases é rápida, oferece condições de controle experimental de fermentação; maior número de repetições entre os tratamentos; correlação positiva com a produção de gases, digestibilidade e parâmetros de cinética fermentativa (STORM et al., 2012). A técnica combina a avaliação das perdas de energia nos alimentos com a produção de CH_4 e as características do alimento. Ela constitui grande contribuição para a determinação dos GEE e o CH_4 entérico. Dada esta particularidade, recentemente a determinação dos gases produzidos sob sistemas de produção (pastejo ou confinamento) tem merecido a atenção da comunidade científica e dos ambientalistas (BEAUCHEMIN et al., 2008; O'MARA, 2011). Contudo, devido às dificuldades de manejo dos animais, há tendência do uso da técnica de produção *in vitro* de gases, pois oferece múltiplas vantagens e permite análise de espécies forrageiras individualmente nas condições estritamente controladas. O objetivo deste trabalho foi de avaliar três espécies de plantas forrageiras sob manejo de desfolhações nas estações do ano de 2011/12 e 2012/13, utilizando a técnica de produção de gases quanto a produção de CH_4 , acúmulo total de gases, digestibilidade *in vitro*, fator de partição e perfil de fermentação.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Local, estabelecimento, delineamento experimental e manejo agrônômico

O experimento foi implantado no Campus Administrativo de Piracicaba, Universidade de São Paulo (22°42'30''S, 47°30'00'' W e 546 m de altitude) em Latossolo vermelho (EMBRAPA, 1999). O solo apresentou as seguintes características químico-físicas, avaliadas de 0-20 cm de profundidade (Laboratório de Solos e Nutrição de Plantas da ESALQ): textura argilosa-muito argilosa; pH (CaCl_2)= 5,5; $\text{MO}(\text{g dm}^{-3})$ = 24,0; P (método de resina, mg dm^{-3})= 38,0; [K, =6,0; Ca=75,0; Mg=25,0; H+Al=34,0; SB (soma de bases)=106,0; CTC(capacidade de troca catiônica do solo)=140 $\text{mmol}_c \text{ dm}^{-3}$]; V% (saturação por base)=76,0; SO_4 =8,0 mg dm^{-3} ; Argila=431,0 g kg^{-1} ; Limo=199,0 g kg^{-1} e Areia=370,0 g kg^{-1} .

A massa de forragem de três espécies de planta forrageira foi colhida à altura de 10 cm em parcelas irrigadas e adubadas com 400 $\text{kg N ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$, na forma de nitrato de amônio. O delineamento experimental foi em blocos completos e casualizados, com 4 repetições, e o experimento em fatorial 3 espécies forrageiras (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu; *Brachiaria* híbrida cv. Mulato II e *Cynodon dactylon* cv. Tifton 85) x 2 frequências de corte (28 e 42 dias) x 2

estações do ano (Primavera+Verão - PV e Outono+Inverno - OI). Após o corte, a forragem foi pesada, subamostrada (300-350 g), colocada em sacos e levada ao laboratório para a secagem em estufa de ventilação forçada a 60°C durante 72 horas.

As amostras foram moídas em moinho do tipo Willey mill (Marconi, SP, Brasil), 1 mm de diâmetro, acondicionadas em “zip-locks” e levadas para a análise de DIVMS, produção gases (PG), CH₄, fator de partição (FP) e taxas de fermentação. As análises foram realizadas na Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA) da USP/Pirassununga, 21°59' S, 47°26' O, e 635 m altitude, com clima seco no Inverno, temperatura anual de 20,8°C e 1.298 mm de precipitação. A segunda MS foi feita segundo AOAC (2005), método 934.01, para corrigir os resultados da fermentação.

4.2.2 Fermentação *in vitro* do substrato

As duplicatas das amostras de PV e OI foram incubadas em frascos de vidro, de 160 mL, com 90 mL de meio nutritivo e 10 mL de inoculante ruminal, durante 24 horas. Os frascos foram colocados em estufa com circulação forçada de ar a 39°C, um dia antes do início do experimento. O líquido ruminal e a fase sólida da digesta (50: 50) foram colhidos de manhã entre às 6:30 e 7:30 h, em 2 novilhos Nelores fistulados no rúmen, alimentando-se de pasto de *Brachiaria brizantha*, com suplementos minerais. O conteúdo ruminal foi conservado a 39°C, e levado ao laboratório para liquidificação e homogeneização por 10 segundos, filtrado em três tecidos sépticos (América Medical LTDA, Brasil) sob infusão de CO₂. Após a filtragem, o líquido ruminal era conservado em garrafas de 1 litro em “banho-maria”, a 39°C e posteriormente coletados 10 mL para os frascos, que hermeticamente foram fechados com tampas de borracha siliconizada e colocados na estufa (TECNAL, Piracicaba-SP) (THEODOROU et al., 1994).

A leitura de pressão dos gases produzidos foi efetuada a intervalos de 4; 8; 12; 18 e 24 h e o volume acumulado em 24 h, usando o transdutor de pressão e registrador automático (PDL200, LANA/CENA/USP, Piracicaba/SP). O gás contido nos frascos era removido após a leitura de pressão e o volume de cada tempo, igualando-se as pressões do frasco e da atmosfera, usando a seringa hipodérmica. Em seguida os frascos eram agitados para homogeneizar as fases no frasco antes do retorno para a incubadora.

Para a determinação da produção acumulada de gases foi usada a equação $[V(\text{mL g}^{-1} \text{MS}) = 4,5834P (\text{pressão}); R^2=0,097]$ gerada pela regressão pressão e volume durante as leituras (Figura 2). Imediatamente após a leitura de pressão de cada amostra foram retirados para tubos de “vacutainer”, livres de ar, 12 mL de gases, na ordem sequencial de 2+2+3+3 mL para 4; 8; 12 e 18 a 24 h, respectivamente. Esta amostra foi usada para a determinação de CH₄.

4.2.3 Degradabilidade *in vitro* e produção de gases

No fim de 24 h de fermentação 1,0 mL do sobrenadante foi coletado de cada frasco de incubação para a análise de CH₄, usando cromatografia em fase líquido-gasosa (Shimadzu GC-14 B de GC, Japão) equipado com um Carboxen TM 1000, 45/60, 2 m x 1/8 polegadas de coluna (Supelco, EUA) e um detector de ionização de chama (FID). As temperaturas foram de 170 (na coluna), 200 (no injetor) e 200°C (no detector). O transporte de gás (He) de fluxo foi ajustado para 24 mL min⁻¹. Uma amostra de 0,5 mL de gás foi injetada usando seringas A-2 de 500 l (USA). O CH₄ foi calculado por calibração externa de uma mistura de gases certificados (CARBUROS METÁLICOS, ESPANHA): 100 mL CH₄, 250 mL N₂, 50 mL H₂O e 600 mL CO₂ (ERWIN et al., 1961).

Após as últimas leituras de pressão e volume dos gases e amostragem para determinação de CH₄ o resíduo da fermentação foi conservado em gelo. O resíduo foi filtrado em cadinhos (Schott Duran, Alemanha) número 1 de 100 a 160 µm sobvácio, para estimar a digestibilidade verdadeira. A degradação foi gerada secando o resíduo a 105°C e pela diferença do resíduo seco em estufa com a medida inicial da amostra, obtidos a 105°C por 72 horas. O fator de partição, estimado pela proporção MS degradada (mg) e o volume de CH₄ (mL) foi usado como um índice de eficiência de síntese microbiana (ABDALLA et al., 2008). Foi determinada a porcentagem de compostos orgânicos altamente solúveis para corrigir os valores da degradação da matéria orgânica (MO) e do FP, incubando a amostra em frascos de vidro com 100 mL de água destilada durante 10 minutos, seguida de filtragem e secagem em estufa à 105°C durante 72 h e determinação da fração insolúvel pela diferença de pesos dos fracos com a amostra inicial.

Figura 2. Leitura de volume e pressão durante a fermentação. A-Team; B-frascos; C-Transdutor; D-Datalog e E-Seringa acoplada ao transdutor. Agrárias, 2013.

4.2.4 Análise estatística

Os dados do experimento foram analisados usando o procedimento GLMMIX do Statistical Analysis System, SAS (LITTEL et al., 2006). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos foram estimadas com o “LSMEANS” e a comparação pela probabilidade da diferença (“PDIF”), usando o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os efeitos de cultivar, frequência de corte, época do ano, hora de incubação e suas interações foram considerados como efeitos fixos e o efeito de bloco foi considerado aleatório, baseado no seguinte modelo estatístico:

$$Y = \mu + S_i + F_j + S_iF_j + E_l + E_iS_j + E_lF_j + S_iF_jE_l + A_k + A_kS_i + A_kF_j + A_kE_l + A_kS_iF_j + A_kS_iF_jE_l + e_{ijkl}$$

Onde: Y_{ijkl} = Média da resposta; μ = Média geral; S_i = Espécies (i = Marandu, Mulato II e Tifton 85); F_j = Frequências de cortes (j = 28 e 42 dias); E_l = Estações de ano (l = primavera, verão, outono e inverno); A_k = Efeito do ano (k = 2012 e 2013); S_iF_j ; F_jE_l ; A_kS_i ; A_kF_j ; A_kE_l = Interações espécies e frequências, estações do ano e ano; $A_kS_iF_j$ = interação ano, espécies e frequência de cortes; $A_kS_iF_jE_l$ = interação quádrupla e e_{ijkl} = Erro aleatório do experimento.

4.3 Resultados e Discussão

4.3.1 Degradabilidade *in vitro* de matéria seca (DIVMS)

Pelo teste “F” verificaram-se efeitos de espécie ($P=0,0001$), estação do ano e ano ($P=0,0003$), das interações estação do ano vs. espécie ($P=0,0349$), ano vs. frequência de corte ($P=0,0027$), ano vs. espécie vs. frequência de corte ($P=0,0291$) e ano vs. estação do ano vs. frequência de corte ($P=0,0171$), Tabela 1.

As médias de digestibilidade corrigida do branco das forrageiras registraram diferenças significativas ($P=0,0001$). A maior fração de DIVMS foi observada nas espécies do gênero *Brachiarias* (capim-marandu: 247,0 e capim-mulato II: 242,0 g kg⁻¹MS) em relação ao Tifton 85: 223,6 g kg⁻¹MS. O Tifton 85, embora tenha maior conteúdo de PB, relativamente às *Brachiarias* ele apresentou maiores teores de FDN (713,3 g kg⁻¹MS) e FDA (368,1g kg⁻¹MS), entidades químicas que podem ter contribuído para baixos teores de carboidratos solúveis, dada a digestibilidade registrada (223,6 g kg⁻¹MS) em relação ao valor mais alto obtido pelo Marandu (247,0 g kg⁻¹MS).

Tabela 7-Teste “F” efeitos fixos de variáveis respostas, 24 h de fermentação *in vitro*

Fonte de Variação	Variáveis*			
	DIVMS	PG	CH ₄	FP
Espécies (S)	0,0001	0,0001	0,0021	Ns
Frequência de corte (F)	Ns	0,0093	0,0052	0,0067
S x F	Ns	Ns	0,0012	0,0517
Estação do ano (E)	0,0003	Ns	Ns	Ns
E x S	0,0349	0,0001	0,0006	0,0058
E x F	Ns	Ns	0,0001	Ns
E x S x F	Ns	Ns	0,0001	Ns
Ano (A)	0,0003	0,0001	0,0001	0,0001
A x S	Ns	0,0275	Ns	Ns
A x F	0,0027	Ns	Ns	0,0008
A x E	Ns	0,0001	0,0169	0,0001
A x E x S	Ns	Ns	Ns	Ns
A x S x F	0,0291	Ns	0,0401	0,0481
A x E x F	0,0171	0,0413	Ns	0,0006
A x E x S x F	Ns	Ns	Ns	0,0222

*P=0,05 a 5% de significância pelo teste “T”; DIVMS-degradabilidade *in vitro* de matéria seca; PG-produção acumulada de gases; CH₄-metano entérico e PF-fator de partição, Ns-não significante a 5%.

No decorrer das estações do ano houve diferença na degradabilidade entre as espécies de plantas forrageiras ($P=0,0349$). A degradabilidade das forrageiras apresenta-se com valores baixos durante as primeiras horas do processo, na fase de lag, dependendo da proporção entre os carboidratos solúveis e os carboidratos potencialmente digestíveis, os quais são afetados por sua vez pela idade das plantas no momento da colheita, pela população microbiana no rúmen e pela sua especialização nos diferentes componentes da dieta do animal (WANG et al., 2014), ou seja, no tipo de carboidrato predominante no substrato.

Vinte e quatro horas de fermentação de amostras de plantas forrageiras não permitem avaliar com mais precisão a digestibilidade verdadeira destas plantas, pois ela pode ser alcançada com o tempo de incubação entre 48 e 96 horas de digestão (ABDALLA et al., 2012), contrariamente à avaliação de produção de gases (STORM et al., 2012) e ácidos graxos de cadeia curta, que podem ser feitos entre 24 e 48 horas de fermentação (BLUMMEL et al., 1999). Substratos com maior fração de carboidratos solúveis (monossacarídeos e conteúdo celular) permitem maior acesso e atividade microbiana, aumento da população microbiana e as taxas de degradação e consequentemente maior coeficiente de digestibilidade.

As médias de DIVMS foram influenciadas pela interação ano vs. estação do ano vs. frequências de corte ($P=0,0171$), Tabela 8. Durante o ano de 2011/12 houve diferença entre as médias de P+V (232,3 g kg⁻¹ MS) e O+I (215,4 g kg⁻¹ MS) apenas na frequência de corte de 28 dias. Comparando as médias de DIVMS de frequências de corte, no O+I, a DIVMS da forragem foi

superior no corte de 42 dias (239,1 vs. 215,4 g kg⁻¹ MS), enquanto que na P+V, o comportamento foi inverso (28 dias –232,3 e 42 dias - 229,3 g kg⁻¹ MS).

Em 2012/13, a DIVMS foi superior apenas das espécies cortadas a cada 42 dias na P+V (245,4 vs. 229,4 g kg⁻¹ MS). Comparando as médias as frequências dentro das estações do ano, observa-se que a melhor DIVMS ocorreu para as forragens colhidas com 28 dias comparadas com 42 dias, tanto na P+V (252,4 e 245,4 g kg⁻¹ MS) como no O+I (257,1 e 229,4 g kg⁻¹ MS) respectivamente. As médias de DIVMS no ano 2012/13 foram superiores ($P<0,05$) às observadas em 2011/12 das plantas cortadas a cada 28 dias, tanto na P+V como no O+I, enquanto que para cortes a cada 42 dias, as médias de O+I e P+V foram superiores nos anos 2011/12 (239,1 vs. 229,4 g kg⁻¹ MS) e 2012/13 (245,4 vs. 229,3 g kg⁻¹ MS), respectivamente. Pode-se inferir que a irrigação e a adubação minimizam as diferenças de degradabilidade das plantas forrageiras; diferenças causadas pela maior parede celular nas plantas com intervalo de corte mais longo ou no O+I, sugerindo que o manejo imposto às culturas tenha aumentado os teores de carboidrato solúvel relativamente aos fibrosos, e assim estimulada a atividade microbiana e melhorado a digestibilidade.

Tabela 8 - Degradabilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) de forragens incubadas por 24 h, considerando os efeitos de espécie, estação do ano, frequência de corte e ano.

Estação do ano/Espécie	Frequência de Corte (dias)	
	28	42
DIVMS (g kg ⁻¹ MS)		
Estação do Ano	2011/12	
Primavera + Verão	232,3 Aa‡	229,3 Ab‡
Outono + Inverno	215,4 Bb‡	239,1 Aa†
2012/13		
Primavera + Verão	252,4 Aa†	245,4 Ab†
Outono + Inverno	257,1 Aa†	229,4 Bb‡
Espécie Forrageira	2011/12	
Marandu	224,8 Aa†	245,1 Aa†
Mulato II	227,2 Aa‡	233,8 Aa‡
Tifton-85	219,5 Aa††	223,8 Aa††
2012/13		
Marandu	276,1 Aa†	242,1 Aa†
Mulato II	266,8 Aa‡	240,3 Aa‡
Tifton-85	221,3 Ab††	229,8 Aa††

Médias seguidas da mesma letra maiúscula, na linha, não diferem entre si ($P\leq 0,05$) na respectiva frequência e ano. Médias seguidas da mesma letra minúscula, na coluna, não diferem entre si ($P\leq 0,05$) entre frequências de corte ou espécies no mesmo ano. Medidas seguidas de scripts († e ‡) iguais não diferem entre os anos e na mesma frequência de corte dentro das estações do ano e de espécie forrageira.

Nos dois anos de avaliação, a variação na degradabilidade de *in vitro* de matéria seca (DIVMS) esteve entre 3,0 e 7,0 g kg MS⁻¹ na P+V, enquanto que no O+I entre 23,3 e 27,7 g kg⁻¹ MS, considerando as frequências de corte. Além de menor variação, a DIVMS média na P+V decresceu quando a forragem era colhida com 28 para 42 dias. Apenas no O+I de 2011/12 o comportamento foi inverso entre as frequências de corte. Pode-se inferir que a irrigação e a adubação minimizam as diferenças de digestibilidade das plantas forrageiras; diferenças causadas pela maior parede celular nas plantas com intervalo de corte mais longo ou no O+I, fato minimizado na P+V no corte de 42 dias, sugerindo que o manejo imposto às culturas tenha aumentado os carboidratos solúveis, relativamente aos fibrosos e assim estimulados a atividade microbiana e melhorado a digestibilidade. O comportamento acima foi igualmente observado por Toro Velásquez et al. (2010) para os capins Tifton-85, Marandu e Tanzânia irrigados e colhidos aos 35 e 42 dias de rebrotação.

Quanto às espécies forrageiras, a amplitude média observada para a DIVMS em 2011/12 foi de 219,5 g kg⁻¹ MS (28 dias) a 245,1 g kg⁻¹ MS (42 dias), registrado no Tifton 85 e Marandu, respectivamente. Em 2012/13 a variação foi de 221,3 a 276,1 g kg⁻¹ MS na frequência de 28 dias para Tifton 85 e Marandu, respectivamente. Nos dois anos avaliados, a DIVMS das espécies forrageiras foi semelhante em cada frequência de corte, e as médias das frequências foram semelhantes para cada espécie forrageira, exceto para Tifton 85 em 2012/13, que apresentou maior DIVMS quando colhido com 42 dias (229,8 g kg⁻¹ MS), tabela 2.

As diferenças de digestibilidade foram registradas entre os anos para cada espécie e frequência de corte. As médias de DIVMS do capim-marandu (224,8 vs. 276,1 g kg⁻¹ MS) e Mulato II (227,2 vs. 266,8 g kg⁻¹ MS) diferiram-se entre os anos, para a frequência de 28 dias, contrariamente ao Tifton 85 que se apresentou semelhante entre os anos nas duas frequências de corte.

As maiores diferenças de DIVMS foram detectadas entre as espécies dentro de cada ano e frequência de corte, à exceção do Marandu e do Mulato II, em 2012/13, no corte de 42 dias (242,1 vs. 240,3 g kg⁻¹ MS). Embora as parcelas tenham recebido os mesmos tratamentos agronômicos (irrigação, adubações), os efeitos de ano, espécie e frequências de corte eram esperados. Estas diferenças manifestaram-se, sobretudo, no segundo ano do experimento, com destaque para o Marandu e o Mulato II, pois o Tifton-85 teve comportamento inalterável ao longo do ano e durante os intervalos de cortes.

A degradabilidade *in vitro* de matéria seca (DIVMS) varia em função da fibra contida nas espécies forrageiras que constituem a dieta do animal, que por sua vez aumenta com a idade da planta. O presente estudo demonstra pouca variação da DIVMS das espécies nos tratamentos de frequências de corte. Considerando o fato de estas espécies terem sido irrigadas e adubadas pode-se inferir que estes fatores tenham contribuído para a diminuição do teor de fibra e permitido que as

frações incubadas respondessem de forma similar para a digestibilidade, em ambos os intervalos de corte. A baixa digestibilidade de Tifton-85 foi reportada por Marsalis et al. (2007), no Texas, mesmo em experimento irrigado, sendo observado pelos pesquisadores que a primavera foi muito quente e as plantas foram submetidas a longos períodos de desfolhação. No presente experimento, a menor digestibilidade *in vitro* do Tifton-85 pode ser explicado pelo seu maior conteúdo em FDN e FDA, entidades nutricionais que possuem na estrutura compostos proteicos indigestíveis.

4.3.2 Produção de gases da fermentação entérica

As médias de produção de gases resultantes da interação ano vs. espécie vs. estações do ano foram diferentes ($P=0,0221$), Tabela 9. Para as duas *Brachiarias* foram obtidas diferenças de produção acumulada total de gás (PTG) entre as duas estações do ano (P+V e O+I). As médias de produção de gases encontram-se na amplitude dos resultados de produção *in vitro* de gases entéricos reportados por Elghandour et al (2013), para espécies forrageiras de porte alto. Em 2011/12, para o capim-marandu ocorreu maior produção de gases na P+V do que no OI (59,4 vs. 52,4 mL g⁻¹ MS). O Mulato II teve o mesmo padrão de produção, nas duas estações do ano, sendo que as médias de P+V foram superiores às de O+I para as três espécies, em 2011/12. Este efeito foi também observado no Tifton-85, em 2012/13, com a produção de gases superior na P+V do que no O+I (48,1 e 38,5 mL g⁻¹ MS). Em 2012/13, todas as espécies produziram menores quantidades de gás na P+V, comparadas com o gás produzido em O+I, com uma variação de 33,3 a 53,4 mL g⁻¹ MS.

O Tifton-85 registrou produções de gases inferiores em relação aos capins marandu e mulato II, em todas as estações do ano. Entre o Mulato e o Marandu houve tendência de produzir médias de gases similares, à exceção de 2012/13, ano em que as duas espécies produziram quantidades diferentes. O efeito de ano foi evidenciado em 2012/13, com produções baixas em relação ao ano de 2011/12. Contudo, em O+I não houve efeito aditivo na média do volume de gases entre as duas estações para os capins Mulato II e Marandu.

Em 2011/12, os teores médios de gases foram superiores para o Marandu e o Mulato II em relação ao ano 2012/13. No entanto, Marandu e Mulato II apresentaram teores semelhantes e superiores ao Tifton-85, independente do ano de avaliação. Em relação às estações do ano, as *Brachiarias* apresentaram teores inferiores do total de gases, na PV em relação ao OI, comparados ao capim-tifton-85. As produções médias de gases para os três capins foram similares para as *Brachiarias* nas estações avaliadas, enquanto que para Tifton-85 houve queda da P+V para O+I.

As médias de produção de gases totais observadas durante as estações de ano (Tabela 9) indicam que as *Brachiarias* produzem mais gases do que o Tifton-85, na O+I, provavelmente devido ao caráter menos fibroso das *Brachiarias*, quando irrigadas e adubadas com nitrogênio, ou devido ao

fato do O+I não ter estimulado as plantas ao crescimento exuberante, tendo gerado uma forragem menos fibrosa (maior conteúdo celular). Toro Valásquez et al. (2009) reportaram conteúdos diferentes de fração solúvel para as duas estações do ano de 281,2 e 263,3 mL g⁻¹ MS em janeiro-agosto e abril-junho para o capim-marandu e 267,1 e 250,4 mL g⁻¹ MS para o Tifton-85 nos mesmos períodos do ano.

O padrão de produção do Tifton 85 está em conformidade com a baixa DIVMS observada neste cultivar, indicando dificuldades de os microrganismos degradarem com eficiência a fibra, em relação às 24 h de exposição ao substrato. O teor de FDA do Tifton 85, variável correlacionada à digestão dos alimentos, foi superior 368,1 g kg⁻¹ MS ao das *Brachiaria brizantha* cv. Marandu (336,6 g kg⁻¹ MS) e *Brachiaria* Híbrida cv. Mulato II (316,3 g kg⁻¹ MS). Neste experimento e para a cultura de Tifton 85, a FDN e a FDA podem ter contribuído para a baixa DIVMS e a PTG, como consequência. As *Brachiarias* (Marandu e Mulato II) produziram mais gases porque foram mais digestíveis, com menos fibra, produziram mais AGV e criaram condições apropriadas para a multiplicação da população de microflora ruminal.

Tabela 9. Produção total de gases entérico em 24 horas de incubação, considerando os efeitos de espécie forrageira, frequência de corte, estação do ano e ano.

Espécie/ forrageira	Produção Total de Gases			
	Estação do Ano		Ano	
	P+V	O+I	2011/12	2012/13
	mL g ⁻¹ MS.....			
Marandu	57,8 Ba	65,9 Aa	62,7 Aa	61,1 Aa
Mulato II	59,8 Ba	64,2 Aa	63,2 Aa	60,7 Aa
Tifton 85	51,2 Bb	56,8 Ab	57,6 Ab	50,6 Bb
Frequência de Corte	Ano/Estação do ano			
	2011/12		2012/13	
	P+V	O+I	P+V	O+I
28 Dias	55,9 Bb‡	65,3 Aa†	59,1 Aa†	51,9 Bb‡
42 Dias	58,6 Ba†	64,8 Aa†	60,6 Aa†	57,9 Aa‡

Médias seguidas da mesma letra maiúscula, na linha, não diferem entre si ($P \leq 0,05$) entre as estações de ano. Médias seguidas da mesma letra minúscula, na coluna, não diferem entre si ($P \leq 0,05$) entre as espécies ou frequências de corte no mesmo ano. Medidas seguidas de scripts (†‡) iguais não diferem entre os anos dentro da mesma estação de ano.

Castro et al. (2007) obtiveram em experimento com o Marandu (em teste de produção de gases) valores 169,6 e 156,9 mL g⁻¹ MS de PTG em 24 e 56 h de incubação, respectivamente. Estes resultados são superiores aos obtidos por Sá et al. (2011), em Marandu colhido aos 28 e 35 dias de idade (72,1 77,9 mL g⁻¹ MS). O feno de pastagens naturais e palha de trigo produziram 149 e 198 mL g⁻¹ MS MS num experimento de teste de produção de gases em 24 h (TAGLIAPIETRA et al., 2011). A grande variabilidade dos resultados pode ser devido a vários fatores, tais como a fonte do

líquido ruminal (animal doador e sua dieta), a localização do experimento em termos de altitude e condições específicas do experimento (pastagem natural, cultivo em sequeiro e sem irrigação), contrariamente ao presente experimento, no qual os fatores como a irrigação e a adubação provavelmente podem ter contribuído para a menor produção de gases de amostras das plantas forrageiras avaliadas.

As médias de PTG de P+V de 2011/12 foram inferiores às médias de O+I, tanto no corte aos 28 dias quanto no de 42 dias. Em 2012/13, esta tendência foi similar com média de O+I inferior a de P+V no corte aos 28 dias e similares no corte aos 42 dias. A amplitude de PTG variou entre 51,9 a 65,6 mL g⁻¹ MS, produções ocorridas no O+I, na desfolhação de 28 dias em 2012/13 e 28 dias em 2011/12, respectivamente. Resultados similares poderiam ser esperados para as mesmas frequências de corte e estações do ano, considerando-se que as espécies foram irrigadas e adubadas na mesma dose de nitrogênio e nos mesmos anos. Contudo, quedas pluviométricas têm tido efeito no conteúdo de umidade do solo e consequentemente na disponibilidade dos nutrientes. Getachew et al. (2002) em teste de produção de gases em vários laboratórios, usando subprodutos agrícolas e silagens de milho e trigo, obtiveram resultados que variaram de 43,6 a 53,6 mL g⁻¹ MS, tendo atribuído esta a variação ao efeito aleatório do local experimental e não do substrato. Contudo, neste experimento foram registrados resultados da ordem de 51,2 a 65,9 mL g⁻¹ MS, muito próximos de 37,3 e 52,2 mL 200mg⁻¹ MS encontrados por Borda et al. (2001) na incubação de *Lolium multiflorum* L. e *Zea mays* L., respectivamente.

Houve diferenças das médias de 28 e 42 dias de intervalo de desfolhação, na P+V, em 2011/12 (55,9 vs. 58,6 mL g⁻¹ MS) e entre 28 vs. 42 dias no O+I de 2012/13 (51,9 vs. 57,9 mL g⁻¹ MS). Entre os anos dentro da mesma frequência e estação do ano, as médias de gás total foram diferentes para todas as comparações, com exceção dos cortes de 42 dias na P+V, entre 2011/12 e 2012/13. Variações de produção de gás ao longo dos anos são teoricamente esperados dado que condições edafoclimáticas causam variação da composição química do material vegetal e por via disso a produção de gases.

O CH₄ produzido durante a fermentação dos substratos foi afetado pela interação espécie vs. frequência de corte vs. estações do ano ($P=0,0002$), Tabela 10. As médias do Marandu no O+I (3,14 e 3,21 mL g⁻¹ MS) foram diferentes e altas em relação às médias de P+V (1,46 e 2,18 mL g⁻¹ MS), nos dois intervalos de desfolhação (28 e 42 dias), respectivamente. No geral O+I aumentou 3,3 a 11,7 % do volume de CH₄ produzido, de P+V a O+I, para o Marandu.

Para o capim-mulato II, apenas foi registrada diferença entre os cortes de 28 e 42 dias na P+V (3,18 mL g⁻¹ MS na PV e 1,99 mL g⁻¹ MS no OI). Apesar do efeito da irrigação e adubação, a combinação do intervalo mais longo de desfolhação (42 dias) e a estação (OI) podem ter tido efeitos

aditivos na qualidade da forragem, refletida nos teores de FDA e lignina, fatores adversos à digestibilidade e consequentemente à produção de gases, neste período do ano.

O volume médio de CH₄ produzido pelo Tifton 85 variou entre as estações do ano e frequências de corte. Na P+V, o Tifton 85 registrou maior produção de CH₄ (4,23 mL g⁻¹ MS) do que no O+I (2,28 mL g⁻¹ MS), para o corte de 28 dias. No corte de 28 dias para a PV ocorreu alta produção de CH₄ (4,23 mL g⁻¹ MS) para a espécie. Neste cultivar a menor produção de CH₄ foi de 1,71 mL g⁻¹MS, obtida na P+V aos 42 dias de intervalo de desfolhação. A colheita de forragem com 28 dias de rebrotação ocorreu produção de CH₄ significativamente baixa para todas as espécies forrageiras (tendo variado de 1,46 a 4,23 mL g⁻¹ MS), contrariamente às médias de 42 dias (1,71 a 3,21 mL g⁻¹ MS). Pela ordem crescente o Tifton-85 produziu mais metano do que Marandu e este produziu mais CH₄ do que o Mulato II, indicando que quando os ruminantes pastam o Tifton-85, o Marandu e o Mulato II, eles perdem mais energia e contribuem negativamente para o meio ambiente pelas emissões de CH₄ na atmosfera. Lee et al. (2003) reportaram resultados de 2,42-6,02 mL de CH₄ por g de MS em forragens (feno), grãos (6,87-11,6 mL de CH₄ por 0,2 g de MS) e farelos de de grãos (0,86-11,12 mL de CH₄ por 0,2 g de MS) os quais estão na amplitude da presente pesquisa. Contudo, os mesmos autores concluem que as diferenças de produção de CH₄ pelas dietas residem no fato de dietas e ingredientes ricos em amido, açúcares solúveis e hemicelulose como substrato para microrganismos produzem muito metano em relação às forragens, ricas em celulose de difícil degradação.

Entre as espécies, o Tifton 85 teve maior produção de CH₄ em relação aos dois cultivares de *Brachiaria* (média de 2,32 mL g⁻¹ MS) na comparação do volume de CH₄ quando estas forrageiras eram desfolhadas aos 28 dias de P+V (4,23 mL g⁻¹ MS). Na desfolhação no intervalo de 42 dias não houve diferenças entre as espécies ($P > 0,05$), na P+V. Os três capins mantiveram volumes de CH₄ similares no O+I, nas comparações dentro de cada frequência de corte.

A produção de CH₄ foi influenciada pela interação ano vs. espécies vs. frequência de corte ($P=0,0173$), Tabela 10. Em 2011/12, os capins Marandu e o Mulato produziram volumes de CH₄ similares entre as frequências de cortes, 28 e 42 dias de intervalo de desfolhação, contrariamente às médias de Tifton 85, no mesmo período e nas mesmas frequências (4,40 vs. 1,86 mL de CH₄ g⁻¹ MS). O volume de CH produzido pelas espécies foi alto no Tifton 85 em relação às outras espécies, que obtiveram volumes similares, em 2011/12. O desdobramento da interação espécies x ano e frequências de corte não foi diferente em 2012/13 nas comparações entre as frequências de corte e entre as espécies dentro da respectiva frequência de corte.

Tabela 10- Produção *in vitro* de CH₄ pelo teste de produção *in vitro* de gases (interação espécies vs. frequência de corte vs. estação do ano, espécies x ano x frequências de corte).

Espécie	Frequência de Corte	Estação do Ano		Ano	
	Dias	P+V	O+I	2011/12	2012/13
..... CH ₄ (mg g ⁻¹ MS).....					
Marandu	28	1,46 Bc	3,14 Aa	1,79 Bb†	2,81 Aa†
	42	2,18 B†	3,21 A†	2,06 Ba†	3,33 Aa†
Mulato II	28	3,18 Ab	2,81 Aa	2,39 Bb†	3,60 Aa†
	42	1,99 A†	2,81 A†	1,96 Ba†	2,84 Aa†
Tifton 85	28	4,23 Aa	2,28 Ba	4,40 Aa†	3,11 Ba†
	42	1,71 B†	2,92 A†	1,86 Bb‡	2,78 Aa†
Estação do Ano	Ano				
	2011/12				2012/13
P+V	2,58 Aa				2,66 Ab
O+I	2,23 Ba				3,49 Aa

Médias seguidas da mesma letra maiúscula, na linha, não diferem entre si ($P \leq 0,05$), entre estações do ano ou anos. Médias seguidas da mesma letra minúscula, na coluna, não diferem ($P \leq 0,05$) entre as espécies dentro da mesma frequência de corte na mesma espécie e estação do ano e ano (coluna). Scripts (†‡) comparam frequências de corte dentro do ano. P-primavera; V-verão; O-outono; I-inverno.

Nos dois anos de experimento as espécies forrageiras obtiveram médias de CH₄ diferentes entre elas. As médias de 2012/13 foram superiores as médias de 2011/12, para Mulato II e o Marandu, com exceção do Tifton 85, tanto no corte de 28 quanto no de 42 dias de desfolhação. Mulato II e o Tifton 85 obtiveram médias de produção de CH₄ diferentes entre os cortes, sendo que para ambas as espécies, os cortes de 28 dias foram superiores aos cortes de 42 dias de intervalo de corte. As produções médias de CH₄ por frequência de corte e estações do ano indicam que o melhor intervalo de desfolhação para a *Brachiaria brizantha* cv. Marandu é no intervalo de 28 dias durante o PV, pois animais consumindo essa forragem produzem menos CH₄ (1,79 mL CH₄ g⁻¹ MS) em relação à frequência de 42 dias de OI (2,39 mL CH₄ g⁻¹ MS). Para o Mulato II seria colhido aos 28 dias de PV, pois tem a média mínima de produção de 1,99 mL CH₄ g⁻¹ MS aos 42 dias e para o Tifton 85 seria também no intervalo de 42 dias durante a PV (1,71 mL CH₄ g⁻¹ MS). A produção de CH₄ pelas espécies sugere que está diretamente ligada à maturidade fisiológica e a difusão dos constituintes químicos na célula vegetal. Observa-se de forma generalizada, que as médias de produção de CH₄ são altas nos cortes de 42 dias durante o período de OI, para todas as espécies. Esta tendência foi reportada por Castro et al. (2007) em experimento de produção de gases com *Brachiaria brizantha* cv. Marandu que concluiu que o melhor intervalo de corte, que produz menos gases se situa entre 28 e 56 dias, pois neste intervalo há pouco material senescente, pouca lignificação dos tecidos

vasculares e maior quantidade de material solúvel, com reflexos na baixa produção de gases de fermentação entérica e maior aproveitamento de energia com pouca poluição do ambiente.

A produção de metano (CH_4) foi influenciada pela interação ano vs. estação do ano ($P=0.0001$), Figura 3. A variação ocorreu entre as médias de P+V e de O+I, com cifras de 2,66 e 3,49 $\text{mL CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ MSD}$, respectivamente. Houve diferenças do volume de CH_4 produzido no O+I de 2011/12 em relação a de 2012/13 na ordem de 2,23 e 3,49 $\text{mL g}^{-1} \text{ MS}$, respectivamente. No geral as produções de CH_4 de 2012/13 foram superiores às de 2011/12. Provavelmente porque no primeiro ano a forragem ainda estava em estabelecimento e não havia acúmulo de material morto que pode ter afetado a produção de metano em 2012/13, pois quanto mais material fibroso na dieta maior é o tempo de retenção da digesta no trato digestivo e consequentemente maior é a produção de CH_4 , traduzido em perdas de nutrientes ou energia pelo animal.

4.3.3 Fator de Partição

O fator de partição foi influenciado pela frequência de corte ($P=0,0067$), pelo ano ($P=0,0001$), pelas interações estação do ano vs. espécie ($P=0,0058$), ano vs. frequência de corte ($P=0,0008$), ano vs. estação do ano ($P=0,0001$), ano vs. espécie vs. frequência de corte ($P=0,0481$) e ano vs. estação do ano vs. frequência de corte ($P=0,0006$), Tabela 7.

A média da P+V (4,17 $\text{mg MSD mL}^{-1} \text{ gás}$) foi diferente e superior à média de O+I (3,45 $\text{mg MSD mL}^{-1} \text{ de gas}$), no corte de 2011/12 e na frequência de 28 dias (Tabela 11). Em 2012/13, esta tendência se repetiu similarmente na mesma frequência de corte (4,31 e 4,97 $\text{mg MSD mL}^{-1} \text{ gás}$) para as mesmas estações do ano. As médias do corte de 42 dias não foram diferentes nas duas estações e nos dois anos. Houve diferenças das médias de PF entre os cortes, na PV em 2011/12, com o mesmo comportamento entre as duas frequências de corte, no mesmo ano (2011/12) e as médias foram 3,45 e 3,70 $\text{mg MSD mL}^{-1} \text{ de gas}$ para 28 e 42 dias de intervalos de cortes, respectivamente. Em 2012/13 não houve diferenças entre as médias das frequências de corte, à exceção entre os dois cortes de O+I (4,97 e 4,12 $\text{mg MSD mL}^{-1} \text{ gás}$ aos 28 e 42 dias, respectivamente). Não houve diferenças entre os anos na PV, mas apenas entre o O+I.

Tabela 11 - Fator de partição, considerando os efeitos de espécie, frequência de corte, estação do ano e ano.

Estações/ Espécies	Frequências de Corte	
	28 Dias	42 Dias
	FP (mg MSD mL ⁻¹ gás).....	
Estação do ano	2011/12	
P+V	4,17 Aa†	3,93 Aa†
O+I	3,45 Bb‡	3,70 Aa‡
	2012/13	
P+V	4,31 Ab†	4,07 Aa†
O+I	4,79 Aa†	4,12 Bb†
Espécies forrageira	2011/12	
Marandu	3,93 Aa‡	3,89 Aa†
Mulato II	3,69 Aa‡	3,67 Aa†
Tifton-85	3,82 Aa‡	3,88 Aa‡
	2012/13	
Marandu	4,79 Aa†	3,83 Bb†
Mulato II	4,56 Aa†	3,85 Bb†
Tifton-85	4,56 Aa†	4,61 Aa†
	Estação do ano	
	P+V	O+I
Marandu	4,28 Aa	3,94 Bb
Mulato II	4,06 Aa	3,82 Ab
Tifton-85	4,02 Ba	4,42 Aa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na linha, não diferem entre si ($P \leq 0,05$) na comparação de frequências de corte dentro de cada estação do ano e espécie e de estação do ano dentro de espécie, segundo o teste de Tukey. Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, não diferem ($P \leq 0,05$) entre estação do ano e espécie, e dentro de estação do ano entre espécie. Medidas seguidas de scripts († e ‡) iguais não diferem entre os anos dentro da mesma frequência de corte e estação do ano e dentro da mesma frequência de corte ou espécie.

Foi detectada a variação das médias do CH₄ resultantes do efeito da interação entre o ano vs. espécies vs. frequência de cortes ($P=0,0481$), tabela 4. Em 2011, as espécies obtiveram resultados não diferentes significativamente entre as frequências de corte. Os cortes efetuados entre 28 dias foram similares relativamente aos cortes de 42 dias. Esta tendência foi parcialmente detectada no Tifton 85 em 2012; suas medias não foram diferentes entre os cortes de 28 e 42 dias entre os cortes (4,56 and 4,61 mg MSD mL⁻¹ gás). Contudo, neste mesmo ano (2012) o Marandu e o Mulato II obtiveram medias variadas entre 28 e 42 dias de corte; sendo que as medias de 28 dias foram superiores no Marandu (4,79 vs. 3,83 mg MSD mL⁻¹ gás) e no Mulato 4,56 vs. 3,85 mg MSD mL⁻¹ gás), entre as duas estações (P+Ve O+I).

O FP, embora tenha variado em função dos tratamentos impostos as plantas forrageiras, revelou-se tratar-se de um parâmetro bastante estável, com padrões de variação bem definidos, como indicam as pesquisas de Nogueira et al. (2006) e Sá et al. (2011). O fator de partição registrado neste experimento é relativamente superior aos resultados obtidos por Sá et al. (2011) em experimento com o Marandu incubado por 24 a 96 h, pois foi obtido um range de 1,45 a 2,39 mg mL⁻¹ de gás

produzido, respectivamente e no nosso experimento o FP variou de 3,83 a 4,79 mg mL⁻¹ gás para o Marandu incubado pó 24 h. Os resultados obtidos na presente pesquisa estão em conformidade com os resultados de Nogueira et al (2006) em experimentos com o *Panicum maximum* (3,0 mg mL⁻¹ de gás), cana de açúcar (3,70 mg mL⁻¹ de gás) e milho (3,40 mg mL⁻¹ de gás). Contudo, outras pesquisas indicam valores altos de PF (ELGHANDOU et al., 2013), na ordem de 6,9; 9,4; 12,8; 13,4 mg MS mL⁻¹ de gás, em *Sorghum vulgare*, *Pennisetum purpureum*, *Saccharum officinarum* e *Andropogon gayanus*, respectivamente. A variação do FP pode se dever ao tempo de incubação, ao doador de líquido ruminal, portador da população de microrganismos, bem como do substrato incubado, pois substratos diferentes podem gerar FP diferentes.

A estação do ano produziu efeito significativo (P=0,058) no fator de partição (FP) das espécies forrageiras em estudo foi significativo, Tabela 11. Contudo, na P+V o Marandu, o Mulato II e o Tifton 85 obtiveram valores de FP similares, na ordem de 4,28; 4,06 e 4,02 mg MSD mL⁻¹ de grãos produzido. O comportamento das forrageiras em relação ao efeito das estações do ano no FP foi diferente no outono + inverno. O Tifton 85 teve o FP maior (4,42 mg MSD mL⁻¹ de grãos) ao do Marandu e Mulato II, que obtiveram valores não diferentes estatisticamente (média de 3,88 mg MSD mL⁻¹ de gás). Segundo Makkar (2004), quando maior for o FP menor é a produção do CH₄, neste específico caso o Tifton 85 teve maior mais alto e está em concordância com o valor da DIVMS, que é menor em relação às outras espécies. Analisando a tabela 11, na comparação da interação estação x frequências de corte e anos concluir-se que a P+V também não teve diferenças no FP. Assim pode-se concluir que o FP, não é afetado pela P+V e as espécies possuem o FP similar nesta estação do ano. Provavelmente esta seja a resposta comum das espécies nesta estação do ano, diferente da O+I que produzem diferenças do FP entre as espécies.

4.3.4 Taxas de produção *in vitro* de gases de fermentação

A análise de variância dos perfis de degradação da MS, determinada com a técnica de produção *in vitro* de gases, envolvendo ano, frequências de corte, espécies, horas de incubação e estações do ano resultou em diferenças significativas (P=0,05). Neste trabalho apenas foram consideradas as interações que possibilitem uma explicação biológica da fermentação das forrageiras em função das frequências de corte, das estações do ano e ano. Assim, são apresentados os resultados da interação espécie vs. frequência de corte vs. hora de incubação (P=0,0026, tabela 6); espécie vs. ano vs. hora (P=0,0004) e espécies vs. estação x hora (P=0,0001). A produção de gases (PG) de fermentação entérica foi diferente para todos os tempos de fermentação dentro das frequências de corte, para cada espécie e ocorreu de forma crescente, do menor ao maior tempo de incubação (4 a 24 h) (Tabela 12). Após 4 h de incubação a PG variou de 0,4 (Tifton 85 vs.48 dias) a 3,1 mL g⁻¹ MS

(Mulato II vs. 48 dias) e os valores mais altos (24 h de incubação) variaram de 53,6 (Tifton 85 aos 28 dias) a 63,8 mL g⁻¹ MS (Marandu aos 48 dias). A partir das 12 h de incubação o padrão de fermentação duplicou-se dentro de cada espécie e frequências de corte.

A desfolhação do capim-marandu aos 42 dias de rebrotação produziu volume de gás superior (38,9 e 63,8 mL g⁻¹ MS) ao volume produzido no intervalo de corte de 28 dias (36,7 e 59,9 mL g⁻¹ MS) a partir das 18 a 24 horas de leitura, respectivamente. Entre as horas de medição houve diferenças de PG dentro de cada frequência de corte. Este padrão de produção ocorreu nas três espécies, nas duas frequências de cortes. Contudo, os volumes de gás produzidos pelo Marandu e pelo Mulato II, aos 28 dias foram diferentes do produzido pelo Tifton 85 das 8- 24h de leitura, sendo que o Tifton 85 produziu volumes baixos de gás relativamente às duas espécies, com medias de 24 h, correspondentes a 59,9, 60,6 e 53,6 mL g⁻¹ MS, para o Marandu, Mulato II e Tifton 85, respectivamente. O perfil de produção de gases ocorrido no corte aos 42 dias de rebrotação para todas as espécies foi alto comparado com o gás produzido aos 28 dias de intervalo de cortes.

Houve diferenças significativas da interação espécies vs. estação do e hora no perfil fermentativo das espécies. O volume de PG pelas espécies teve diferença significativa na leitura de 18 h na Primavera+Verão, registrando menor produção pelo Tifton 85 (33,3 mL g⁻¹ MS), comparado com Mulato II (36,8 mL g⁻¹ MS) e o Marandu (34,4 mL g⁻¹ MS). A média do volume da PG na leitura final (24 h) de Tifton 85 foi diferente e inferior (49,9 mL g⁻¹ MS) à do gás registrado nos capins marandu (65,9 mL g⁻¹ MS) e mulato II (64,1 mL g⁻¹ MS), no Outono+Inverno. Ao longo dos tempos de leitura houve similarmente diferenças do volume de gás produzido, pelas espécies. À medida que o tempo de incubação foi aumentando, a PG foi aumentando de forma diferente para todas as espécies. Na primeira leitura, passadas 4 h de fermentação a produção foi de 1,5 mL g⁻¹ MS (Marandu), 1,6 mL g⁻¹ MS (Mulato II) e 0,2 mL g⁻¹ MS (Tifton 85), com as últimas leituras a atingirem 49,9 mL g⁻¹ MS (Tifton 85 f), 65,9 mL g⁻¹ MS (Marandu) e 64,1 mL g⁻¹ MS (Mulato II), no Outono+Inverno. Entre as estações, o perfil de fermentação foi diferente para todas as espécies.

Tabela 12. Perfil de fermentação (Gás, mL g⁻¹ MS) de forrageiras (espécie vs. frequência de corte vs. horas de incubação; espécie vs. estação do ano vs. horas de incubação; espécies vs. ano vs. horas de incubação).

Leitura (horas)	Espécies x frequência x hora*			Espécie x estação x horas**			Espécies x ano x hora***		
	Marandu	Mulato II	Tifton 85	Marandu	Mulato II	Tifton 85	Marandu	Mulato II	Tifton 85
.....28 dias.....									
.....P+V.....									
.....2011/12.....									
.....Produção de gás (mL g ⁻¹ MS).....									
4	1,1 ABe‡	1,3 Ae†	0,5 Be†	1,6 Ae†	2,6 Ae†	0,7 Ae†	2,6 Ae†	3,1 Ae†	0,8 Ae†
8	12,4 Ad†	9,7 Ad‡	6,4 Bd‡	11,3 Ad‡	14,1 Ad†	9,9 Ad†	14,9 Ad†	14,8 Ad†	11,7 Bd†
12	18,7 Ac†	16,8 Ac‡	11,8 Bc‡	17,6 Ac‡	18,4 Ac†	15,9 Ac†	21,4 Ac†	21,2 Ac†	17,3 Bc†
18	36,7 Ab‡	36,3 Ab‡	28,5 Bb‡	34,4 ABb‡	36,8 Ab‡	33,3 Bb†	38,6 Ab†	39,8 Ab†	33,4 Bb†
24	59,9 Aa‡	60,6 Aa‡	53,6 Ba‡	57,8 Aa‡	59,8 Aa‡	58,0 Aa†	63,7Aa†	63,0 Aa†	57,6 Ba†
.....42 dias.....									
.....O+I.....									
.....2012/13.....									
.....Produção de gás (mL g ⁻¹ MS).....									
4	2,1 Ae†	3,1 Ae†	0,4 Be†	1,5 Ae†	1,8 Ae†	0,2 Ae†	0,5 Ae‡	1,3 Ae†	0,1 Ae†
8	13,1 Ad†	14,1 Ad†	10,2 Bd†	14,2 Ad†	11,7 Ad†	6,7 Bd‡	10,6 Ad‡	9,0 Ad‡	4,9 Bd‡
12	20,3 Ac†	21,1 Ac†	15,9 Bc†	21,5 Ac†	19,5 Ac†	11,8 Bc‡	17,6 Ac‡	16,8 Ac‡	10,5 Bc‡
18	38,9 Ab†	40,1 Ab†	31,3 Bb†	41,3 Ab†	39,6 Ab†	26,5 Bb‡	36,8 Ab†	36,6 Ab‡	26,5 Bb‡
24	63,8 Aa†	63,3 Aa†	54,3 Ba†	65,9 Aa†	64,1 Aa†	49,9 Ba‡	61,1 Aa†	60,7 Aa‡	50,3 Ba‡

(*) Médias seguidas da mesma letra maiúsculas (linha)- comparação de espécies e médias seguidas da mesma letra minúsculas (coluna)-comparação dos tempos dentro da espécie em cada corte. Scripts (‡†, coluna)-Comparação das frequências de corte dentro de cada espécie e tempo. (**). Letras maiúsculas (linha)- Comparação de espécies. Letras minúsculas (coluna)-Comparação dos tempos dentro de cada espécie em cada estação. Scripts (‡†, coluna) - Comparação de estações dentro de cada espécie e tempo. (***) Maiúsculas (linha)- Comparação de espécies. Letras minúsculas (coluna)-Comparação dos tempos dentro da espécie em cada ano. Scripts (‡†, coluna)- Comparação dos anos de corte dentro de cada espécie e tempo.

4.3.5 Conclusão

A adubação nitrogenada combinada com a irrigação não produz efeito diferenciado da média de degradabilidade *in vitro* de materia seca (DIVMS) de gramíneas forrageiras tropicais colhidas aos 28 e 42 dias de intervalo de rebrotação; diferenças entre as *Brachiarias* (do mesmo gênero), não são detectadas à exceção da diferença entre elas com a o Tifton 85 (com menores valores de DIVMS). Este comportamento pode se dever ao fato de a *Brachiaria* híbrida cv. Mulato II ter sua origem no cruzamento que envolveu também a *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. Contudo, observam-se diferenças de DIVMS causadas pela variação entre anos de experimentação. A combinação de estações de ano e frequências de corte tem efeito aditivo na DIVMS apenas no outono e inverno, dado que este período do ano é caracterizado pelo rigor de clima seco e frio, apesar das práticas agrônômicas impostas. Considerando o efeito da irrigação e adubação pode-se inferir que

estes fatores tenham contribuído na diminuição do teor de fibra e permitido que as frações incubadas respondam de forma similar na digestibilidade, em ambos os intervalos de corte.

A produção acumulada de gases pelas espécies foi afetada pelas estações do ano e ano e não em função de frequências de corte, à semelhança da degradabilidade, indicando o efeito dos fatores anteriormente mencionados. O CH₄ produzido pelas espécies foi influenciado pelas estações e pelas frequências de corte, indicando menor teor de CH₄ entre primavera e verão (menor) e outono e inverno (maior) dentro das frequências de corte e anos. O FP teve um padrão constante, mas com tendência a variar entre anos do que com as frequências de corte. O perfil de metano de Marandu e Mulato II foi similar, mas diferente do perfil de Tifton 85 tanto nos tratamentos de frequência de cortes como nas estações do ano. Esta espécie teve menores produções de gás após 24 horas de incubação do que as *Brachiarias*.

4.4 Referência

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**, Edinburgh, v. 44, p. 953–964, 2012. Disponível em: < [www/htl.doxDOI](http://www.htl.doxDOI) 10.1007/s11250-011-9992-0>. Acesso: 12 mar. 2014.

ABDALLA, A. L. et al. Utilização de subprodutos de biodiesel na alimentação de ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, p. 260-258, 2008.

AGHSAGHALI, A. M.; NACER, M. S. Factors affecting mitigation of methane emission from ruminants. i. feeding strategies. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, Faisalabad, v. 6, n. 9, p. 888-908, 2011.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY (AOAC). **Official Methods of Analysis**. 18th ed. Arlington, VA. USA: AOAC, 2005.

BEAUCHEMIN, K. A. et al. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Kamebra, v. 48, p. 21–27, 2008.

BLUMMEL, M. et al. A note on the stoichiometrical relationship of short chain fatty acid production and gas formation *in vitro* in feedstuffs of widely differing quality. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 81, p. 157–167, 1999.

BORBA, A. E. S. et al. Comparison of three sources of inocula for predicting apparent digestibility of ruminant feedstuffs. **Animal Research**, France, v. 50, p. 265–273 265, 2001.

CASTRO, G. H. F. et al. Cinética de degradação e fermentação ruminal da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu colhida em diferentes idades ao corte. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n. 6, p. 1538-1544, 2007.

- ELGHANDOUR, M. M. et al. Effects of exogenous enzymes on in vitro gas production kinetics and ruminal fermentation of four fibrous feeds. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 179, p. 46-52, 2012.
- ELLIS, J. L. J. Aspects of rumen microbiology central to mechanistic modelling of methane production in cattle. **The Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 146, p. 213-233, 2008.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). 1999. Sistema brasileiro de classificação de solos. Brasília: **EMBRAPA Prod. de Informação**. 412p.
- ERWIN, E. S; MARCO, G. J. ; EMERY, E. M. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. **Journal of Dairy Science**, Illinois, v. 44, p. 1768-1770. 1961.
- GETACHEW, G. et al. Laboratory variation of 24 h in vitro gas production and estimated metabolizable energy values of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 102, p. 169-180, 2002.
- LEE, H. J. et al. Methane production potential of feed ingredients as measured by in vitro gas test. **Asian Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul, v. 168, p. 1143-1150, 2003.
- LITTELL, R. C. et al. **Statistical Analysis System Institute: SAS for Mixed Models**. 2nd ed. Cary: SAS Institute, 2006. 1 CD-ROM.
- MAKKAR, H. P. S. Recent advances in the in vitro gas method for evaluation of nutritional quality of feed resources. **FAO Animal Production and Health Paper**, Roma, p. 55-88, 2004.
- MARSALIS, M. A. et al. Yield and nutritive value of forage bermudagrasses grown using subsurface drip irrigation in the southern high plains. **Crop science**, Madison, v. 47, n. 3, p. 1246-1254, 2007.
- MIRZAEI-AGHASAGHALI, A.; MAHERI-SIS, N. Factors affecting mitigation of methane from ruminants I: Feeding strategies. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, Faisalabad, v. 6, n. 9, p. 888-908. 2011.
- NOGUEIRA, U. T.; MAURÍCIO, R. M.; GONÇALVES, L. C. Comparação de substratos com diferentes quantidades de carboidratos solúveis utilizando a técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária de Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 58, n. 4, p. 663-641, 2006.
- O'MARA. F. P. The significance of livestock as a contributor to global greenhouse gas emissions today and in the near future. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 166-167, p. 7-15, 2011.
- SÁ, J. F.; PEDREIRA, M. S.; DA SILVA, F. F.; DE FIGUEIREDO, M. P.; REBOUÇAS, G. M. N. e DE SOUZA, D. R. Cinética da fermentação *in vitro* do capim-Marandu em diferentes idades de corte. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 33, n. 3, p. 225-231, 2011.
- STORM, I. M. L. D. et al. Methods for measuring and estimating methane emission from ruminants. **Animals**, Basel, v. 2, p. 160-183, 2012.

TAGLIAPIETRA, F. et al. Metabolizable energy content of feeds based on 24 or 48 h in situ NDF digestibility and on in vitro 24 h gas production methods. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 170, p. 182–199, 2011.

THEODOROU, K. M. et al. A simples gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 48, p. 184-197, 1994.

TORO VELÁSQUEZ, P. A. et al. Cinética da fermentação e taxas de degradação de forrageiras tropicais em diferentes idades de corte estimadas pela técnica de produção de gases *in vitro*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, n. 9, p. 1695-1705, 2009.

WANG, M. et al. Responses of methane production and fermentation pathways to the increased dissolved hydrogen concentration generated by eight substrates in *in vitro* ruminal cultures. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 194, p. 1-11, 2014.

VAN MAN, N. et al. Forage yield, nutritive value, feed intake and digestibility of three grass species as affected by harvest frequency. **Tropical Grasslands**, Canberra, v. 37, n. 2, p. 101-110, 2003.

VAN SOEST, P. J. Nutritional ecology of the ruminant. 2th ed. Ithaca, NY: University Press, 1994.

5 ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA DE *Brachiaria Brizantha* CV. MARANDU, *Brachiaria* HÍBRIDA CV. MULATO II (CONVERT HD 364[®]) e *Cynodon dactylon* (L.) CV. TIFTON 85 ESTIMATED BY *IN VITRO* GAS PRODUCTION TECHNIQUE

RESUMO

Os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) em forragem fornecem energia para os ruminantes e contribuem na produção leiteira. Contudo, a produção AGCC e a degradabilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) de genótipos forrageiros podem variar de acordo com manejo de corte ao longo das estações do ano. O objetivo deste trabalho foi avaliar os teores de AGCC, a DIVMS e a relação de ácido acético (A) e propiônico (P) usando a técnica de produção *in vitro* de gases de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, *Brachiaria* híbrida Convert HD 364 “cv. Mulato II” e *Cynodon dactylon* (L.) cv. Tifton-85. A forragem foi cultivada, irrigada e adubada na ESALQ/USP, Piracicaba/SP. Amostras foram incubadas em duplicata com o meio de cultura e inóculo ruminal de novilhos, nos tempos de 4, 8, 12, 18 e 24 horas na FZEA - USP/Pirassununga/SP e analisadas em cromatógrafo na fase líquido-gasosa. O experimento foi em fatorial 2 x 3 [2 frequências de corte (28 e 42 dias) e 3 plantas forrageiras (Marandu, Mulato II e Tifton-85)], durante as estações de 2011/12 e 2012/13 [(Primavera+Verão, PV) e (Outono + Inverno, OI)], em blocos aleatorizados. Os AGCC dos capins avaliados, o total dos AGCC (AGCC), a DIVMS e a relação entre AGCC: MS digerida foram afetados pelo ano vs. frequência de corte vs. estação do ano. As médias da interação para AGCC foram de 14,2; 6,5; 2,0; 6,5 e 2,0 mM dos ácidos acético, propiônico, butírico, isobutírico e isovalérico, respectivamente. A relação entre o ácido acético (A) e o propiônico (P) teve tendência constante ao longo dos tratamentos. As médias de DIVMD foram 247,0; 242,0 e 223,6 mg g⁻¹ MS e as de AGCC foram 22,1; 22,6 e 20,6 mM para Marandu, Mulato II e Tifton-85, respectivamente. A relação AGCC: MSD teve comportamento constante sugerindo que sua variação poderia ter sido afetada pelas condições de fermentação do que a forragem em si, removida a variação associada à FDA e a FDN potencialmente digerida e à frequência de corte. A DIVMS e os AGCC do pasto são menos afetados pelas estações do ano, mas mais afetados pelas frequências de corte e o manejo melhora a qualidade da forragem independentemente da frequência de corte.

Palavras-chave: Degradabilidade *in vitro*, produção de gases entericas, gamíneas, forragens tropicais, ácidos graxos de cadeia curta.

VOLATILE FATTY ACIDS (VFA) OF *Brachiaria Brizantha* CV. MARANDU, *Brachiaria HÍBRIDA* CV. MULATO (CONVERT HD 364[®]) II E *Cynodon dactylon* (L.) CV. TIFTON-85 ESTIMATED BY *IN VITRO* GAS PRODUCTION TECHNIQUE

ABSTRACT

Short chain fatty acids (SCFA) provide energy for ruminant metabolism and milk build up. However, SCFA production in forages could be affected by soil fertility, clipping intervals, irrigation, and season, and posing variation in chemical and nutritional value and alternatively, affect animal performance. The objective of the study was to evaluate the *in vitro* dry matter degradability (IVDMD) and SCFA in *Brachiaria brizantha* [Hochst] Stapf. cv. Marandu, *Brachiaria* hybrid Convert HD 364 cv. Mulato II and *Cynodon dactylon* (L.) cv. Tifton-85. Experimental plots were established at University of São Paulo, Brazil in factorial design [clipping intervals (28 and 42 days), season of the year (summer + spring, SS and autumn + winter, AW), and grass (3)] with 4 replications. Forage samples (1 g) were incubated in small bottles with culture medium and rumen liquor, from 2 fistulated Nelore steers, during 24 h period, and analyzed by liquid-gas chromatography, or defining relation between SCFA and IVDMD. Dry matter digestibility and total VFA and individual VFA were affected by the interaction of year x clipping frequencies x season and in some cases by year x species and season. The average for acetate, propionate, butyrate, iso-butyrate and iso-valerate were 14.2; 6.5; 2.0; 6.5 and 2.0 mM g⁻¹ DM, respectively. The corrected 24 h IVDMD and total SCFA were 247,0; 242,0 and 223,6 g kg⁻¹ MS for Marandu, Mulato II and 22.1; 22.6 and 20.6 mM g⁻¹ DM for Marandu, Mulato and Tifton-85, respectively. The total VFA to DMD ratio had a constant trend and could have been affected by FDA of forage aging. Under supplementary irrigation and fertilization, tropical forage IVDMD and VFA content are less affected by season but more affected by cutting frequencies and improve feed quality of late harvested forage.

Keywords: *In vitro* degradability, gas test, grasses, tropical forage, volatile fat acids.

5.1 Introdução

A hidrólise de mono e polissacarídeos resulta em piruvato e destes os produtos finais que são os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), aproveitados pelos animais como fontes de energia para as diversas funções vitais. A quantidade de gases de fermentação entérica produzida de mono e polissacarídeos constituintes de alimentos incubados ou ingeridos pelo animal reflete a produção desses ácidos (GETACHEW et al., 2004). Os AGCC resultantes da degradação de carboidratos, pela ação da microflora ruminal são constituídos majoritariamente dos ácidos acético, propiônico, butírico, valerato, seus isômeros e outros ácidos em pequenas quantidades. A maior produção destes ácidos reflete não apenas a eficiência da atividade microbiana do rúmen, do tempo de fermentação do substrato, mas também do arranjo químico-estrutural dos carboidratos ingeridos pelos animais.

Os AGCC representam 75 a 80% da energia originalmente presente nos carboidratos e disponível para ruminantes (HUNGATE, 1966, KOZLOSKI, 2002). Contudo, proporção e a quantidade destes ácidos determinam a sua utilização pelo animal. Assim, o ácido propiônico é o mais eficiente do ponto de vista de conservação e disponibilização de energia para o animal, pois ele não é convertido em CH_4 (NOGUEIRA et al., 2006) durante a lise pelas bactérias metanogênicas. As bactérias metanogênicas ao catalisarem este processo gastam energia derivada dos carboidratos que seria aproveitada pelo animal para o seu metabolismo. Portanto, a fermentação ruminal é um processo anaeróbio que converte os carboidratos em, principalmente, ácidos acético, propionato e butírico na proporção aproximada de 70:20:10, respectivamente, sendo que os três ácidos representam 95% do total dos AGCC produzidos no rúmen (ELLIS et al., 2008).

No entanto, a relação do conteúdo dos ácidos acético e propiônico obtida para substratos semelhantes pode alterar o volume de gases, em que substratos com maior capacidade de produção de acetato, elevados teores de carboidratos fibrosos (CF), produzem maior quantidade de gases quando comparados aos substratos ricos em carboidratos não fibrosos (CNF), os quais proporcionam maior produção de propionato e, conseqüentemente, menor produção de gases. Segundo VAN SOEST (1994) e KOZLOSKI (2002), as proporções molares de AGCC produzidas no ambiente ruminal variam de 45 a 75%, 15 a 45% e 11 a 13% para o acetato, propionato e butirato, respectivamente. A riqueza das dietas em fibra permite a proliferação das bactérias celulolíticas, contrariamente às amilolíticas que proliferam em dietas à base de amido, onde o incremento dos teores do ácido propiônico é alto (MIRZAEI-AGHASAGHALI e MAHERI-SIS, 2011). Em geral, quando o animal ingere uma dieta enriquecida com amido ou outros carboidratos de alta solubilidade, ocorre incremento na síntese de ácido propiônico, a partir de bactérias amilolíticas. A curva de produção de AGCC também é relacionada ao tipo de alimento. Dietas ricas em forragens apresentam

curva menos aguda e pico de produção entre 4 a 5 horas após a ingestão, sendo de 2 a 3 horas após a ingestão de dietas ricas em concentrado (KOLOSKI, 2002).

Lovett et al. (2005) observaram em experimento com cultivares de *Lolium perenne* em clima temperado que existe variação dos AGCC em função do calendário da desfolhação, mas essa informação é bastante escassa nas gramíneas tropicais. Recentemente, Archimedes et al. (2014) concluíram que ovelhas consumindo dietas à base de *Saccharum officinarum* e de feno de *Dicanthium* sp. possuíam diferenças no perfil de AGCC, baseadas na proporção entre o conteúdo de carboidratos solúveis e os fibrosos nessas gramíneas. Assim, atualmente pouca informação está disponível documentando o perfil dos ácidos graxos produzidos por espécies tropicais sob uma gama de condições de manejo de pasto. O Objetivo deste estudo foi de determinar os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), a digestibilidade *in vitro* de matéria seca usando o teste de produção *in vitro* de gases e a relação entre o ácido acético e propiônico em forrageiras tropicais cultivadas, irrigadas e adubadas coletadas em duas datas fixas de desfolhação nas estações dos anos de 2011 e 2012.

5.2 Material e métodos

5.2.1 Local e manejo agrônômico

A produção de substrato para este experimento (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu; *Brachiaria* híbrida cv. Mulato II e *Cynodon dactylon* cv. Tifton-85) foi feita na Universidade de São Paulo, no Campus de Piracicaba de 2011a 2013, irrigados e com aplicação de 400 kg N ha⁻¹ ano⁻¹, parcelados. A colheita das amostras foi feita a 10 cm da superfície do solo. Após o corte a forragem era pesada, subamostrada (300-350 g) e colocada em sacos de pano e levada ao laboratório para a primeira secagem à temperatura constante da estufa de ventilação forçada de 60°C durante 72 horas. Após este período, as amostras foram moídas em moinho de facas do tipo Wiley Mill (Marconi, SP, Brasil) com o diâmetro do crivo de 1,0 mm, acondicionadas em “zip-locks” e levadas para a análise de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) e produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). Estas análises foram realizadas nos Laboratórios das Ciências Agrárias, de Bromatologia e de Fermentabilidade Ruminal da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA) da Universidade de São Paulo, em Pirassununga (21°59' de latitude sul, 47°26' de longitude oeste e 635 m de altitude). Foi feita a segunda análise da matéria seca (MS) a 105°C usando os procedimentos descritos pela AOAC (2005) método oficial 934.01 [AOAC (2005)], para a correção de AGCC com base nesta MS.

5.2.2 Fermentação *in vitro* do substrato, líquido ruminal e meio de cultura

Subamostras compostas colhidas nas estações de Primavera, Verão (P+V), Outono e Inverno (O+I) foram incubadas (duplicata), em frascos de vidro de 160 mL (volume total) na presença de 90 mL de meio nutritivo, 10 mL de inoculante ruminal, durante 24 horas (em intervalos de tempo de 4; 8; 12; 16; 18; 24 h). No total foram incubados 204 frascos com amostras de forragem, incluindo quatro amostras de branco. Os frascos contendo 1,0 g de amostra foram colocados em estufa com circulação forçada de ar a 39°C, um dia antes do início do experimento. O líquido ruminal (LR) e a fase sólida da digesta, na proporção de 50: 50 foram coletados de manhã entre as 6: 30 h às 7: 30 h, em dois novilhos Nelores fistulados no rúmen, alimentando-se de pastos de *Brachiaria brizantha*, com suplementos minerais.

O conteúdo ruminal foi colhido e conservado à temperatura de 39°C e levado ao laboratório para liquidificação e homogeneização por aproximadamente 10 segundos, filtrado em três panos sépticos (Compensas Quirúrgicas, América Medical LTDA, MG, Brasil) sobre constante infusão de CO₂ para criar ambiente anaeróbico e manter os microrganismos anaeróbicos vivos. O líquido era conservado em garrafas de 1 litro em “banho-maria” a 39°C e posteriormente foi coletada com seringa alíquota de 10 mL deste líquido para os frascos experimentais com amostra e o meio nutritivo.

Figura 3 - Preparação do líquido ruminal. A - líquido ruminal nas garrafas após trituração, homogeneização e filtragem e infusão do CO₂ (no fundo); B - “Banho-Maria” do líquido ruminal a 39°C (Agrárias 2013).

Os frascos com o meio nutritivo, o substrato e o liquido ruminal foram hermeticamente fechados com tampas de borracha siliconizada e colocados na estufa da TECNAL (Piracicaba, SP). O meio nutritivo foi preparado e conservado sob 39°C na estufa e a mistura consistiu em macro e micro nutrientes, tamponante e solução redox de acordo com a descrição de Maurício et al. (1993).

Depois da última leitura de volume e pressão, extraiu-se de cada frasco 1 mL do fluido fermentado, colocou-se em tubo e congelou-se para análise de AGCC. As concentrações de AGCC no fluido ruminal foram determinadas em cromatógrafo em fase líquido-gasosa (GC-2014, Shimadzu, Japão), segundo ERWIN e MARCO (1961). Foi usada a coluna capilar a 145°C, isotérmica [Stabilwax com 30m de comprimento x 0.53mm de diâmetro interno (Stabilwax®, Restek, EUA)] e um injetor split/splitless e detector dual FID a 250°C, utilizando o método descrito por Erwin et al. (1961), adaptado por Getachew et al. (2002). O Hélio (vazão de 8,01 ml/minuto) foi gás de arraste, o ar sintético (pressão de 40 kPa) como comburente e o hidrogênio (pressão de 60kPa) como combustível. As amostras foram descongeladas à temperatura ambiente e centrifugadas a $14500 \times g$ durante 10 min. O sobrenadante (800 µl) foi transferido para um frasco com 200 µl de ácido fórmico 98-100% PA ACS e 100 µL do padrão interno (ácido 2-etil-butírico 100 mM, Chemservice, USA). Os padrões externos foram preparados com ácidos acéticos, propiônico, isobutírico, butírico, isovalérico e valérico (Chemservice, USA) e a determinação dos AGCC foi feita pelo software GCSolution® (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan).

5.2.3 Análise estatística

Os dados do experimento foram analisados usando o procedimento GLMMIX do Statistical Analysis System, SAS (LITTEL et al., 2006). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos foram estimadas com o “LSMEANS” e a comparação pela probabilidade da diferença (“PDIFF”), usando o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os efeitos de cultivar, frequência de corte, época do ano, hora de incubação e suas interações serão considerados como efeitos fixos e o efeito de bloco será considerado aleatório, baseado no seguinte modelo:

$$Y = \mu + S_i + F_j + S_iF_j + E_l + E_lS_j + E_lF_j + S_iF_jE_l + A_k + A_kS_i + A_kF_j + A_kE_l + A_kS_iF_j + A_kS_iF_jE_l + e_{ijkl}$$

Onde: Onde: Y_{ijkl} = Média da resposta; μ = Média geral; S_i = Espécies (i = Marandu, Mulato II e Tifton-85); F_j = Frequências de cortes (j = 28 e 42 dias); E_l = Estações de ano (l = primavera, verão, outono e inverno); A_k = Efeito do ano (k = 2012 e 2012); S_iF_j ; F_jE_l ; A_kS_i ; A_kF_j ; A_kE_l = Interações espécies e

frequências, estações e ano; $A_k S_i F_j$ =interação ano, espécie e frequência de cortes; $A_k S_i F_j E_l$ =interação quádrupla e e_{ijkl} =Erro aleatório do experimento.

5.3 Resultados e Discussão

5.3.1 Ácidos graxos de cadeia curta (AGCC)

O teste “F” dos efeitos de espécie, frequência de corte, ano e estação do ano e suas interações nas médias das variáveis respostas tais como degradabilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), conteúdo total de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), perfil dos principais AGCC e seus isômeros, conteúdo total dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), relação AGCC e a matéria seca digerida (MSD) e a relação ácido acético e o ácido propiônico é apresentado na Tabela 13. Foi aplicado o teste de Tukey (P=0,05) para a comparação das médias das variáveis dependentes isoladas, quando não houve interação, e de forma excludente apenas para as interações com o desdobramento dos graus de liberdade até a terceira ordem.

Tabela 13 - Teste “t” para efeitos fixos de variáveis respostas ligados aos ácidos graxos de cadeia curta.

Fonte de Variação	Ácidos Graxos de Cadeia Curta						DIVMS	TAGCC	TAGCC/MSD	A:P
	Acético	Prop	Butírico	Isobut	Isoval	Valérico				
Espécies (S)	Ns	0,0001	Ns	Ns	Ns	0,021	0,0001	0,0001	Ns	Ns
F Corte (F)	Ns	Ns	Ns	0,0001	0,0001	0,0001	Ns	Ns	Ns	Ns
S x F	Ns	Ns	Ns	0,0003	0,0002	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns
Estação (E)	Ns	Ns	Ns	Ns	0,0001	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns
E x S	Ns	Ns	Ns	0,0012	0,0068	0,0577	Ns	Ns	Ns	Ns
E x F	Ns	0,0342	Ns	0,0345	0,0003	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns
E x S x F	Ns	Ns	Ns	Ns	0,0004	Ns	Ns	Ns	Ns	0,0009
Ano (A)	0,0124	0,0205	0,0235	0,0205	0,0033	0,0001	0,0001	0,0349	Ns	Ns
A x S	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns
A x F	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	0,0295
A x E	0,0358	Ns	Ns	Ns	0,0028	Ns	Ns	Ns	Ns	0,0005
A x E x S	0,0379	Ns	Ns	Ns	0,0068	Ns	Ns	Ns	Ns	0,0245

P=0,05 a 5% de significância pelo teste “t”; TAGCC=Ácidos graxos de cadeia curta; DIVMS=Degradabilidade *in vitro* de matéria seca; TAGCC por MS digerida (MSD); A=Acetato; P=Propionato e Ns=Não significante a 5% (teste “t”).

Os teores de ácidos graxos de cadeia curta (Tabela 13) foram influenciados pela espécie (propionato e isobutirato, P=0,0001; valerato, P=0,021; DIVMS, P=0,0001; TAGCC, P=0,0001), pela frequência de corte (isobutirato, P=0,0003; isovalerato e valerato, P=0,0001), pela estação do

ano (isobutirato e isovalerato, $P=0,0001$), pelo ano (acetato, $P=0,0124$; propionato, $P=0,0205$; butirato, $P=0,0235$; isobutirato, $P=0,0205$; isovalerato, $P=0,0033$, valerato, $P=0,0001$; DIVMS, $P=0,0001$; AGCC, $P=0,0349$), pela interação espécie vs. frequência de corte (isovalerato, $P=0,0002$), pela interação estação do ano vs. espécie (isobutirato, $P=0,0012$; isovalerato, $P=0,0068$), pela interação estação do ano vs. frequência de corte (propionato, $P=0,0342$; isobutirato, $P=0,0345$; isovalerato, $P=0,0003$), pela interação ano vs. estação do ano (acetato, $P=0,0358$; isovalerato, $P=0,0028$), pela interação estação do ano vs. espécie vs. frequência de corte (isovalerato, $P=0,0004$), ano vs. estação do ano vs. espécie (acetato, $P=0,0379$; isovalerato, $P=0,0068$), pela interação ano vs. estação do ano vs. frequência de corte (acetato, $P=0,0003$; propionato, $P=0,0374$; butirato, $P=0,0030$; isobutirato, $P=0,0374$; DIVMS, $P=0,0002$; AGCC/MSD, $P=0,0013$).

Na Tabela 14 estão inseridas as médias ponderadas da composição química das espécies forrageiras irrigadas e fertilizadas com 400 kg N ha^{-1} . Embora o capim-Tifton-85 apresente elevados teores de FDN e FDA, em detrimento ao seu CC, sua composição em PB é também mais elevada que a média das outras gramíneas do gênero *Brachiaria* ($713,3$ vs. $649,5 \text{ g kg}^{-1} \text{ MS}$). Os teores de matéria mineral (MM) e estrato etéreo (EE) foram mais elevados nos capins Marandu e Mulato II, comparados ao capim-Tifton-85. A MS não teve variação entre as espécies, com média de $933,8 \text{ g kg}^{-1} \text{ MS}$.

Tabela 14 - Composição química das espécies forrageiras irrigadas e adubadas.

Composição química	Espécies forrageiras*		
	Marandu	Mulato II	Tifton-85
	g kg ⁻¹ MS.....		
MS	932.2 A	933.3 A	936.9 A
MO	889,6 A	872,5 C	885,8 A
MM	110.1 A	118.4 A	93.9 B
FDN	667.4 B	631.6 C	713.3 A
FDA	336.6 B	316.3 C	368.1 A
CC	332.6 B	361.3 A	288.2 C
PB	145.7 B	146.4 B	167.6 A
EE	12.9 A	12.5 A	11.5 B

* Médias seguidas da mesma letra maiúsculas na linha não diferem entre as espécies ($P \leq 0,05$) a 5% de significância pelo teste "T".

Houve efeito da interação ano vs. espécie vs. estação do ano ($P=0,0379$) na concentração do ácido acético das espécies estudadas, Figura 4. Em 2011/12, apenas para o capim-marandu houve diferença significativa entre as estações do ano, com teores de P+V e O+I de $13,3$ e $12,2 \text{ mM}$, respectivamente. Em 2012/13 nenhuma interação houve efeito significativo ($P > 0,05$). As médias de ácido acético do Mulato II foram diferentes apenas entre os anos dentro das respectivas estações, com

valores de 12,5 e 14,1 mM vs. 12,9 e 15,9 mM para P+V e O+I de 2011/12 e 2012/13, respectivamente. Independente do ano e das estações do ano, os cultivares apresentaram teores semelhantes de ácido acético ($P>0,05$). Estes resultados são relativamente inferiores aos reportados por Getachew et al. (2004) em dietas à base de farelos e alimentos ricos em amido, que variaram de 11,6 a 28,8 mM de ácido acético para farelo de trigo e polpa de beterraba.

Figura 4 - Efeito da interação ano vs. espécie vs. estação do ano no teor de ácido acético de espécies forrageiras tropicais. Médias com letras maiúsculas iguais para espécie não diferem entre estação do ano no mesmo ano. Médias com letras minúsculas iguais não diferem entre espécie dentro da mesma estação do ano. Médias com scripts (†‡) iguais não diferem entre anos dentro da mesma espécie e estação do ano.

Lovett et al. (2005), em estudos de *Lolium perene*, observaram que a espécie e os cultivares foram influenciados nos seus parâmetros fermentativos, e consequentemente na produção de gases. As médias baixas de AGCC observadas, tais como, o ácido propiônico e isobutírico nos cultivares podem se dever ao make-up genético da espécie e do gênero em geral, pois se observa que neste experimento o *Cynodon* foi a espécie com menores médias comparativamente as das *Brachiarias* (Marandu e Mulato II). Considerando que a composição morfológica das amostras de forragens não foi separada pelos seus principais constituintes, tais como folha, material morto e colmo, então provavelmente esse material analisado pode ter percentagem maior de colmos especialmente na

frequência de corte de 42 dias, no outono-inverno (período de estacionalidade, devido ao fotoperíodo e baixas temperaturas).

A interação ano vs. frequência de corte vs. estação do ano influenciou ($P \leq 0,05$) os teores dos ácidos graxos de cadeia curta, apenas para os ácidos com maior peso molecular (ácidos acético, propiônico e butírico), Figura 5. Houve diferença nos teores de ácido acético entre as estações P+V e O+I na ordem de 13,8 e 12,9 mM, respectivamente, na desfolhação de 28 dias de intervalo de rebrotação, no ano de 2011/12. Neste mesmo ano foram detectadas diferenças entre as médias de frequência de corte de 28 (13,8 mM) e de 42 (12,3 mM) dias, na P+V. Nos cortes de 42 dias foram observados teores de ácido acético similares entre as estações do ano de 2011/12.

Em 2012/13, as médias do ácido acético foram semelhantes entre as estações do ano nas duas frequências estudadas, bem como entre as frequências de corte para cada estação do ano. Entre 2011/12 e 2012/13 não houve diferença entre as médias dos teores do ácido acético para as frequências de corte no O+I, enquanto que na P+V os teores de ácido acético foram superiores para os cortes de 28 dias em 2011/12 e 42 dias em 2012/13. Comparativamente, em 2011/12, apenas na P+V os teores de ácido acético foram superiores aqueles observados em 2012/13 para o corte realizado a cada 28 dias, enquanto que em 2012/13 houve superioridade para os dados médios na forragem colhida a cada 42 dias frente ao ano 2011/12.

O teor do ácido propiônico teve médias diferentes apenas entre as estações do ano ($P=0,0374$) no corte de 42 dias, em 2011/12, com médias de 6,4 e 5,7 mM na P+V e O+I, respectivamente (Figura 5). Entre as frequências de corte, considerando os anos de avaliação, observou-se diferença entre 28 e 42 dias no O+I de 2011/12 (6,1 vs. 5,7 mM) e 2012/13 (6,5 vs. 7,2 mM). Não houve diferença entre anos avaliados nos teores de ácido propiônico.

Figura 5. Efeito da interação ano vs. estação do ano vs. frequência de corte no teor de ácido acético de espécies forrageiras tropicais. Médias com letras maiúsculas iguais não diferem entre estações dentro da mesma frequência de corte. Médias com letras minúsculas iguais não diferem entre frequências de corte dentro da mesma estação do ano. Médias com scripts (†) iguais não diferem entre anos dentro da mesma frequência de corte e estação do ano.

Os teores de isobutirato foram diferentes para a interação ano vs. frequência de corte vs. estação do ano ($P=0,0374$), Figura 6. A média do conteúdo do ácido isobutírico de P+V (6,2 mM) apenas diferiu da média de O+I (5,6 mM), no corte de 42 dias de intervalo de desfolhação, em 2011/12. Não houve diferença entre as frequências de corte na P+V e O+I em 2011/12. Em 2012/13, diferenças entre as médias das interações dos tratamentos foram detectadas entre as frequências de corte na P+V. Nesta estação do ano também foi observada diferença entre as médias do ácido isobutírico em 2011/12 (6,2 mM) em relação à 2012/13 (7,1 mM), no corte de 42 dias de intervalo de desfolhação.

A interação ano vs. frequências de corte vs. estação do ano influenciou nos teores do ácido butírico (0,003), Figura 6. Entre as estações do ano não houve diferença nos teores de butirato, considerando os dois anos de avaliação. A forragem cortada a cada 28 dias no O+I de 2011/12 e 42 dias na P+V de 2012/13 apresentou maiores teores de butirato. Entre 2011/12 e 2012/13, observou-se apenas diferença no teor de ácido butírico nos cortes realizados a cada 42 dias nas duas estações do ano.

Figura 6 - Efeito da interação ano vs. estação vs. frequência de corte no teor de ácido acético de espécies forrageiras tropicais. Médias com letras maiúsculas iguais não diferem entre estações dentro da mesma frequência de corte. Médias com letras minúsculas iguais não diferem entre frequências de corte dentro da mesma estação do ano. Médias com scripts (†‡) iguais não diferem entre anos dentro da mesma espécie e estação do ano.

O teor médio de ácido isovalerato foi influenciado pela interação ano vs. espécie vs. estação do ano ($P=0,0004$), Figura 7. No ano de 2011/12 houve diferença entre as espécies na P+V, sendo o maior teor de ácido isovalérico observado para o capim-tifton-85, em relação aos demais que apresentaram teores semelhantes, sendo observado o mesmo comportamento no O+I. Em 2012/13, os capins Mulato II e Tifton-85 apresentaram os maiores teores na P+V, enquanto que no O+I não houve variação significativa ($P>0,05$). Entre os anos avaliados não se observou diferença nos teores de ácido isovalérico.

Figura 7 - Efeito da interação ano vs. espécie vs. estação do ano no teor de ácido acético de espécies forrageiras tropicais. Médias com letras maiúsculas iguais não diferem entre estações. Médias com letras minúsculas iguais não diferem entre espécies dentro da mesma frequência de corte. Médias com scripts (†) iguais não diferem entre anos dentro da mesma espécie e estação do ano.

As médias de produção de ácido isovalérico das espécies em estudo foram influenciadas pela interação espécie vs. frequência de corte vs. estação do ano ($P=0,0068$), Figura 8. O capim-mulato II apresentou maiores teores de isovalerato, quando cortado com 28 dias na P+V comparados com aqueles do O+I. Para o capim-tifton-85 observou-se elevados teores para a frequência de corte de 28 dias apenas na P+V, enquanto que para o capim-marandu os teores foram semelhantes nas duas estações do ano e frequências de corte. Na comparação feita entre os capins, verifica-se que o Tifton-85 foi superior aos demais, com teores semelhantes, apenas na P+V. Entre as estações do ano, apenas para o Mulato II cortado a cada 28 dias na P+V não houve diferença entre os teores médios de isovalerato. O capim-marandu apresentou teores mais elevados para as duas frequências de corte no O+I, enquanto que os capins Mulato II e Tifton-85 este comportamento ocorreu na frequência de 42 dias da mesma estação, enquanto que para a frequência de 28 dias, o capim-tifton-85 os maiores teores ocorreram na P+V.

Figura 8 - Efeito da interação espécies x frequência de corte x estação no ácido isovalérico. Médias com letras maiúsculas iguais não diferem entre as frequências dentro da espécie. Médias com letras minúsculas iguais não diferem entre as frequências na mesma estação e espécies (compara as frequências dentro da mesma espécie).

O ácido valérico foi afetado pela interação ano vs. frequência de corte vs. estações do ano ($P < 0,05$), Figura 9. Diferença entre os teores de ácido valérico ocorreu apenas entre as duas estações do ano (P+V e O+I) na frequência de corte de 28 dias. Quanto à diferença entre as frequências de corte na mesma estação do ano, apenas para 28 dias na P+V que as médias foram semelhantes (0,31 vs. 0,32 mM). Nas demais estações, tanto na P+V e O+I de 2011/12 como no O+I de 2012/13, os cortes com intervalo de 28 dias favoreceram para maiores teores de valerato. Na comparação dos anos, observa-se que no O+I de 2012/13 para o corte de 28 dias e P+V e O+I para o corte de 42 dias, os teores de valerato foram superiores aos encontrados em 2011/12. Não houve variação apenas na P+V para 28 dias entre os dois anos.

Figura 9 - Efeito de espécie na média ponderada de ácido valérico (ano x frequência de corte x estação do ano). Médias com letra maiúsculas iguais não diferem entre as estações do ano dentro da frequência de corte e ano. Médias com letra maiúsculas iguais não diferem entre as frequências de corte e ano. Médias com scripts (†‡) iguais não diferem entre anos dentro da mesma frequência de corte e estação do ano.

Para a relação do ácido acético (A) com o ácido propiônico (P) observou-se efeito significativo da interação ano vs. frequência de corte ($P=0,0295$), ano vs. estação do ano ($P=0,0009$), figura 10 e ano vs. espécie vs. estação do ano ($P\leq 0,0245$), figura 11.

A relação A:P no corte de 28 dias foi superior à do corte de 42 dias com valores de 2,23 e 2,07, apenas em 2011/12. Entre os anos foram detectadas diferentes no corte de 42 dias com médias de 2,07 e 2,19 em 2011/12 e 2012/13, respectivamente. Em 2012/13 a relação acetato:propionato foi diferente entre P+V (2,03) e O+I (2,32). Entre 2011/12 e 2012/13, dentro de cada estação, houve diferença entre as médias de A:P, sendo constatadas para P+V (2,16 vs. 2,03) e O+I (2,13 vs. 2,32).

As médias da A:P do capim-marandu não foram diferentes entre P+V e O+I nos dois anos do experimento (2011/12 e 2012/13). Para o Mulato II, houve diferença entre as estações do ano apenas em 2012/13, com maiores médias ocorrendo no O+I, enquanto que o Tifton-85, em 2011/12, apresentou maior média na P+V, e em 2012/13 no O+I. Na comparação de espécie, para os dois anos avaliados, tanto na P+V de 2011/12 como no O+I de 2012/13, o capim-tifton-85 apresentou maior A:P em relação aos outros dois cultivares. Comparando as médias da A:P nos dois anos, observa-se que Mulato II, em 2012/13, apresentou maior média no O+I, enquanto que para o Tifton-85 a maior média de A:P ocorreu na P+V de 2011/12. Nas demais comparações não houve diferenças (figura 11).

Figura 10. Relação do ácido acético: ácido propiônico (A-ano vs. frequência e B-ano vs. estação do ano). Médias seguidas da mesma letra maiúscula não diferem entre as frequências de corte dentro do mesmo ano e entre as estações do ano dentro do mesmo ano. Médias seguidas de letras minúsculas não diferem entre anos dentro da mesma frequência ou estação do ano.

De forma geral o Tifton-85 teve médias mais altas de da A:P nos dois anos e nas duas estações, comparativamente aos cultivares de *Brachiaria* (médias máximas de 2,61 e 2,32 para Marandu e Tifton, respectivamente). Resultados da A:P obtidos neste experimento são similares aqueles por Toro Valásquez et al. (2009), que incubaram forragem de Marandu e Tifton-85, cortados aos 28, 35 e 48 dias de idade e avaliaram a digestibilidade e a produção de gases *in vitro*. Constataram que o capim Tifton-85 apresentou menor relação A:P em relação ao presente experimento (2,0 mM no experimento de Toro e 2,6 mM para o presente experimento).

Figura 11- Relação do ácido acético:ácido propiônico depois de 24 h de digestibilidade *in vitro* determinados com o teste de produção de gases. Médias com letras maiúsculas iguais não diferem entre as estações do ano dentro de cada espécie e ano. Médias com letras minúsculas não diferem significativamente entre as espécies dentro de cada estação e ano. Médias com scripts iguais não diferem entre si ao longo dos anos dentro de cada espécie e estação do ano.

A incubação de forragem *in vitro* durante 24 h produziu baixa concentração dos AGCC comparativamente a outros experimentos da mesma natureza, embora com material vegetal diferente (KIM et al., 2014; BELEOSOFF, 2013). Beleosoff (2013) conclui que a variação dos ácidos graxos de cadeia curta foi afetada pelos ciclos de pastejo no capim-tanzânia, especialmente o propionato (média de 6,7 mM) e a relação acético (A): propionato (P) (5,8), contrariamente aos ácidos acético (38,4 mM) e butírico (3,2 mM). No presente experimento observou-se que embora os valores dos AGCC tenham sido similares entre as frequências de corte, a relação de A:P foi similar, em média 2,3 mM, este foi menor que o observado por Beleosoff (2013), 5,4 mM. Quando maior for a produção de ácido acético em relação ao propiônico maior será esta relação, o que se observa em alimentos fibrosos. Portanto, pode-se concluir que embora as quantidades do ácido acético e do ácido propiônico variem entre si, sua relação tem tendência de ser constante para todas as espécies ou dietas dos animais, dependentemente do substrato.

Figura 12 - Relação do ácido acético: ácido propiônico (ano x frequências de corte x estação do ano). Médias seguidas da mesma letra maiúscula não diferem entre as estações do ano dentro da frequência de corte ($P \leq 0,05$). Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem entre a mesma estação entre as frequências de corte ($P \leq 0,05$). Médias seguidas do mesmo script (†‡) não diferem antes anos dentro da mesma e estação ($P \leq 0,05$).

Os teores de AGCC tiveram variação decrescente. O ácido acético teve maiores médias em relação às médias dos outros ácidos. Sendo para o ácido valérico observado médias menores que 1,0 mM. Esta tendência era de esperar, pois segundo Getachew et al. (1998) o processo de degradação do alimento pelos ruminantes leva a alta proporção de acetato em relação aos outros AGCC e esta relação é exacerbada, quando os alimentos são fibrosos, comparativamente aos alimentos que promovam o aumento na proporção de propionato e mudanças na relação acetato:propionato:butirato.

As médias dos ácidos propiônico e butírico situaram-se entre 6,8 e 5,4 mM para os gêneros *Brachiaria* e *Cynodon*, respectivamente. Além do genótipo, os teores destes ácidos foram influenciados pelo fator ano, estação do ano e frequência de corte, pois as médias de concentrações do ácido acético, butírico e isovalérico não diferiram significativamente, quando os cultivares foram impostos aos tratamentos sem interações, contrariamente aos ácidos propiônico e isobutírico (Figura 13).

Figura 13 – Teores médios de ácido propiônico e isobutírico em três espécies de plantas forrageiras. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre as espécies para cada ácido ($P>0,05$).

5.3.2 Produção total de ácidos graxos e relação com a degradabilidade *in vitro* de matéria seca de forragem

Após a incubação por 24 h, a média do total de AGCC, corrigida ao branco, das espécies forrageiras registrou diferença significativa ($P\leq 0,05$), Figura 14. Os cultivares Marandu (22,1 mM) e Mulato II (22,6 mM) não apresentaram diferença significativa entre si, contudo elas foram da ordem 9% em relação ao Tifton-85 (20,6 mM). Estes resultados são similares aos obtidos no experimento de *Lolium perenne*, quando a curva de cinética atingiu a metade (da assíntota) durante a incubação de 96h (MAURÍCIO et al., 2001). Benchaar et al. (2001) em meta-análise de estratégias de mitigação de gases ruminais concluíram que existem diferenças de produção de CH_4 por diversas espécies forrageiras, pois a composição química e o estágio vegetativo de cada espécie é determinante na eficiência microbiana durante o processo digestivo dos constituintes dos alimentos (matéria orgânica).

Figura 14 – Teores de ácidos graxos de cadeia curta de três plantas forrageiras.

As concentrações médias do total de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), degradabilidade *in vitro* de MS (DIVMS) e a relação entre AGCC e a MS digerida (MSD) (mM g MSD^{-1}) foram influenciadas significativamente pela interação ano vs. frequência de corte vs. estação do ano, $P=0,0476$; $P=0,0002$; $P=0,0013$, respectivamente, Tabela 15. Contudo, entre as estações do ano dentro do mesmo ano, as médias ponderadas dos tratamentos foram similares entre elas para o parâmetro AGCC corrigida pelo branco. O efeito dos tratamentos nesta variável resposta poderá ter sido aditivo na diferença das médias entre tratamentos. Para as frequências de corte, observaram-se diferenças significativas, sendo que em 2011/12 cortes a cada 28 dias favoreceu maior teor, enquanto que em 2012/13, os maiores teores foram constatados para cortes a cada 42 dias. Comparando os resultados ao longo dos dois anos notam-se diferenças entre as médias dos tratamentos. Estas diferenças eram esperadas, considerando as variações edafoclimáticas que se registram entre anos, embora o experimento tenha sido irrigado. As médias mais altas de AGCC foram observadas no intervalo de desfolhação de 42 dias, nas duas estações (P+V e O+I) em 2012/13, com valores de 23,2 e 24,0 mM, respectivamente. As diferenças entre as frequências de corte foram ligeiras, na ordem de 1-3 mM. A média de AGCC de O+I (23,3 mM) foi superior à média de P+V (21,5 mM), período do ano considerado seco, na região.

Tabela 15 - Produção de AGCC, DIVMS e relação AGCC:MSD de três gramíneas forrageiras, considerando frequências de corte, estação do ano e ano.

Frequência de Corte	Estações do Ano					
	P+V	O+I	P+V	O+I	P+V	OI
	AGCC (mM)		DIVMS (g kg ⁻¹ MS)		AGCC (mM g ⁻¹ MSD)	
	2011/12					
28 dias	22,0Aa†	21,3Aa†	232,3Aa‡	215,4Bb‡	0,095Aa†	0,102A a†
42 dias	20,6Ab‡	19,5Ab‡	229,3Ab‡	239,1 Aa†	0,090Aa†	0,082Ab‡
	2012/13					
28 dias	20,8Ab†	22,6Ab†	252,4Aa†	257,1Aa†	0,083Ab‡	0,089A‡
42 dias	23,2Aa†	24,0Aa†	245,4Ab†	245,4Ab†	0,095Aa†	0,106 Aa†

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre as estações dentro de cada frequência de corte e ano ($P=0,05$). Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem as frequências de corte dentro da mesma estação e ano ($P=0,05$). Médias seguidas pelo mesmo script († e ‡) na coluna não diferem significativamente anos, na frequência e estação do ano ($P\leq 0,05$). TAGCC-total de AGCC e MS digerida, relação de AGCC com MSD.

A degradabilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) das espécies forrageiras foi influenciada pelo fator espécie, sendo que os maiores valores de DIVMS foram observados nas *Braciarias* (Marandu: 247,0 e Mulato II: 242,0 g kg⁻¹MS) em relação ao *Cynodon* (Tifton-85: 223,6 g kg⁻¹MS). Entre o Marandu e o Mulato II não houve diferenças entre suas médias. A degradabilidade das plantas forrageiras apresenta-se baixa durante as primeiras horas do processo, dependendo da proporção entre os carboidratos solúveis e os carboidratos potencialmente digestíveis, os quais são afetados por sua vez pela idade das plantas no momento da colheita, pela população microbiana no rúmen e pela sua especialização nas diferentes dietas do animal (WANG et al., 2014).

Substratos com maior fração de carboidratos solúveis, i. é, monossacarídeos e conteúdo celular permitem maior acesso e atividade microbiana e consequentemente maior coeficiente de digestibilidade. Entre as estações do ano, foi observada diferença entre as médias (nos anos, estação do ano e frequências de corte), apenas na desfolhação feita no intervalo de 28 dias, sendo observado menor digestibilidade em 2011/12 (215,4 g kg MS⁻¹). Em 2012/13, na mesma frequência de corte foram obtidos valores mais altos de DIVMS do experimento, em ambas as estações do ano (252,4 g kg MS⁻¹ na P+V e 257,1 g kg MS⁻¹ no O+I). Houve maior variação de DIVMS entre as frequências de corte, comparativamente às estações de ano, principalmente no segundo ano do experimento. As variações de médias de DIVMS entre as frequências de corte são bastante pronunciadas em relação às diferenças entre os anos e situam-se na ordem de 3,0-7,0 g kg MS⁻¹ e 11,7-24,4 g kg MS⁻¹ em 2011/12 e 2012/13, para P+V e O+I, respectivamente. As médias mínimas foram registradas entre as frequências de cortes de 28 e 42 dias na PV. Isto indica que no O+I registrou-se queda de DIVMS de aproximadamente 18,0 g kg MS⁻¹ entre as frequências de corte.

A relação de AGCC com a matéria seca digerida indica quanto de matéria seca digerida é necessário para produção uma unidade de AGCC. Incubando 1,0 g de amostra de forragens tropicais por 24 h, a relação destes parâmetros variou entre 0,082 a 0,106, valores considerados inferiores, comparados aos obtidos por Elghandour et al. (2012) num experimento sobre efeito de doses de enzimas exógenas na digestibilidade *in vitro* das gramíneas tropicais (*Andropogom gayanus*, *Pennisetum purpureum* e *Sorghum vulgare*) foi de 0,76 a 3,16 mMolar, g⁻¹ MSD; sendo a menor relação obtida no tratamento controle. Os mesmos autores concluem que a adição de enzimas teve ação aditivo à ação microbiana, resultando em valores mais altos da relação AGCC:MSD.

5.3.3 Coeficiente de correlação entre os produtos de fermentação

Não foram observadas correlações de Pearson entre DIVMS com MS e AGCC totais, ácidos graxos principais e secundários e a proporção entre os ácidos acético e propiônico ao nível de $P=0,05$, tabela 16. No entanto, registrou-se correlação positiva e moderada entre a MS e o propionato, na ordem de 22,9%. A fraca correlação detectada entre estas duas variáveis pode ser resultado do fato de o propionato ser produzido em grande quantidade em dietas ricas em amido ou ração à base de concentrados, contrariamente às dietas à base componentes ricas em fibra tais como forragens (que é o presente caso) e palhas de subprodutos alimentares (cereais). A matéria seca não se correlacionou com outras variáveis, tais como o acetato, isobutirato, butirato, isovalerato, valerato, AGCC totais e com a proporção acetato:propionato. O acetato correlacionou-se positiva e fortemente com o propionato, butirato, e com AGCC totais em 83,1; 88,3 e 93,9%, respectivamente. A correlação entre esses ácidos era esperado visto que são os principais fornecedores de energia para o metabolismo animal e de fermentação microbiana, sendo por isso os produtos gerados em grande quantidade em comparação com isômeros. Não foi detectada correlação entre acetato e acetato:propionato.

O coeficiente de correlação do acetato com o iso-valerato e com valerato foi moderada na ordem de 46,1% e 64,9, respetivamente. O propionato foi positiva e fortemente correlacionado com butirato (91,5%), valerato de (96,7% de) e moderadamente correlacionado com iso-valerato (42,4%) e com o valerato (69,7%). Contudo, o propionato teve correlação negativa com a proporção acetato:propionato (-31,7%). Iso-butirato não se correlacionou com butirato, iso-valerato, valerato, AGCC totais e a relação acetato: propionato. Houve correlação significativa, positiva e moderada entre o butirato e o isobutirato (53,9%), fortemente positiva com o ácido valérico (70,7%) e com o total dos AGCC (93,3%) e teve o coeficiente de correlação negativa com a proporção acetato:propionato (-26,5%). O isovalerato teve correlação positiva, mas moderada com o ácido

valérico (57,0%), o total de ácidos graxos de cadeia curta (48,9%) e não se correlacionou com a proporção acetato:propionato. O coeficiente de correlação do ácido valérico com o total dos ácidos graxos de cadeia curta foi positivo na ordem de 69,1 %, mas não teve correlação com A:P. Os AGCC totais também não se correlacionaram com a proporção A: P.

Tabela 16 - Correlação entre os produtos de fermentação.

Variáveis	Variáveis*									
	DIVMS	MS	Acetato	Prop	I. But	Butirato	I. Val	Val	AGCC	A:P
DIVMS	1,0	-0,122	0,009	0,003	0,017	0,004	0,169	-0,022	-0,002	0,027
MS		1,0	0,159	0,229*	0,138	0,099	-0,099	0,135	0,168	-0,105
Acetato			1,0	0,881*	-0,036	0,833*	0,461*	0,649*	0,939*	0,145
Propionato				1,0	0,039	0,915*	0,424*	0,697*	0,967*	-0,317
I. Butirato					1,0	0,059	0,128	-0,089	0,003	-0,148
Butirato						1,0	0,539*	0,707*	0,933*	-0,265
I. Valerato							1,0	0,570*	0,489*	0,062
Valerato								1,0	0,691*	-0,084
AGCC									1,0	-0,173
A: P										1,0

* $P \leq 0,05$ a 5% de significância pelo teste “t”; ** Não significativo a $P \leq 0,05$. *N-significante, mas negativo. DIVMS-digestibilidade in vitro de matéria seca; I-isômero; AGCC-ácidos graxos de cadeia curta; A-ácido acético; P-ácido propiônico; (-)-relação entre eles.

5.4 Conclusão

O conteúdo dos principais AGCC dos gêneros *Brachiaria* e do *Cynodon* foi afetado pela interação entre ano vs. frequência de corte vs. estação do ano, contudo a maior diferença foi observada entre as *Brachiarias* e o *Cynodon*. As vinte e quatro horas de fermentação resultaram em menores concentrações dos AGCC, pelo tempo curto de exposição do substrato à atividade da microflora dentro dos frascos. A relação entre ácido acético e o ácido propiônico teve variação em função dos tratamentos impostos às espécies forrageiras, mas tiveram a tendência constante ao longo dos dois anos, dentro das frequências de corte e das estações do ano. O TAGCC, a DIVM e a relação TAGCC com a matéria seca digerida tem o mesmo comportamento como os ácidos graxos de cadeia curta, individualmente, variando em função da interação ano vs. frequência de cortes vs. estação de ano, mas com médias baixas devido ao tempo de fermentação expostos na fermentação.

Com base nas evidências dos resultados acima expostos conclui-se que a produção de ácidos graxos de cadeia curta (acético, propiônico, butírico e valérico) tem um pico a partir do qual tende a reduzir em função das entidades nutricionais que constituem a dieta, como os carboidratos fibrosos que por sua vez dependem da idade da planta. A degradabilidade *in vitro* de matéria seca (DIVMS) e os ácidos graxos de cadeia curta totais das forrageiras tropicais são menos afetados pelas estações do ano, mas mais afetados pelas frequências de corte e tendem a melhorar a qualidade da forragem colhida na frequência mais longa.

5.5 Conclusões gerais e implicações

Os indicadores de fibra, tais como fibra em detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) e hemicelulose (He) foram superiores no genótipo Tifton 85 em relação ao Marandu e o Mulato II. Contudo, o conteúdo celular (CC) foi maior no Mulato II e no Marandu em comparação com o capim-Tifton 85. Os teores de fibra, proteína (PB) e matéria orgânica (MO) do Tifton e CC do Mulato II foram superiores no inverno em relação à primavera, verão e outono. A PB e o extrato etéreo (EE), CC e MO foram superiores no inverno (período seco) e no intervalo de corte mais longo (42 dias). As médias mais baixas de FDN, MS, FDA, EE, MO e CC foram observadas no corte de 28 dias.

Os teores altos de fibra do Tifton 85 comparados com os capins braquiárias (Marandu e o Mulato II) tiveram efeitos depreciativos na degradabilidade *in vitro* de matéria seca (DIVMS), produção total de gases e taxas de produção de gases (K_pG) para este cultivar. As K_pG foram afetadas pelo tempo de incubação dentro das espécies, frequência, estação e ano. A partir das 12 h de incubação as K_pG quase que se duplicaram para todas as interações. O Marandu e o Mulato II obtiveram K_pG similares e maiores que as do Tifton 85. A combinação de estações de ano e frequências de corte tem efeito aditivo na DIVMS apenas no outono e inverno, dado que este período do ano é caracterizado pelo rigor de clima seco e frio, mas com o crescimento estacionário que resultou em benefícios para a concentração de PB nas plantas.

O CH_4 produzido pelas espécies foi influenciado pelas estações e pelas frequências de corte, indicando menor teor de CH_4 entre primavera e verão (menor) e outono e inverno (maior) dentro das frequências de corte e anos. O FP teve padrão constante, mas com tendência a variar entre anos do que entre frequências de corte. O perfil de metano de Marandu e Mulato II foi similar, mas diferente do perfil de Tifton 85, tanto nos tratamentos de frequência de cortes como nas estações do ano. Esta espécie teve menores produções de gás até 24 horas de incubação do que as *Brachiarias*.

O conteúdo dos principais AGCC dos gêneros *Brachiaria* e do *Cynodon* foi maior nas *Brachiarias* e o *Cynodon*. As vinte e quatro horas de fermentação resultaram em menores

concentrações dos AGCC, pelo tempo curto de exposição do substrato à atividade da microflora dentro dos frascos. A relação entre ácido acético e o ácido propiônico teve tendência constante ao longo dos dois anos, dentro das frequências de corte e das estações do ano. O TAGCC, a DIVMS e a relação TAGCC com a MSD tem o mesmo comportamento como os ácidos graxos de cadeia curta, individualmente, variando em função da interação frequência de cortes vs. estação de ano, mas com médias baixas devido ao tempo de fermentação expostos na fermentação.

O manejo de corte deve ser feito em conformidade com as estações do ano, dado que nelas verificou-se variação significativa das variáveis nutricionais entre as espécies, indicando que cada espécie responde de forma diferente quando submetida a estes tratamentos.

5.6. Referência

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official Methods of Analysis**. 18th ed. Arlington, VA. USA, 2005.

ARCHIMEDES, H. et al. Methane emission of Blechbelly rams consuming whole sugarcane forage compared with *Dicanthium* sp. hay. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.190, p.30-37, 2014.

BELEOSOFF, B.S. Potencial de produção de gases totais e metano *in vitro* de pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia submetida a diferente manejo de pastejo. **Tese de Doutorado em ciências animais**. Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, pp. 144, 2013.

ELGHANDOUR, M.M. et al. Effects of exogenous enzymes on in vitro gas production kinetics and ruminal fermentation of four fibrous feeds. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 179, p. 46-52, 2012.

ELLIS, J. L. et al. Aspects of rumen microbiology central to mechanistic modelling of methane production in cattle. **The Journal of Agricultural Science**, v.146, p.213-233, 2008.

ERWIN, E. S; MARCO, G. J.; EMERY, E.M. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. **Journal of Dairy Science**, Illinois, v.44, p. 1768-1770. 1961.

KIM, D.H. et al. Influence of monensin and lauri destillate acids or palm oil on in vitro fermentation kinetics and metabolites produced using forage and high concentrate substrates. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 189, p. 19-29, 2014.

GETACHEW, G. et al. *In vitro* gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 72, p.261-281, 1998.

GETACHEW, G. et al. Relationship between chemical composition, dry matter degradation and in vitro gas production of several ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 111, n. 1-4, p. 57-71, 2004.

GETACHEW, G. et al. Use of an in vitro rumen gas production technique to evaluate microbial fermentation of ruminant feeds and its impact on fermentation products. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.123-124, p.547-559, 2005.

HUNGATE, R. E. **The rumen and its microbes**. New York: Academic Press, 1966. 533 p.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. Editora: Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). RS: 2002. 140p.

LITTELL, R. C. et al. Statistical Analysis System Institute (SASfor Mixed Models, 2nd .ed. Cary: SAS Institute, 2006. 1 CD-ROM.

LOVETT, D. K. et al. *In vitro* fermentation patterns and methane production as influenced by cultivar and season of harvest of *Lolium perenne* (L.). **Grass and Forage Science**, UK, v.61, p-9-21, 2005.

MAURICIO, R. M. et al. A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 79, n.4, p. 321-330, 1993.

MAURICIO, R. M. et al. Comparison of bovine rumen liquor and bovine faeces as inoculum for *in vitro* gas production technique forevaluation of forages. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.89, p.33-48, 2001.

MCBEE, R. H. Manometric method for the evaluation of microbial activity in the rumen with application to utilization of cellulose and hemicelluloses. **Applied Microbiology**, Cambridge, v.1, n. 1, p.106–110, 1953.

MIRZAEI-AGHASAGHALI, A.; MAHERI-SIS, N. Factors affecting mitigation of methane from ruminants I: Feeding strategies. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 6, n. 9, p.888-908. 2011.

MACHMÜLLER, A. et al. Diet composition affects the level of ruminal methane suppression by medium-chain fatty acids. **Australian Journal Agricultural Research**, v.52, p.713–722, 2001.

NOGUEIRA, U.T.; MAURÍCIO, R.M.; GONÇALVES, L.C. Comparação de substratos com diferentes quantidades de carboidratos solúveis utilizando a técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária. Zootecnia**, v.58, n.4, p.663-641, 2006.

TORO VELÁSQUEZ, P.A. et al. Cinética da fermentação e taxas de degradação de forrageiras tropicais em diferentes idades de corte estimadas pela técnica de produção de gases *in vitro*. **Revista Brasileira. Zootecnia**, Viçosa, v.38, n.9, p.1695-1705, 2009

WANG, M. et al. Responses of methane production and fermentation pathways to the increased dissolved hydrogen concentration generated by eight substrates in *in vitro* ruminal cultures. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 194, p. 1-11, 2014.

WHITELAW, F.G. et al. Methane formation in faunated and ciliate-free cattle and its relationship with rumen volatile fatty acid proportions. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.52, p.261-275, 1984.

VAN SOEST, P. J. Nutritional Ecology of the Ruminants (2nd Ed.). C. University Press, 1994. Ithaca, NY.