

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**

Estratégias de manejo do pastejo associadas a suplementação na mitigação de metano em pastos de capim Mulato II: respostas agronômicas, perfil e cinética da fermentação *in vitro* da forragem

Solange Garcia Holschuch

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em Ciências. Área de concentração: Ciência Animal e Pastagens

**Piracicaba
2022**

Solange Garcia Holschuch
Bacharela em Zootecnia

Estratégias de manejo do pastejo associadas a suplementação na mitigação de metano em pastos de capim Mulato II: respostas agronômicas, perfil e cinética da fermentação *in vitro* da forragem

versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **CARLOS GUILHERME SILVEIRA PEDREIRA**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em Ciências. Área de concentração: Ciência Animal e Pastagens

Piracicaba
2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Holschuch, Solange Garcia

Estratégias de manejo do pastejo associadas a suplementação na mitigação de metano em pastos de capim Mulato II: respostas agronômicas, perfil e cinética da fermentação *in vitro* da forragem / Solange Garcia Holschuch. - - versão revisada de acordo com a Resolução CoPG 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2022.

109 p.

Tese (Doutorado) - - USP / Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz.

1. Gases de efeito estufa 2. Metano entérico 3. Gramínea tropical 4. Lotação rotativa 5. Lotação contínua I. Título

*Meus pais Ernesto Aluísio Holschuch (em memória) e Silvana Garcia Holschuch,
por todo amor, suporte, educação e diligência.*

*Às matriarcas da minha família, Cecília Novak Garcia e
Maria Lucila Holschu (em memória)
que, junto com minha Mãe, foram exemplos de força e inspiração feminina.*

*Meus irmãos Josiane Clair Holschuch, Giovane Arno Holschuch, Simone Antunes (de coração),
Meus sobrinhos e afilhados Lucas, Thomas, Judith e Hinata,
e a toda a minha Família
por todo amor, alegria, companheirismo, amizade e carinho que sempre demonstraram por mim.*

*Ao meu companheiro para a vida Ulysses de Toledo Monteiro,
por todo amor, força, paciência, companheirismo e inspiração para buscarmos o nosso melhor todos os dias.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de expressar minha eterna gratidão a minha família, por todo incentivo e encorajamento para lutar por meus objetivos, mesmo os mais distantes. Sem o amor incondicional, suporte e compreensão esse trabalho não teria acontecido.

Ao meu orientador, Dr. Carlos G. S. Pedreira pela amizade, valiosos conselhos, por toda orientação, suporte ao longo de todo meu treinamento no programa de pós-graduação (mestrado e doutorado). Por incentivar meus ‘insights’ científicos, e pelo exemplo de professor e pesquisador, sempre demonstrando comprometimento e uma conduta profissional.

Agradeço a Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo e ao Departamento de Zootecnia que sob suas diretrizes e missão me proporcionou um treinamento excepcional ao longo da minha jornada profissionalizante desde o meu mestrado.

Aos docentes e pesquisadores do programa Ciência Animal e Pastagens que proporcionaram oportunidades únicas que influenciaram minhas decisões de vida. Em especial a Profa. Dra. Patrícia Menezes Santos que participou em muitas etapas da minha formação acadêmica e com ensinamentos profissionais e conselhos valiosos.

Ao Dr. Adibe Abdalla pelo apoio durante minha temporada no LANA-CENA, ensinamentos e ótima convivência.

Aos Drs. Ricardo Andrade Reis e André Fischer Sbrissia pelas contribuições e ensinamentos valiosos no meu comitê de orientação e na minha qualificação de doutorado.

Minha apreciação e gratidão aos estudantes de graduação e aos meus parceiros que desenvolveram estudos científico simultaneamente na mesma área experimental, que dedicaram tempo e esforços para me ajudar no experimento de campo e no laboratório, além de trazer junto com eles boas risadas e companheirismos nas maratonas de avaliações: Carlos Franco (Atiradô), Gabriela Pompei, Vinícius Grillo, Gabriel Alvarenga (Petro), Marcos Gardenal (Relâmpago), Renan Endres (Gaúcho), Alyce Monteiro, Otávio Goulart, Júnior Yasuoka, Gabriel Pedroso e Paulo César. Expresso também minha gratidão ao companheirismo dos queridos amigos do “GP²”, que contribuíram com discussões científicas, engajamento e bons momentos: Fagner Júnior, Theyson Duarte, Juliana de Assis, Patrícia Barbosa, Rigles Maia, Marina Miquilini (Abaxa), Rogério Furlan (Molotov), Gabriel (Bivouti), Lucas Gomes (Çubriño), Maria Eduarda (Na-iscuta), Ana Flávia e Yan.

Meus agradecimentos especiais a todos os amigos no LAPF e na ESALQ, vocês enriqueceram essa caminhada com bons momentos e muito café com prosa.

Aos meus grandes amigos Fagner Júnior, Alyce Monteiro e Júnior Yasuoka por toda paciência, amizade e grandes ensinamentos.

As grandes amizades que fiz nessa jornada em Piracicaba: Gabriela Pompei, Patrícia Borges, Gleice Gomes, Nathalie Graeu, Caroline Mazocco, Maiara Carvalho, Jamyle Martins e Matheus Hiji.

À Keila Toledo e Cláudio Toledo, Maria Antônia Pedroso e André Pedroso, e suas respectivas famílias, pessoas incríveis que Deus colocou no meu caminho aqui no estado de São Paulo. Me acolheram em seus lares com todo amor, carinho e muito suporte. Sou abençoada e muito grata por tudo que vocês fizeram por mim nessa jornada.

Finalmente, agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por prover a bolsa de estudos durante meu programa de doutorado. À Fundação de Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento do projeto (Processo nº 2019/000-0).

A todos, minha gratidão!

EPÍGRAFE

“Bons filhos se preparam para o sucesso, filhos brilhantes se preparam para enfrentar derrotas e frustrações. Bons alunos se preparam para receber um diploma, alunos fascinantes se preparam para a vida.”

Augusto Cury

*“Todos querem estar envolvidos, mas ninguém quer estar comprometido.
Há uma grande diferença entre os dois.”*

James C. Hunter

“Ainda que eu tenha o dom de profetizar e conheça todos os mistérios e toda a ciência; ainda que eu tenha tamanha fé, a ponto de transportar montes, se não tiver amor nada serei.”

1 Coríntios 13:2

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	10
1. INTRODUÇÃO GERAL	11
Objetivos.....	16
Hipótese central	17
Referências	17
2.COMPARAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS, FOTOSSÍNTESE E ACÚMULO DE FORRAGEM DO CAPIM MULATO II SUBMETIDO A REGIMES DE DESFOLHAÇÃO SOB LOTAÇÃO CONTÍNUA E ROTATIVA	25
Resumo	25
Abstract.....	26
2.1. Introdução.....	26
2.2. Material e Métodos	28
2.2.1. Descrição do local, delineamento experimental e tratamentos.....	28
2.2.2. Avaliações da forragem e estrutura do dossel	31
2.2.3. Parâmetros das trocas gasosas e fotossíntese do dossel	32
2.2.4. Análise estatística	33
2.3. Resultados.....	34
2.3.1. Características estruturais do dossel forrageiro: avaliações nas condições de pré e pós-pastejo em lotação rotativa e altura constante na lotação contínua	34
2.3.2. Taxa de acúmulo da forragem, densidade populacional e peso dos perfilhos.....	37
2.3.3. Comparações entre lotação contínua e rotativa usando a condição média do dossel forrageiro	37
2.3.4. Análise dos componentes principais e clusters	40
2.4. Discussão	42
2.5. Conclusões.....	49
Referências	50
3. MANEJO DO PASTEJO E SUPLEMENTAÇÃO COMO POTENCIAIS MITIGADORES DA EMISSÃO DE METANO EM PASTAGENS	65
Resumo	65
Abstract.....	66

3.1. Introdução	67
3.2. Material e Métodos	69
3.2.1. Experimento de campo.....	69
3.2.1.1. Características do local, delineamento experimental e tratamentos	69
3.2.1.2. Avaliações da pastagem	71
3.2.1.3. Análises químicas das amostras de forragem e cálculos de estimativas.....	72
3.2.2. Experimento de Incubação <i>in vitro</i>	74
3.2.2.1. Condições da incubação <i>in vitro</i> , delineamento experimental e tratamentos .	74
3.2.2.2. Gás produzido e avaliações de metano	76
3.2.2.3. Degradabilidade <i>in vitro</i> e eficiência microbiana	77
3.2.2.4. pH do líquido ruminal, nitrogênio amoniacal e ácidos graxos voláteis	77
3.2.3. Análise estatística.....	78
3.3. Resultados	79
3.3.1. Acúmulo de forragem, características morfológicas do dossel e intervalos de rebrotação.....	79
3.3.2. Caracterização bromatológica da forragem no estrato de pastejo e o fracionamento de proteínas e carboidratos de acordo com o modelo do CNCPS	81
3.3.3. Perfil e parâmetros cinéticos da fermentação <i>in vitro</i> e produção de metano.....	82
3.4. Discussão	87
3.4.1. Efeito das estratégias de manejo do pastejo.....	87
3.4.2. Efeito das estratégias de suplementação da dieta.....	91
3.4.3. Suplementação com óleo de soja e/ou farelo de milho.....	92
3.4.3. Efeito da suplementação com nitrato e enxofre elementar	94
3.4.4. Emissão de metano e a relação com o perfil fermentativo da dieta	96
3.5. Conclusões	99
Referências.....	100

RESUMO

Estratégias de manejo do pastejo associadas a suplementação na mitigação de metano em pastos de capim Mulato II: respostas agronômicas, perfil e cinética da fermentação *in vitro* da forragem

A hipótese central desse estudo (a) foi que o acúmulo de forragem, a estrutura do dossel, o valor nutritivo e a produção de metano oriundo da degradabilidade da forragem são funções da condição média em que os pastos são mantidos no campo por meio dos regimes de desfolhação utilizados (lotação contínua ou lotação rotativa). Dessa forma, a comparação entre métodos de pastejo é possível quando realizada com base em um descritor médio do regime de desfolhação a que são submetidos (altura média do dossel forrageiro); (b) foi que estratégias de suplementação ([1] $\text{NO}_3^- + \text{S}$ elementar (NS), [2] óleo de soja (OS), [3] farelo de milho (FM) e [4] OS+FM modulam a cinética e a fermentação dos substratos, aumentam a degradabilidade e reduzem a emissão de metano em comparação a [5] forragem sem suplementação em sistemas de degradabilidade *in vitro*. Com o objetivo de [a] investigar e refinar estratégias de manejo do capim Mulato II [*Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf \times *B. decumbens* Stapf \times *B. ruziziensis* R. Germ. & C.M. Evrard; sin. *Urochloa brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) R. D. Webster \times *U. decumbens* (Stapf) R. D. Webster \times *U. ruziziensis* (R. Germ. & C. M. Evrard) Crins] com base nas respostas agronômicas e estabelecer uma proposta de comparação entre lotação contínua (C) e rotativa com desfolha leniente (RL) ou moderada (RM) impostas sob mesmas alturas médias de dossel de 20 ou 30 cm do capim Mulato II; [b] comparar a cinética e no perfil fermentativo da forragem, e a redução de metano absoluto do capim Mulato II em seis estratégias de manejo com ou sem estratégias de suplementação. O uso da altura média do dossel forrageiro como descritor médio das estratégias de manejo do pastejo mostraram-se adequadas para comparar os métodos sob lotação contínua e rotativa. Contudo, a escolha assertiva da altura média do dossel em diferentes regimes de desfolhação é a chave para garantir a equivalência entre os métodos de lotação. Para o manejo adequado do capim mulato II, o C20, RL20 e RM20 são estratégias com baixo IAF médio que permitem o controle do alongamento do colmo e prioriza alocação de fotoassimilados em tecidos que otimizam os processos inerentes ao crescimento das plantas forrageiras (i.e., componente lâmina foliar), e direcionam à intensificação sustentável em sistemas que utilizam tanto a lotação contínua, quanto a lotação rotativa. O maior fator de partição (FP) e degradabilidade do substrato resultou em maior emissão de CH_4 , favorecidos pela menor proporção de colmo, maior valor nutritivo e PB digestível da forragem controle. As estratégias de suplementação OS, FM, OS+FM ou NS alteraram a fermentação ruminal e reduziram as emissões de CH_4 em todos os manejos. O FM melhorou os parâmetros da fermentação e degradabilidade comparado ao controle, reduziu a relação acetato: propionato. O OS, não afetou a degradabilidade e melhorou a eficiência microbiana comparado ao controle ou adição exclusiva de FM. A associação OS+FM promoveu efeito aditivo com maior degradabilidade do substrato, superior entre todos os tratamentos, com maior mitigação de CH_4 nos manejos com maior valor nutritivo. O NS resultou no maior FP e reduziu cerca de 90% das emissões de CH_4 comparado ao controle. O NS afetou negativamente a degradabilidade da forragem e concentração de AGV pela utilização de animais doadores de inóculo sem NO_3^- na dieta. Dessa forma, todas as fontes de suplementação testadas mostraram-se alternativas promissoras para intensificação dos sistemas de produção animal em pastagens, e podem ser utilizadas de forma estratégicas para otimizar a qualidade da dieta e reduzir as emissões de metano oriundas da fermentação entérica de ruminantes.

Palavras-chave: Lotação contínua, Lotação rotativa, Métodos de lotação, Inclusão de concentrado, Farelo de milho, Inclusão óleo de soja, Inclusão nitrato e enxofre

ABSTRACT

Grazing management strategies associated with methane mitigation supplementation in Mulato II brachiaria grass pastures: agronomic responses, profile and kinetics of *in vitro* forage fermentation

The central hypothesis of this study (a) was that forage accumulation, canopy structure, nutritive value and methane production from forage degradability are functions of the average condition in which pastures are maintained in the field through of defoliation used (continuous stocking or rotating stocking). Thus, the comparison between grazing methods is possible when performed based on an average descriptor of the defoliation regime to which they are submitted (average forage canopy height); (b) was that supplementation strategies ([1] NO_3^- + elemental S (NS), [2] soybean oil (SO), [3] corn bran (CB) and [4] SO+CB modulate the kinetics and fermentation of substrates, increase degradability and reduce methane emission compared to [5] forage without supplementation *in vitro* degradability systems. With the aim of [a] investigate and refine management strategies for Mulato II brachiariagrass (*Brachiaria brizantha* × *Brachiaria decumbens* × *Brachiaria ruziziensis*) based on agronomic responses and to establish a proposal for comparison between stocking continuous (C) and rotating with lenient (RL) or moderate (RM) defoliation imposed under the same average canopy heights of 20 or 30 cm; [b] to compare the kinetics and fermentative profile of the forage, and the absolute methane reduction of Mulato II brachiariagrass in six management strategies with or without supplementation strategies. The use of average forage canopy height as an average descriptor of grazing management strategies proved to be adequate to compare the methods under continuous and rotational stocking. However, the assertive choice of the average height of the canopy in different defoliation regimes is the key to guarantee the equivalence between the stocking methods. For the proper management of Mulato II brachiariagrass, C20, RL20 and RM20 are strategies with low average LAI that allow the control of stem elongation and prioritize the allocation of photoassimilates in tissues that optimize the processes inherent to the growth of forage plants (i.e., component leaf blade), and lead to sustainable intensification in systems that use both continuous stocking and rotational stocking. The greater partitioning factor (PF) and substrate degradability resulted in greater CH_4 emission, favored by the lesser proportion of stem, greater nutritive value and digestible CP of the control forage. The results of OS, FM, OS+FM or NS supplementation altered rumen fermentation and reduced CH_4 emissions in all managements. The FM improved the parameters of fermentation and degradability compared to the control, with smaller the acetate:propionate ratio. The OS did not affect degradability and improved PF compared to the control or exclusive addition of FM. The association OS+FM promoted additive effect with greater degradability of the substrate, superior among all treatments, with greater mitigation of CH_4 in the managements with greater nutritional value. NS resulted in the greatest PF and reduced about 90% of CH_4 emissions compared to the control. NS negatively affected forage degradability and VFA concentration by using inoculum donor animals without NO_3^- in the diet. In this way, all sources of supplementation proved to be promising alternatives for the intensification of animal production systems in pastures, and can be used strategically to optimize diet quality and reduce methane emissions from enteric fermentation of ruminants.

Keywords: Continuous stocking, Rotating stocking, Stocking methods, Inclusion of concentrate, Corn bran, Inclusion of soybean oil, Inclusion of nitrate and sulfur

1. INTRODUÇÃO GERAL

Desde o início da revolução industrial, as emissões de gases de efeito estufa (GEE) sofreram aumentos de 35% para o dióxido de carbono (CO₂) e de mais de 100% para o metano (CH₄) (Clark, 2013). Em 2019 os aumentos das concentrações de GEE excederam em muito as concentrações atmosféricas, e foram as mais altas do que em qualquer momento em pelo menos 2 milhões de anos para CO₂ e 800 mil anos para CH₄ (confiança dos dados alta) (IPCC, 2021). O metano, em particular, tem recebido atenção especial por possuir potencial de aquecimento global estimado em média 25 a 28 vezes maior do que o do CO₂ (IPCC, 2007; IPCC, 2021). Mediante os termos do Protocolo de Kyoto, no qual a pecuária foi solicitada a contribuir na mitigação das emissões antropogênicas de GEE, de forma voluntária o Brasil se mobilizou para contribuir e esteve alinhado às decisões internacionais. Atualmente é signatário do Acordo de Paris realizado em 2015, e ratificou o compromisso de mobilização das ações antropogênicas domésticas para mitigar e adaptar estratégias para conter o aquecimento global a incrementos máximos de até 2°C até o final do século (UNFCCC, 2015). Para cumprir as metas firmadas, atualizou a Política Nacional sobre Mudanças do Clima (PNMC) pelo Projeto de Lei 6539/19. As metas propostas são audaciosas e prevê reduzir as emissões de GEE nas proporções de 37, 43 e 100% de foram escalonadas em três períodos, sendo primeiramente até o ano de 2025, seguido do período até 2030 e a compensação total até o ano de 2050, respectivamente, na forma da Estratégia Nacional de Longo Prazo (ACN, 2022).

Para que essas metas sejam alcançadas, diversos setores buscam atualizações de protocolos para obter a neutralização de carbono. A pecuária está entre essas atividades, especialmente os sistemas de produção de carne e leite a partir de animais ruminantes criados em pastagens. As fontes de emissões variam entre 25% e 40% de todas as emissões associadas a CH₄, e dentre aquelas ligadas às atividades antropogênicas, estima-se que a fermentação entérica é a maior fonte de emissão (Neef et al., 2010). Simultaneamente aos apelos de mitigação dos GEE, o Brasil tem grande responsabilidade em contribuir para a segurança alimentar mundial. Para atender a crescente demanda por alimentos com projeção até 2050, a produção agrícola precisa crescer de 60% a 120% (Alexandratos e Bruinsma, 2012).

Diante desse cenário, fica evidente a importância do manejo do pastejo como ferramenta para melhorar a eficiência da pecuária brasileira de forma sustentável por meio de práticas ecologicamente corretas (Tilman et al., 2002) e economicamente favoráveis (Foote et al., 2015; Gregorini et al., 2017). A definição de estratégias de manejo adequadas a cada agroecossistema pastagem é fundamental para o sucesso na utilização de materiais forrageiros.

Escolhas assertivas no manejo do pastejo resultam em elevada produção associada a alto valor nutritivo da forragem e que, ao mesmo tempo, favorece o balanço de carbono em sistemas de produção de bovinos em pastagens (Muñoz et al., 2016; Gregorini et al., 2017). Em pastos de gramíneas de clima temperado e tropical manejadas sob lotação contínua ou rotativa, é reportado que o uso de metas de manejo por altura do dossel contribui para o aumento da produção e utilização da forragem produzida (Sbrissia & Da Silva, 2008; Gomes, 2019; Gomes et al., 2020; Silva et al., 2016a). Esses fatores impactam não apenas na produção de forragem, mas também afetam a contribuição das pastagens aos serviços ecossistêmicos, que incluem a captação de CO₂ via fotossíntese, o armazenamento de carbono, proteção do solo e preservação da biodiversidade (Volaire et al., 2014), além do desenvolvimento social e economicamente justo em nível de microrregiões até escalas nacionais e mundiais.

Entre as técnicas que integram o manejo do pastejo, a escolha do método de lotação é uma importante decisão a ser tomada na propriedade. Entretanto, estratégias para realizar comparações equivalentes entre lotação contínua e rotativa são frequentemente difíceis de serem interpretadas, tendo em vista as dificuldades de se estabelecer critérios de equivalência de intensidade ou severidade de desfolhação, o que traz confundimento às tentativas de comparação. Apesar do grande número de trabalhos publicados ter sido desenvolvido sob lotação intermitente, em muitos casos, supostamente por se acreditar que resulte em maior produtividade, a lotação contínua é o método de pastejo mais utilizado no Brasil. No entanto, estudos comparativos contrastando os métodos são baseados em dados de experimentos nos quais os objetivos fundamentais eram buscar respostas de um ou outro método de lotação de forma isolada (Briske et al., 2008; di Virgilio et al., 2019; Venter et al., 2019; Moojen et al., 2022) . Parsons & Penning (1988) argumentaram que sistemas intensivos de pastagens sob lotação contínua podem apresentar potencial de produção animal equivalente ao daqueles sob lotação intermitente desde que utilizada uma mesma base de comparação. Com o objetivo de realizar uma comparação adequada entre métodos de lotação, Parsons et al. (1988) utilizaram um modelo matemático para otimizar a interação entre frequência e severidade de desfolhação intermitente. Neste estudo, foi analisada a relação entre fotossíntese, produção de tecidos e morte de folhas para inferir sobre a massa de forragem passível de ser colhida. A partir disso, constatou-se que máximas produtividades foram obtidas sempre que as flutuações em IAF durante a rebrotação e desfolhação culminavam em baixas médias de IAF, e que previamente estas foram relacionadas à máxima produtividade sob lotação contínua. Portanto, a produção de forragem sob ambos os métodos de lotação poderia ser melhor caracterizada em relação a

uma condição média de dossel, preconizada por IAFs médios equivalentes (Parsons, Johnson & Williams, 1988).

Diferentes frequências e severidades de desfolhação (relação entre a altura de dossel pré- e pós-pastejo em pastos sob lotação intermitente), ou intensidades de desfolhação (alturas constantes do dossel em pastos sob lotação contínua) impactam o ambiente luminoso e podem gerar contrastes importantes na estrutura do dossel e nas características morfológicas da vegetação, afetando a assimilação de carbono por folhas e pelo dossel (Yasuoka et al., 2021). As práticas de manejo utilizadas determinam a dinâmica de acúmulo de forragem, o acúmulo de folhas em vez de outros componentes de partes da planta (Silveira et al., 2013; Pereira et al., 2014; Sbrissia et al., 2018). Outras respostas da pastagem podem ser muito contrastantes entre diferentes alturas de dossel como as diferenças na maturidade de folhas remanescentes após a desfolhação, o comprimento de colmos, a decapitação de meristemas apicais, etc (Yasuoka et al., 2018). Diferentes alturas de manejo podem resultar em colheita de folhas mais velhas nos estratos inferiores do dossel ou, ainda, proporcionar maior surgimento de folhas novas e aumentar a presença dessa categoria de folhas no dossel. Diversos trabalhos documentaram maior proporção de tecidos foliares mais jovens em dosséis com maior intensidade de desfolhação (Dubeux, et al., 2006; Yasuoka et al., 2018).

O consumo de matéria seca diário de forragem é descrito pelo resultado cumulativo de todos os eventos de pastejo ao longo do dia (Gibb, 2007), com intervalos de pastejos que ocorrem três a cinco vezes durante as temperaturas mais amenas do dia (Gregorini, 2012). A limitação à seleção em lotação rotativa, especialmente em sistemas com maior severidade de desfolha, força os animais consumirem forragem com maior teor de fibra nos estratos inferiores do dossel em detrimento a explorar tecidos com maior valor nutritivo, e a vantagem é otimizar a eficiência de pastejo. Esses dois pontos são divergentes entre os métodos de lotação animal. As modificações do valor nutritivo em diferentes métodos de lotação não serão necessariamente distintas na composição da massa de forragem como um todo, mas a oportunidade de seleção reflete em qual camada do estrato vertical do dossel será explorada no pastejo. Dessa forma, o impacto do método de lotação na forragem consumida está na alteração das relações de folha:colmo, e no aumento de colmo, material morto e folhas mais velhas no estrato de pastejo (Moojen et al., 2022).

Outra questão é que ao longo do rebaixamento do dossel (ou seja, da condição pré até o pós-pastejo) em lotação rotativa existe variação da composição química da massa de forragem, que pode ter efeito no consumo de matéria seca e no ganho médio diário dos animais. As folhas de inserção nas camadas superiores são menos abundantes em parede celular secundária (Garcia

et al., 2021). As variações nas concentrações de carboidratos totais (ou seja, carboidratos não fibrosos e carboidratos fibrosos) e na matéria seca muitas vezes diluem outras entidades nutricionais (Gregorini, 2012; Gregorini et al., 2009; Vibart et al., 2017). Dessa forma, melhorar a relação energia e proteína da forragem e otimiza o fornecimento desses nutrientes aos microrganismos do rúmen (Bryant et al., 2012; Bryant et al., 2014). Estudos que relataram diminuição na concentração de fibras (Orr et al., 2001; Burns et al., 2007) apontaram maior digestibilidade da forragem (Burns et al., 2007; Pelletier et al., 2010). Nesse aspecto a produção de CH₄ entérico também é dependente da qualidade da fibra. A correlação entre digestão de fibras no rúmen e produção de CH₄ entérico é alta e positiva (Kirchgeßner et al., 1995), associada à correlação negativa entre o teor de fibra e a digestibilidade da forragem (Blaxter & Clapperton, 1965). Portanto, é importante elucidar quais são os impactos das estratégias de manejo na composição química da forragem potencialmente consumida e nas emissões absolutas de CH₄. Posteriormente, em agroecossistemas pastagens, essas ferramentas de manejo do pastejo com enfoque em aumentar a digestibilidade da forragem podem ser traduzidas em redução na intensidade de emissões de CH₄, ou seja, produção de CH₄ por unidade de produto animal produzido (Barbero et al., 2015).

A manipulação do substrato da dieta a partir da suplementação vem sendo reportada como estratégia eficiente para modular a fermentação ruminal e reduzir a produção de CH₄ (Congio et al., 2021). É reconhecida a eficácia do uso de uma gama de ingredientes para manter baixas pressões parciais de di-hidrogênio (H₂) dentro do rúmen, tais como: concentrados, inclusão de óleo (insaturados) e o fornecimento de aceptores de elétrons como o nitrato (NO₃⁻) (Clark, 2013; Leng, 2014). As fontes de nitrogênio não proteico podem ainda ser associadas à inclusão de enxofre na suplementação (Rebelo et al., 2019). Essas técnicas têm apresentado resultados promissores por compor substratos que funcionam como aceptores de elétrons (Hristov et al., 2013), promovendo o redirecionamento do H₂ disponível no rúmen para outras vias, eliminando a conversão de CO₂ em CH₄, o qual necessita de H₂ como complemento da reação (Van Zijderveld et al., 2010; Li et al., 2013). Essa supressão na produção de CH₄ (metanogênese) também favorece maior disponibilização da energia metabolizável da dieta (Klop et al., 2016; C. Lee et al., 2015b), o que pode resultar em aumento no desempenho animal.

A inclusão de NO₃⁻ como fonte de nitrogênio não proteico associado ao uso de enxofre elementar (S) busca aliar a produção de proteína microbiana com a redução dos impactos ambientais das emissões de CH₄. Do ponto de vista nutritivo, além da necessidade de amônia (NH₃) para produção de proteína microbiana, os microrganismos também requerem S para constituição dos aminoácidos sulfurados (metionina, cisteína e cistina) (NRC, 2016). Quanto

às emissões entéricas de CH₄, resultados de pesquisa obtidos com ovinos suplementados com NO₃⁻ mostraram reduções de 50% expressas em unidade de consumo de matéria seca (Van Zijderveld et al., 2010). A redução dissimilatória do NO₃⁻ (NO₃⁻ → NO₂⁻ → NH₃) e do S (SO → SO₄²⁻ → S²⁻ → H₂S) a partir do redirecionamento do H₂ disponível no rúmen faz com que a produção de CH₄ pelas *Archaea* metanogênicas seja suprimida (Van Zijderveld et al., 2010; Li et al., 2013). De modo geral, termodinamicamente, o NO₃⁻ e o S são aceptores de elétrons preferenciais no rúmen às custas da metanogênese (Latham et al., 2016). No entanto, a eficácia da redução de CH₄ pode variar entre compostos nitrogenados ou mesmo entre as fontes de NO₃⁻ adicionados à dieta (Rebello, 2017). Nos trabalhos revisados por Latham et al. (2016), os autores concluem que os sais de sódio e potássio são mais potentes que os sais de NO₃⁻ de cálcio na redução das emissões de metano. Outro aspecto importante a ser considerado é o nível de suplementação de NO₃⁻ em função do consumo de matéria seca. As recomendações são de até 2% de NO₃⁻ na matéria seca da dieta (El-zaiat et al., 2015; Guyader et al., 2015; Troy et al., 2015) e associado à adição de S, ambos não exerceram efeito no consumo de matéria seca se atendido os níveis de inclusão recomendado de 2% e 0,24% no consumo de matéria seca para NO₃⁻ e S, respectivamente (Patra & Yu, 2014). Porém, existe a preocupação relativa à intoxicação pelo fornecimento de NO₃⁻ na dieta de ruminantes devido à falta de adaptação alimentar dos animais à dieta. Esse desafio pode ser superado com o uso de fontes NO₃⁻ encapsuladas que promovem liberação lenta do N e a utilização de protocolos de adaptação alimentar de bovinos (Rebello, 2017; Natel et al., 2019; Congio et al., 2021).

A suplementação lipídica na dieta é outra alternativa que tem sido estudada para mitigar as emissões de CH₄. A literatura disponível indica que a alimentação com lipídios pode reduzir as emissões em 4% a 5% para cada 1% de inclusão de lipídios (Martin et al., 2010). Segundo Beauchemin et al., (2009) e Rodrigues et al. (2018), as características da fibra da forragem têm influência direta nas taxas de biohidrogenação, que pode estar diretamente relacionada aos efeitos da suplementação com fontes de gordura. Como a biohidrogenação de ácidos graxos insaturados é a via que consome hidrogênio no ambiente ruminal, a composição da fonte de lipídio é um importante aspecto a ser considerado. O óleo de soja é uma fonte de lipídios rica em ácido linolênico (LNA; C 18: 3 cis- 9, cis- 12, cis- 15) e seu principal produto da biohidrogenação é o ácido linoleico (LA; C18:2 cis- 9, cis- 12). Entretanto, é conhecido o seu efeito inibitório sobre as populações de bactérias fibrolíticas e protozoários do rúmen, o que consequentemente pode afetar a digestão da fibra (Maia et al., 2007; Yang et al., 2009; Rodrigues et al., 2018). O conhecimento dos níveis adequados de inclusão de lipídeos na dieta é chave para o sucesso do uso da técnica para a redução das emissões de metano.

Dietas com níveis crescentes de concentrados também resultam em redução das emissões de CH₄ (Beauchemin & McGinn, 2005). Segundo a meta-análise de Sauvant e Giger-Riverdin (2007), é necessário incluir mais de 40% de concentrado na dieta para obter redução significativa nas emissões por unidade de consumo de matéria seca. Entretanto, outros benefícios ambientais e produtivos podem ser obtidos com a adoção de estratégias de suplementação. Fieser e Vanzant (2004) afirmaram que a inclusão de energia em dietas de novilhos baseadas em forragem de boa qualidade pode melhorar a eficiência de utilização de nitrogênio. A maior disponibilidade de nitrogênio da forragem está relacionada à alta fração A, B1, B2 e B3 da proteína bruta (PB) (Kozloski, 2002) e, quando associada a suplementação energética, otimiza a síntese de proteína microbiana. Além disso, a suplementação com energia também melhora o uso dos alimentos (Santos et al., 2020), fornece energia prontamente fermentável aos microrganismos (Reis et al., 2001; Vibart et al., 2010), aumentando a proporção de propionato ruminal, diminuindo a relação acetato:propionato (A:P) e, por fim, reduz a produção de CH₄ (Santos et al., 2020). É importante atender os limites de inclusão de concentrado em até 0,5% do peso corporal para bovinos para evitar redução do consumo voluntário de matéria seca da forragem devido ao efeito substitutivo (Vanzant et al., 1990; Garcés-Yépes et al., 1997).

A aferição do potencial de emissão de metano dos diferentes suplementos deve considerar a influência do tipo de forragem na produção de CH₄ (Waghorn et al., 2007; Beauchemin et al., 2008; Martin et al., 2010). O grupo das braquiárias, além de ser amplamente utilizado na pecuária brasileira, está entre os que obtiveram melhores resultados na mitigação de CH₄ quando testada a suplementação com óleo de soja (Rodrigues et al., 2018). O capim Mulato II é considerado uma boa alternativa para diversificação das pastagens (Pequeno et al., 2015). Esse material apresenta elevado potencial de produção de forragem e bom valor nutritivo (Pequeno et al., 2015; Silva et al., 2016a), e a recomendação para manejo do pastejo é de 25 cm de altura sob lotação contínua (Silva et al., 2016b).

Técnicas integradas do manejo do pastejo permite compreender as respostas das plantas sob o impacto de cada método de lotação e suas flexibilidades da altura do dossel, e quando associadas a suplementação, potencializam o valor nutritivo da dieta e promovem mecanismos distintos que modulam a fermentação ruminal para reduzir as emissões de CH₄ por bovinos em pastagens tropicais.

Objetivos

Os objetivos deste estudo foram:

(a) investigar estratégias de manejo do pastejo em pastagens de capim Mulato II com base nas respostas agronômicas e estabelecer uma proposta de comparação entre métodos de lotação animal derivada do modelo matemático a partir do trabalho de Parsons et al., (1988).

(b) avaliar as respostas agronômicas e recomendar estratégias de manejo do pastejo para o capim Mulato II em diferentes métodos de lotação.

(c) comparar o impacto das estratégias de manejo e de fontes de suplementação na cinética e no perfil fermentativo da forragem, e na redução de metano absoluto em sistemas de degradabilidade *in vitro*.

Hipótese central

A hipótese (a) foi que o acúmulo de forragem, a estrutura do dossel, o valor nutritivo e a produção de metano oriundo da degradabilidade da forragem são funções da condição média em que os pastos são mantidos no campo por meio dos regimes de desfolhação utilizados (lotação contínua ou lotação rotativa). Dessa forma, a comparação entre métodos de pastejo é possível quando realizada com base em um descritor médio do regime de desfolhação a que são submetidos (altura, massa de forragem ou índice de área foliar do dossel forrageiro). (b) foi que estratégias de suplementação (farelo de milho, óleo de soja e nitrato + enxofre elementar) em dietas baseadas em forragem modulam a cinética e a fermentação dos substratos, aumentam a degradabilidade e reduz a emissão de metano.

Referências

- Agência Câmara de Notícias, 2022. Notícias: Projeto adapta política climática brasileira ao Acordo de Paris. Brasília, DF. Disponível em 04 de fev. de 2022: <https://www.camara.leg.br/noticias/846925-projeto-adapta-politica-climatica-brasileira-ao-acordo-de-paris/>.
- Alexandratos, N., Bruinsma, J., 2012. World Agriculture Towards 2030/2050. FAO, Rome http://www.fao.org/fileadmin/templates/esa/Global_perspectives/world_ag_2030_50_2012_rev.pdf
- Barbero, R. P., Malheiros, E. B., Araújo, T. L. R., Nave, R. L. G., Mulliniks, J. T., Berchielli, T. T., Ruggieri, A. C., & Reis, R. A. (2015). Combining Marandu grass grazing height and supplementation level to optimize growth and productivity of yearling bulls. *Animal Feed Science and Technology*, 209, 110–118. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.09.010>
- Beauchemin, K. A., Kreuzer, M., O'Mara, F., & McAllister, T. A. (2008). Nutritional management for enteric methane abatement: A review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 48(1–2), 21–27. <https://doi.org/10.1071/EA07199>
- Beauchemin, K. A., & McGinn, S. M. (2005). Methane emissions from feedlot cattle fed barley or corn diets1. *Journal of Animal Science*, 83(3), 653–661. <https://doi.org/10.2527/2005.833653x>

- Beauchemin, K. A., McGinn, S. M., Benchaar, C., & Holtshausen, L. (2009). Crushed sunflower, flax, or canola seeds in lactating dairy cow diets: Effects on methane production, rumen fermentation, and milk production. *Journal of Dairy Science*, *92*(5), 2118–2127. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1903>
- Blaxter, K. L., & Clapperton, J. L. (1965). Prediction of the amount of methane produced by ruminants. *British Journal of Nutrition*, *19*(1), 511–522. <https://doi.org/10.1079/bjn19650046>
- Briske, D. D., Derner, J. D., Brown, J. R., Fuhlendorf, S. D., Teague, W. R., Havstad, K. M., Gillen, R. L., Ash, A. J., & Willms, W. D. (2008). Rotational Grazing on Rangelands: Reconciliation of Perception and Experimental Evidence INTRODUCTION: THE DILEMMA OF GRAZING SYSTEMS. *Rangeland Ecol Manage RANGELAND ECOLOGY & MANAGEMENT*, *61*(611), 3–17.
- Bryant, R. H., Dalley, D. E., Gibbs, J., & Edwards, G. R. (2014). Effect of grazing management on herbage protein concentration, milk production and nitrogen excretion of dairy cows in mid-lactation. *Grass and Forage Science*, *69*(4), 644–654. <https://doi.org/10.1111/gfs.12088>
- Bryant, R. H., Gregorini, P., & Edwards, G. R. (2012). Effects of N fertilisation, leaf appearance and time of day on N fractionation and chemical composition of *Lolium perenne* cultivars in spring. *Animal Feed Science and Technology*, *173*(3–4), 210–219. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.02.003>
- Burns, J. C., Fisher, D. S., & Mayland, H. F. (2007). Diurnal shifts in nutritive value of alfalfa harvested as hay and evaluated by animal intake and digestion. *Crop Science*, *47*(5), 2190–2197. <https://doi.org/10.2135/cropsci2007.02.0072>
- Clark, H. (2013). Nutritional and host effects on methanogenesis in the grazing ruminant. *Animal*, *7*(SUPPL.1), 41–48. <https://doi.org/10.1017/S1751731112001875>
- Congio, G. F. de S., Bannink, A., Mayorga Mogollón, O. L., Jaurena, G., Gonda, H., Gere, J. I., Cerón-Cucchi, M. E., Ortiz-Chura, A., Tieri, M. P., Hernández, O., Ricci, P., Juliarena, M. P., Lombardi, B., Abdalla, A. L., Abdalla-Filho, A. L., Berndt, A., Oliveira, P. P. A., Henrique, F. L., Monteiro, A. L. G., Hristov, A. N. (2021). Enteric methane mitigation strategies for ruminant livestock systems in the Latin America and Caribbean region: A meta-analysis. *Journal of Cleaner Production*, *312*. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.127693>
- di Virgilio, A., Lambertucci, S. A., & Morales, J. M. (2019). Sustainable grazing management in rangelands: Over a century searching for a silver bullet. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, *283*(June), 106561. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2019.05.020>
- Dubeux, J. C. B., Stewart, R. L., Sollenberger, L. E., Vendramini, J. M. B., & Interrante, S. M. (2006). Spatial heterogeneity of herbage response to management intensity in continuously stocked Pensacola bahiagrass pastures. *Agronomy Journal*, *98*(6), 1453–1459. <https://doi.org/10.2134/agronj2005.0246>

- El-zaiat, H. M., Soltan, Y. A., Morsy, A., Of, C., Applications, T., & Louvandini, H. (2015). Encapsulated nitrate and cashew nut shell liquid on blood and rumen constituents , methane emission , and growth performance of lambs Encapsulated nitrate and cashew nut shell liquid on blood and rumen constituents , methane emission , and growth performance of lambs The online version of this article , along with updated information and services, is located on the World Wide Web at : March 2014. <https://doi.org/10.2527/jas2013-7084>
- Foote, K. J., Joy, M. K., & Death, R. G. (2015). New Zealand Dairy Farming: Milking Our Environment for All Its Worth. *Environmental Management*, 56(3), 709–720. <https://doi.org/10.1007/s00267-015-0517-x>
- Garcés-Yépes, P. et al. Effects of supplemental energy source and amount of forage intake and diet digestibility by sheep. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 75, n. 7, p. 1918-1925, 1997. <https://doi.org/10.2527/1997.7571918x>
- Garcia, L. F., Silva, G. P., Geremia, E. V., Goulart, L. B. L., Dias, C. T. D. S., & da Silva, S. C. (2021). Central rib and the nutritive value of leaves in forage grasses. *Scientific Reports*, 11(1), 5440. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84844-z>
- Gibb, M.J., 2007. Grassland management with emphasis on grazing behaviour. In: Fresh herbage for dairy cattle. Eds A Elgersma, J Dijkstra, S Tamminga. pp. 141–157. <https://library.wur.nl/ojs/index.php/frontis/article/view/1250>.
- Gomes, C. M. Oportunidade para flexibilização das metas pré-pastejo do manejo rotativo do capim-marandu. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2019. 65p.
- Gomes, F. J., Bosi, C., Pedreira, B. C., Santos, P. M., & Pedreira, C. G. S. (2020). Parameterization of the APSIM model for simulating palisadegrass growth under continuous stocking in monoculture and in a silvopastoral system. *Agricultural Systems*, 184 (February), 102876. <https://doi.org/10.1016/j.agry.2020.102876>
- Gregorini, P. (2012). Diurnal grazing pattern: Its physiological basis and strategic management. *Animal Production Science*, 52(7), 416–430. <https://doi.org/10.1071/AN11250>
- Gregorini, P., Soder, K. J., Sanderson, M. A., & Ziegler, G. R. (2009). Toughness, particle size and chemical composition of meadow fescue (*Festuca pratensis* Hud.) herbage as affected by time of day. *Animal Feed Science and Technology*, 151(3–4), 330–336. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2009.02.004>
- Gregorini, Pablo, Villalba, J. J., Chilibruste, P., & Provenza, F. D. (2017). Grazing management: Setting the table, designing the menu and influencing the diner. *Animal Production Science*, 57(7), 1248–1268. <https://doi.org/10.1071/AN16637>
- Guyader, J., Eugène, M., Meunier, B., Doreau, M., Morgavi, D. P., Silberberg, M., Rochette, Y., Gerard, C., Loncke, C., & Martin, C. (2015). Additive methane-mitigating effect between linseed oil and nitrate fed to cattle. *Journal of Animal Science*, 93(7), 3564–3577. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8196>
- Hristov, A. N., Oh, J., Firkins, J. L., Dijkstra, J., Kebreab, E., Waghorn, G., Makkar, H. P. S., Adesogan, A. T., Yang, W., Lee, C., Gerber, P. J., Henderson, B., & Tricarico, J. M. (2013). SPECIAL TOPICS-Mitigation of methane and nitrous oxide emissions from animal operations: II. A review of manure management mitigation options. *Journal of Animal Science*, 91(11), 5070–5094. <https://doi.org/10.2527/jas.2013-6584>
- IPCC. (2021). Intergovernmental Panel on Climate Change. IPCC Climate Change 2021: Impacts, Adaptation and Vulnerability. The Physical Science Basis Summary for Policymakers Working Group I Contribution to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. In Climate Change [Masson-

- Delmotte, V., et al., (eds.]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, 2021. <https://www.ipcc.ch/report/sixth-assessment-report-cycle/>
- IPCC - Intergovernmental Panel on Climate Change. IPCC Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Parry, M.L., O.F. Canziani, J.P. Palutikof, P.J. van der Linden, C.E. Hanson (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, 2007. https://www.ipcc.ch/site/assets/uploads/2018/03/ar4_wg2_full_report.pdf
- Kirchgessner M., et al. Nutritional factors for the quantification of methane production. In Ruminant physiology: digestion, metabolism, growth and reproduction. Proceedings of the 8th International Symposium on Ruminant Physiology (ed. W von Engelhardt, S Leonhard-Marek, G Breves and D Giesecke), pp. 333–348. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, Germany, 1995. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19961406802>.
- Klop, G., Hatew, B., Bannink, A., & Dijkstra, J. (2016). Feeding nitrate and docosahexaenoic acid affects enteric methane production and milk fatty acid composition in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 99(2), 1161–1172. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10214>
- Kosloski, G. V. Bioquímica dos ruminantes. 2ª edição, revista ampliada, editora UFSM. Santa Maria, 2002.
- Latham, E. A., Anderson, R. C., Pinchak, W. E., & Nisbet, D. J. (2016). Insights on alterations to the rumen ecosystem by nitrate and nitrocompounds. *Frontiers in Microbiology*, 7(MAR), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00228>
- Lee, C., Araujo, R. C., Koenig, K. M., & Beauchemin, K. A. (2015). Effects of feed consumption rate of beef cattle offered a diet supplemented with nitrate ad libitum or restrictively on potential toxicity of nitrate. *Journal of Animal Science*, 93(10), 4956–4966. <https://doi.org/10.2527/jas.2015-9435>
- Li, L., Silveira, C. I., Nolan, J. V., Godwin, I. R., Leng, R. A., & Hegarty, R. S. (2013). Effect of added dietary nitrate and elemental sulfur on wool growth and methane emission of Merino lambs. *Animal Production Science*, 53(11), 1195–1201. <https://doi.org/10.1071/AN13222>
- Maia, M. R. G., Chaudhary, L. C., Figueres, L., & Wallace, R. J. (2007). Metabolism of polyunsaturated fatty acids and their toxicity to the microflora of the rumen. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 91(4), 303–314. <https://doi.org/10.1007/s10482-006-9118-2>
- Martin, C., Morgavi, D. P., & Doreau, M. (2010). *Methane mitigation in ruminants : from microbe to the farm scale*. 351–365. <https://doi.org/10.1017/S1751731109990620>
- Moojen, F. G., Bremm, C., Laca, E. A., Machado, D. R., Savian, J. V., & Carvalho, P. C. d. F. (2022). Herbage allowance and stocking method effect on grazing systems: Results of a long-term experiment. *Grass and Forage Science*, 77(1), 45–54. <https://doi.org/10.1111/gfs.12556>
- Muñoz, C., Letelier, P. A., Ungerfeld, E. M., Morales, J. M., Hube, S., & Pérez-Prieto, L. A. (2016). Effects of pregrazing herbage mass in late spring on enteric methane emissions, dry matter intake, and milk production of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 99(10), 7945–7955. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-10919>
- Natel, A. S., Abdalla, A. L., de Araujo, R. C., McManus, C., Paim, T. do P., de Abdalla Filho, A. L., Louvandini, P., & Nazato, C. (2019). Encapsulated nitrate replacing soybean meal changes in vitro ruminal fermentation and methane production in diets differing in concentrate to forage ratio. *Animal Science Journal*, 90(10), 1350–1361. <https://doi.org/10.1111/asj.13251>

- Neef, L., Van Weele, M., & Van Velthoven, P. (2010). Optimal estimation of the present-day global methane budget. *Global Biogeochemical Cycles*, 24(4), 1–10. <https://doi.org/10.1029/2009GB003661>
- NRC - National Research Council. Nutrient Requirements of Beef Cattle. 8th. rev. ed. National Academy Press. Washington, DC. 2016.
- Orr, R. J., Rutter, S. M., Penning, P. D., & Rook, A. J. (2001). Matching grass supply to grazing patterns for dairy cows. *Grass and Forage Science*, 56(4), 352–361. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2494.2001.00284.x>
- Parsons, A. J., Johnson, I. R., & Harvey, A. (1988). Use of a model to optimize the interaction between frequency and severity of intermittent defoliation and to provide a fundamental comparison of the continuous and intermittent defoliation of grass. *Grass and Forage Science*, 43(1), 49–59. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.1988.tb02140.x>
- Parsons, A. J., Johnson, I. R., & Williams, J. H. H. (1988). Leaf age structure and canopy photosynthesis in rotationally and continuously grazed swards. *Grass and Forage Science*, 43(1), 1–14. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.1988.tb02136.x>
- Parsons, A. J., & Penning, P. D. (1988). The effect of the duration of regrowth on photosynthesis, leaf death and the average rate of growth in a rotationally grazed sward. *Grass and Forage Science*, 43(1), 15–27. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.1988.tb02137.x>
- Patra, A. K., & Yu, Z. (2014). Combinations of nitrate, saponin, and sulfate additively reduce methane production by rumen cultures in vitro while not adversely affecting feed digestion, fermentation or microbial communities. *Bioresource Technology*, 155, 129–135. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.099>
- Pelletier, S., Tremblay, G. F., Bélanger, G., Bertrand, A., Castonguay, Y., Pageau, D., & Drapeau, R. (2010). Forage nonstructural carbohydrates and nutritive value as affected by time of cutting and species. *Agronomy Journal*, 102(5), 1388–1398. <https://doi.org/10.2134/agronj2010.0158>
- Pequeno, D. N. L., Pedreira, C. G. S., Sollenberger, L. E., de Faria, A. F. G., & Silva, L. S. (2015). Forage accumulation and nutritive value of brachiariagrasses and Tifton 85 bermudagrass as affected by harvest frequency and irrigation. *Agronomy Journal*, 107(5), 1741–1749. <https://doi.org/10.2134/agronj15.0115>
- Pereira, L. E. T., Paiva, A. J., Geremia, E. V., & Da Silva, S. C. (2014). Crops and soils research paper: Components of herbage accumulation in elephant grass cv. Napier subjected to strategies of intermittent stocking management. *Journal of Agricultural Science*, 152(6), 954–966. <https://doi.org/10.1017/S0021859613000695>
- Rebello, Lucas R., Luna, I. C., Messana, J. D., Araujo, R. C., Simioni, T. A., Granja-Salcedo, Y. T., Vito, E. S., Lee, C., Teixeira, I. A. M. A., Rooke, J. A., & Berchielli, T. T. (2019). Effect of replacing soybean meal with urea or encapsulated nitrate with or without elemental sulfur on nitrogen digestion and methane emissions in feedlot cattle. *Animal Feed Science and Technology*, 257(October 2018), 114293. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114293>
- Rebello, L. R. Influência de nitrato encapsulado e enxofre na dieta sobre metabolismo e emissão de metano em bovinos. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2017. 58p.
- Reis, R. B., San Emeterio, F., Combs, D. K., Satter, L. D., & Costa, H. N. (2001). Effects of corn particle size and source on performance of lactating cows fed direct-cut grass-legume forage. *Journal of Dairy Science*, 84(2), 429–441. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74493-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74493-1)

- Rodrigues, J. P. P., Ramin, M., Huhtanen, P., Aru, F., Detmann, E., & Marcondes, M. I. (2018). Effect of soya bean oil supplementation and forage type on methane production and fibre digestibility using the in vitro gas production system. *Grass and Forage Science*, *73*(2), 368–380. <https://doi.org/10.1111/gfs.12326>
- Santos, A. R. M. dos, Barros, L. V. de, Abreu, M. L. C., & Pedreira, B. C. (2020). In vitro ruminal fermentation parameters and methane production of Marandu palisadegrass (*Urochloa brizantha*) in a silvopastoral system associated with levels of protein supplementation. *Grass and Forage Science*, *75*(3), 339–350. <https://doi.org/10.1111/gfs.12476>
- Sbrissia, A. F., Duchini, P. G., Zanini, G. D., Santos, G. T., Padilha, D. A., & Schmitt, D. (2018). Defoliation strategies in pastures submitted to intermittent stocking method: Underlying mechanisms buffering forage accumulation over a range of grazing heights. *Crop Science*, *58*(2), 945–954. <https://doi.org/10.2135/cropsci2017.07.0447>
- Sbrissia, André Fischer, & Da Silva, S. C. (2008). Compensação tamanho/densidade populacional de perfilhos em pastos de capim-marandu. *Revista Brasileira de Zootecnia*, *37*(1), 35–47. <https://doi.org/10.1590/s1516-35982008000100005>
- Silva, V. J., Pedreira, C. G. S., Sollenberger, L. E., Silva, L. S., Yasuoka, J. I., & Almeida, I. C. L. (2016a). Canopy height and nitrogen affect herbage accumulation, nutritive value, and grazing efficiency of ‘Mulato II’ brachiariagrass. *Crop Science*, *56*(4), 2054–2061. <https://doi.org/10.2135/cropsci2015.12.0764>
- Silva, V. J., Pedreira, C. G. S., Sollenberger, L. E., Silva, L. S., Yasuoka, J. I., & Almeida, I. C. L. (2016b). Carbon assimilation, herbage plant-part accumulation, and organic reserves of grazed ‘mulato II’ brachiariagrass pastures. *Crop Science*, *56*(5), 2853–2860. <https://doi.org/10.2135/cropsci2016.03.0148>
- Takahashi, J. Nutritional manipulation of methanogenesis in ruminants. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, *14*, 131–135, 2001. <https://eurekamag.com/research/011/078/011078054.php>.
- Tilman, D., Cassman, K. G., Matson, P. A., Naylor, R., & Polasky, S. (2002). Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature*, *418*(6898), 671–677. <https://doi.org/10.1038/nature01014>
- Troy, S. M., Duthie, C. A., Hyslop, J. J., Roehe, R., Ross, D. W., Wallace, R. J., Waterhouse, A., & Rooke, J. A. (2015). Effectiveness of nitrate addition and increased oil content as methane mitigation strategies for beef cattle fed two contrasting basal diets. *Journal of Animal Science*, *93*(4), 1815–1823. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8688>
- UNFCCC. (2015). ADOPTION OF THE PARIS AGREEMENT Draft decision -/CP.21. *Conference of the Parties*, CP/2015/L.30 November to 11 December), 1–32. <https://unfccc.int/resource/docs/2015/cop21/eng/10.pdf>
- Van Zijderveld, S. M., Gerrits, W. J. J., Apajalahti, J. A., Newbold, J. R., Dijkstra, J., Leng, R. A., & Perdok, H. B. (2010). Nitrate and sulfate: Effective alternative hydrogen sinks for mitigation of ruminal methane production in sheep. *Journal of Dairy Science*, *93*(12), 5856–5866. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3281>
- Vanzant, E. S., et al. Influence of level of supplementation and type of grain in supplements on intake and utilization of harvested, early-growing-season bluestem-range forage by beef steers. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 68, n. 5, p. 1457-1464, 1990.

- Venter, Z. S., Hawkins, H. J., & Cramer, M. D. (2019). Cattle don't care: Animal behaviour is similar regardless of grazing management in grasslands. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 272(October 2018), 175–187. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.11.023>
- Vibart, R. E., Burns, J. C., & Fellner, V. (2010). Effect of Replacing Total Mixed Ration with Pasture on Ruminant Fermentation. *Professional Animal Scientist*, 26(4), 435–442. [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)30625-2](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30625-2)
- Vibart, R. E., Tavendale, M., Otter, D., Schwendel, B. H., Lowe, K., Gregorini, P., & Pacheco, D. (2017). Milk production and composition, nitrogen utilization, and grazing behavior of late-lactation dairy cows as affected by time of allocation of a fresh strip of pasture. *Journal of Dairy Science*, 100(7), 5305–5318. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12413>
- Volaire, F., Barkaoui, K., & Norton, M. (2014). Designing resilient and sustainable grasslands for a drier future: Adaptive strategies, functional traits and biotic interactions. *European Journal of Agronomy*, 52, 81–89. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2013.10.002>
- Waghorn, G. C., J. L. Burke, and E. S. Kolver. 2007. Principles of feeding value. Pages 35–60 in Pastures and Supplements for Grazing Animals. P. V. Rattray, I. M. Brookes, and A. M. Nicol, ed. New Zealand Society of Animal Production. Occasional Publication Number 14, Hamilton, New Zealand.
- Yang, S. L., Bu, D. P., Wang, J. Q., Hu, Z. Y., Li, D., Wei, H. Y., Zhou, L. Y., & Loo, J. J. (2009). Soybean oil and linseed oil supplementation affect profiles of ruminal microorganisms in dairy cows. *Animal*, 3(11), 1562–1569. <https://doi.org/10.1017/S1751731109990462>
- Yasuoka, J. I., Pedreira, C. G. S., da Silva, V. J., Alonso, M. P., da Silva, L. S., & Gomes, F. J. (2018). Canopy height and N affect herbage accumulation and the relative contribution of leaf categories to photosynthesis of grazed brachiariagrass pastures. *Grass and Forage Science*, 73(1), 183–192. <https://doi.org/10.1111/gfs.12302>
- Yasuoka, Junior I., Pedreira, C. G. S., Holschuch, S. G., Almeida, O. G., & Pedroso, G. B. (2021). The enclosure cage technique revisited: Pasture responses under continuous stocking and their relationship with estimates of forage accumulation in grazing experiments. *Crop Science*, 61(2), 1488–1499. <https://doi.org/10.1002/csc2.20447>

2. COMPARAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS, FOTOSSÍNTESE E ACÚMULO DE FORRAGEM DO CAPIM MULATO II SUBMETIDO A REGIMES DE DESFOLHAÇÃO SOB LOTAÇÃO CONTÍNUA E ROTATIVA

Resumo

Entre as técnicas que integram o manejo do pastejo, a escolha do método de lotação é uma importante decisão a ser tomada em sistemas de produção animal baseados em pastagens. O crescimento das plantas é afetado pela interceptação luminosa (IL) e pelo índice de área foliar (IAF), e o monitoramento da altura do dossel é uma característica associada com as respostas ecofisiológicas das plantas forrageiras. A abordagem do presente estudo sugere que as comparações entre lotação (L) contínua (C) e rotativa com desfolha leniente (RL) ou moderada (RM) sejam fundamentadas no IAF médio como descritor médio do regime de desfolhação, que podem ser traduzidas na prática com altura média do dossel. Para consolidar esta hipótese, os objetivos desse estudo (i) testar a proposta de comparar as estratégias de lotação contínua e rotativa em pastagens de capim Mulato II [*Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf × *B. decumbens* Stapf × *B. ruziziensis* R. Germ. & C.M. Evrard; sin. *Urochloa brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) R. D. Webster × *U. decumbens* (Stapf) R. D. Webster × *U. ruziziensis* (R. Germ. & C. M. Evrard) Crins] utilizando a altura média de 20 e 30 cm do dossel como descritor médio do regime de desfolhação a que são submetidos; (ii) comparar e entender as respostas agrônomicas das plantas às variações nos regimes de desfolhação para definir estratégias de manejo adequadas para o capim Mulato II. As estratégias de manejo não afetaram a taxa de acúmulo de forragem (TAF). Os resultados confirmaram que os critérios utilizados para elucidar comparações entre estratégias de manejo se mostrou adequado no presente estudo. Estratégias sob lotação rotativa (LR) resultaram em maior massa de folha (Mfolha), colmo (Mcolmo), IAF e IL no pré-pastejo quanto maior a altura de manejo. Manejos sob LC e RM30 resultaram em maior massa de material morto (Mmorto) na altura constante e pré-pastejo, respectivamente. Os resultados confirmaram que ao comparar a $FM_{\bar{x}}$ (\bar{x} = LC, altura constante; LR, média aritmética entre pré e pós-pastejo), características morfológicas médias e $IAF_{\bar{x}}$ e as variações no ambiente luminoso_{0m} estratégias manejadas sob LC e LR com altura do dossel coincidente na média do estrato de pastejo, foram equivalentes. As alterações no ambiente luminoso não alteraram a taxa de fotossíntese de folhas individuais, mas podem ter desencadeado respostas adaptativas das plantas entre as estratégias de manejo como mudanças na área foliar específica (AFE), densidade populacional de perfilhos (DPP) e peso por perfilho (PP) para manter altas fotossíntese do dossel (A_{dossel}) e a TAF. Os tratamentos C30, RL30 e RM30 resultaram em 25% mais $MF_{\bar{x}}$ comparado aos C20, RL20 e RM20, e proporções variáveis dos componentes morfológicos com apenas 20% a mais de $Mfolha_{\bar{x}}$ para 34% e 22% na $Mcolmo_{\bar{x}}$ e $Mmorto_{\bar{x}}$, respectivamente. Essas modificações estruturais foram experimentadas com uma diferença de apenas 0,9 no $IAF_{\bar{x}}$. O uso da altura média do dossel forrageiro como descritor médio das estratégias de manejo do pastejo mostraram-se adequadas para comparar os métodos sob lotação contínua e rotativa. Contudo, a escolha assertiva da altura média do dossel em diferentes regimes de desfolhação é a chave para garantir a equivalência entre os métodos de lotação. Para o manejo adequado do capim mulato II, o C20, RL20 e RM20 são estratégias com baixo IAF médio que permitem o controle do alongamento do colmo e prioriza alocação de fotoassimilados em tecidos que otimizam os processos inerentes ao crescimento das plantas forrageiras (i.e., componente lâmina foliar), e direcionam à intensificação sustentável em sistemas que utilizam tanto a lotação contínua, quanto a lotação rotativa.

Palavras-chave: Métodos de lotação; Manejo do pastejo; Altura do dossel; Estrato de pastejo.

Abstract

Among the techniques that integrate grazing management, the choice of stocking method an important decision to be made pasture-base animal production systems. Crop growth strongly affected by canopy light interception (LI) and leaf area index (LAI), and canopy height can be used as a practical criterion in decision making with regard to defoliation management. The approach of the present study suggests that comparisons between continuous (C) and rotational stocking with lenient (RL) or moderate (RM) defoliation are fundamentally based on the average LAI as the average descriptor of the defoliation regime, which can be translated into practice with average canopy height. To consolidate this hypothesis, the objectives of this study are to (i) test the proposal to compare continuous and rotational stocking strategies in Mulato II brachiariagrass (*Brachiaria brizantha* × *Brachiaria decumbens* × *Brachiaria ruziziensis*) pastures using the average height of 20 and 30 cm of the canopy as descriptor average of the defoliation regime to which they are submitted; (ii) to compare and understand the agronomic responses of plants to variations in defoliation regimes to define appropriate management strategies for Mulato II brachiariagrass. Management strategies did not affect forage accumulation rate (FAR). The results support that the criteria used to establish comparisons between stocking methods are adequate. Strategies under RS result in greater leaf (Mleaf) and stem (Mstem) mass, LAI and LI at pre-graze with higher canopy height, and continuous stocking (CS) canopies at constant heights resulted in greater dead material mass (Mdead). The results support that when canopies under rotational stocking (RS) are characterized under a mean condition for forage mass ($FM_{\bar{x}}$) (\bar{x} = CS, constant height; RS, arithmetic mean between pre and post grazing), plant-part components and $LAI_{\bar{x}}$ and variations in the bright environment strategies managed under CS and RS coincident in average height of the grazing layer, were equivalent there is an equivalence with canopies under CS kept at the same height as the mean height of RS. Changes in the light environment did not affect the photosynthesis rate of individual leaves, but triggered adaptive responses of plants between management strategies such as changes in specific leaf area (SLA), tiller population density (TDP) and tiller weight (TW) for maintain high canopy photosynthesis (A_{canopy}) and FAR. The C30, RL30 and RM30 resulted in 25% greater mean $FM_{\bar{x}}$ compared to C20, RL20 and RM20, resulted in variable photosynthate allocation to plant-part components with only 20% more $Mleaf_{\bar{x}}$ to 34% and 22% in $Mstem_{\bar{x}}$ and $Mdead_{\bar{x}}$, respectively. These structural changes were experienced with a difference of only 0.9 in the $IAF_{\bar{x}}$. The C20, RL20 and RM20 were the treatments with greater TPD and lesser TW, and resulted in better control of stem elongation control and prioritized allocation of photoassimilates to leaves. The use of average forage canopy height as an average descriptor of grazing management strategies proved to be adequate to compare the methods under continuous and rotational stocking. However, the assertive choice of the average height of the canopy in different defoliation regimes is the key to guarantee the equivalence between the stocking methods. For the proper management of Mulato II brachiariagrass, C20, RL20 and RM20 are strategies with low average LAI that allow the control of stem elongation and prioritize the allocation of photoassimilates in tissues that optimize the processes inherent to the growth of forage plants (i.e., component leaf blade), and lead to sustainable intensification in systems that use both continuous stocking and rotational stocking.

Keywords: Stocking methods; Grazing management; Canopy height; Grazing layer.

2.1. Introdução

Projetar sistemas eficientes de produção de carne e leite envolvem a intensificação sustentável (Pretty & Bharucha, 2014). Em sistemas pecuários em pastagens tropicais, o manejo do pastejo é a estratégia mais eficaz e indispensável para aumentar a produtividade (Gimenes et al., 2011), além de contribuir para minimizar impactos ambientais (Garnett e Godfray, 2012).

Entre as ações que integram o manejo do pastejo, a escolha do método de lotação é a primeira importante decisão a ser tomada na propriedade. Optar pelo método de lotação apropriado alinhado com as necessidades do sistema produtivo permite atingir o(s) objetivo(s) pretendido(s), os quais, podem ser diversos, como alocar nutrientes entre várias categorias de ruminantes, melhorar a eficiência do uso da forragem, reduzir os efeitos negativos sobre as plantas ou cobertura do solo (Allen et al., 2011). Entretanto, estratégias para realizar comparações equivalentes entre lotação contínua e rotativa são frequentemente difíceis de serem interpretadas, tendo em vista as dificuldades de se estabelecer critérios de equivalência do ponto de vista de intensidade ou severidade de desfolhação, o que traz confusão às tentativas de comparação.

Os métodos de lotação, ao serem comparados, incluem dificuldades consideráveis como uma gama de possibilidades de manejos dentro de uma amplitude de altura do dossel que determina inúmeras intensidades de desfolhas em lotação contínua e a gama de combinações entre severidade e frequência em pastagens sob lotação rotativa. Parsons & Penning (1988), enfatizaram que sistemas intensivos de pastagens sob lotação contínua podem apresentar potencial de produção animal equivalente ao daqueles sob lotação rotativa desde que utilizada uma mesma base de comparação. Além disso, outros diversos estudos apontam semelhanças entre os métodos de lotação ou relatam que essas comparações são inconclusivas (Briske et al., 2008; di Virgilio et al., 2019; Venter et al., 2019; Moojen et al., 2022).

Com o objetivo de realizar uma comparação fundamentada entre lotação contínua e rotativa Parsons et al. (1988) utilizaram um modelo matemático para otimizar a interação entre frequência e severidade de desfolhação. Esses autores estudaram a relação entre fotossíntese, produção de tecidos e morte de folhas, e seus impactos sobre a massa de forragem passível de ser colhida sob regimes de desfolhação rotativa. A partir disso, constatou-se que máximas produtividades seriam obtidas sempre que as flutuações em índice de área foliar (IAF) durante a rebrotação e desfolhação resultassem em baixas médias de IAF, e que previamente estas foram relacionadas à máxima produtividade sob lotação contínua. Os autores sugeriram que a produção de forragem sob ambos os métodos de lotação poderia ser melhor comparada em relação a uma condição média de dossel, caracterizada pelo IAF médio dos pastos sob cada regime de desfolhação.

O crescimento das plantas é função da condição média do IAF que os pastos são mantidos no campo por meio dos regimes de desfolhação utilizados (seja, lotação contínua ou lotação rotativa). O monitoramento da altura do dossel é uma ferramenta de campo útil e confiável que traduz as respostas ecofisiológicas das plantas de maneira prática (Congio et al.,

2018), além de ser uma técnica amplamente consolidada por diversos estudos sobre o manejo do pastejo (Carnevali et al., 2006; Pedreira, 2009; Silva et al., 2016b; Congio et al., 2018). O presente estudo sugere que as comparações entre métodos de lotação contínua e lotação rotativa sejam fundamentadas em seus IAF médios como proposto na abordagem realizada por meio de modelos matemáticos de Parsons et al. (1988). Dessa forma, os objetivos deste estudo foram (i) testar a proposta de comparar as estratégias de lotação contínua e rotativa em pastagens de capim Mulato II utilizando a altura média do dossel como descritor médio do regime de desfolhação a que são submetidos; (ii) comparar e entender as respostas agronômicas das plantas às variações nos regimes de desfolhação para definir estratégias de manejo adequadas para o capim Mulato II.

2.2. Material e Métodos

2.2.1. Descrição do local, delineamento experimental e tratamentos

O estudo foi conduzido de acordo com as normas éticas e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (protocolo nº 2016/24) da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo (USP-ESALQ), Piracicaba, São Paulo, Brasil (22°42' S, 47°37' W, 546 m acima do nível do mar). O período experimental correspondeu a três verões agrostológicos (anos), de 9 de janeiro a 5 de abril de 2017 (Ano 1), de 3 de janeiro a 17 de abril de 2018 (Ano 2) e de 18 de dezembro de 2018 a 23 de abril de 2019 (Ano 3). O solo no local experimental é um Kandiualfic Eutradox, altamente fértil (Soil Survey Staff, 1990). As características químicas médias do solo foram: P = 57 mg dm⁻³ (método de extração de resina de troca iônica); matéria orgânica (MO) = 42 g dm⁻³; pH (0,01 mol L⁻¹ CaCl₂) = 5,4; K = 9,9 mmolc dm⁻³; Ca = 53 mmolc dm⁻³; Mg = 22 mmolc dm⁻³; H+Al = 38 mmolc dm⁻³; soma de bases = 84,9 mmolc dm⁻³; capacidade de troca catiônica = 122,9 mmolc dm⁻³; saturação por bases = 69%. As proporções de argila, silte e areia foram 431, 199 e 370 g kg⁻¹, respectivamente. O clima local é classificado como Cfa de acordo com Köppen (Alvares et al., 2013). Os dados meteorológicos do período experimental (Tabela 1) foram obtidos de uma estação meteorológica localizada a 2 km do local da pesquisa.

Tabela 1. Temperaturas máximas e mínimas mensais e precipitação pluviométrica no local experimental durante três estações chuvosas de verão em Piracicaba, Brasil.

Variável meteorológica	Dez.	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.
Ano 1 (2016–2017)					
Temperatura Máx. (°C)	31,0	30,2	32,2	30,6	28,3
Temperatura Min. (°C)	19,4	20,3	20,0	18,4	16,7
Precipitação (mm)	190,6	334,5	88,8	137,0	128,5
Ano 2 (2017–2018)					
Temperatura Máx. (°C)	32,3	30,3	30,2	32,1	29,6
Temperatura Min. (°C)	18,5	19,4	18,2	19,6	15,9
Precipitação (mm)	148,6	225,0	71,6	204,5	35,1
Ano 3 (2018–2019)					
Temperatura Máx. (°C)	32,3	33,4	30,2	30,5	29,8
Temperatura Min. (°C)	18,5	20,3	19,4	19,2	17,6
Precipitação (mm)	52,2	145,8	152,9	73,4	162,4
Média histórica ^a					
Temperatura Máx. (°C)	29,9	30,0	30,4	30,1	28,5
Temperatura Min. (°C)	18,4	19,1	19,1	18,4	15,7
Precipitação (mm)	197,9	229,2	178,0	142,0	66,0

^a Dados meteorológicos médios históricos de 1917 a 2019.

A *Brachiaria* híbrida capim Mulato II foi semeada em janeiro de 2012 conforme descrito por Silva et al. (2016b). Em 21 de outubro de 2016, foi realizado um pastejo com desfolhação severa e, em seguida, roçada mecanicamente a 10 cm de altura. Em seguida foram aplicados 50 kg N ha⁻¹ na forma de NH₄NO₃. Os tratamentos de pastejo foram então aplicados começando cerca 45 dias antes do início do período experimental, como um período de adaptação. Entre cada verão agrostológico (períodos de abril a dezembro de 2017 e abril a dezembro de 2018), os tratamentos foram mantidos, mas não foram coletados dados.

O delineamento experimental foi em blocos completos casualizados, com seis tratamentos de estratégias de manejo do pastejo e três repetições, totalizando 18 unidades experimentais (pastagens) de 200 m² cada. As estratégias de manejo (Figura 1) foram: 1) Lotação contínua mimetizada com altura de dossel constante de 20 cm (C20); 2) Lotação contínua mimetizada com altura do dossel constante de 30 cm (C30); 3) Lotação rotativa com desfolhação leniente (redução de 33% na altura do dossel, com pré e pós-pastejo de 24 e 16 cm, respectivamente) com altura média do dossel de 20 cm (RL20); 4) Lotação rotativa com desfolhação leniente (redução de 33% na altura do dossel, com pré e pós-pastejo de 36 e 24 cm, respectivamente) com altura média do dossel de 30 cm (RL30); 5) Lotação rotativa com desfolhação moderada (redução de 47% na altura do dossel, com pré e pós-pastejo de 26 e 14 cm, respectivamente) com altura média do dossel de 20 cm (RM20); e 6) Lotação rotativa com

desfolhação moderada (redução de 47% na altura do dossel, com pré e pós-pastejo de 39 e 21 cm, respectivamente) com altura média do dossel de 30 cm (RM30).

Nos tratamentos sob lotação contínua, uma variação máxima de 10% na altura do dossel foi tolerada (18-22 cm para dossel de 20 cm e 27-33 cm para dossel de 30 cm).

A altura média do dossel (20 e 30 cm) nas estratégias de manejo sob lotação rotativa foi definida por: altura média do dossel, cm = (altura da superfície do dossel no pré-pastejo + altura da superfície do dossel no pós-pastejo) / 2.

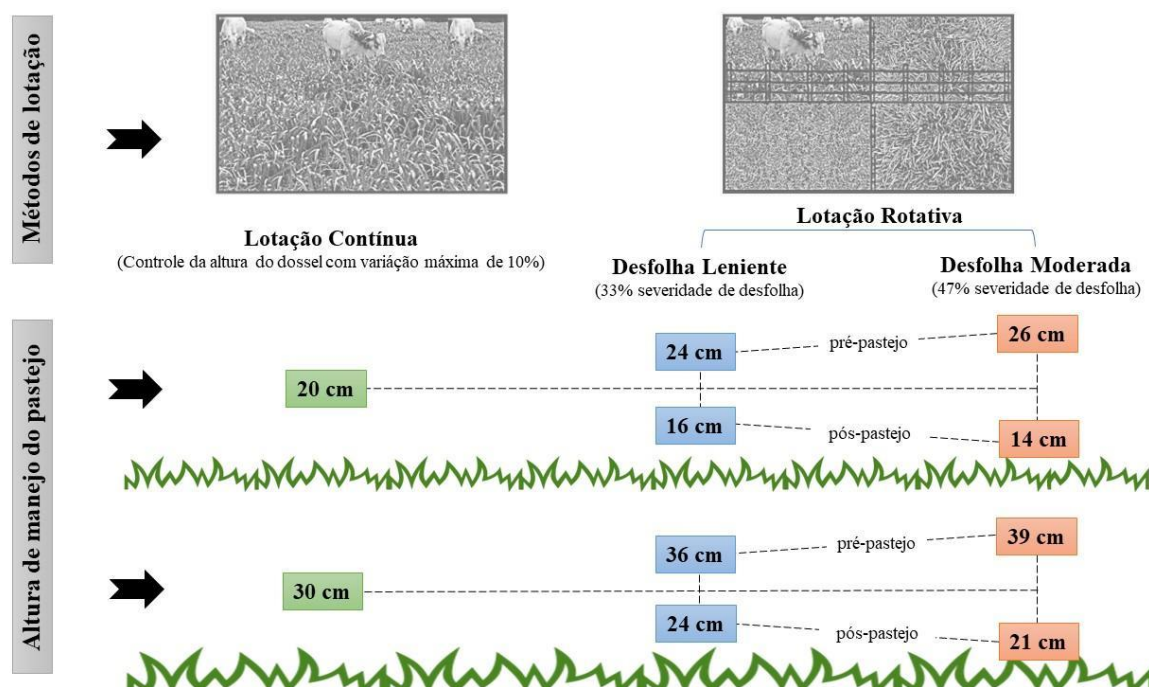


Figura 1. Representação esquemática das estratégias de manejo do pastejo, demonstrando a disposição dos métodos de lotação, o nível de severidade da desfolha e alturas do dossel de cada tratamento.

Os tratamentos foram aplicados utilizando o protocolo de desfolhação do tipo *mob-stocking* com taxa de lotação variável, com eventos de pastejo sempre que necessário para manter a altura do dossel. Vacas leiteiras e novilhas mestiças não prenhes e não lactantes (~450 kg de peso vivo) foram levadas para os pastos sempre que a altura do dossel atingisse o limite superior para o tratamento e retiradas quando a altura atingia o limite inferior. A altura do dossel foi medida três vezes por semana em 50 pontos em cada piquete usando folha de polietileno leve e um bastão graduado.

No primeiro ano, 155 kg K ha⁻¹ e 187 kg N ha⁻¹ foram divididos e distribuídos simultaneamente em todas as unidades experimentais em 9 de janeiro, 4 de fevereiro e 3 de março de 2017. No segundo e terceiro anos, 200 kg de N ha⁻¹ e 166 kg K ha⁻¹ foram divididos

aplicados em 4 de janeiro, 23 de janeiro, 27 de fevereiro e 21 de março de 2018 (segundo ano) e em 7 de dezembro de 2018, 8 de janeiro, 19 de fevereiro e 12 de março de 2019 (terceiro ano). A fonte de N foi NH_4NO_3 e a fonte de K foi KCl.

2.2.2. Avaliações da forragem e estrutura do dossel

Nos piquetes sob lotação contínua o acúmulo de forragem (AF) foi avaliado utilizando duas gaiolas de exclusão no formato cilíndrico ($0,64\text{ m}^2$ de área basal) com 1,2 m de altura por um período de exclusão de 21 dias, conforme descrito por Yasuoka et al. (2021). Nos piquetes sob lotação rotativa, o AF de cada ciclo foi calculado considerando a diferença entre a MF pré-pastejo de um ciclo e a MF pós-pastejo do ciclo anterior. A taxa de acúmulo de forragem (TAF) sazonal total para cada piquete foi obtida dividindo-se o AF de cada ciclo pelo número de dias correspondente ao período de acúmulo.

A massa de forragem (MF) em cada piquete foi estimada em quatro condições diferentes. Nos piquetes sob lotação contínua, a MF foi estimada no pasto (fora das gaiolas) em cada primeiro dia, cortando toda a forragem a 2 cm acima da superfície do solo dentro de dois quadrados de 0,75 por 0,35 m, e dentro de cada gaiola no último dia de cada período de exclusão (21 d), por tosquiadeiras elétricas. Para os piquetes sob lotação rotativa, a MF foi estimada no pré- e pós-pastejo em cada ciclo de pastejo, por corte de toda a forragem a 2 cm acima da superfície do solo dentro de dois quadrados de 0,75 por 0,35 m. As amostras cortadas foram pesadas frescas, e uma subamostra de 250g foi retirada para separação dos componentes morfológicos das plantas e a determinação do IAF. A subamostra foi separada em folha (lâmina foliar), colmo (pseudocolmo e bainha foliar) e material morto. A área foliar de aproximadamente 30 lâminas foliares da subamostra fresca foi medida usando um aparelho integrador de área foliar modelo LI-3100 (LI-COR, Lincoln, Nebraska, USA) para calcular a área foliar específica (AFE) e o IAF. O IAF foi calculado com a área foliar verde e o peso seco dessa mesma área foliar, dividindo-se a área foliar total da amostra pela área amostral. Todos os componentes das partes da planta foram secos separadamente em estufa de ventilação forçada a 55°C até peso constante e posteriormente pesados. O peso seco de cada fração foi utilizado para determinar a massa de folhas, colmos e de material morto na MF. A soma de todas as frações foi utilizada para determinar a MF.

A densidade populacional de perfilhos (DPP) foi avaliada no último dia de cada intervalo de rebrotação (IR), contando-se todos os perfilhos em duas molduras colocadas em locais que representavam a condição média do dossel no momento da avaliação visual. A área

das molduras utilizadas foi de $0,75 \times 0,35$ m. O peso médio por perfilho (PP) foi calculado dividindo a MF (g) pelo número de perfilhos dentro de cada moldura.

Leituras da interceptação luminosa (IL) do dossel e do ângulo da folhagem (ANG°) foram feitas em piquetes manejados sob lotação contínua em intervalos de 21 dias e nos piquetes sob lotação rotativa nas condições de pré e pós-pastejo de cada ciclo usando um analisador de dossel modelo LAI-2000 (Li-Cor, Lincoln, Nebraska, EUA). Nas avaliações de cada piquete foram registradas cinco leituras de referências (acima do dossel forrageiro) e 40 leituras abaixo do dossel com a lente próximo possível do nível do solo. As leituras foram realizadas em horários de radiação predominantemente difusa (baixa elevação solar ou céu nublado), seguindo as recomendações de Welles & Norman, (1991), em locais representativos do piquete.

Para comparações equivalentes entre as estratégias de manejo sob lotação contínua e rotativa, nos piquetes em lotação rotativa foram calculadas as variáveis referentes a condição média do dossel (pré e pós-pastejo) para a MF, Mfolha, Mcolmo, Mmorto, IAF, AFE, IL, ANG° e k . Os valores foram obtidos por cálculos da média aritmética entre pré e pós-pastejo de cada variável e serão mencionadas como massa de forragem ($MF_{\bar{x}}$), massa de folha ($Mfolha_{\bar{x}}$), de colmo ($Mcolmo_{\bar{x}}$), de Mmorto ($Mmorto_{\bar{x}}$), índice de área foliar ($IAF_{\bar{x}}$), área foliar específica ($AFE_{\bar{x}}$), ângulo da folhagem ($ANG^\circ_{\bar{x}}$), interceptação de luz ($IL_{\bar{x}}$) e o coeficiente de extinção luminosa ($k_{\bar{x}}$) na condição média do dossel.

2.2.3. Parâmetros das trocas gasosas e fotossíntese do dossel

As avaliações de trocas gasosas foram feitas na altura constante dos tratamentos sob lotação contínua a cada 30 dias e nos momentos em que o dossel da forrageiro atingia a altura média 20 ou 30 cm em cada ciclo de rebrotação dos piquetes sob lotação rotativa. As medidas foram registradas utilizando um sistema de fotossíntese portátil modelo LI-6400 (Li-Cor, Lincoln, Nebraska, EUA), realizadas em dias ensolarados entre 09h00 e 12h00. As leituras foram feitas no terço médio da lâmina foliar, na folha mais jovem completamente expandida (JCE) e na terceira folha madura da camada inferior do dossel (MAT) de três perfilhos vegetativos representativos em cada piquete. A concentração média de CO_2 no interior da câmara foi fixada em $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$, temperatura em 30°C e a densidade de fluxo de fótons fotossintéticos (DFFF) foi de $2000 \mu\text{mol de fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ usando fonte de luz vermelha/azul (Pedreira et al., 2015). As respostas medidas incluíram a taxa de assimilação de CO_2 (taxa de

fotossíntese foliar, A), taxa de evapotranspiração foliar (E), condutância estomática (g_s), eficiência de uso da água (obtida pela relação, A/E), concentração intracelular de CO_2 (c_i), relação da concentração de CO_2 intercelular: ambiental (c_i/c_a) e déficit de pressão de vapor com base na temperatura da folha (DPVF), que é a diferença entre a saturação da pressão de vapor da folha (e_s) e a pressão de vapor ambiente (e_a).

A fotossíntese do dossel foi estimada usando o modelo “folhas iluminadas e sombreadas” (Boote & Jones, 1987), que usa eficiência quântica (Q_e), taxa máxima de fotossíntese foliar (A), coeficiente de extinção de luz (k), IAF e DFFF. A taxa de fotossíntese medida na folha mais jovem totalmente expandida foi considerada a taxa de A da folha (Pedreira et al., 2015). O IAF iluminado pelo sol (IAF sol) foi calculado usando os valores do IAF e k , e o IAF sombreado (IAF sombra) calculado como a diferença entre o IAF total e o IAF iluminado pelo sol. As constantes adotadas foram as seguintes: DFFF = $2000 \mu \text{ mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Pedreira & Pedreira, 2007); $k = - [\log_e (I/I_o)]/\text{LAI}$, calculado de acordo com Sheehy & Cooper, (1973), onde I e I_o correspondem à irradi\u00e2ncia na parte inferior e superior do dossel, respectivamente; $Q_e = 0,054$ para plantas C4 (Dias-Filho, 2002). Assumiu-se que o coeficiente de reflex\u00e3o e transmiss\u00e3o de luz (r) dentro do dossel era de 20% (Pedreira & Pedreira, 2007).

2.2.4. An\u00e1lise estat\u00edstica

Os dados foram analisados usando o procedimento PROC MIXED do SAS (vers\u00e3o 9.4, SAS Institute) (Littel et al., 2006). Na escolha da matriz de vari\u00e2ncia e covari\u00e2ncia foi utilizado o Crit\u00e9rio de Informa\u00e7\u00e3o de Akaike (IAC) (Wolfinger & O’Connell, 1993). Preditores lineares e gr\u00e1ficos quantil-quantil dos res\u00edduos foram usados para verificar a homogeneidade da vari\u00e2ncia e a normalidade dos erros. As m\u00e9dias dos tratamentos foram estimadas usando o comando LSMEANS e comparadas pela probabilidade de diferen\u00e7a (PDIFF) por meio do teste t de Student ($P < 0,05$). O efeito das estrat\u00e9gias de manejo foi considerado fixo, e o efeito bloco e ano foram considerados aleat\u00f3rios, seguindo o modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + M_i + B_j + a_{ij} + A_l + \varepsilon_{ijkl} \quad \text{Equa\u00e7\u00e3o 1}$$

onde Y_{ijkl} = resposta esperada; μ = m\u00e9dia geral; M_i = estrat\u00e9gias de manejo efeito fixo i ; B_j = efeito de bloco aleat\u00f3rio (repeti\u00e7\u00e3o) $j \sim N(0, \sigma^2_b)$; a_{ij} = erro associado \u00e0s estrat\u00e9gias de manejo i , no bloco $j \sim N(0, \sigma^2_a)$; A_l = efeito de ano aleat\u00f3rio l ; e ε_{ijkl} = erro experimental $\sim \text{NID}(0, \sigma^2_\varepsilon)$.

A an\u00e1lise de componentes principais (ACP) foi realizada e os clusters foram constru\u00eddos usando o software R, v 4.0.2 (R Development Core Team 2015) e os pacotes

'Cluster', 'FactoMiner' e 'Factoextra', classificando as variáveis resposta para todas as estratégias de manejo usando a média dos três anos avaliados, e então foram classificadas as 15 variáveis resposta TAF (taxa de acúmulo de forragem, kg MS ha⁻¹ dia⁻¹), DPP (densidade populacional de perfilhos, perfilhos m⁻²), PP (peso de perfilho, g MS perfilho⁻¹), MF \bar{x} (massa de forragem média, kg MS ha⁻¹), Mfolha \bar{x} (massa média de folhas, kg MS ha⁻¹), Mcolmo \bar{x} (massa média de colmo, kg MS ha⁻¹), Mmorto \bar{x} (massa média de material morto, kg MS ha⁻¹), AFE \bar{x} (área foliar específica média, cm² g⁻¹), IAF \bar{x} (índice de área foliar total médio), IAFsol \bar{x} (índice de área foliar de sol médios), IAFsombra \bar{x} (índice de área foliar de sombra médio), IL \bar{x} (interceptação de luz média, %), ANG \bar{x} (ângulo de folhagem médio, °), $k\bar{x}$ (coeficiente de extinção luminosa médio) e A_{dossel} (fotossíntese do dossel, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Os biplots gerados na PCA foram interpretados pela visualização de quadrantes inversamente correlacionados [vetores em direções opostas (setas)]. Quanto maior o tamanho dos vetores, maior a variação nos dados, e quanto mais curtos os vetores, maior a relação entre eles. Os dados foram padronizados para que os resultados não fossem influenciados pela magnitude das unidades da variável. Para isso, cada variável de interesse foi dividida entre cada ponto de dados e sua média aritmética pelo seu desvio padrão. Após as análises de cluster, foi gerado um mapa fatorial para todas as estratégias de manejo.

2.3. Resultados

2.3.1. Características estruturais do dossel forrageiro: avaliações nas condições de pré e pós-pastejo em lotação rotativa e altura constante na lotação contínua

As metas de alturas da superfície do dossel forrageiro foram mantidas rigorosamente nos três anos avaliados tanto nas alturas mantidas constantes nos piquetes sob lotação contínua e pré-pastejo em lotação rotativa ($P < 0,0001$; Tabela 2), quanto na condição de pós-pastejo ($P < 0,0001$; Tabela 3) em lotação rotativa, e as variações máximas permitidas das estratégias de manejo foram de $\pm 5\%$.

Nas condições das alturas constantes (contínuos) e pré-pastejo (rotativos) dos regimes de desfolhação com menores alturas da superfície do dossel, menores IL foram observadas nos tratamentos C20, RL20 e RM20 em relação aos C30, RL30 e RM30 ($P < 0,0001$). A estratégia de manejo C20 resultou na menor IL com valor de 96% IL (próximo aos 95% IL), enquanto que os manejos RL30 e RM30 resultaram nas maiores IL com 99% (\sim IL máxima de 100%) (Tabela 2). O ambiente luminoso nessas condições modificou o IAF ($P < 0,0001$) e a AFE ($P =$

0,0008), mas não afetaram o ANG° da folhagem ($P = 0,3694$) dos tratamentos, e o valor médio do ANG° foi de $43 \pm 0,44^\circ$. As variações da IL e IAF associadas ao valor constante do ANG° da folhagem determinaram alteração no k ($P = 0,0035$). Os padrões semelhantes nos valores crescente de IL para C20 e para o pré-pastejo nos RL20 e RM20, assim como nos C30, RL30 e RM30 determinaram maiores valores de IAF nos tratamentos RL20, RM20, RL30 e RM30 em relação aos C20 e C30 (Tabela 2; Figura 2). Essas variações no IAF implicaram em maior k , e menor AFE (Tabela 2).

As estratégias de manejo afetaram a MF ($P < 0,0001$) dos contínuos e pré-pastejo dos rotativos, e determinaram as variações em estrutura do dossel com impactos na Mfolha ($P < 0,0001$), na Mcolmo ($P < 0,0001$) e Mmorto ($P = 0,0006$). Os manejos C20, LR20 e LM20 resultaram nas menores MF e Mcolmo, mas foram similares entre este grupo de tratamentos com valores médios de 6.810 e 1.780 kg MS ha⁻¹, respectivamente. Enquanto a MF e Mcolmo foram maiores 19,8 e 16,7% no manejo RM30, respectivamente, em relação ao C30 (Tabela 2). A Mfolha foi o componente de maior variação na MF e teve relação direta com IAF (Tabela 2; Figura 2). As Mmorto foram maiores nos C20, C30 e RM30 (Tabela 2).

Tabela 2. Altura da superfície e características da estrutura do dossel forrageiro de capim Mulato II manejado em alturas médias de 20 ou 30 cm sob lotação contínua (C) e rotativa (condição de pré-pastejo) com severidade de desfolhação leniente (RL) ou moderada (RM) em Piracicaba, Brasil.

Variáveis	Estratégias de manejo						‡EPM	†P valor
	C20	RL20	RM20	C30	RL30	RM30		
*Altura, cm	20,3f	24,4e	26,0d	30,2c	36,3b	38,4a	0,3	<,0001
MF, kg MS ha ⁻¹	6520d	6990d	6940d	8300c	9090b	10360a	408	<,0001
Mfolha, kg MS ha ⁻¹	1844e	2965c	3359b	2346d	3588b	4202a	114	<,0001
Mcolmo, kg MS ha ⁻¹	1768c	1780c	1788c	2494b	2724ab	2996a	124	<,0001
Mmorto, kg MS ha ⁻¹	2904a	2208c	2131c	3457a	2816b	3043ab	367	0,0006
AFE, cm ² g ⁻¹	70a	57c	55c	66ab	57c	61bc	3,85	0,0008
IL, %	96d	97c	98b	98bc	99a	99a	0,71	<,0001
K	0,80bc	0,82a	0,82ab	0,80c	0,82a	0,83a	0,01	0,0035

*Altura da superfície do dossel; MF, massa de forragem; Mfolha, massa de lâmina folhas; Mcolmo, massa de colmo; Mmorto, massa de material morto; AFE, área foliar específica; IL, interceptação luminosa da folhagem; k , coeficiente de extinção luminosa. †As médias dentro das linhas seguidas da letra diferente diferem pelo teste 't' ($p < 0,05$). ‡ EPM: erro padrão da média.

Na condição pós-pastejo dos regimes de desfolhação em lotação rotativa, a menor severidade de desfolhação dos tratamentos RL20 e RL30 resultou em maior IL ($P = 0,0224$), menor ANG° ($P = 0,0076$) comparado aos RM20 e RM30, mas as alterações não afetaram o k ($P = 0,0076$) e a AFE ($P = 0,1673$) (Tabela 3). Os valores do k e a AFE pós foram de $0,78 \pm$

0,03 e 71 cm² g⁻¹, respectivamente. O IAF pós-pastejo nos manejos RL20 e RL30 foram semelhantes, com ANG° da folhagem menores, dispostos mais horizontalmente. Enquanto que as estratégias com maior severidade de desfolhação (RM20 e RM30) resultaram em menores IAF (Figura 2) e maiores ANG°, o que caracteriza folhagem posicionadas mais verticalmente (Tabela 3). Estratégias de manejo com maior nível de severidade de desfolhação são coincidentes com as menores alturas de pós-pastejo impostas, o que implicou em menor MF (P = 0,0045), e conseqüentemente menor Mfolha (P <0,0001) e Mcolmo (P <0,0001), mas não afetou a Mmorto (2.590 ± 410 kg MS ha⁻¹) (P = 0,0615) em pós-pastejo (Tabela 3).

Tabela 3. Altura da superfície e características da estrutura do dossel forrageiro de capim Mulato II manejado em alturas médias de 20 ou 30 cm sob rotativa (condição de pós-pastejo) com severidade de desfolhação leniente (RL) ou moderada (RM) do capim Mulato II em Piracicaba, Brasil.

Variáveis	Estratégias de manejo				‡EPM	†P valor
	RL20	RM20	RL30	RM30		
*Altura, cm	15,8c	14,6d	24,2a	21,2b	0,2	<,0001
MF, kg MS ha ⁻¹	4696bc	4042c	6707a	5399b	587	0,0045
Mfolha, kg MS ha ⁻¹	898a	615b	993a	599b	104	<,0001
Mcolmo, kg MS ha ⁻¹	1421c	1310c	2264a	1897b	134	<,0001
IL, %	87ab	80c	90a	81bc	2,69	0,0224
ANG°, graus	45b	48ab	47b	52a	2,01	0,0076

*Altura da superfície do dossel; MF, massa de forragem; Mfolha, massa de lâmina folhas; Mcolmo, massa de colmo; IL, interceptação luminosa da folhagem; ANG°, ângulo da folhagem. †As médias dentro das linhas seguidas da letra diferente diferem pelo teste 't' (p < 0.05). ‡ EPM: erro padrão da média.

Os IAF_{sol} foram biologicamente constantes entre as estratégias de manejo mesmo com valores P significativos tanto nas condições dos contínuos e no pré-pastejo dos rotativos (P = 0,0231), quanto no pós-pastejo dos rotativos (P = 0,0011). Os valores médios do IAF_{sol} foram 1,2 para condições dos contínuos e pré-pastejo dos rotativos e 1,1 para pós-pastejo dos rotativos (Figura. 2). Os IAF_{sombra} foram afetados pelas estratégias de manejo nas condições dos contínuos e no pré-pastejo dos rotativos (P <.0001) e pós-pastejo dos rotativos (P = 0.0234), e seus modificações moldaram o IAF total dos contínuos e no pré-pastejo dos rotativos (P <.0001) e pós-pastejo dos rotativos (P = 0.0212) (Figura. 2).

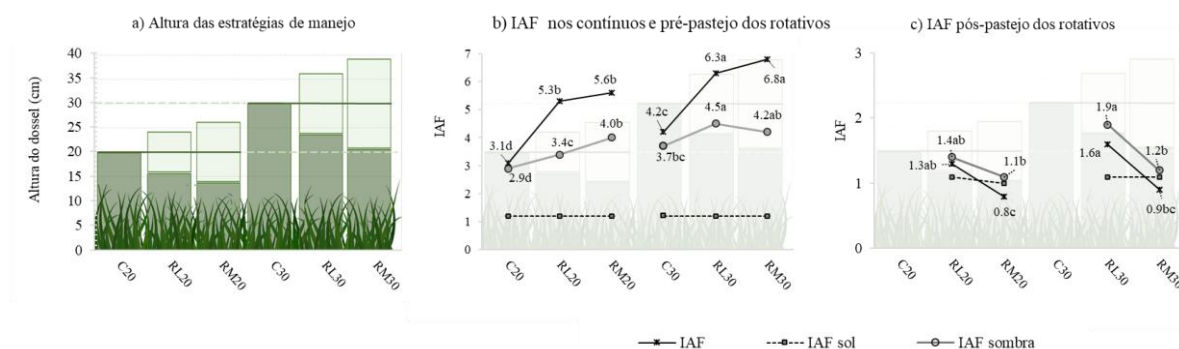


Figura 2. Altura [a] e índice de área foliar total (IAF), de folhas de sol (IAF_{sol}) e de sombra (IAF_{sombra}) [b - contínuos e pré-pastejo dos rotativos; c - pós-pastejo dos rotativos] do dossel forrageiro de capim Mulato II manejado em alturas médias de 20 ou 30 cm sob lotação contínua (C) e rotativa com severidade de desfolhação leniente (RL) ou moderada (RM) do capim Mulato II em Piracicaba, Brasil.

2.3.2. Taxa de acúmulo da forragem, densidade populacional e peso dos perfilhos

A TAF não foi afetada pelas estratégias de manejo ($P = 0,0781$). O valor médio da TAF foi $98 \pm 9,1$ kg MS ha^{-1} dia $^{-1}$. Os manejos C20, RL20 e RM20 resultaram em DPP 13% maior ($P = 0,0220$) e PP 33% menor ($<0,0001$) em relação aos C30, RL30 e RM30 (Tabela 4).

Tabela 4. Densidade populacional (DPP) e peso dos perfilhos (PP) do dossel forrageiro de capim Mulato II manejado em alturas médias de 20 ou 30 cm sob lotação contínua (C) e rotativa com severidade de desfolhação leniente (RL) ou moderada (RM) em Piracicaba, Brasil.

Variáveis	Estratégias de manejo						‡EPM	†P valor
	C20	RL20	RM20	C30	RL30	RM30		
DPP, perfilhos m^{-2}	1154b	1243ab	1335a	1073c	1110bc	1065c	48	0,0220
PP, g MS perfilhos $^{-1}$	0,59b	0,56b	0,58b	0,85a	0,87a	0,89a	0,08	<0,0001

†As médias dentro das linhas seguidas da letra diferente diferem pelo teste 't' ($p < 0,05$). ‡ EPM: erro padrão da média.

2.3.3. Comparações entre lotação contínua e rotativa usando a condição média do dossel forrageiro

A $MF_{\bar{x}}$ ($P < 0,0001$), $Mfolha_{\bar{x}}$ ($P < 0,0001$), $Mcolmo_{\bar{x}}$ ($P < 0,0001$) e $Mmorto_{\bar{x}}$ ($P = 0,0037$) foram menores nas estratégias de manejo C20, RL20 e RM20 em relação aos C30, RL30 e RM30 (Figura 3). De forma análoga à $Mfolha_{\bar{x}}$, o $IAF_{\bar{x}}$ total ($P < 0,0001$) foi menor nas estratégias de manejo C20, RL20 e RM20 em relação as C30, RL30 e RM30 (Figura 4).

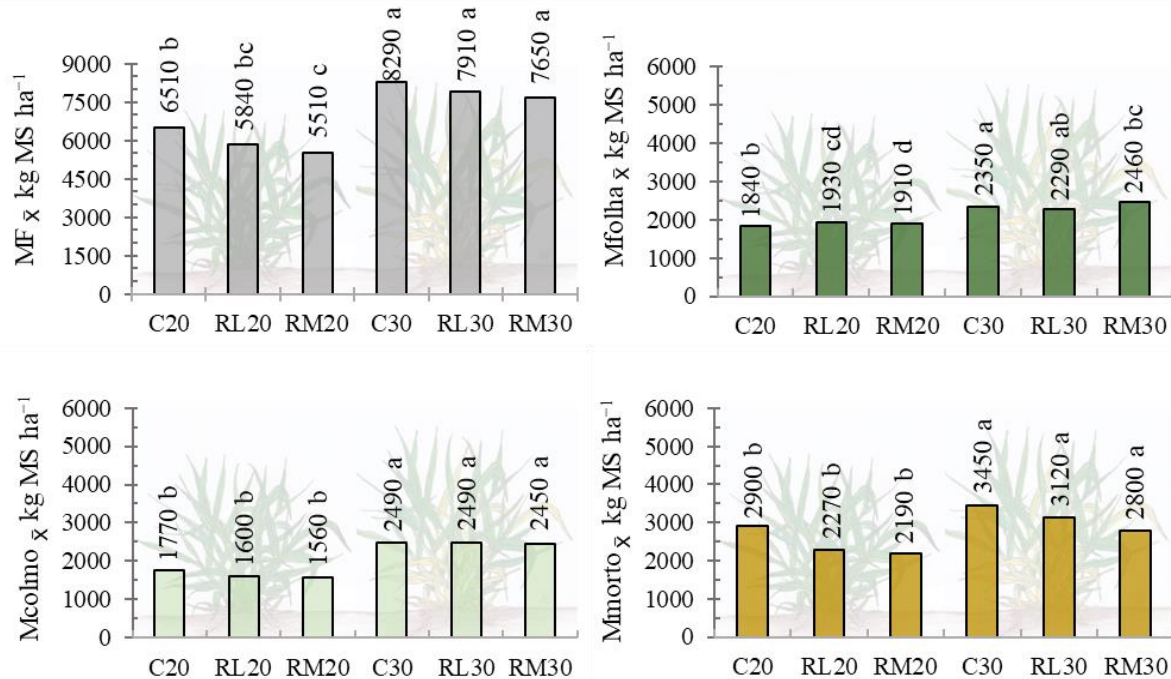


Figura 3. Massa de forragem média ($FM_{\bar{x}}$), de lâminas de folha ($M_{folha\bar{x}}$), de colmo ($M_{colmo\bar{x}}$) e de material morto ($M_{morto\bar{x}}$) do dossel forrageiro de capim Mulato II manejado em alturas médias de 20 ou 30 cm sob lotação contínua (C) e rotativa com severidade de desfolhação leniente (RL) ou moderada (RM) em Piracicaba, Brasil.

As estratégias de manejos não afetaram a A e os demais parâmetros de trocas gasosas (E , g_s , c_i , c_i/c_a , $DPVF$ e a A/E) de folhas individuais JCE e MAT ($P > 0,05$; Tabela 5).

O $ANG^{\circ\bar{x}}$ da folhagem variou de acordo com o método de lotação dos tratamentos ($P < 0,0001$). Estratégias de manejo com severidade de desfolhação moderada resultaram em maiores $ANG^{\circ\bar{x}}$, enquanto que os tratamentos sob lotação contínua foram os menores valores. As modificações entre $IAF_{\bar{x}}$ e $ANG^{\circ\bar{x}}$ afetaram a $AFE_{\bar{x}}$ das estratégias de manejo ($P = 0,0009$), com aumento de 13,9% no RM30 comparado aos menores valor de $AFE_{\bar{x}}$ quantificados nos manejos RL20 e RL30 (Figura 4). Além disso, as estratégias de manejo modularam as relações entre A de folhas individuais e as respostas morfofisiológicas do capim Mulato II e determinaram diferenças pouco expressivas biologicamente para a A_{dossel} ($P = 0,0474$), além do P valor muito próximos à não significância. Os maiores valores da A_{dossel} foram registrados nos tratamentos RL20, RM20, C30 e RL30, com diferenças médias de 9,6% e 5,8%, das estratégias C20 e RM30, respectivamente (Figura 4).

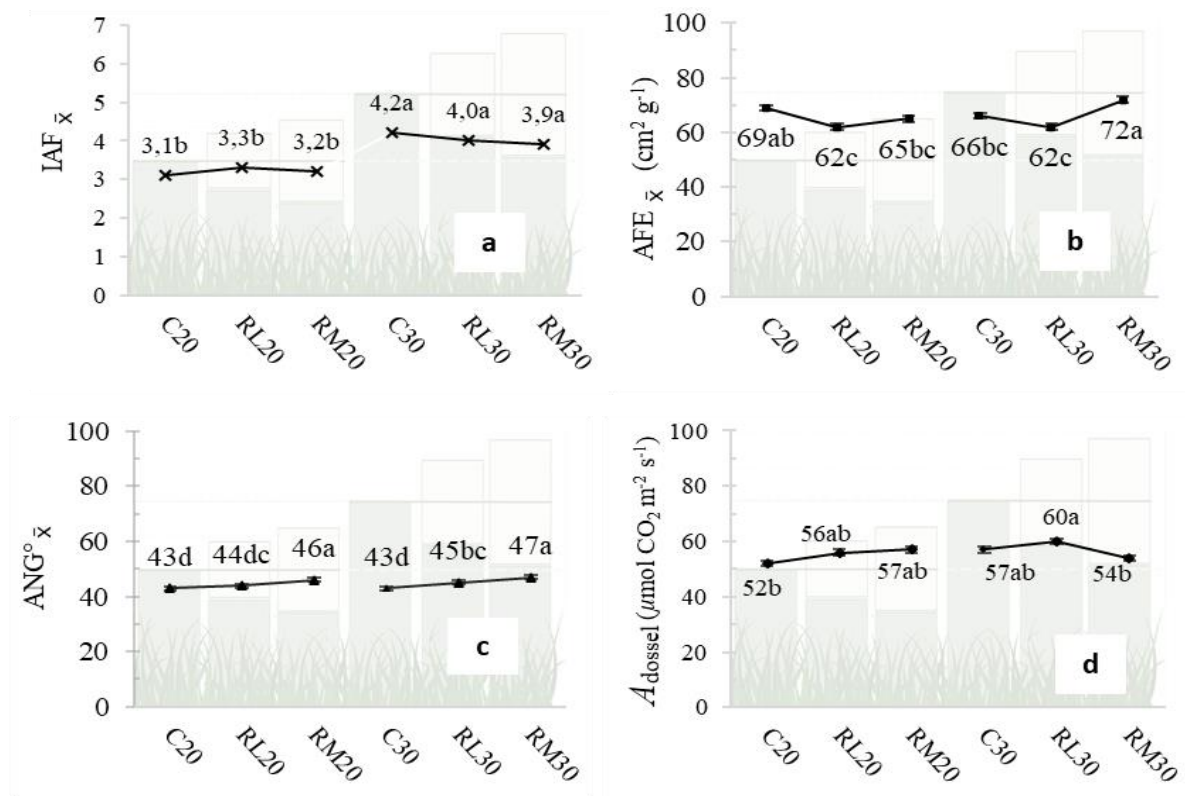


Figura 4. Variáveis calculadas na condição média do dossel forrageiro de capim Mulato II manejado em alturas médias de 20 ou 30 cm sob lotação contínua (C) e rotativa com severidade de desfolhação leniente (RL) ou moderada (RM): [a] índice de área foliar médio ($IAF_{\bar{x}}$), [b] área foliar específica média ($AFE_{\bar{x}}$), [c] ângulo foliar médio ($ANG^{\circ}_{\bar{x}}$) e [d] fotossíntese do dossel (A_{dossel}).

Tabela 5. Taxa de fotossíntese (A), evapotranspiração (E), condutâncias estomática (g_s), concentração intracelular de CO_2 (c_i), relação da concentração CO_2 de intracelular : ambiente (c_i/c_a), déficit de pressão de vapor com base na temperatura da folha (DPVF) e a eficiência do uso da água obtida pela razão fotossíntese: evapotranspiração (A/E) de folhas individuais mais jovem completamente expandida (JCE) e na terceira folha madura não senescente (MAT) avaliadas nas condições médias do dossel forrageiro de capim Mulato II manejado em alturas médias de 20 ou 30 cm sob lotação contínua (C) e rotativa com severidade de desfolhação leniente (RL) ou moderada (RM) em Piracicaba, Brasil.

Variáveis	JCE			MAT		
	‡GM	‡EPM	†P valor	‡GM	‡EPM	†P valor
A ($\mu mol CO_2 m^{-2} s^{-1}$)	30,3	1,19	0,0819	17,8	1,88	0,7253
E ($mmol H_2O m^{-2} s^{-1}$)	5,21	0,52	0,2164	3,43	0,32	0,2523
g_s ($mol H_2O m^{-2} s^{-1}$)	0,32	0,09	0,113	0,18	0,06	0,3421
c_i ($\mu mol CO_2 mol^{-1}$)	152	33,7	0,2849	164	34,2	0,6751
c_i/c_a ($\mu mol CO_2 mol^{-1} / mol ar$)	0,41	0,09	0,6836	0,38	0,08	0,2771
DPVF (kPa)	2,14	0,54	0,0675	2,40	0,60	0,2967
A/E ($\mu mol CO_2 / mol H_2O$)	6,07	0,65	0,7447	5,20	0,54	0,1090

‡GM: Média geral. ‡ EPM: erro padrão da média. †As médias dentro das linhas seguidas da letra diferente diferem pelo teste 't' ($p < 0.05$).

2.3.4. Análise dos componentes principais e clusters

A análise dos componentes principais (ACP) mostra as duas primeiras dimensões e a forte relação entre as variáveis. Juntas expressam 76,77% do total da variância dos dados (Figura 5 e 6). Nos biplots, resultado da ACP, os quadrantes são inversamente correlacionados. Vetores maiores indicam grande variabilidade no conjunto de dados, e a proximidade dos vetores e os tratamentos indicam que estão relacionados (Figura 6).

A dimensão 1 (Dim1) expressa 51,2% da variabilidade dos dados. A $MF_{\bar{x}}$ e a $Mmorto_{\bar{x}}$ são altamente correlacionadas com esta dimensão (correlação de 0,97 e 0,92, respectivamente). As estratégias de manejo C30, RL30 e RM30 à direita da Dim1 são caracterizados por uma coordenada fortemente positiva no eixo, e no lado oposto os manejos C20, RL20 e RM20 que estão à esquerda e são caracterizadas por uma coordenada fortemente negativa (Figura 6). Nessa Dim1, as estratégias com maior contribuição para as respostas foram C30 (fortemente positivo) e RM20 (fortemente negativo) na coordenada. O grupo em que se encontra o manejo do C30 compartilha muitas variáveis cujos valores não diferem significativamente da média entre RL30 e RM30. Este grupo apresenta valores médios baixos para DPP. Ao contrário, os manejos C20, RL20 e RM20 são caracterizados por maiores valores de DPP, mas apresentam valores mais baixos para um grande número de variáveis em relação aos C30, RL30 e RM30, das quais as mais destacadas são PP, $Mcolmo_{\bar{x}}$, $Mfolha_{\bar{x}}$, $IAF_{\bar{x}}$ e $MF_{\bar{x}}$ ranqueados dos mais fracos.

A dimensão 2 (Dim2) corresponde a um percentual de 25,6% da inércia total. Esta dimensão distingue particularmente a estratégia de manejo RM30 com altura de pré pastejo excessivamente alta e maior severidade de desfolhação, alocada no topo do gráfico é caracterizada por uma coordenada fortemente positiva no eixo. A principal variável associada foi $ANG^{\circ}_{\bar{x}}$ que está positivamente correlacionada (correlação 0,96; $P= 0,0023$), e no lado oposto, a variável $k_{\bar{x}}$ (correlação -0,85; $P = 0,0317$) está negativamente correlacionada com este tratamento na Dim2 (Figura 6).

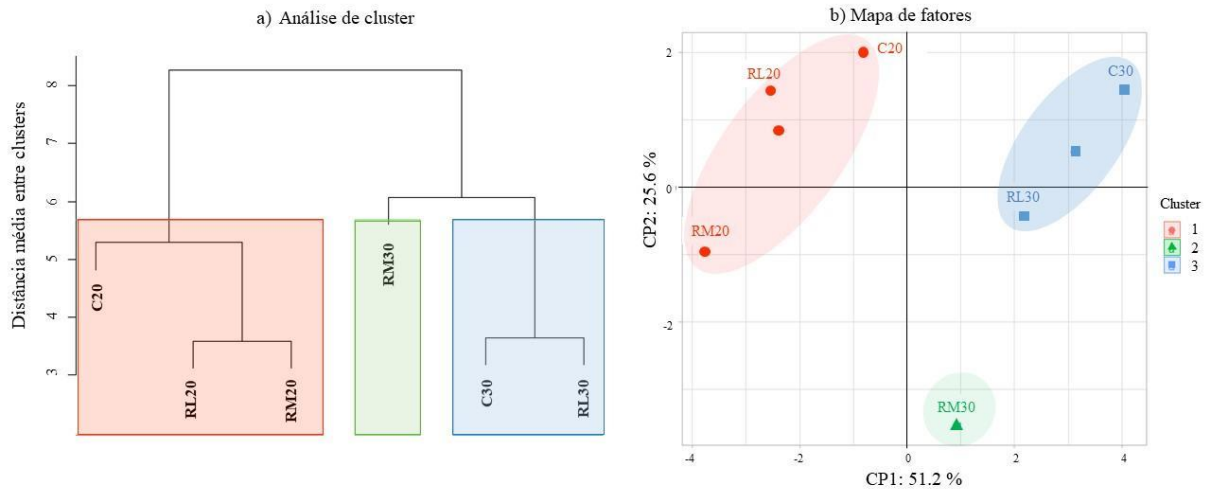


Figura 5. (a) Dendrograma mostrando o agrupamento das as estratégias de manejo: capim Mulato II imposto em alturas médias de 20 ou 30 cm sob lotação contínua (C) e rotativa com severidade de desfolhação leniente (RL) ou moderada (RM). (b) Mapa de fatores com combinação de todas as estratégias de manejo no mapa de componentes principais coloridos de acordo com cada cluster.

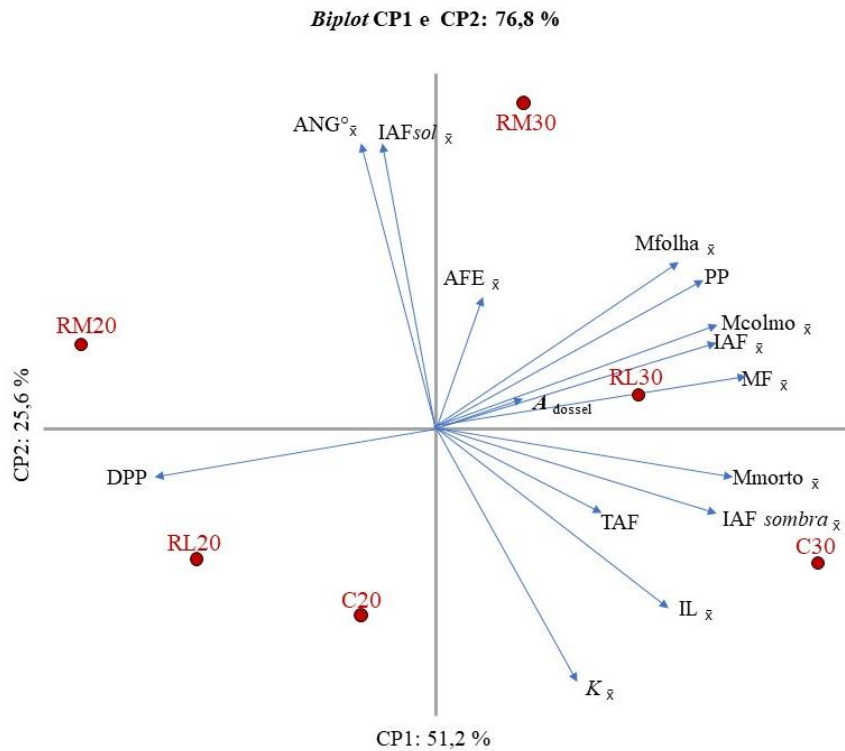


Figura 6. Biplot CP1 e CP2 para as comparações entre estratégias de manejo do capim Mulato II impostas em alturas médias de 20 ou 30 cm sob lotação contínua (C) e rotativa com severidade de desfolhação leniente (RL) ou moderada (RM). Variáveis de respostas: TAF (taxa de acúmulo de forragem), DPP (densidade populacional de perfilhos), PP (peso de perfilho), $MF_{\bar{x}}$ (massa de forragem média), $Mfolha_{\bar{x}}$ (massa média de folhas), $Mcolmo_{\bar{x}}$ (massa média de colmo), $Mmorto_{\bar{x}}$ (massa média de material morto), $AFE_{\bar{x}}$ (área foliar específica média), $IAF_{\bar{x}}$ (índice de área foliar total médio), $IAFsol_{\bar{x}}$ (índice de área foliar de sol médios), $IAFsombra_{\bar{x}}$ (índice de área foliar de sombra médio), $IL_{\bar{x}}$ (interceptação de luz média), $ANG^{\circ}_{\bar{x}}$ (ângulo de folhagem médio), $k_{\bar{x}}$ (coeficiente de extinção luminosa médio) e A_{dossel} (fotossíntese do dossel). Variáveis comparando a condição média (\bar{x}).

2.4. Discussão

Critérios de manejo do pastejo por alturas do dossel são consensualmente usados para controlar a estrutura do dossel forrageiro (Giacomini et al., 2009; Santos et al., 2011; Vendramini et al., 2014; Braga et al., 2020; Yasuoka et al., 2021). No entanto, o uso de protocolos como “mob stocking” e taxa de lotação variável são indispensáveis para obter refinamentos das metas de manejo por altura do dossel. A aplicação de técnicas integradas (métodos de lotação animal, altura do dossel e taxa de lotação variável) permite o controle das variações na MF que têm impactos na relação básica entre o gado e o recurso forrageiro (Gerrish, 2006), além de controlar o balanço entre demanda e produção de forragem ao longo

do ciclo anual (Briske et al., 2008), em que a oferta é flutuante, causada por variações de temperaturas e pluviosidade regional (Rasch et al., 2016; Torell et al., 2010).

A IL 95% é um parâmetro comumente utilizado em lotação rotativa para determinar a altura ideal de interromper a rebrotação com a entrada dos animais no pasto (da Silva et al., 2015). Parâmetros esses previamente determinados, também são utilizadas como referência para determinar a altura constante em lotação contínua. As estratégias de manejo C20, RL20, RM20 e C30 resultaram em IL mais próximo 95% IL (Tabela 2 e 3), enquanto que RL30 e RM30 as alturas excessivamente altas no pré-pastejo atingiram IL máximas (~100% IL) que têm maiores implicações nas alterações da estrutura do pasto (Figura 2), e se enquadram como controles negativos entre os manejos. Padrões similares foram observados por Yasuoka et al. (2018) ao avaliarem a IL do capim Mulato II sob lotação contínua e relataram valores de 92% IL em dosséis mantidos a 10 cm e 99% IL para as alturas de dossel de 25 e 40 cm, considerações essas que indicam a alturas de manejo adequada para o capim Mulato II corresponde entre o intervalo de 20 a 25 cm.

Variações na amplitude das alturas de manejo não necessariamente afeta produção de forragem, e essa constância é relatada em gramíneas do gênero *Brachiaria* (Paula et al., 2012; Sbrissia, 2004; Gomes, 2019). A estabilidade é regida por mecanismos adaptativos das plantas de ordem morfológica como a compensação tamanho e densidade populacional de perfilhos (Matthew et al., 1995; Sbrissia & Da Silva, 2001), a variação da IAF, AFE e alterações nos padrões de acúmulo dos componentes morfológicos (Sbrissia et al., 2001; Giacomini, 2007; Sbrissia & Da Silva, 2008; Santos, 2014), que permitem a plasticidade fenotípica operar dentro de certos limites relacionados com o nível de energia disponível para o crescimento dos perfilhos (Matthew et al., 1995). Esses achados corroboram com a ausência de diferenças nas TAF mensuradas nas estratégias de manejo para o capim Mulato II. Contudo, o incremento de MF com aumentos nas alturas é comumente descrito na literatura (Newman et al., 2002; Silva et al., 2016; Yasuoka et al., 2018).

A relação existente entre MF e altura do dossel implica em alterações na densidade volumétrica da forragem, que é determinada por modificações da composição morfológica e distribuição dos componentes ao longo do perfil vertical do dossel (Souza Júnior, 2007). Concomitantemente aos aumentos lineares da Mfolha e IAF em dosséis mais altos, $MF_{\bar{x}}$, $Mfolha_{\bar{x}}$, $Mcolmo_{\bar{x}}$ e $IAF_{\bar{x}}$ entre C20, RL20 e RM20 caracterizaram estratégias de manejo que controlaram o alongamento de colmos nas condições sob lotação contínua e no pré-pastejo dos rotativos, com pequeno ou nenhum efeito em MF e Mcolmo (Tabela 2; Figura 3), correlacionados a essas variáveis com coordenada fortemente negativas no eixo da Dim1 do

ACP (Figura 6). De forma oposta, os manejos C30, RL30 e RM30, semelhantes entre si, resultaram em maiores $MF_{\bar{x}}$, $Mfolha_{\bar{x}}$, $Mcolmo_{\bar{x}}$ e $IAF_{\bar{x}}$ (Figura 3 e 4), e foram correlacionados a essas variáveis com coordenada fortemente positiva no eixo da Dim1 do ACP (Figura 6). A utilização baixos IAF médios, ou seja, dosséis entorno aos 95% de IL tem padrões consistentes de rebrotação, com incrementos nas taxas de acúmulo de folhas e menor participação de colmo e material morto e, de forma oposta, IL máxima apresentam padrões de rebrotação alterados a custo de incrementos de colmo e material morto (Barbosa et al., 2007; Carnevalli et al., 2006; Pedreira, et al., 2009), e deterioração do valor nutritivo da forragem (Pequeno et al., 2015; Silva et al., 2016a). O contraste nos incrementos de 25% na $MF_{\bar{x}}$ dos manejos C30, RL30 e RM30 em relação aos C20, RL20 e RM20 resultou em variações desproporcionais entre os componentes morfológicos, com apenas 20% a mais de $Mfolha_{\bar{x}}$ para 34% e 22% na $Mcolmo_{\bar{x}}$ e $Mmorto_{\bar{x}}$, respectivamente (Figura 3). Essas modificações estruturais foram experimentadas com uma diferença no $IAF_{\bar{x}}$ de apenas 0,9 (Figura 4). Essas alterações ratificam maior dispêndio energético para rotas metabólicas destinadas a deposição de componentes estruturais nos tecidos vegetais com finalidade de sustentação dos perfilhos.

A dinâmica de acúmulo de forragem ao longo da curva de crescimento explica a maior $Mmorto$ no pré-pastejo do RM30 (Tabela 2). Segundo Hodgson (1990), o aumento do IAF resulta em incremento na IL, e próximos a um valor platô aumentam as taxas de assimilação de carbono do dossel, seguidas de aumentos proporcionais de perdas respiratórias à medida que a MF é maior, até o balanço líquido de carbono próximos ao IAF máximo, e então declinam, conseqüentemente ocorrem elevadas taxas de senescência e morte de tecidos, aumentando as proporções de material morto na MF. No aspecto de nutrição animal, a contribuição do material morto na dieta dos animais é negativa (Garcia et al., 2021), assim como a presença de maior $Mcolmo$ (Silva et al., 2016b). Estratégias com alturas médias de 30 cm com pré-pastejo excessivamente altos resultaram em maior participação de $Mmorto_{\bar{x}}$ na forragem potencialmente consumida (Figura 3). Além disso, os manejos RM20 e RM30 apresentaram menor $Mfolha$ e IAF no pós-pastejo (wTabela 3; Figura 2), caracterizando que folhas mais velhas fazem parte da forragem consumida. Folhas mortas ou categorias de folhas com maturidade avançada que apresentam sinais evidentes de senescência como amarelecimento, escurecimento e degradação tecidual influenciam o valor nutritivo das gramíneas forrageiras (Garcia et al., 2021) devido à remobilização de nutrientes para outros pontos de crescimento da planta (Buxton e Fales, 1994). Portanto, o aumento de material morto no estrato de pastejo é um fator que deve ser considerado na escolha do nível de severidade de desfolhação.

Nas estratégias C20 e C30, a M_{morto} foi similar àquela em pré-pastejo para RM30, e com tendência de maior M_{morto} (Tabela 2; Figura 3). A explicação dessa resposta está ligada diretamente à ausência de remoção do material morto no pastejo dos animais. Particularidade intrínseca ao método de lotação, que preserva na estrutura do dossel uma memória do pastejo com altura mantida constante. Nesta condição, os perfilhos mortos e folhas senescidas estão inclusas nesse estrato, e são necessariamente parte da M_{colmo} que compõem a MF. O método de lotação contínua permite maior oportunidade de seleção dos animais (Pedreira, 2002; Soares et al., 2020), com consumo de folhas sem necessariamente aprofundar o bocado a ponto de colher o material depositado nas camadas inferiores do dossel. Nas estratégias sob lotação rotativa, a cada evento de pastejo a mudança da MF é drástica, o material morto está mais propício a desprender-se das plantas durante a colheita da forragem e ser consumido pelos animais. Do ponto de vista em relação aos serviços ecossistêmicos que a pastagem proporciona, não necessariamente a M_{morto} remanescente no solo é uma desvantagem. A deposição de material morto proporciona a ciclagem de nutrientes e, portanto, pode possivelmente aumentar as reservas de carbono no solo (Dubeux, et al., 2006; Banegas et al., 2015).

Mudança na AFE está entre as adaptações das plantas para compensar o saldo fotossintético do dossel forrageiro em diferentes estruturas de pasto. Análises de crescimento das plantas indicaram que maiores valores de AFE estão associados a cutículas, epiderme e mesofilo mais finos (Berlyn e Cho, 2000; Benincasa, 2003). A mudança da AFE em pastos sob lotação contínua está relacionada a maior frequência de desfolhação, menor DPP de perfilhos com folhas menores e mais jovens relativamente a pastos sob menor frequência de desfolhação em lotação intermitente (Tabela 4; Figura 4). Segundo Portela et al. (2011) a taxa de aparecimento de perfilhos é maior em pastos manejados a 95% IL comparado a 100% IL na época em que os fatores de produção são mais favoráveis à produção de forragem. Esse fator favorece a renovação de perfilhos no dossel e a presença folhas novas com maior AFE. Dosséis com alturas excessivas e variações na severidade de desfolhação também pode mudar a AFE das folhas ao longo do comprimento das folhas. As porções basais das lâminas de alto nível de inserção no eixo do perfilho têm maior quantidade de esclerênquima (variáveis estruturais de suporte), e maior massa e largura da nervura central (variáveis morfológicas); as porções médias das lâminas corresponderam a maior largura da lâmina e concentração de feixes vasculares, com maior massa da lâmina em relação a todo o comprimento da folha; e por fim, as porções apicais são mais finas, com maior AFE, e menor massa central da costela (Garcia et al. 2021). A maior severidade de desfolhação no RM30 em função do IAF residual também favoreceu maior penetração de luz no início do ciclo de rebrotação do dossel, o que permitiu maior AFE

no pré-pastejo, mesmo associado a máxima interceptação de luz no dossel (Tabela 2; Figura 4), e indicativo de lâminas foliares mais finas no pós-pastejo do RM20 e RM30 em relação ao RL20 e RL30 com lâminas foliares mais grossas e $AFE_{\bar{x}}$ menores (Tabela 3; Figura 4). Valores de AFE menores estão associados a maior proporção de mesofilo (Garcia et al., 2021).

Dosséis altos também resultam em mudanças na cobertura do solo, associadas à menor densidade populacional de perfilhos (Pereira et al., 2015) e maior acúmulo de colmos (Silva et al., 2020). O alongamento de colmo induzido pela redução na qualidade da luz do dossel, resultou em maior PP e menor DPP nas estratégias C30, RL30 e RM30 em relação aos manejos C20, RL20 e RM20 (Tabela 4), e foram variáveis fortemente correlacionadas com coordenada oposta entre ambas os grupos de tratamentos na Dim1 (Figura 5 e 6). O equilíbrio da população de perfilhos é controlada pelo aparecimento de perfilhos e as taxas de mortalidade (Matthew et al., 2000), além dos mecanismos adaptativos de compensação tamanho e densidade populacional de perfilhos (Bircham & Hodgson, 1983; Santos et al., 2011). A diferença de apenas 10 cm na altura de manejo C20 e C30 foi suficiente para impactar na DPP e PP (Tabela 4). Apesar de ambos contínuos não diferirem na frequência de uso, dosséis com aumento da intensidade de desfolhação melhoram a penetração de luz e o aparecimento de perfilhos (Portela et al., 2011). Além disso, quando o capim Mulato II foi manejado na mesma altura média de 20 cm, a menor frequência de pastejos da lotação rotativa resultou em maior DPP para o RM20 que o C20, sem afetar o PP. Em uma série de estudos com o capim Mulato II manejado a alturas constantes de 10, 25 e 40 cm em lotação contínua, houve efeito assintótico das alturas para a DPP e PP (Silva et al., 2020), explicam que o declínio na produção de forragem do dossel a 10 cm pode ter ido causado por impacto na dinâmica perfilhamento, com redução do tamanho dos perfilhos não compensados suficientemente pelo aumento da DPP (Silva et al., 2016b).

As estratégias de manejo não impactaram diretamente nos parâmetros relacionados às trocas gasosas (A , E , g_s , ci , ci/ca , V_{pdL} e WUE) das categorias de folhas JCE e MAT (Tabela 5). A estabilidade dos parâmetros dessa natureza demonstra que a fisiologia do metabolismo de gramíneas C4 implica em vantagens fotossintéticas que se mantêm estáveis a diversas condições de desenvolvimento nas estações de crescimento (Taylor et al., 2014). Em condições em que a incidência de radiação fotossinteticamente ativa é semelhante nos dosséis submetidos a diferentes estratégias de manejo, essas respostas de folhas individuais estão relacionadas ao momento do ciclo de vida de cada folha. Dessa forma, a assimilação de CO_2 aumenta até maturidade fisiológica das folhas, sendo que a partir desse ponto podem se manter constantes por indeterminado período de tempo e declinar posteriormente com o avanço da idade (Bernardes, 1987). Contudo, grandes contrastes ocorrem entre categorias de folhas individuais,

como os valores médios desse estudo, em que as folhas JCE resultaram em taxas fotossintéticas 41% superiores às MAT (Tabela 5). Variações dessa magnitude em taxas fotossintéticas obtidas entre categorias de folhas JCE e MAT também foram descritas por Yasuoka et al. (2018) em capim Mulato II submetido a diferentes intensidades de manejo sob lotação contínua. Portanto, o maior efeito na A_{dossel} é sobre o IAF. Segundo Parsons et al. (1983), a captação fotossintética bruta é maior em dosséis manejados com desfolhação leniente do que em pastos com desfolhação severa, e ambos os manejos, uma proporção semelhante da energia fotossintética é perdida na respiração ou por partição para partes não colhidas. É importante considerar que o equilíbrio entre fotossíntese, ingestão animal e as perdas de matéria em pastagens, já que altas taxas fotossintéticas do dossel e a alta taxa de produção de folhas novas em desfolhação leniente não pode ser associadas a uma alta eficiência de colheita (Parsons et al., 1983).

À medida que o IAF aumenta o ANG° da folhagem se modifica, e as características do ambiente luminoso se alteram para melhorar a penetração de radiação fotossintética ativa no dossel forrageiro (Portela et al., 2011). Quanto mais distante os manejos são da amplitude ótima, maiores as respostas adaptativas da comunidade de plantas ao tamanho das folhas. Esse mecanismo é bem observado no ANG° de inclinações das folhagens no pós-pastejo (Tabela 2) e no $ANG^\circ_{\bar{x}}$ (Figura 4). Estratégias de manejo impostas com altura média de 30 cm, resultar em muitas variáveis que não diferiram significativamente nas variáveis médias, assim como a maior similaridade entre os manejos C20, RL20 e RM20. Entretanto, a estratégia RM30 distanciou-se no agrupamento dos tratamentos (Figura 5^a; 5b), que é explicado pelas variáveis que compõem a Dim2 da ACP (Figura 6). Neste conjunto de variáveis, a coordenada fortemente positiva representa maior $ANG^\circ_{\bar{x}}$ do RM30 para otimiza o IAF de sol (Figuras 4 e 6). O efeito da altura de pré-pastejo excessivamente alta no RM30 limita a eficiente utilização da luz devido ao aumento do IAF. Essa modificação da disposição das folhas para melhorar a penetração de luz no dossel é percebida com a variação do $k_{\bar{x}}$ no quadrante 3 da ACP que, juntamente com a $II_{\bar{x}}$, ambos estão correlacionados negativamente com o RM30 (Figura 6). O maior ANG° de folhagem indica folhas mais eretas acomodando melhor penetração e distribuição de luz dentro do perfil vertical do dossel (Zhang et al., 2007). Na condição pré-pastejo, a estabilidade do ANG° é relatada em manejos contrastantes com capim Xaraés sob lotação rotativa (Pedreira et al., 2007), assim como mensurado entre as estratégias de manejo nos contínuos e no pré-pastejo dos rotativos. Entretanto, o manejo RM30 é destacado no ACP e descreve a combinações da altura média do dossel, maiores vetores positivos de $IAF_{\bar{x}}$, $LI_{\bar{x}}$ e do $ANG^\circ_{\bar{x}}$, determinando a coordenada fortemente negativa com o menor valor de $k_{\bar{x}}$ na Dim2 (Figura 6). O k traduz o grau

de redução da luz por absorção e espalhamento, e proporciona noções da eficiência do uso da radiação, bem como a relação de biomassa e a radiação interceptada, haja visto que, menores valores de k resulta na distribuição da radiação incidente para uma maior área foliar, o que pode proporcionar maiores taxas de A_{dossel} (Bernardes, 1987). O capim Mulato II resultou plasticidade fenotípica com mudanças do k para manter fotossíntese do dossel e a produção de forragem.

A assimilação de carbono pelo dossel depende de fatores integrados que envolvem mecanismos de plantas individuais e a interações entre as plantas. O resultado das variações no ambiente luminoso tanto na altura de manejo em lotação contínua, bem como as mudanças que ocorrem ao longo do período de rebrotação em sistemas sob lotação rotativa são responsáveis pelo balanço fotossintético da pastagem. O aumento do IAF não significa maior assimilação de carbono pelo dossel, mas resultam em aumento do IAF de folhas de sombra, enquanto que o IAF de sol é pouco alterado (Figura 2 e 4), enquanto que pastagens manejadas com baixo IAF médios têm sido associadas à presença de tecido foliar mais jovem (Dubeux et al., 2006; Garay et al., 2004). Portanto, fatores como a grandeza do IAF de sombra e a idade das folhas que predominam no dossel determinam o IAF total para manter a A_{dossel} . Yasuoka et al. (2018) quantificaram morfológicamente a participação de folhas relativa à maturidade fisiológica, e constataram que dosséis mantidos mais baixos coincidiam com menor IAF e maior proporção de folhas jovens, em contraste, à medida que a altura do dossel é maior, o IAF e a proporção de folhas maduras também aumentam.

Limiares importantes nos regimes de desfolhação foram identificados em função das adaptações da população de plantas para manter a assimilação de CO_2 . A fotossíntese dossel foi minimamente menor no manejo C20 em função do menor $\text{IAF}_{\bar{x}}$, seguido de valores superiores nos manejos RL20, RM20, C30 e RL30 que, possivelmente, indicam a fotossíntese máxima em dosséis de capim Mulato II (Figura 4). A maior severidade de desfolhação com altura do dossel excessivamente alta, maiores valores de IL e IAF no pré-pastejo do RM30, resultou em menor A_{dossel} , comparados as estratégias RL20, RM20, C30, RL30, mas com valor semelhante ao C20 que têm baixo IAF médio, caracterizando dois tratamentos em lados opostos e extremos em diversos aspectos como no agrupamento do dendrograma das estratégias de manejo (Figura 5a, 5b), mas ambos capazes de manter altas taxas da A_{dossel} como observado pelo vetor curto no quadrante 2 da ACP (Figura 4; Figura 6). O menor valor da A_{dossel} no C20 em relação aos demais manejos correspondentes a mesma altura média (RL20 e RM20) indica um limite importante de manejo do capim Mulato II e, possivelmente, com alturas médias inferiores a 20 cm, podem ter impactos negativos na persistência da pastagem já que as reduções em tamanho dos perfilhos não são compensadas pelo aumento da DPP. Segundo Yasuoka et al.

(2018), reduções lineares da A_{dossel} ocorrem da altura de 25 para 10 cm, com declínio na produção de forragem, e ressalta que a presença de folhas mais jovens e com maiores taxas de A_{foliar} não foram suficientes para compensar a redução drástica do IAF em dosséis excessivamente baixos do capim Mulato II sob lotação contínua. A amplitude ótima no manejo do pastejo depende desses limites, em que os mecanismos adaptativos das plantas forrageiras são suficientes para manutenção da A_{dossel} e as altas TAF.

Essa abordagem foi motivada por estudos norteados com evidências que baixos valores de IAF médio (Parsons et al., 1988) resultam em sistemas de pastejos promissores com mesmo potencial de produção. Segundo Parsons et al. (1983), também constataram que a ingestão máxima por hectare é alcançada em uma pastagem mantida em um IAF que está substancialmente abaixo do ótimo para a fotossíntese. Extensa quantidade de literatura consolida as informações de manejo do pastejo aqui abordadas, tanto em sistemas sob lotação contínua (Braga et al., 2020; Santos et al., 2011; Yasuoka et al., 2021b) quanto à lotação rotativa (Barbosa et al., 2021; Congio et al., 2019; Alvarenga et al., 2020), ou comparando ambos métodos de lotação (Moojen et al., 2022). Portanto, a utilização técnica integradas do manejo do pastejo, que sejam úteis e confiáveis, como o monitoramento da estrutura do pasto por altura do dossel, associados a estratégias de suplementação, possibilitam juntos mitigar metano e proporcionar flexibilidade no ajuste da taxa de lotação para equalizar a demanda de alimentos em função da disponibilidade de forragem, seja em lotação contínua ou rotativa. Essas estratégias tornam a produção de bovinos em pastagens um sistema agro sustentável, com maior previsibilidade da produtividade, otimizando os serviços ecossistêmicos providos por esse modelo de trabalho.

2.5. Conclusões

O uso da altura média do dossel forrageiro como descritor médio das estratégias de manejo do pastejo mostraram-se adequadas para comparar os métodos sob lotação contínua e rotativa. Contudo, a escolha assertiva da altura média do dossel em diferentes regimes de desfolhação é a chave para garantir a equivalência entre os métodos de lotação. Dessa forma, é possível garantir um ambiente luminoso adequados para obter altas taxas de fotossíntese do dossel e acúmulo de forragem, assim como a manutenção da estrutura do dossel que favoreça o crescimento e a colheita da forragem pelos animais. Enquanto que, estratégias de manejo com alturas médias do dossel forrageiro distintas, culminam em diversas alterações nas características estruturais da comunidade de plantas que impossibilitam comparações justas entre os regimes de desfolhação.

Para o manejo adequado do capim mulato II, o C20, RL20 e RM20 são estratégias com baixo IAF médio que permitem o controle do alongamento do colmo e prioriza alocação de fotoassimilados em tecidos que otimizam os processos inerentes ao crescimento das plantas forrageiras (i.e., componente lâmina foliar), e direcionam à intensificação sustentável em sistemas que utilizam tanto a lotação contínua, quanto a lotação rotativa.

Referências

- Allen, V. G., Batello, C., Berretta, E. J., Hodgson, J., Kothmann, M., Li, X., McIvor, J., Milne, J., Morris, C., Peeters, A., & Sanderson, M. (2011). An international terminology for grazing lands and grazing animals. *Grass and Forage Science*, 66(1), 2–28. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.2010.00780.x>
- Alvares, C. A., Stape, J. L., Sentelhas, P. C., De Moraes Gonçalves, J. L., & Sparovek, G. (2013). Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift*, 22(6), 711–728. <https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>
- Azevêdo, J. A. G., Valadares Filho, S. C., Costa e Silva, L. F., Santos, A. B. dos, Souza, L. L., Rotta, P. P., Rennó, L. N., & Prado, I. N. (2016). Regulação e predição de consumo de matéria seca. Exigências Nutricionais de Zebuínos Puros e Cruzados - BR CORTE, 15–43. <http://www.brcorte.com.br/br/>
- Banegas, N., Albanesi, A. S., Pedraza, R. O., & Dos Santos, D. A. (2015). Non-linear dynamics of litter decomposition under different grazing management regimes. *Plant and Soil*, 393(1–2), 47–56. <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2472-y>
- Barbero, R. P., Malheiros, E. B., Araújo, T. L. R., Nave, R. L. G., Mulliniks, J. T., Berchielli, T. T., Ruggieri, A. C., & Reis, R. A. (2015). Combining Marandu grass grazing height and supplementation level to optimize growth and productivity of yearling bulls. *Animal Feed Science and Technology*, 209, 110–118. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.09.010>
- Barbosa, P. L., Silva, V. J., Pedreira, C. G. S., Sbrissia, A. F., & Sollenberger, L. E. (2021). Herbage accumulation and tillering dynamics of 'Zuri' guineagrass under rotational stocking. *Crop Science*, 61(5), 3787–3798. <https://doi.org/10.1002/csc2.20536>
- Barbosa, R. A., Nascimento Júnior, D. do, Euclides, V. P. B., Silva, S. C. da, Zimmer, A. H., & Torres Júnior, R. A. de A. (2007). Capim-tanzânia submetido a combinações entre intensidade e frequência de pastejo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 42(3), 329–340. <https://doi.org/10.1590/s0100-204x2007000300005>
- Beauchemin, K. A., Kreuzer, M., O'Mara, F., & McAllister, T. A. (2008). Nutritional management for enteric methane abatement: A review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 48(1–2), 21–27. <https://doi.org/10.1071/EA07199>
- Beauchemin, K. A., & McGinn, S. M. (2005). Methane emissions from feedlot cattle fed barley or corn diets. *Journal of Animal Science*, 83(3), 653–661. <https://doi.org/10.2527/2005.833653x>
- Beauchemin, K. A., McGinn, S. M., Benchaar, C., & Holtshausen, L. (2009). Crushed sunflower, flax, or canola seeds in lactating dairy cow diets: Effects on methane production, rumen fermentation, and milk production. *Journal of Dairy Science*, 92(5), 2118–2127. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1903>

- Belesky, D. (2006). Regrowth Interval Influences Productivity, Botanical Composition, and Nutritive Value of Old World Bluestem and Perennial Ryegrass Swards. *Agronomy Journal*, May. <https://doi.org/10.2134/agronj2005-0100>
- Benchaar, C., & Greathead, H. (2011). Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 166–167, 338–355. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.04.024>
- Benvenuti, M. A., Gordon, I. J., & Poppi, D. P. (2008). The effects of stem density of tropical swards and age of grazing cattle on their foraging behaviour. *Grass and Forage Science*, 63(1), 1–8. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.2007.00609.x>
- Beyer, R., Etard, O., Cournède, P. H., & Laurent-Gengoux, P. (2015). Modeling spatial competition for light in plant populations with the porous medium equation. *Journal of Mathematical Biology*, 70(3), 533–547. <https://doi.org/10.1007/s00285-014-0763-1>
- Bircham, J. S., & Hodgson, J. (1983). The influence of sward condition on rates of herbage growth and senescence in mixed swards under continuous stocking management. *Grass and Forage Science*, 38(4), 323–331. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.1983.tb01656.x>
- Blaxter, K. L., & Clapperton, J. L. (1965). Prediction of the amount of methane produced by ruminants. *British Journal of Nutrition*, 19(1), 511–522. <https://doi.org/10.1079/bjn19650046>
- Blümmel, M., Karsli, A., & Russell, J. R. (2003). Influence of diet on growth yields of rumen micro-organisms in vitro and in vivo : influence on growth yield of variable carbon fluxes to fermentation products . *British Journal of Nutrition*, 90(3), 625–634. <https://doi.org/10.1079/bjn2003934>
- Blümmel, M., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (1997). In vitro gas production: A technique revisited. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 77(1), 24–34. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.1997.tb00734.x>
- Boote, K. J., & Jones, J. W. (1987). Equations to define canopy photosynthesis from quantum efficiency, maximum leaf rate, light extinction, leaf area index, and photon flux density. In J. Biggins (Ed.), *Progress in photosynthesis research*. Dordrecht, the Netherlands: Springer., 4th ed.(2), 415–418. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-94-017-0519-6_85
- Braga, G. J., Pedreira, C. G. S., Ferreira, A. S., de Oliveira, E. A., & Paulino, V. T. (2020). Seasonal herbage accumulation, plant-part composition and nutritive value of signal grass (*Urochloa decumbens*) pastures under simulated continuous stocking. *Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales*, 8(2), 48–59. [https://doi.org/10.17138/tgft\(8\)48-59](https://doi.org/10.17138/tgft(8)48-59)
- Branco, R. H., Rodrigues, M. T., Leão, M. I., Rodrigues, C. A. F., da Silva, M. M. C., & Pereira, V. V. (2010). Effect of levels of neutral detergent fiber derived from forage on microbial efficiency and digestive parameters in dairy goats. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39(2), 372–381. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010000200021>
- Briske, D. D., Derner, J. D., Brown, J. R., Fuhlendorf, S. D., Teague, W. R., Havstad, K. M., Gillen, R. L., Ash, A. J., & Willms, W. D. (2008). Rotational Grazing on Rangelands: Reconciliation of Perception and Experimental Evidence INTRODUCTION: THE DILEMMA OF GRAZING SYSTEMS. *Rangeland Ecol Manage RANGELAND ECOLOGY & MANAGEMENT*, 61(611), 3–17.

- Bryant, R. H., Dalley, D. E., Gibbs, J., & Edwards, G. R. (2014). Effect of grazing management on herbage protein concentration, milk production and nitrogen excretion of dairy cows in mid-lactation. *Grass and Forage Science*, 69(4), 644–654. <https://doi.org/10.1111/gfs.12088>
- Bryant, R. H., Gregorini, P., & Edwards, G. R. (2012). Effects of N fertilisation, leaf appearance and time of day on N fractionation and chemical composition of *Lolium perenne* cultivars in spring. *Animal Feed Science and Technology*, 173(3–4), 210–219. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.02.003>
- Bueno, I. C. S., Cabral Filho, S. L. S., Gobbo, S. P., Louvandini, H., Vitti, D. M. S. S., & Abdalla, A. L. (2005). Influence of inoculum source in a gas production method. *Animal Feed Science and Technology*, 123–124 Pa, 95–105. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.05.003>
- Burns, J. C., Fisher, D. S., & Mayland, H. F. (2007). Diurnal shifts in nutritive value of alfalfa harvested as hay and evaluated by animal intake and digestion. *Crop Science*, 47(5), 2190–2197. <https://doi.org/10.2135/cropsci2007.02.0072>
- Cabral, S., Campos, S. De, Filho, V., Muniz, P. A., Lana, R. D. P., Fernando, J., Augusto, R., Vieira, M., & Pereira, E. S. (2000). Frações de Carboidratos de Alimentos Volumosos e suas Taxas de Degradação Estimadas pela Técnica de Produção de Gases. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 29(6), 2087–2098.
- Carnevali, R. A., Da Silva, S. C., Bueno, A. A. O., Uebele, M. C., Bueno, F. O., Hodgson, J., Silva, G. N., & Morais, J. P. G. (2006). Herbage production and grazing losses in *Panicum maximum* cv. Mombaça under four grazing managements. *Tropical Grasslands*, 40(3), 165–176.
- Carvalho, G. P. P., & Pires, A. J. V. (2008). Leguminosas tropicais herbáceas em associação com pastagens. *Archivos de Zootecnia*, 57 (R), 11.
- Clark, H. (2013). Nutritional and host effects on methanogenesis in the grazing ruminant. *Animal*, 7(SUPPL.1), 41–48. <https://doi.org/10.1017/S1751731112001875>
- Congio, G. F. de S., Bannink, A., Mayorga Mogollón, O. L., Jaurena, G., Gonda, H., Gere, J. I., Cerón-Cucchi, M. E., Ortiz-Chura, A., Tieri, M. P., Hernández, O., Ricci, P., Juliarena, M. P., Lombardi, B., Abdalla, A. L., Abdalla-Filho, A. L., Berndt, A., Oliveira, P. P. A., Henrique, F. L., Monteiro, A. L. G., ... Hristov, A. N. (2021). Enteric methane mitigation strategies for ruminant livestock systems in the Latin America and Caribbean region: A meta-analysis. *Journal of Cleaner Production*, 312. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.127693>
- Congio, G. F. S., Batalha, C. D. A., Chiavegato, M. B., Berndt, A., Oliveira, P. P. A., Frighetto, R. T. S., Maxwell, T. M. R., Gregorini, P., & Da Silva, S. C. (2018). Strategic grazing management towards sustainable intensification at tropical pasture-based dairy systems. *Science of the Total Environment*, 636, 872–880. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.301>
- Congio, G. F. S., Chiavegato, M. B., Batalha, C. D. A., Oliveira, P. P. A., Maxwell, T. M. R., Gregorini, P., & Da Silva, S. C. (2019). Strategic grazing management and nitrous oxide fluxes from pasture soils in tropical dairy systems. *Science of the Total Environment*, 676, 493–500. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.186>
- D'aurea, A. P., da Silva Cardoso, A., Guimarães, Y. S. R., Fernandes, L. B., Ferreira, L. E., & Reis, R. A. (2021). Mitigating greenhouse gas emissions from beef cattle production in Brazil through animal management. *Sustainability (Switzerland)*, 13(13), 1–9. <https://doi.org/10.3390/su13137207>

- da Silva, S. C., Sbrissia, A. F., & Pereira, L. E. T. (2015). Ecophysiology of C4 Forage Grasses—Understanding Plant Growth for Optimising Their Use and Management. *Agriculture (Switzerland)*, 5(3), 598–625. <https://doi.org/10.3390/agriculture5030598>
- Da Trindade, Júlio K., Pinto, C. E., Neves, F. P., Mezzalira, J. C., Bremm, C., Genro, T. C. M., Tischler, M. R., Nabinger, C., Gonda, H. L., & Carvalho, P. C. F. (2012). Forage allowance as a target of grazing management: Implications on grazing time and forage searching. *Rangeland Ecology and Management*, 65(4), 382–393. <https://doi.org/10.2111/REM-D-11-00204.1>
- de Paula, C. C. L., Batista Euclides, V. P., Lempp, B., Barbosa, R. A., Montagner, D. B., & Carlotto, M. N. (2012). Acúmulo de forragem, características morfológicas e estruturais do capim-marandu sob alturas de pastejo. *Ciencia Rural*, 42(11), 2059–2065. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782012005000084>
- De Raphélis-Soissan, V., Li, L., Godwin, I. R., Barnett, M. C., Perdok, H. B., & Hegarty, R. S. (2014). Use of nitrate and *Propionibacterium acidipropionici* to reduce methane emissions and increase wool growth of Merino sheep. *Animal Production Science*, 54(10), 1860–1866. <https://doi.org/10.1071/AN14329>
- de Souza Filho, W., Nunes, P. A. de A., Barro, R. S., Kunrath, T. R., de Almeida, G. M., Genro, T. C. M., Bayer, C., & de Faccio Carvalho, P. C. (2019). Mitigation of enteric methane emissions through pasture management in integrated crop-livestock systems: Trade-offs between animal performance and environmental impacts. *Journal of Cleaner Production*, 213, 968–975. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.12.245>
- di Virgilio, A., Lambertucci, S. A., & Morales, J. M. (2019). Sustainable grazing management in rangelands: Over a century searching for a silver bullet. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 283(June), 106561. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2019.05.020>
- Dias-Filho, M. B. (2002). Photosynthetic light response of the C4 grasses *Brachiaria brizantha* and *B. humidicola* under shade. *Scientia Agricola*, 59(1), 65–68. <https://doi.org/10.1590/s0103-90162002000100009>
- Dubeux, J. C. B., Sollenberger, L. E., Vendramini, J. M. B., Stewart, R. L., & Interrante, S. M. (2006). Litter mass, deposition rate, and chemical composition in bahiagrass pastures managed at different intensities. *Crop Science*, 46(3), 1299–1304. <https://doi.org/10.2135/cropsci2005.08-0262>
- Dubeux, J. C. B., Stewart, R. L., Sollenberger, L. E., Vendramini, J. M. B., & Interrante, S. M. (2006). Spatial heterogeneity of herbage response to management intensity in continuously stocked Pensacola bahiagrass pastures. *Agronomy Journal*, 98(6), 1453–1459. <https://doi.org/10.2134/agronj2005.0246>
- El-zaiat, H. M., Soltan, Y. A., Morsy, A., Of, C., Applications, T., & Louvandini, H. (2015). Encapsulated nitrate and cashew nut shell liquid on blood and rumen constituents, methane emission, and growth performance of lambs Encapsulated nitrate and cashew nut shell liquid on blood and rumen constituents, methane emission, and growth performa. March 2014. <https://doi.org/10.2527/jas2013-7084>
- Enjalbert, F., Combes, S., Zened, A., & Meynadier, A. (2017). Rumen microbiota and dietary fat: a mutual shaping. *Journal of Applied Microbiology*, 123(4), 782–797. <https://doi.org/10.1111/jam.13501>
- Feng, X. Y., Dijkstra, J., Bannink, A., van Gastelen, S., France, J., & Kebreab, E. (2020). Antimethanogenic effects of nitrate supplementation in cattle: A meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, 103(12), 11375–11385. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18541>
- Fonseca, L., Mezzalira, J. C., Bremm, C., Filho, R. S. A., Gonda, H. L., & Carvalho, P. C. d. F. (2012). Management targets for maximising the short-term herbage intake rate of cattle grazing in *Sorghum bicolor*. *Livestock Science*, 145(1–3), 205–211. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2012.02.003>

- Footo, K. J., Joy, M. K., & Death, R. G. (2015). New Zealand Dairy Farming: Milking Our Environment for All Its Worth. *Environmental Management*, 56(3), 709–720. <https://doi.org/10.1007/s00267-015-0517-x>
- Fulkerson, W. J., & Donaghy, D. J. (2001). Plant-soluble carbohydrate reserves and senescence - Key criteria for developing an effective grazing management system for ryegrass-based pastures: A review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 41(2), 261–275. <https://doi.org/10.1071/EA00062>
- Gallaher, R. N., Weldon, C. O., & Futral, J. G. (1975). An Aluminum Block Digester for Plant and Soil Analysis. *Soil Science Society of America Journal*, 39(4), 803–806. <https://doi.org/10.2136/sssaj1975.03615995003900040052x>
- Garcia, L. F., Silva, G. P., Geremia, E. V., Goulart, L. B. L., Dias, C. T. D. S., & da Silva, S. C. (2021). Central rib and the nutritive value of leaves in forage grasses. *Scientific Reports*, 11(1), 5440. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84844-z>
- Giacomini, A. A., da Silva, S. C., Sarmento, D. O. de L., Zeferino, C. V., Souza Júnior, S. J., da Trindade, J. K., Guarda, V. del A., & do Nascimento Júnior, D. (2009). Growth of marandu palisadegrass subjected to strategies of intermittent stocking. *Scientia Agricola*, 66(6), 733–741. <https://doi.org/10.1590/s0103-90162009000600003>
- Gimenes, F. M. D. A., da Silva, S. C., Fialho, C. A., Gomes, M. B., Bernidt, A., Gerdes, L., & Colozza, M. T. (2011). Ganho de peso e produtividade animal em capim - marandu sob pastejo rotativo e adubação nitrogenada. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 46(1), 751–759. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2011000700011>
- Gomes, C. M. (2019). Oportunidade para flexibilização das metas pré-pastejo do manejo rotativo do capim-marandu. Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Oportunidade.
- Gomes, Fagner J., Pedreira, C. G. S., Bosi, C., Cavalli, J., Holschuch, S. G., Mourão, G. B., Pereira, D. H., & Pedreira, B. C. (2019). Shading effects on marandu palisadegrass in a silvopastoral system: Plant morphological and physiological responses. *Agronomy Journal*, 111(5), 2332–2340. <https://doi.org/10.2134/agronj2019.01.0052>
- Gomes, Fagner Junior, Bosi, C., Pedreira, B. C., Santos, P. M., & Pedreira, C. G. S. (2020). Parameterization of the APSIM model for simulating palisadegrass growth under continuous stocking in monoculture and in a silvopastoral system. *Agricultural Systems*, 184(February), 102876. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2020.102876>
- Gonçalves, G. D., Dos Santos, G. T., Jobim, C. C., Damasceno, J. C., Cecato, U., & Branco, A. F. (2003). Feed intake, digestibility, protein and carbohydrate fractions of tifton 85 hay with different harvest ages. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 32(4), 804–813. <https://doi.org/10.1590/s1516-35982003000400004>
- Gregorini, P. (2012). Diurnal grazing pattern: Its physiological basis and strategic management. *Animal Production Science*, 52(7), 416–430. <https://doi.org/10.1071/AN11250>
- Gregorini, P., Soder, K. J., Sanderson, M. A., & Ziegler, G. R. (2009). Toughness, particle size and chemical composition of meadow fescue (*Festuca pratensis* Hud.) herbage as affected by time of day. *Animal Feed Science and Technology*, 151(3–4), 330–336. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2009.02.004>
- Gregorini, Pablo, Villalba, J. J., Chilibruste, P., & Provenza, F. D. (2017). Grazing management: Setting the table, designing the menu and influencing the diner. *Animal Production Science*, 57(7), 1248–1268. <https://doi.org/10.1071/AN16637>

- Guyader, J., Eugène, M., Meunier, B., Doreau, M., Morgavi, D. P., Silberberg, M., Rochette, Y., Gerard, C., Loncke, C., & Martin, C. (2015). Additive methane-mitigating effect between linseed oil and nitrate fed to cattle. *Journal of Animal Science*, 93(7), 3564–3577. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8196>
- Hadipour, A., Mohit, A., Kuhl, H. D., & Hashemzadeh, F. (2021). Recent Nutritional Advances to Mitigate Methane Emission in Cattle: A Review . *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 11(1), 1–14.
- Hambleton, L. G. (1977). Semiautomated Method for Simultaneous Determination of Phosphorus, Calcium, and Crude Protein in Animal Feeds. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 60(4), 845–852. <https://doi.org/10.1093/jaoac/60.4.845>
- Haque, M. N. (2018). Dietary manipulation: A sustainable way to mitigate methane emissions from ruminants. *Journal of Animal Science and Technology*, 60(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s40781-018-0175-7>
- Hare, M. D., Phengphet, S., Songsiri, T., Sutin, N., & Stern, E. (2013). Effect of cutting interval on yield and quality of two *Panicum maximum* cultivars in Thailand. *Tropical Grasslands - Forrajes Tropicales*, 1, 84–86. [https://doi.org/10.17138/TGFT\(1\)87-89](https://doi.org/10.17138/TGFT(1)87-89)
- Hariadi, B. T., & Santoso, B. (2010). Evaluation of tropical plants containing tannin on in vitro methanogenesis and fermentation parameters using rumen fluid. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(3), 456–461. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3839>
- Hegarty, R. S., Passetti, R. A. C., Dittmer, K. M., Wang, Y., Shelton, S., Emmet-Booth, J., Wollenberg, E., McAllister, T., Leahy, S., Beauchemin, K., & Gurwick, N. (2021). An evaluation of evidence for efficacy and applicability of methane inhibiting feed additives for livestock. Edition 1. A Report Coordinated by Climate Change, Agriculture and Food Security (CCAFS) and the New Zealand Agricultural Greenhouse Gas Research Centre (NZAGRC) Initiative of the Global Research Alliance (GRA), November, 1–104.
- Hernández Garay, A., Sollenberger, L. E., Staples, C. R., & Pedreira, C. G. S. (2004). ‘Florigraze’ and ‘Arbrook’ rhizoma peanut as pasture for growing Holstein heifers. *Crop Science*, 44(4), 1355–1360. <https://doi.org/10.2135/cropsci2004.1355>
- Honan, M., Feng, X., Tricarico, J. M., & Kebreab, E. (2021). Feed additives as a strategic approach to reduce enteric methane production in cattle: Modes of action, effectiveness and safety. *Animal Production Science*. <https://doi.org/10.1071/AN20295>
- Hoover, W. H., & Stokes, S. R. (1991). Balancing Carbohydrates and Proteins for Optimum Rumen Microbial Yield. *Journal of Dairy Science*, 74(10), 3630–3644. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78553-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78553-6)
- Hristov, A. N., Oh, J., Firkins, J. L., Dijkstra, J., Kebreab, E., Waghorn, G., Makkar, H. P. S., Adesogan, A. T., Yang, W., Lee, C., Gerber, P. J., Henderson, B., & Tricarico, J. M. (2013). SPECIAL TOPICS-Mitigation of methane and nitrous oxide emissions from animal operations: II. A review of manure management mitigation options. *Journal of Animal Science*, 91(11), 5070–5094. <https://doi.org/10.2527/jas.2013-6584>
- IPCC. (2021). Climate Change 2021 The Physical Science Basis Summary for Policymakers Working Group I Contribution to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. In *Climate Change 2021: The Physical Science Basis*.
- Ítavo, L. C. V., Ítavo, C. C. B. F., Dias, A. M., Franco, G. L., Pereira, L. C., Leal, E. S., Araújo, H. S., & Souza, A. R. D. L. (2016). Combinations of non-protein nitrogen sources in supplements for Nellore steers grazing. *Revista Brasileira de Saude e Producao Animal*, 17(3), 448–460. <https://doi.org/10.1590/S1519-99402016000300011>

- Janssen, P. H. (2010). Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentation thermodynamics. *Animal Feed Science and Technology*, 160(1–2), 1–22. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.07.002>
- Klop, G., Hatew, B., Bannink, A., & Dijkstra, J. (2016). Feeding nitrate and docosaheptaenoic acid affects enteric methane production and milk fatty acid composition in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 99(2), 1161–1172. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10214>
- Latham, E. A., Anderson, R. C., Pinchak, W. E., & Nisbet, D. J. (2016). Insights on alterations to the rumen ecosystem by nitrate and nitrocompounds. *Frontiers in Microbiology*, 7(MAR), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00228>
- Lee, C., Araujo, R. C., Koenig, K. M., & Beauchemin, K. A. (2015a). Effects of encapsulated nitrate on enteric methane production and nitrogen and energy utilization in beef heifers. *Journal of Animal Science*, 93(5), 2391–2404. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8845>
- Lee, C., Araujo, R. C., Koenig, K. M., & Beauchemin, K. A. (2015b). Effects of feed consumption rate of beef cattle offered a diet supplemented with nitrate ad libitum or restrictively on potential toxicity of nitrate. *Journal of Animal Science*, 93(10), 4956–4966. <https://doi.org/10.2527/jas.2015-9435>
- Lee, Chanhee, & Beauchemin, K. A. (2014). A review of feeding supplementary nitrate to ruminant animals: Nitrate toxicity, methane emissions, and production performance. *Canadian Journal of Animal Science*, 94(4), 557–570. <https://doi.org/10.4141/CJAS-2014-069>
- Lee, J. M., Donaghy, D. J., & Roche, J. R. (2008). Effect of defoliation severity on regrowth and nutritive value of perennial ryegrass dominant swards. *Agronomy Journal*, 100(2), 308–314. <https://doi.org/10.2134/agronj2007.0099>
- Leng, R. A. (1990). Factors Affecting the Utilization of ‘Poor-Quality’ Forages by Ruminants Particularly Under Tropical Conditions. *Nutrition Research Reviews*, 3(1), 277–303. <https://doi.org/10.1079/nrr19900016>
- Li, L., Silveira, C. I., Nolan, J. V., Godwin, I. R., Leng, R. A., & Hegarty, R. S. (2013). Effect of added dietary nitrate and elemental sulfur on wool growth and methane emission of Merino lambs. *Animal Production Science*, 53(11), 1195–1201. <https://doi.org/10.1071/AN13222>
- Licitra, G., Hernandez, T. M., & Van Soest, P. J. (1996). Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Animal Feed Science Technology*, 57(4), 347–358. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(95\)00837-3](https://doi.org/10.1016/0377-8401(95)00837-3)
- Lima, P. D. M. T., Filho, A. L. A., Issakowicz, J., Ieda, E. H., Corrêa, P. S., De Mattos, W. T., Gerdes, L., McManus, C., Abdalla, A. L., & Louvandini, H. (2020). Methane emission, ruminal fermentation parameters and fatty acid profile of meat in Santa Inês lambs fed the legume macrotiloma. *Animal Production Science*, 60(5), 665–673. <https://doi.org/10.1071/AN19127>
- Longo, C., Bueno, I. C. S., Nozella, E. F., Goddoy, P. B., Cabral Filho, S. L. S., & Abdalla, A. L. (2006). The influence of head-space and inoculum dilution on in vitro ruminal methane measurements. *International Congress Series*, 1293, 62–65. <https://doi.org/10.1016/j.ics.2006.03.017>
- Lourenço, M., Ramos-Morales, E., & Wallace, R. J. (2010). The role of microbes in rumen lipolysis and biohydrogenation and their manipulation. *Animal*, 4(7), 1008–1023. <https://doi.org/10.1017/S175173111000042X>

- Maczulak, A. E., Dehority, B. A., & Palmquist, D. L. (1981). Effects of long-chain fatty acids on growth of rumen bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 42(5), 856–862. <https://doi.org/10.1128/aem.42.5.856-862.1981>
- Maia, M. R., Chaudhary, L. C., Bestwick, C. S., Richardson, A. J., McKain, N., Larson, T. R., Graham, I. A., & Wallace, R. J. (2010). Toxicity of unsaturated fatty acids to the biohydrogenating ruminal bacterium, *Butyrivibrio fibrisolvens*. *BMC Microbiology*, 10, 8–10. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-10-52>
- Maia, M. R. G., Chaudhary, L. C., Figueres, L., & Wallace, R. J. (2007). Metabolism of polyunsaturated fatty acids and their toxicity to the microflora of the rumen. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 91(4), 303–314. <https://doi.org/10.1007/s10482-006-9118-2>
- Martin, C., Morgavi, D. P., & Doreau, M. (2010). Methane mitigation in ruminants : from microbe to the farm scale. 351–365. <https://doi.org/10.1017/S1751731109990620>
- Mauricio, R. M., Mould, F. L., Dhanoa, M. S., Owen, E., Channa, K. S., & Theodorou, M. K. (1999). A semi-automated in vitro gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. *Animal Feed Science and Technology*, 79(4), 321–330. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(99\)00033-4](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(99)00033-4)
- Meale, S. J., Chaves, A. V., Baah, J., & McAllister, T. A. (2012). Methane production of different forages in in vitro ruminai fermentation. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 25(1), 86–91. <https://doi.org/10.5713/ajas.2011.11249>
- Mertens, D. R., Allen, M., Carmany, J., Clegg, J., Davidowicz, A., Drouches, M., Frank, K., Gambin, D., Garkie, M., Gildemeister, B., Jeffress, D., Jeon, C. S., Jones, D., Kaplan, D., Kim, G. N., Kobata, S., Main, D., Moua, X., Paul, B., ... Wolf, M. (2002). Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: Collaborative study. *Journal of AOAC International*, 85(6), 1217–1240. <https://doi.org/10.1093/jaoac/85.6.1217>
- Mezzalira, J. C., Bonnet, O. J. F., Carvalho, P. C. d. F., Fonseca, L., Bremm, C., Mezzalira, C. C., & Laca, E. A. (2017). Mechanisms and implications of a type IV functional response for short-term intake rate of dry matter in large mammalian herbivores. *Journal of Animal Ecology*, 86(5), 1159–1168. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12698>
- Moojen, F. G., Bremm, C., Laca, E. A., Machado, D. R., Savian, J. V., & Carvalho, P. C. d. F. (2022). Herbage allowance and stocking method effect on grazing systems: Results of a long-term experiment. *Grass and Forage Science*, 77(1), 45–54. <https://doi.org/10.1111/gfs.12556>
- Muñoz, C., Letelier, P. A., Ungerfeld, E. M., Morales, J. M., Hube, S., & Pérez-Prieto, L. A. (2016). Effects of pregrazing herbage mass in late spring on enteric methane emissions, dry matter intake, and milk production of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 99(10), 7945–7955. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-10919>
- Natel, A. S., Abdalla, A. L., de Araujo, R. C., McManus, C., Paim, T. do P., de Abdalla Filho, A. L., Louvandini, P., & Nazato, C. (2019). Encapsulated nitrate replacing soybean meal changes in vitro ruminal fermentation and methane production in diets differing in concentrate to forage ratio. *Animal Science Journal*, 90(10), 1350–1361. <https://doi.org/10.1111/asj.13251>
- Neef, L., Van Weele, M., & Van Velthoven, P. (2010). Optimal estimation of the present-day global methane budget. *Global Biogeochemical Cycles*, 24(4), 1–10. <https://doi.org/10.1029/2009GB003661>

- Newman, Y. C., Sollenberger, L. E., Kunkle, W. E., & Chambliss, C. G. (2002). Canopy height and nitrogen supplementation effects on performance of heifers grazing limpograss. *Agronomy Journal*, 94(6), 1375–1380. <https://doi.org/10.2134/agronj2002.1375>
- Olijhoek, D. W., Hellwing, A. L. F., Brask, M., Weisbjerg, M. R., Højberg, O., Larsen, M. K., Dijkstra, J., Erlandsen, E. J., & Lund, P. (2016). Effect of dietary nitrate level on enteric methane production, hydrogen emission, rumen fermentation, and nutrient digestibility in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 99(8), 6191–6205. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10691>
- Oliveira, S., Adelson, J., Neto, S., Valença, R. D. L., Dantas, C., & Caroline, A. (2016). REVIEW CARBOIDRATOS FIBROSOS E NÃO FIBROSOS NA DIETA DE RUMINANTES E SEUS EFEITOS SOBRE A MICROBIOTA RUMINAL. 1–18.
- Orr, R. J., Rutter, S. M., Penning, P. D., & Rook, A. J. (2001). Matching grass supply to grazing patterns for dairy cows. *Grass and Forage Science*, 56(4), 352–361. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2494.2001.00284.x>
- P. J. Van Soest. (1967). Development of a Comprehensive System of Feed Analyses and its Application to Foragesfile:///Users/rafael/Downloads/0377-8401%252891%252990069-5.pdf. *Journal of Animal Science*, 26(1), 119–128.
- Parsons, A. J., Johnson, I. R., & Harvey, A. (1988). Use of a model to optimize the interaction between frequency and severity of intermittent defoliation and to provide a fundamental comparison of the continuous and intermittent defoliation of grass. *Grass and Forage Science*, 43(1), 49–59. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.1988.tb02140.x>
- Parsons, A. J., Johnson, I. R., & Williams, J. H. H. (1988). Leaf age structure and canopy photosynthesis in rotationally and continuously grazed swards. *Grass and Forage Science*, 43(1), 1–14. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.1988.tb02136.x>
- Parsons, A. J., & Penning, P. D. (1988). The effect of the duration of regrowth on photosynthesis, leaf death and the average rate of growth in a rotationally grazed sward. *Grass and Forage Science*, 43(1), 15–27. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.1988.tb02137.x>
- Parsons, A. J., Leafe, E. L., Collett, B., Penning, P. D., & Lewis, J. The physiology of grass production under grazing. II. Photosynthesis, crop growth and animal intake of continuously-grazed swards. *Journal of applied ecology*, p. 127-139, 1983.
- Patra, A. K., & Yu, Z. (2014). Combinations of nitrate, saponin, and sulfate additively reduce methane production by rumen cultures in vitro while not adversely affecting feed digestion, fermentation or microbial communities. *Bioresource Technology*, 155, 129–135. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.099>
- Pedreira, B. C. E. (2009). Capim Xaraés sob pastejo : respostas agronômicas e morfofisiológicas , e adaptação do modelo CROPGRO para a predição de crescimento. 111.
- Pedreira, Bruno C., Pedreira, C. G. S., & Lara, M. A. S. (2015). Leaf age, leaf blade portion and light intensity as determinants of leaf photosynthesis in *Panicum maximum* Jacq. *Grassland Science*, 61(1), 45–49. <https://doi.org/10.1111/grs.12080>
- Pedreira, Bruno Carneiro, & Pedreira, C. G. S. (2007). Leaf photosynthesis in Xaraés palisadegrass [*Brachiaria brizantha* (A. Rich.) Stapf. cv. Xaraés] and modeling canopy assimilatory potential under rotational stocking strategies. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 36(4), 773–779. <https://doi.org/10.1590/s1516-35982007000400004>

- Pedreira, Bruno Carneiro, Pedreira, C. G. S., & Da Silva, S. C. (2007). Estrutura do dossel e acumulo de forragem de *Brachiaria brizantha* cultivar Xaraes em resposta a estrategias de pastejo. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 42(2), 281–287. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2007000200018>
- Pedreira, C. G. S. (2002). Avanços metodológicos na avaliação de pastagens. XXXIX Reunião Anual Da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 100–150.
- Pelletier, S., Tremblay, G. F., Bélanger, G., Bertrand, A., Castonguay, Y., Pageau, D., & Drapeau, R. (2010). Forage nonstructural carbohydrates and nutritive value as affected by time of cutting and species. *Agronomy Journal*, 102(5), 1388–1398. <https://doi.org/10.2134/agronj2010.0158>
- Pembleton, K. G., Rawnsley, R. P., Turner, L. R., Corkrey, R., & Donaghy, D. J. (2017). Quantifying the interactions between defoliation interval , defoliation intensity and nitrogen fertiliser application on the nutritive value of rainfed and irrigated perennial ryegrass. 2001, 1100–1111.
- Pequeno, D. N. L., Pedreira, C. G. S., Sollenberger, L. E., de Faria, A. F. G., & Silva, L. S. (2015). Forage accumulation and nutritive value of brachiariagrasses and Tifton 85 bermudagrass as affected by harvest frequency and irrigation. *Agronomy Journal*, 107(5), 1741–1749. <https://doi.org/10.2134/agronj15.0115>
- Pereira, L. E. T., Paiva, A. J., Geremia, E. V., & da Silva, S. C. (2015). Grazing management and tussock distribution in elephant grass. *Grass and Forage Science*, 70(3), 406–417. <https://doi.org/10.1111/gfs.12137>
- Pereira, L. E. T., Paiva, A. J., Geremia, E. V., & Da Silva, S. C. (2014). Crops and soils research paper: Components of herbage accumulation in elephant grass cvar Napier subjected to strategies of intermittent stocking management. *Journal of Agricultural Science*, 152(6), 954–966. <https://doi.org/10.1017/S0021859613000695>
- Portela, J. N., Pedreira, C. G. S., & Braga, G. J. (2011). Demografia e densidade de perfilhos de capim-braquiária sob pastejo em lotação intermitente. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 46(3), 315–322. <https://doi.org/10.1590/s0100-204x2011000300013>
- Preston, T. R. (2008). *Tropical animal feeding: A manual for research workers* (2nd ed.).
- Pretty, J., & Bharucha, Z. P. (2014). Sustainable intensification in agricultural systems. *Annals of Botany*, 114(8), 1571–1596. <https://doi.org/10.1093/aob/mcu205>
- Rasch, S., Heckelei, T., & Johannes Oomen, R. (2016). Reorganizing resource use in a communal livestock production socio-ecological system in South Africa. *Land Use Policy*, 52, 221–231. <https://doi.org/10.1016/j.landusepol.2015.12.026>
- Rebelo, Lucas R., Luna, I. C., Messana, J. D., Araujo, R. C., Simioni, T. A., Granja-Salcedo, Y. T., Vito, E. S., Lee, C., Teixeira, I. A. M. A., Rooke, J. A., & Berchielli, T. T. (2019). Effect of replacing soybean meal with urea or encapsulated nitrate with or without elemental sulfur on nitrogen digestion and methane emissions in feedlot cattle. *Animal Feed Science and Technology*, 257, 114293. <https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2019.114293>
- Rebelo, L. R. Influência de nitrato encapsulado e enxofre na dieta sobre metabolismo e emissão de metano em bovinos. Dissertação (Mestrado em nutrição e alimentação animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Jaboticabal, 2017, 58p.
- Reis, R. B., San Emeterio, F., Combs, D. K., Satter, L. D., & Costa, H. N. (2001). Effects of corn particle size and source on performance of lactating cows fed direct-cut grass-legume forage. *Journal of Dairy Science*, 84(2), 429–441. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74493-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74493-1)

- Rodrigues, J. P. P., Ramin, M., Huhtanen, P., Aru, F., Detmann, E., & Marcondes, M. I. (2018). Effect of soya bean oil supplementation and forage type on methane production and fibre digestibility using the in vitro gas production system. *Grass and Forage Science*, 73(2), 368–380. <https://doi.org/10.1111/gfs.12326>
- Rymer, C., Huntington, J. A., Williams, B. A., & Givens, D. I. (2005). In vitro cumulative gas production techniques: History, methodological considerations and challenges. *Animal Feed Science and Technology*, 123–124 Pa, 9–30. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.04.055>
- Santos, A. R. M. dos, Barros, L. V. de, Abreu, M. L. C., & Pedreira, B. C. (2020). In vitro ruminal fermentation parameters and methane production of Marandu palisadegrass (*Urochloa brizantha*) in a silvopastoral system associated with levels of protein supplementation. *Grass and Forage Science*, 75(3), 339–350. <https://doi.org/10.1111/gfs.12476>
- Santos, M. E. R., da Fonseca, D. M., Gomes, V. M., do Nascimento Júnior, D., Gomide, C. A. de M., & Sbrissia, A. F. (2011). Capim-braquiária sob lotação contínua e com altura única ou variável durante as estações do ano: Dinâmica do perfilhamento. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40(11), 2332–2339. <https://doi.org/10.1590/s1516-35982011001100008>
- Santos, M. E. R., da Fonseca, D. M., Pimentel, R. M., Silva, G. P., Gomes, V. M., & da Silva, S. P. (2011). Número e peso de perfilhos no pasto de capim-braquiaria sob lotação contínua. *Acta Scientiarum - Animal Sciences*, 33(2), 131–136. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v33i2.10438>
- Savian, J. V., Priano, M. E., Nadin, L. B., Tieri, M. P., Schons, R. M. T., Basso, C., Pontes Prates, A., Bayer, C., & Carvalho, P. C. de F. (2019). Effect of sward management on the emissions of CH₄ and N₂O from faeces of sheep grazing Italian ryegrass pastures. *Small Ruminant Research*, 178(April), 123–128. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.08.011>
- Sbrissia, A. F., Duchini, P. G., Zanini, G. D., Santos, G. T., Padilha, D. A., & Schmitt, D. (2018). Defoliation strategies in pastures submitted to intermittent stocking method: Underlying mechanisms buffering forage accumulation over a range of grazing heights. *Crop Science*, 58(2), 945–954. <https://doi.org/10.2135/cropsci2017.07.0447>
- Sbrissia, André Fischer. Morfogênese, dinâmica do perfilhamento e do acúmulo de forragem em pastos de capim-marandu sob lotação contínua. 2004. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004. doi:10.11606/T.11.2004.tde-25052004-143513. Acesso em: 2022-10-27.
- Sbrissia, André Fischer, & Da Silva, S. C. (2008). Compensação tamanho/densidade populacional de perfilhos em pastos de capim-marandu. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 37(1), 35–47. <https://doi.org/10.1590/s1516-35982008000100005>
- Schofield, P., Pitt, R. E., & Pell, A. N. (1994). Kinetics of fiber digestion from in vitro gas production. *Journal of Animal Science*, 72(11), 2980–2991. <https://doi.org/10.2527/1994.72112980x>
- Sheehy, J. E., & Cooper, J. P. (1973). Light Interception, Photosynthetic Activity, and Crop Growth Rate in Canopies of Six Temperate Forage Grasses. *The Journal of Applied Ecology*, 10(1), 239. <https://doi.org/10.2307/2404727>
- Silva, L. S., Silva, V. J., Yasuoka, J. I., Sollenberger, L. E., & Pedreira, C. G. S. (2020). Tillering dynamics of ‘Mulato II’ brachiariagrass under continuous stocking. *Crop Science*, 60(2), 1105–1112. <https://doi.org/10.1002/csc2.20008>

- Silva, V. J., Pedreira, C. G. S., Sollenberger, L. E., Silva, L. S., Yasuoka, J. I., & Almeida, I. C. L. (2016a). Canopy height and nitrogen affect herbage accumulation, nutritive value, and grazing efficiency of 'Mulato II' brachiariagrass. *Crop Science*, 56(4), 2054–2061. <https://doi.org/10.2135/cropsci2015.12.0764>
- Silva, V. J., Pedreira, C. G. S., Sollenberger, L. E., Silva, L. S., Yasuoka, J. I., & Almeida, I. C. L. (2016b). Carbon assimilation, herbage plant-part accumulation, and organic reserves of grazed 'mulato II' brachiariagrass pastures. *Crop Science*, 56(5), 2853–2860. <https://doi.org/10.2135/cropsci2016.03.0148>
- Smith, L. W., Goering, H. K., & Gordon, C. H. (1972). Relationships of Forage Compositions With Rates of Cell Wall Digestion and Indigestibility of Cell Walls. *Journal of Dairy Science*, 55(8), 1140–1147. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(72\)85636-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(72)85636-4)
- Soares, André Brugnara; Schmitt, Daniel; Migliorini, Francisco; Assmann, Tangriani Simioni; Assmann, A. L. (2020). Grazing height targets for alexandergrass pastures under continuous stocking in integrated crop-livestock system. *Ciencia Rural*, 50(1), 1–7. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20180837>
- Souza Júnior, S. J. de. (2007). Estrutura do dossel, interceptação de luz e acúmulo de forragem em pastos de capim-marandu submetidos a estratégias de pastejo rotativo por bovinos de corte. Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" Estrutura.
- Sun, K., Liu, H., Fan, H., Liu, T., & Zheng, C. (2021). Research progress on the application of feed additives in ruminal methane emission reduction: A review. *PeerJ*, 9. <https://doi.org/10.7717/peerj.11151>
- Taylor, S. H., Ripley, B. S., Martin, T., De-Wet, L. A., Woodward, F. I., & Osborne, C. P. (2014). Physiological advantages of C4 grasses in the field: A comparative experiment demonstrating the importance of drought. *Global Change Biology*, 20(6), 1992–2003. <https://doi.org/10.1111/gcb.12498>
- Teixeira Vitor, C. M., da Fonseca, D. M., Cóser, A. C., Martins, C. E., do Nascimento Júnior, D., & Ribeiro Júnior, J. I. (2009). Dry matter production and nutritional value of elephant grass pasture under irrigation and nitrogen fertilization. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 38(3), 435–442. <https://doi.org/10.1590/s1516-35982009000300006>
- Theodorou, M. K., Williams, B. A., Dhanoa, M. S., McAllan, A. B., & France, J. (1994). A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 48(3–4), 185–197. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(94\)90171-6](https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)90171-6)
- Thurrow, J. M., Nabinger, C., de Souza Castilhos, Z. M., de Faccio Carvalho, P. C., Oliveira Medeiros, C. M., & Machado, M. D. (2009). Estrutura da vegetação e comportamento ingestivo de novilhos em pastagem natural do Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 38(5), 818–826. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982009000500006>
- Tilman, D., Cassman, K. G., Matson, P. A., Naylor, R., & Polasky, S. (2002). Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature*, 418(6898), 671–677. <https://doi.org/10.1038/nature01014>
- Torell, L. A., Murugan, S., & Ramirez, O. A. (2010). Economics of flexible versus conservative stocking strategies to manage climate variability risk. *Rangeland Ecology and Management*, 63(4), 415–425. <https://doi.org/10.2111/REM-D-09-00131.1>
- Trindade, Júlio Kuhn da, Silva, S. C. da, Souza Júnior, S. J. de, Giacomini, A. A., Zeferino, C. V., Guarda, V. D. A., & Carvalho, P. C. de F. (2007). Composição morfológica da forragem consumida por bovinos de corte durante o rebaixamento do capim-marandu submetido a estratégias de pastejo rotativo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 42(6), 883–890. <https://doi.org/10.1590/s0100-204x2007000600016>

- Troy, S. M., Duthie, C. A., Hyslop, J. J., Roehe, R., Ross, D. W., Wallace, R. J., Waterhouse, A., & Rooke, J. A. (2015). Effectiveness of nitrate addition and increased oil content as methane mitigation strategies for beef cattle fed two contrasting basal diets. *Journal of Animal Science*, 93(4), 1815–1823. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8688>
- Turner, K. E., Cassida, K. A., & Zajac, A. M. (2013). Weight gains, blood parameters and faecal egg counts when meat-goat kids were finished on alfalfa, red clover and orchardgrass pastures. *Grass and Forage Science*, 68(2), 245–259. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.2012.00893.x>
- UNFCCC. (2015). ADOPTION OF THE PARIS AGREEMENT Draft decision -/CP.21. Conference of the Parties, CP/2015/L.30 (November 30 to December 11), 1–32.
- Ungerfeld, E. M. (2015). Shifts in metabolic hydrogen sinks in the methanogenesis-inhibited ruminal fermentation: A meta-analysis. *Frontiers in Microbiology*, 6(FEB), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00037>
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B., & Lewis, B. A. (1991). Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74(10), 3583–3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)
- van Zijderveld, S. M., Gerrits, W. J. J., Apajalahti, J. A., Newbold, J. R., Dijkstra, J., Leng, R. A., & Perdok, H. B. (2010). Nitrate and sulfate: Effective alternative hydrogen sinks for mitigation of ruminal methane production in sheep. *Journal of Dairy Science*, 93(12), 5856–5866. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3281>
- Vendramini, J. M. B., Sollenberger, L. E., Soares, A. B., Da Silva, W. L., Sanchez, J. M. D., Valente, A. L., Aguiar, A. D., & Mullenix, M. K. (2014). Harvest frequency affects herbage accumulation and nutritive value of brachiaria grass hybrids in Florida. *Tropical Grasslands - Forrajes Tropicales*, 2(2), 197. [https://doi.org/10.17138/TGFT\(2\)197-206](https://doi.org/10.17138/TGFT(2)197-206)
- Venter, Z. S., Hawkins, H. J., & Cramer, M. D. (2019). Cattle don't care: Animal behaviour is similar regardless of grazing management in grasslands. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 272(October 2018), 175–187. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.11.023>
- Vibart, R. E., Burns, J. C., & Fellner, V. (2010). Effect of Replacing Total Mixed Ration with Pasture on Ruminal Fermentation. *Professional Animal Scientist*, 26(4), 435–442. [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)30625-2](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30625-2)
- Vibart, R. E., Tavendale, M., Otter, D., Schwendel, B. H., Lowe, K., Gregorini, P., & Pacheco, D. (2017). Milk production and composition, nitrogen utilization, and grazing behavior of late-lactation dairy cows as affected by time of allocation of a fresh strip of pasture. *Journal of Dairy Science*, 100(7), 5305–5318. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12413>
- Vogel, J. (2008). Unique aspects of the grass cell wall. *Current Opinion in Plant Biology*, 11(3), 301–307. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2008.03.002>
- Volaire, F., Barkaoui, K., & Norton, M. (2014). Designing resilient and sustainable grasslands for a drier future: Adaptive strategies, functional traits and biotic interactions. *European Journal of Agronomy*, 52, 81–89. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2013.10.002>
- Weimer, P. J., & Kohn, R. A. (2016). Impacts of ruminal microorganisms on the production of fuels: how can we intercede from the outside? *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(8), 3389–3398. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7358-2>

- Welles, J. M., & Norman, J. M. (1991). Instrument for Indirect Measurement of Canopy Architecture. Published in *Agron. J.* 83:818-825, 83, 818–825.
- Wilson, J. W. (1960). Inclined Point Quadrats. *New Phytologist*, 59(1), 1–7. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1960.tb06195.x>
- Wims, C. M., Deighton, M. H., Lewis, E., O’Loughlin, B., Delaby, L., Boland, T. M., & O’Donovan, M. (2010). Effect of pregrazing herbage mass on methane production, dry matter intake, and milk production of grazing dairy cows during the mid-season period. *Journal of Dairy Science*, 93(10), 4976–4985. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3245>
- Wolfinger, R., & O’Connell, M. (1993). Generalized Linear Mixed Models: A Pseudo-Likelihood Approach. *Journal of Statistical Computation and Simulation*, 48(3–4), 233–243. <https://doi.org/10.1080/00949659308811554>
- Yang, S. L., Bu, D. P., Wang, J. Q., Hu, Z. Y., Li, D., Wei, H. Y., Zhou, L. Y., & Looor, J. J. (2009). Soybean oil and linseed oil supplementation affect profiles of ruminal microorganisms in dairy cows. *Animal*, 3(11), 1562–1569. <https://doi.org/10.1017/S1751731109990462>
- Yasuoka, J. I., Pedreira, C. G. S., da Silva, V. J., Alonso, M. P., da Silva, L. S., & Gomes, F. J. (2018). Canopy height and N affect herbage accumulation and the relative contribution of leaf categories to photosynthesis of grazed brachiariagrass pastures. *Grass and Forage Science*, 73(1), 183–192. <https://doi.org/10.1111/gfs.12302>
- Yasuoka, Junior I., Pedreira, C. G. S., Holschuch, S. G., Almeida, O. G., & Pedroso, G. B. (2021). The enclosure cage technique revisited: Pasture responses under continuous stocking and their relationship with estimates of forage accumulation in grazing experiments. *Crop Science*, 61(2), 1488–1499. <https://doi.org/10.1002/csc2.20447>
- Yasuoka, Junior Issamu, Pedreira, C. G. S., Holcman, E., Sentelhas, P. C., Pedroso, G. B., de Almeida, O. G., & Holschuch, S. G. (2021). Microclimate of grass canopies and biomass accumulation are influenced by the use of caged enclosures in grazing research. *International Journal of Biometeorology*, 0123456789. <https://doi.org/10.1007/s00484-021-02187-w>
- Zhang, W. J., Bai, C. J., & Liu, G. D. (2007). Neural network modeling of ecosystems: A case study on cabbage growth system. *Ecological Modelling*, 201(3–4), 317–325. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2006.09.022>

3. MANEJO DO PASTEJO E SUPLEMENTAÇÃO COMO POTENCIAIS MITIGADORES DA EMISSÃO DE METANO EM PASTAGENS

Resumo

A eficácia de diferentes suplementos anti-metanogênicos e o manejo do pastejo dentro das possibilidades de regimes de desfolhação em pastagens tropicais são estratégias que devem ser compreendidas para melhor uso na produção de bovinos, aliando a mitigação de CH₄ na promoção de uma pecuária que atende os compromissos com as questões ambientais, sociais e de governança. Os objetivos deste estudo foram (i) comparar a produção, as características morfológicas, e o valor nutritivo da forragem do capim Mulato II manejado sob lotação contínua (C) e rotativa com desfolha leniente (RL) ou moderada (RM) com alturas médias do dossel de 20 e 30 cm; e (ii) avaliar as estratégias de manejo associadas a fontes de suplementação incluindo a forragem sem suplemento (Controle), NO₃⁻ + S elementar (NS), óleo de soja (OS), farelo de milho (FM) e OS+FM em relação aos efeitos na cinética e no perfil fermentativo *in vitro* da forragem para mitigar CH₄ entérico em sistemas de pastejo. Delineamento e tratamentos. As estratégias de manejo não afetaram o acúmulo de forragem. Os manejos C20, RL20 e RM20 foram equivalentes na massa de forragem média (MF_x) e proporções média de colmo (%Colmo_x), com valores menores que C30, RL30 e RM30. A distribuição vertical do dossel no estrato de pastejo indicou que os manejos RM20 e RM30 tem maiores participações de colmo (0,3 e 0,8%, respectivamente) e material morto (1 e 2%, respectivamente), e reduziu a proporção de folhas para 98,6 e 96,5%, respectivamente. As proporções dos componentes morfológicos no estrato de pastejo afetou principalmente o manejo RM30, com as maiores concentrações de FDN, FDA, celulose e consequentemente a fração B_{2CHO}, carboidratos totais e fração C_{PB}, enquanto que as concentrações de EE, PB, fração B_{3PB} e PBd foram menores. Essas características químicas da forragem do RM30 resultaram em maior volume final (V_f) de gás produzido (mL g MOVD⁻¹), menores valores de degradabilidade da fibra em detergente neutro (FDND), da matéria orgânica verdadeiramente degradada (MOVD), da concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃⁻), do fator de partição (FP) e consequentemente menor produção de CH₄ por unidade de FDN (CH₄P_{FDN}) e maior porcentagem de CH₄ (%CH₄) no total de gás produzido em 48h de incubação. Em contraste, o manejo C20 seguido RL20, RM20, C30 e RL30 resultaram nas melhores características químicas da forragem, melhor cinética e perfil da fermentação *in vitro* o que resultou maior CH₄P_{FDN} e %CH₄. As concentrações de ácidos graxos voláteis (AVG) e a produção de CH₄ por unidade de MOVD não diferiu entre as estratégias de manejo. Os resultados de suplementação OS, FM, OS+FM ou NS alteraram a fermentação ruminal e reduziram as emissões de CH₄ em todos os manejos. O FM melhorou os parâmetros da fermentação e a MOVD comparado ao controle, com menor relação acetato:propionato e maior concentração de propionato e AVG totais, enquanto que foi 7,2% menor a produção de CH₄ por unidade de MOVD (CH₄P_{MOVD}) e 23,9% a CH₄P_{FDN} comparado ao controle. O OS não afetou a degradabilidade e o FP foi maior, com 8,4% e 12,5% menor CH₄P_{MOVD} e CH₄P_{FDN}, respectivamente, comparado ao controle. A associação OS+FM promoveu efeito aditivo com MOVD o maior entre todos os tratamentos, com 11,5% e 29,5% menor CH₄P_{MOVD} e CH₄P_{FDN}, respectivamente, comparado ao controle. Menores valores na %CH₄ foram constatados com interações entre tratamentos OS, FM e OS+FM e estratégias de manejos com maior valor nutritivo. O NS resultou no maior FP e resultou em 88,8% e 93,2% menor CH₄P_{MOVD} e CH₄P_{FDN}, respectivamente, comparado ao controle. O NS alterou as concentrações de AGV e afetou negativamente a degradabilidade da forragem e concentração de AGV pela utilização de animais doadores de inóculo sem NO₃⁻ na dieta. Comparações entre métodos sob lotação contínua e rotativa com base no descritor altura média do dossel forrageiro resultou em produção de forragem, valor nutritivo e emissões de metano equivalente entre os manejos C20, RL20 e RM20, indicando que o capim Mulato II deve ser manejado em regimes de desfolhação com referencial em altura média dossel de 20 cm, independentemente do método de lotação animal empregado. Enquanto que todas as fontes de suplementação testadas mostraram-se alternativas promissoras para intensificação dos sistemas de

produção animal em pastagens, e podem ser utilizadas de forma estratégicas para otimizar a qualidade da dieta e reduzir as emissões de metano oriundas da fermentação entérica de ruminantes.

Palavras-chave: Métodos de lotação; Altura média do estrato de pastejo; inclusão de concentrado; Inclusão de óleo de soja; Inclusão de nitrato e enxofre elementar.

Abstract

The effectiveness of different anti-methanogenic supplements and grazing management within the possibilities of defoliation regimes in tropical pastures are strategies that must be understood for better use in cattle production, combining the mitigation of CH₄ in the promotion of livestock that meets the commitments to environmental, social and governance issues. The objectives of this study were (i) to compare the production, morphological characteristics, and nutritive value of forage of Mulato II brachiariagrass managed under continuous (C) and rotational stocking with lenient (RL) or moderate (RM) defoliation with average heights of the canopy of 20 and 30 cm; and (ii) to evaluate the management strategies associated with supplementation sources including forage without supplement (Control), NO₃⁻ + elemental S (NS), soybean oil (SO), corn bran (CB) and SO+CB in relation to the effects on kinetics and *in vitro* fermentative profile of forage to mitigate enteric CH₄ in grazing systems. Design and treatments. Management strategies did not affect forage accumulation. The managements C20, RL20 and RM20 were equivalent in the average forage mass (FM_x) and average proportions of stem (%Stem_x), with values lower than C30, RL30 and RM30. The vertical distribution of the canopy in the grazing stratum indicated that the managements RM20 and RM30 had greater participation of stem (0.3 and 0.8%, respectively) and dead material (1 and 2%, respectively), and reduced the proportion of leaves to 98.6 and 96.5%, respectively. The proportions of morphological components in the grazing stratum affected mainly the RM30 management, with the highest concentrations of NDF, ADF, cellulose and consequently the B2_{CHO} fraction, total carbohydrates and C_{CP} fraction, while the concentrations of EE, CP, B3_{CP} and CP_d fraction were smaller. These chemical characteristics of the RM30 forage resulted in greater final volume (V_f) of gas produced (mL g TDMO⁻¹), lesser values of degradability of the neutral detergent fiber (DNDF) and of the truly degraded organic matter (TDMO), of the concentration of aminical nitrogen (N-NH₃⁻), the partitioning factor (PF) and consequently less production of CH₄ per unit of NDF (CH₄P_{NDF}) and greater percentage of CH₄ (%CH₄) in the total gas produced in 48h of incubation. In contrast, the management C20 resulted in the best chemical characteristics of the forage, better kinetics and profile of the *in vitro* fermentation which resulted in greater CH₄P_{NDF} and %CH₄. The volatile fatty acid (VFA) concentrations and CH₄ production per unit of TDMO did not differ among management strategies. The results of OS, FM, OS+FM or NS supplementation altered rumen fermentation and reduced CH₄ emissions in all managements. The CB improved the fermentation parameters and TDMO compared to the control, with a lower acetate:propionate ratio and a greater concentration of total propionate and VFA, while the production of CH₄ per unit of TDMO (CH₄P_{TDMO}) was 7.2% lower and 23.9% to CH₄P_{NDF} compared to control. OS did not affect degradability and FP was greater, with 8.4% and 12.5% less CH₄P_{TDMO} and CH₄P_{NDF}, respectively, compared to the control. The OS+CB association promoted an additive effect with superior TDMO among all treatments, with 11.5% and 29.5% lower CH₄P_{TDMO} and CH₄P_{NDF}, respectively, compared to the control. Less %CH₄ were observed with interactions between OS, CB and SO+CB treatments and management strategies with greater nutritive value. NS resulted in the greatest PF and resulted in 88.8% and 93.2% lower CH₄P_{TDMO} and CH₄P_{NDF}, respectively, compared to the control. NS altered VFA concentrations and negatively affected forage degradability and VFA concentration by using inoculum donor animals without NO₃⁻ in the diet. Comparisons between methods under continuous and rotational stocking based on the descriptor mean forage canopy height resulted in forage production, nutritive value and equivalent methane emissions between the managements C20, RL20 and RM20, indicating that Mulato II brachiariagrass should be managed in of defoliation with an average canopy height of 20 cm, regardless

of the animal stocking method used. While all tested supplementation sources proved to be promising alternatives for the intensification of animal production systems in pastures, and can be used strategically to optimize diet quality and reduce methane emissions from enteric fermentation of ruminants.

Keywords: Stocking methods; Average height of the grazing layer; Inclusion of concentrate; Inclusion of soybean oil; Inclusion of nitrate and elemental sulfur.

3.1. Introdução

Em anos recentes, estratégias vêm sendo estudadas com vistas à mitigação da produção de gases de efeito estufa (GEE) em sistemas de produção de carne e leite a partir de animais ruminantes (Beauchemin et al., 2008; Hristov et al., 2013; Chanhee Lee & Beauchemin, 2014; Haque, 2018; Feng et al., 2020; D'aurea et al., 2021; Hadipour et al., 2021; Honan et al., 2021; Sun et al., 2021). Congio et al. (2021) compilaram diversos desses estudos, numa meta-análise que comparou um grande número de experimentos realizados na América Latina e Caribe, com o objetivo principal de identificar estratégias que, ao mesmo tempo em que mitigaram o metano entérico (CH_4), não afetaram negativamente o desempenho animal. Dentre as principais estratégias de mitigação identificadas no estudo, o manejo do pastejo, o uso de alimentos concentrados, a inclusão de fontes de lipídios na dieta, e o uso de redutores de H_2 como o NO_3^- foram consideradas opções promissoras.

No manejo do pastejo, a escolha do método de pastejo é uma importante decisão a ser tomada na propriedade. Entretanto, comparações entre lotação contínua e rotativa são difíceis de serem interpretadas, tendo em vista as dificuldades de se estabelecer critérios de equivalência do ponto de vista de intensidade ou severidade de desfolhação, o que traz confusão às tentativas de comparação (Parsons & Penning, 1988; Moojen et al., 2022). Diferentes frequências e severidades de desfolhação em lotação rotativa (por exemplo, redução percentual na altura do dossel desde a condição de entrada até a condição de saída dos animais) ou diferentes intensidades de pastejo (altura constante do dossel) em pastos sob lotação contínua, impactam o ambiente luminoso, a massa (MF) e o acúmulo de forragem (AF), as características morfológicas do dossel, e conseqüentemente afeta o valor nutritivo da forragem (Trindade et al., 2012; Hare et al., 2013; Silva et al., 2016a) e o desempenho animal (Thurrow et al., 2009; Congio et al., 2018).

As respostas das plantas forrageiras aos métodos de lotação podem incluir a digestibilidade da fibra e emissões de CH_4 por bovinos que consomem essas forragens. A emissão de CH_4 é importante via de perda de energia, na forma de CH_4 entérico, e tem sido

objeto de preocupação para minimizar os impactos da produção bovina em relação às emissões de gases de efeito estufa (GEEs) (IPCC, 2014). Nesse aspecto, o manejo do pastejo pode representar uma ferramenta para aumentar a digestibilidade da forragem e favorecer a redução das emissões por unidade de produto animal produzido (Barbero et al., 2015; Muñoz et al., 2016; Congio et al., 2018; de Souza Filho et al., 2019; Savian et al., 2019).

A inclusão de concentrados (Santos et al., 2020; Congio et al., 2021), fontes lipídicas (insaturadas) (Benchaar & Greathead, 2011; Rodrigues et al., 2018), e NO_3^- associado ou não a enxofre elementar (S) (Feng et al., 2020; Natel et al., 2019; Rebelo, 2017b) tem sido utilizada como forma eficiente de manter baixas pressões parciais de di-hidrogênio (H_2) no rúmen, e minimizar a conversão de CO_2 em CH_4 , o que requer H_2 como complemento da reação (Hegarty et al., 2021). Essa supressão na produção de CH_4 (metanogênese) também resulta em maior disponibilidade de energia metabolizável da dieta (Klop et al., 2016; C. Lee et al., 2015b), o que pode resultar em aumento do desempenho animal. Além disso, a inclusão de lipídios na dieta, aumento do nível de concentrado na dieta, suplementação com NO_3^- , são comprovadamente eficazes em sistemas com animais confinados, embora estudos que validem essas tecnologias para ruminantes em condições de pastejo sejam escassos (Congio et al., 2021).

Quantificar a eficácia dos aditivos atenuantes da metanogênese em sistemas de pastejo, em que o consumo de forragem é amplamente variável, torna-se um desafio prioritário para cumprir as metas de mitigação de GEE estabelecidas pelo acordo de Paris de 2015 (UNFCCC, 2015). Além disso, quantificar o potencial de redução de CH_4 de diferentes suplementos para bovinos em diferentes condições de manejo do pastejo pode aliar produção e mitigação de CH_4 (Beauchemin et al., 2008).

Os objetivos deste estudo foram (i) comparar a produção, as características morfológicas, e o valor nutritivo da forragem do capim Mulato II e o impacto nas emissões de metano em uma abordagem que compara métodos de lotação contínua e rotativa impostos em uma condição média da altura do dossel forrageiro; (ii) comparar estratégias de suplementação e as interações com os manejos em relação ao potencial de manipular a cinética e o perfil da fermentação *in vitro* da forragem para mitigar CH_4 entérico em sistemas de pastejo.

3.2. Material e Métodos

3.2.1. Experimento de campo

3.2.1.1. Características do local, delineamento experimental e tratamentos

O estudo foi conduzido de acordo com as normas éticas e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (protocolo nº 2016/24) da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo (USP-ESALQ), Piracicaba, São Paulo, Brasil (22°42' S, 47°37' W, 546 m acima do nível do mar). O período experimental correspondeu a três verões agrostológicos (anos), de 9 de janeiro a 5 de abril de 2017 (Ano 1), de 3 de janeiro a 17 de abril de 2018 (Ano 2) e de 18 de dezembro de 2018 a 23 de abril de 2019 (Ano 3). O solo no local experimental é um Kandiualfic Eutradox, de elevada fertilidade (Soil Survey Staff, 1990). As características químicas médias do solo em profundidade de 20 cm foram: P = 57 mg dm⁻³ (método de extração de resina de troca iônica); matéria orgânica (MO) = 42 g dm⁻³; pH (0,01 mol L⁻¹ CaCl₂) = 5,4; K = 9,9 mmolc dm⁻³; Ca = 53 mmolc dm⁻³; Mg = 22 mmolc dm⁻³; H+Al = 38 mmolc dm⁻³; soma de bases = 84,9 mmolc dm⁻³; capacidade de troca catiônica = 122,9 mmolc dm⁻³; saturação por bases = 69%. As proporções de argila, silte e areia foram 431, 199 e 370 g kg⁻¹, respectivamente. O clima local é classificado como Cfa de acordo com Köppen (Alvares et al., 2013). Os dados meteorológicos do período experimental (Figura 1) foram obtidos em uma estação meteorológica localizada a 2 km do local da pesquisa.

O capim Mulato II foi semeado em janeiro de 2012 conforme descrito por Silva et al. (2016b). Em 21 de outubro de 2016 foi realizado pastejo com desfolhação severa e, em seguida, roçada mecânica a 10 cm de altura e aplicação de 50 kg N ha⁻¹ na forma de NH₄NO₃. Os tratamentos de pastejo foram então aplicados começando cerca de 6 semanas antes do início do período experimental, como um período de adaptação. Entre o final de cada verão agrostológico e o início da próxima estação de crescimento (ou seja, de abril a dezembro de 2017 e de abril a dezembro de 2018), os tratamentos foram mantidos, mas não foram coletados dados.

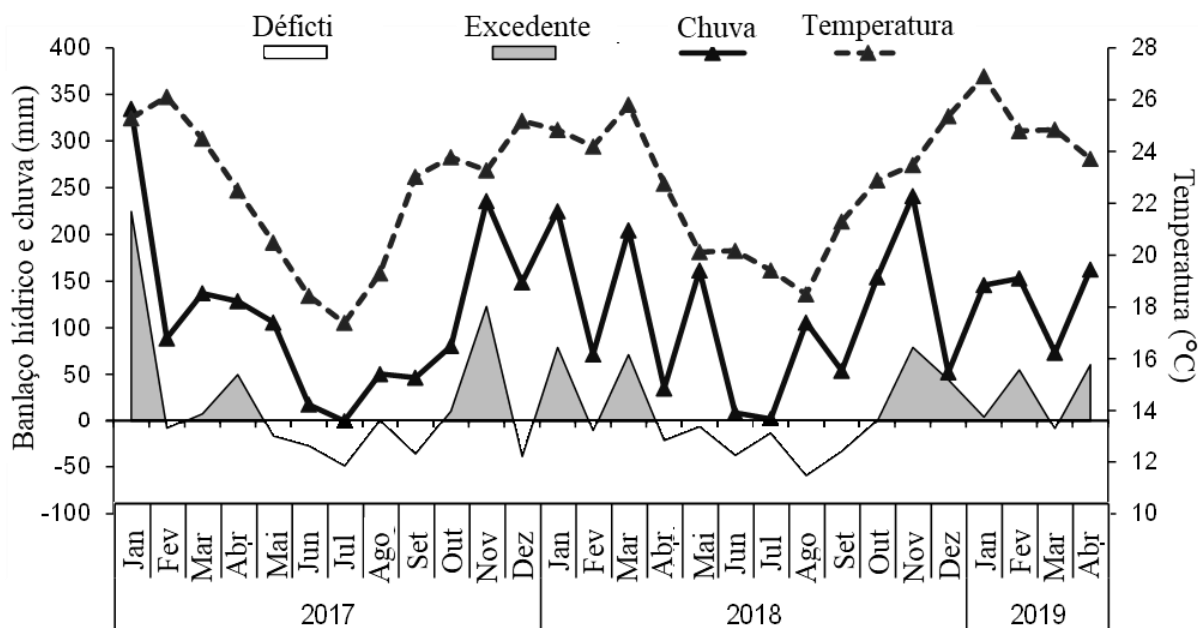


Figura 1. Precipitação mensal (chuva), temperatura do ar e balanço hídrico climatológico para uma capacidade de retenção de água no solo de 40 mm, expressando os períodos com excesso e deficiência hídrica durante o período experimental (jan/2017 a abr/2019) em Piracicaba, Brasil.

O delineamento experimental foi em blocos completos casualizados, com seis tratamentos de estratégias de manejo do pastejo e três repetições, totalizando 18 unidades experimentais (pastagens) de 200 m² cada. As estratégias de manejo (Figura 1) foram: 1) Lotação contínua mimetizada com altura de dossel constante de 20 cm (C20); 2) Lotação contínua mimetizada com altura do dossel constante de 30 cm (C30); 3) Lotação rotativa com desfolhação leniente (redução de 33% na altura do dossel, com pré e pós-pastejo de 24 e 16 cm, respectivamente) com altura média do dossel de 20 cm (RL20); 4) Lotação rotativa com desfolhação leniente (redução de 33% na altura do dossel, com pré e pós-pastejo de 36 e 24 cm, respectivamente) com altura média do dossel de 30 cm (RL30); 5) Lotação rotativa com desfolhação moderada (redução de 47% na altura do dossel, com pré e pós-pastejo de 26 e 14 cm, respectivamente) com altura média do dossel de 20 cm (RM20); e 6) Lotação rotativa com desfolhação moderada (redução de 47% na altura do dossel, com pré e pós-pastejo de 39 e 21 cm, respectivamente) com altura média do dossel de 30 cm (RM30). Nos tratamentos sob lotação contínua, uma variação máxima de 10% na altura do dossel foi tolerada (18-22 cm para dossel de 20 cm e 27-33 cm para dossel de 30 cm).

A altura média do dossel (20 e 30 cm) para cada estratégia de manejo sob lotação rotativa foi definida por: altura média do dossel, cm = (altura da superfície do dossel no pré-pastejo + altura da superfície do dossel no pós-pastejo) / 2.

Os tratamentos foram aplicados utilizando o protocolo de desfolhação do tipo *mob-stocking* com taxa de lotação variável, com eventos de pastejo sempre que necessário para manter a altura do dossel. Vacas leiteiras e novilhas mestiças não prenhes e não lactantes (~450 kg de peso vivo) foram levadas para os pastos sempre que a altura do dossel atingisse o limite superior para o tratamento e retiradas quando a altura atingia o limite inferior. A altura do dossel foi medida três vezes por semana em 50 pontos em cada piquete usando folha de polietileno leve e um bastão graduado.

No primeiro ano, 155 kg K ha⁻¹ e 187 kg N ha⁻¹ foram divididos e distribuídos simultaneamente em todas as unidades experimentais em 9 de janeiro, 4 de fevereiro e 3 de março de 2017. No segundo e terceiro anos, 200 kg de N ha⁻¹ e 166 kg K ha⁻¹ foram divididos aplicados em 4 de janeiro, 23 de janeiro, 27 de fevereiro e 21 de março de 2018 (segundo ano) e em 7 de dezembro de 2018, 8 de janeiro, 19 de fevereiro e 12 de março de 2019 (terceiro ano). A fonte de N foi NH₄NO₃ e a fonte de K foi KCl.

3.2.1.2. Avaliações da pastagem

A Massa de forragem (MF) em cada piquete foi estimada em quatro condições diferentes: Lotação contínua - para avaliar a condição do dossel forrageiro no piquete (fora das gaiolas de exclusão) em cada primeiro dia, amostras de forragem dentro de duas molduras de 0,75 por 0,35 m foram cortadas a 2 cm acima da superfície do solo, e no último dia de cada período de exclusão (21 d) da forragem de duas gaiola de exclusão em cada piquete foram cortadas utilizando uma moldura de 0,75 por 0,35 m e uma tosquiadeira elétrica; Lotação rotativa - no pré e pós-pastejo em cada ciclo de pastejo, cortando toda a forragem a 2 cm acima da superfície do solo dentro de duas molduras de 0,75 por 0,35 m. As amostras cortadas foram pesadas frescas, uma subamostra de 250 g foi retirada e seca em uma estufa de ventilação forçada a 55 °C até o peso constante para determinar o peso seco da amostra. A composição das partes da planta e o IAF foram avaliados a partir de cada amostra cortada para estimar a MF. Uma subamostra fresca foi retirada (~250 g) e separada em folha (lâmina foliar), colmo (pseudocaule e bainha foliar) e material morto. Todos os componentes das partes da planta foram secos separadamente em estufa de ventilação forçada a 55°C até peso constante e pesados. O peso seco de cada fração foi utilizado para determinar a proporção de folhas (%Folha), colmos (%Colmo) e material morto (%Morto) na MF. A soma de todas as frações foi utilizada para determinar a MF.

Em pastagens manejadas sob lotação contínua, o acúmulo de forragem (AF) foi avaliado em duas gaiolas cilíndricas ($0,64 \text{ m}^2$ de área basal) com 1,2 m de altura por piquete, com um período de exclusão de 21 dias conforme descrito por Yassuoka et al. (2021). O acúmulo de forragem foi calculado como a MF dentro das gaiolas ao final de cada período de exclusão menos a MF no piquete no primeiro dia do período (Davies et al., 1993). Nas estratégias de manejo sob lotação rotativa, o AF de cada ciclo foi calculado considerando a diferença entre a MF pré-pastejo de um ciclo e a MF pós-pastejo do ciclo anterior. O AF sazonal total para cada ano foi calculado para cada pastagem como a soma de todos os ciclos de acumulação daquele ano.

Para comparações equivalentes entre as estratégias de manejo sob lotação contínua e rotativa, nos piquetes em lotação rotativa foram calculadas as variáveis referentes a condição média do dossel (pré e pós-pastejo) para a MF, %Folha, %Colmo e %Morto. Os valores foram obtidos por cálculos da média aritmética entre pré e pós-pastejo de cada variável e serão mencionadas como massa de forragem ($MF_{\bar{x}}$), proporção de folhas (%Folha $_{\bar{x}}$), colmo (%Colmo $_{\bar{x}}$) e material morto (%Morto $_{\bar{x}}$) na condição média do dossel.

O intervalo de rebrotação (IR) sob lotação rotativa, corresponde ao intervalo em dias entre o pré e pós-pastejo.

A distribuição vertical dos componentes morfológicos do pasto foi monitorada pelo método ponto inclinado (Warren, 1960). A inclinação utilizada foi de $32,5^\circ$ graus, o quadro do ponto inclinado foi posicionado em áreas representativas da condição do pasto no momento da amostragem (avaliação visual da altura e massa de forragem), sem a presença de animais para evitar perturbações na estrutura do pasto. Em pastagens sob lotação rotativa foi realizada em pré-pastejo. Os componentes morfológicos foram identificados como folha, colmo e material morto. Os componentes foram identificados e sua altura em relação ao nível do solo foi determinada.

3.2.1.3. Análises químicas das amostras de forragem e cálculos de estimativas

Nos piquetes sob lotação contínua, amostras de forragem foram colhidas utilizando a técnica de pastejo simulado a cada 21 dias após observação do comportamento de pastejo dos animais, e nos lotação rotativa as amostras foram coletadas na camada de pastejo no pré-pastejo a cada ciclo de rebrotação (Sollenberger & Cherney, 1995). Foram selecionados 50 pontos de amostragem que representavam a condição média do dossel. As amostras de forragem foram

subamostradas (~500 g), secas em uma estufa de circulação forçada de ar a 55°C até peso constante e moídas a 1 mm em um moinho de facas. As amostras de forragem coletadas e devidamente preparadas foram utilizadas para caracterização químico-bromatológica e para ensaios de incubação *in vitro*.

Os teores de matéria seca (MS) (método 967.03), matéria mineral (MM) (método 942.05), proteína bruta (PB) (método 920.29), extrato etéreo (EE) (método 981.10) das amostras foram determinados de acordo com os procedimentos AOAC, (1990). A concentração de nitrogênio foi medida usando a técnica de micro-Kjeldahl (Gallaher et al., 1975). A concentração de nitrogênio digerida foi determinada por colorimetria semiautomática (Hambleton, 1977) e a concentração de PB na forragem foi calculada como $N \times 6,25$. A concentração de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram determinadas de acordo com a Técnica A2000 Ankom Fiber Analyzer - Método 13 (ANKOM Technology, 2014). Para a determinação da lignina em detergente ácido (LDA) foi utilizando ácido sulfúrico a 72% (Van Soest, 1967). Os teores de hemicelulose e celulose foram obtidos pela diferença entre FDN-FDA e FDA-LDA, respectivamente. Nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) e nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), de acordo com as técnicas descritas por (Licitra et al., 1996).

A proteína bruta digestível (PBd) foi estimada de acordo com a equação descrita no NRC (2001): $PBd = PB \times \exp [-1,2 \times (NIDA/PB)]$. A PB foi dividida nas frações A, B1, B2, B3 e C (A_{PB} , $B1_{PB}$, $B2_{PB}$, $B3_{PB}$ e C_{PB} , respectivamente), de acordo com a metodologia descrita por Licitra et al. (1996). Para determinar a fração A_{PB} , foi utilizada solução de ácido tricloroacético (ATC) a 10%. A solução de borato-fosfato foi utilizada para determinar a fração $B1_{PB}$, pois esta fração possui alta solubilidade. A fração $B2_{PB}$ foi determinada por cálculo $1 - (A_{PB} + B1_{PB} + B3_{PB} + C_{PB})$, a fração $B3_{PB}$ foi determinada por cálculo $(NIDN - NIDA)$ e a fração C foi determinada considerando a PB ligado à lignina e compostos de Maillard (NIDA).

Os carboidratos foram determinados de acordo com Sniffen et al. (1992) e divididos em carboidratos totais (CT), carboidratos não fibrosos (CNF), fração B2 ($B2_{CHO}$) e C (C_{CHO}) dos carboidratos: $CT = 100 - (PB + EE + MM)$; $CNF = CT - FDN$; Fração B2 = $FDN - \text{Fração C}$; Fração C = $2,4 \times LDA$ (Smith et al., 1972), onde cinzas = cinzas brutas e EE = extrato etéreo.

3.2.2. Experimento de incubação *in vitro*

3.2.2.1. Condições da incubação *in vitro*, delineamento experimental e tratamentos

As amostras de forragem colhidas de cada piquete foram utilizadas como substrato na incubação *in vitro* sem suplementação ou em quatro estratégias distintas de suplementação, seguindo um arranjo fatorial 6×5, totalizando 30 tratamentos. As estratégias de suplementação *in vitro* foram: a) Forragem das estratégias de manejo sem suplementação (Controle); b) 2% de NO₃⁻ + 0,24% S elementar (NS) no consumo de matéria seca (CMS) total; c) 60 g de óleo de soja (OS) por kg da CMS; d) 5% de concentrado na forma de farelo de milho (FM) no CMS total; e) 60 g de OS por kg do CMS + 5% de FM no CMS total.

As fontes de NO₃⁻ utilizadas foram 50% de NO₃⁻ de cálcio [Ca (NO₃)₂] e 50% de NO₃⁻ de amônio [NH₄NO₃].

Os suplementos foram moídos a 1 mm para ser utilizados na incubação *in vitro*. As dietas foram formuladas para atender às exigências para um ganho diário de 800 g d⁻¹, de acordo com o BR-Corte, o sistema brasileiro de exigências nutricionais para bovinos de corte. Assumimos como referência um novilho Nelore com peso médio de 350 kg em pastejo durante a estação chuvosa. O CMS foi estimado usando a seguinte equação (Azevêdo et al., 2016):

$$\text{CMS (kg dia}^{-1}\text{)} = -17824 + 0,07765 \times \text{PV}^{0,75} + 4,0415 \times \text{GMD} - 0,8973 \times \text{GMD}^2$$

onde PV^{0,75} = peso vivo metabólico (kg); e GMD = ganho médio diário (kg dia⁻¹).

Duas amostras utilizando a técnica A2000 Ankom Fiber Analyzer - Método 13 (ANKOM Technology, 2014) foram pesadas individualmente e adicionadas 1 g de substrato (forragem + suplemento ou controle), de acordo com cada tratamento. Na sequência, cada filtro A2000 Ankom Fiber Analyzer contendo substrato foi colocado nos frascos de vidro. Devido ao grande número de amostras, as incubações *in vitro* foram organizadas em seis ensaios. Na matriz, os tratamentos (forragem + suplemento ou controle), as repetições de três blocos de campo e três anos (experimento de campo), e dois inóculos.

O conteúdo ruminal foi coletado, antes da alimentação matinal, de seis ovinos Santa Inês canulados com 55 kg PV médio. Os animais foram alimentados individualmente e *ad libitum* duas vezes ao dia (7:00 e 16:00 h) com água, mistura mineral-vitamina e dieta com feno de Tifton 85. O conteúdo ruminal de três animais diferentes foi usado para fazer um pool em cada inóculo por incubação *in vitro*. O líquido ruminal e a fração de sólidos foram coletados separadamente em cada animal e mantidos em recipientes térmicos pré-aquecidos em condições anaeróbicas. A fração líquida foi obtida inserindo-se uma sonda de aço inoxidável (tamanho

dos poros de 2,5 mm) acoplada a uma seringa de 60 ml. A fração sólida foi amostrada diretamente da cânula ruminal usando uma pinça grande. Volumes semelhantes (50:50 v/v) de ambas as frações foram misturados por 10s em um mixer, filtrados através de três camadas de gaze e mantidos em banho-maria a 39°C sob CO₂ até o momento da incubação.

Cada amostra foi incubada repetidamente em dois inóculos diferentes, um em cada ensaio de incubação *in vitro* (Figura 2). Para cada inóculo, foram incluídos frascos brancos (sem substrato, contendo apenas inóculo e meio) para correção da produção de gás e dados de degradabilidade. Um padrão interno de feno de Tifton 85 (*Cynodon spp.*), substrato com parâmetros de incubação *in vitro* conhecidos em nossas condições de laboratório, foi incluído para monitorar as condições de incubação. Foram realizados um total de seis ensaios de incubação *in vitro* (Figura 2).

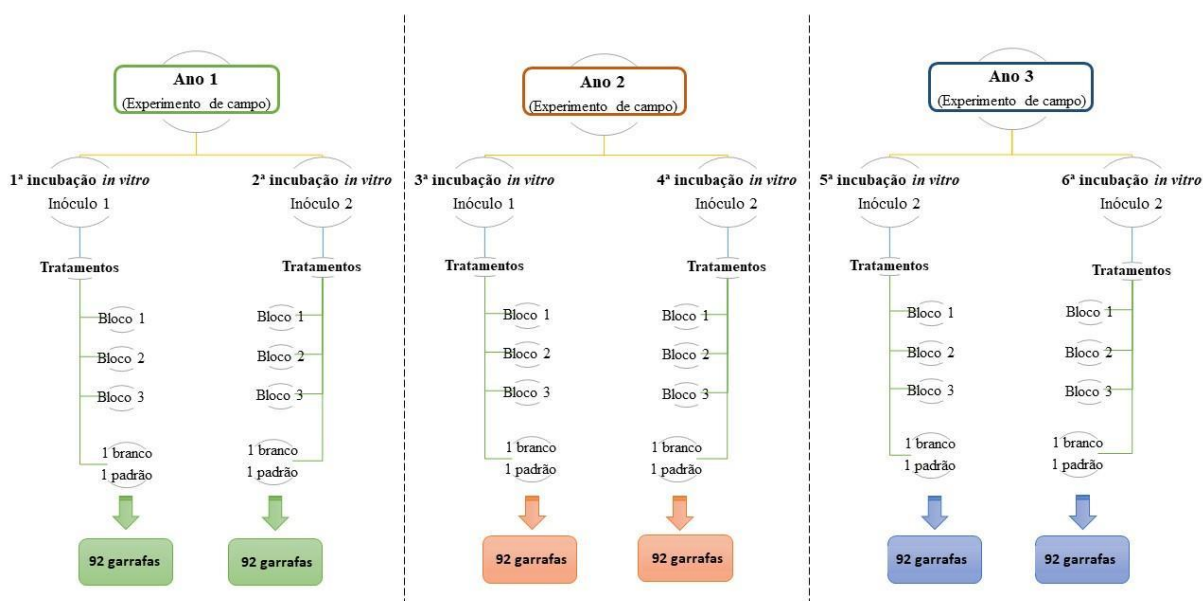


Figura 2. Arranjo dos seis ensaios de incubação *in vitro* do capim Mulato II comparando estratégias de manejo sob lotação contínua e rotativa, e suplementações associadas à forragem.

A incubação *in vitro* foi realizada de acordo com metodologia descrita por Theodoro et al. (1994), adaptado para um sistema semi-automático (Maurício et al., 1999) com modificações realizadas no laboratório (Bueno et al., 2005; Longo et al., 2006) utilizando um transdutor de pressão e registrador de dados (Pressure Press 800, LANA, CENA/USP, Piracicaba, SP, Brasil). Frascos de vidro com 160 ml de volume total e 85 ml de espaço livre foram preenchidos sequencialmente com 1g de substrato seco ao ar, 50 ml de meio de incubação

(tampão de meio de Theodorou descrito em Preston (2008)) e 25 ml de inóculo. Os frascos foram selados imediatamente com rolhas de septo butílico de 20 mm (Bellco Glass Inc., Vineland, NJ, EUA), misturados manualmente e incubados em estufa com circulação forçada de ar a 39°C (Marconi MA35, Piracicaba, SP, Brasil) por 48 horas.

A pressão do gás foi medida nos tempos 0, 2, 4, 8, 14, 24, 30, 36 e 48 horas de incubação. Após 48 horas, os frascos foram colocados em água fria para cessar a fermentação. Amostras do líquido ruminal dos frascos foram congeladas (-4°C) individualmente no final da incubação para posterior análise.

3.2.2.2. Gás produzido e avaliações de metano

O volume total de gás produzido foi calculado para as condições laboratoriais da incubação, definida pela equação:

$$V = 5,96 \times p - 0,89 \quad (n = 138; r^2 = 0,994)$$

Onde V = volume de gás (mL); p = pressão medida (psi). A produção de gás total (PGT) às 24 e 48 horas de incubação foi considerada a soma da produção parcial de gás em cada intervalo de tempo.

Para determinação do metano, as coletas de gases foram fracionadas em dois pools de amostras contendo 10 ml e cada uma foi armazenada em tubo de vácuo após as medições de gás. No primeiro pool foram coletados 2 ml de gás amostrados após cada medição de gás nos tempos 2, 4, 8, 14 e 24, resultando no pool de amostra do intervalo de 0-24h. No segundo pool foi coletado 3,33 ml de gás que foram amostrados após cada medição de gás nos tempos de 30, 36 e 48h, resultando em um pool de amostra do intervalo de 24-48h. Uma seringa cirúrgica de 5 ml foi usada para amostragem de gás. Depois disso, os frascos foram ventilados, agitados e devolvidos à estufa. A concentração de metano no gás coletado foi determinada na amostra do pool de cada frasco usando um cromatógrafo a gás (Shimadzu 2014, Tóquio, Japão) equipado com coluna micro-empacotada Shincarbon ST 100/120 (1,5875 mm OD × 1,0 mm ID × 1 m comprimento; Ref. nº 19809; Restek, Bellefonte, PA). As temperaturas da coluna, injetor e FID foram de 60°C, 200°C e 240°C, respectivamente. Hélio a 10 ml/min foi o gás de arraste. A concentração de metano foi determinada por calibração externa utilizando uma curva analítica (0, 30, 90 e 120 ml/L) preparada com metano puro (White Martins PRAXAIR Gases Industriais Inc., Osasco, SP, Brasil; pureza 99,5 ml/L). A produção de metano (CH₄P) foi calculada de acordo com Longo et al. (2006):

$$\text{CH}_4\text{P, ml} = (\text{Gás total, ml} + \text{Headspace, 85ml}) \times \text{concentração de CH}_4, \text{ ml/ml.}$$

Posteriormente, os valores do volume da PGT e da CH₄P foram usados para calcular a %CH₄P em 100 mL de gás produzido.

Os valores de PGT e CH₄ dos frascos “brancos” não foram subtraídos dos resultados de cada amostra, mas os valores dos brancos para PGT foram de 26,08 mL g MOVD⁻¹ e de CH₄ foi 4,56 mL g MOVD⁻¹ para eventuais correções, conforme sugerido por Williams (2000).

3.2.2.3. Degradabilidade *in vitro* e eficiência microbiana

Após 48 horas de incubação, as garrafas de incubação foram imediatamente colocadas em recipiente com gelo para cessar a fermentação e determinar a matéria seca degradada. Os filtros contendo as amostras residuais foram retirados dos frascos de incubação e submetidos ao procedimento de FDN, usando o procedimento de análises de fibras (Tecnal TE-149, Piracicaba, Brasil) de acordo com Van Soest et. al. (1991) e adaptado por Mertens et al. (2002). A degradabilidade verdadeira da matéria seca *in vitro* foi a diferença entre a quantidade de MS incubada e MS residual. A MO foi determinada após incineração do resíduo a 550°C por 4 h e após correção usando resíduo de MO do branco. A diferença entre a quantidade de MO incubada e a MO residual foi considerada como matéria orgânica verdadeiramente degradada *in vitro* (MOVD), e a diferença entre a quantidade de FDN incubada e FDN restante foi calculada como FDN degradada (FDND). A razão entre MOVD (mg) e produção de gás total (mL) em 48 horas foi usada como estimativa da eficiência microbiana (PF: Fator de Partição) (Blümmel et al., 1997).

3.2.2.4. pH do líquido ruminal, nitrogênio amoniacal e ácidos graxos voláteis

Ao final do período de incubação, foi medido o pH das amostras com um pHmetro digital (PH-206 Lutron, Piracicaba, Brasil).

Amostras do líquido ruminal previamente congeladas em frascos de vidro após o período de incubação foram descongeladas e subamostradas com pipeta de 5 ml para análise de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) e ácidos graxos voláteis (AGV). As mudanças líquidas de liberação de N-NH₃ foram analisadas por micro-Kjeldahl usando destilação a vapor com solução de tetra borato de sódio (5%), coletada em solução de ácido bórico e determinada por titulação com solução ácida de ácido sulfúrico (0,01 N), de acordo com Preston (1995).

As concentrações de AGV foram determinadas por cromatografia gasosa seguindo metodologia descrita por Palmquist e Conrad (1971), adaptada por Lima et al. (2018).

3.2.3. Análise estatística

Os dados foram analisados usando o procedimento PROC MIXED do SAS (versão 9.4, SAS Institute) (Littel et al., 2006). As matrizes de variância e covariância foram selecionadas usando o Critério de Informação de Akaike (AIC) (Wolfinger & O'Connell, 1993). Preditores lineares e gráficos quantil-quantil dos resíduos foram usados para verificar a homogeneidade da variância e a normalidade dos erros. As médias dos tratamentos foram estimadas usando LSMEANS e comparadas pela probabilidade de diferença (PDIFF) usando o teste t de Student ($P < 0,05$).

Para os dados do *experimento de campo*, os efeitos das estratégias de manejo foram considerados fixos e o efeito bloco e anos foram considerados aleatórios, conforme segue o modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + M_i + B_j + a_k + A_l + \varepsilon_{ijkl}$$

Onde: Y_{ijkl} = resposta esperada; μ = média geral; M_i = efeito fixo das estratégias de manejo i ; B_j = efeito de bloco aleatório (repetição) $j \sim \text{NID}(0, \sigma^2 b)$; a_{ij} = erro associado às estratégias de manejo i , no bloco $j \sim \text{NID}(0, \sigma^2 a)$; A_l = efeito de ano aleatório m ; e ε_{ijkl} = erro experimental $\sim \text{ND}(0, \sigma^2 \varepsilon)$.

Para a determinação dos parâmetros cinéticos de fermentação foi utilizado o modelo de crescimento de Gompertz (Schofield et al., 1994), de acordo com o melhor ajuste utilizando o procedimento do SAS (versão 9.4, SAS Institute). Neste modelo, Vt é a produção acumulada de gás (ml) ao longo do tempo (t ; h):

$$Vt = Vf \exp \{- \exp [1 + ke (\lambda - t)]\} + \varepsilon$$

O modelo unicompartmental de Gompertz, representado por Vf como o volume de gás assintótico alcançado para substratos de único pool, com tempo de lag time (λ ; h), e taxa de digestão fracionária (k ; h^{-1}) constante. O termo e é a base dos logaritmos naturais e ε o erro aleatório do modelo.

A seleção do melhor modelo foi avaliada pelo cálculo do IAC corrigido (AICc; Akaike, 1974). O AICc foi calculado pela soma dos erros quadráticos, o número de parâmetros estimados incluindo a variância residual e o tamanho da amostra.

A análise estatística dos parâmetros estimados da cinética de fermentação e as demais variáveis de incubação *in vitro* foram analisadas utilizando o modelo que considera as

estratégias de manejo e suplementação, e sua interação como efeitos fixos. As interações não mencionadas no texto não foram significativas ($P > 0,05$). Efeito de inóculo, bloco e ano foram considerados aleatórios, de acordo com o modelo:

$$Y_{ijklm} = \mu + M_i + S_j + (MS)_{ij} + B_k + a_{ijk} + I_l + g_{ijkl} + A_m + \varepsilon_{ijklm}$$

onde: Y_{ijklm} = resposta esperada; μ = média geral; M_i = efeito fixo das estratégias de manejo i ; S_j = efeito fixo das estratégias de suplementação j ; $(MS)_{ij}$ = interação ij (estratégias de manejo \times estratégias de suplementação); B_k = efeito de bloco aleatório (repetição) $k \sim \text{NID}(0, \sigma^2 b)$; a_{ijk} = erro associado as estratégias de manejo i , suplemento j , e suas interações ij , no bloco $k \sim \text{NID}(0, \sigma^2 a)$; I_l = efeito aleatório do inóculo l ; g_{ijkl} = erro associado as estratégias de manejo i , estratégias de suplementação j , e suas interações ij , no bloco k e inóculo $l \sim \text{N}(0, \sigma^2 g)$; A_m = efeito de ano aleatório m ; e ε_{ijklm} = erro experimental $\sim \text{ND}(0, \sigma^2 \varepsilon)$.

3.3. Resultados

3.3.1. Acúmulo de forragem, características morfológicas do dossel e intervalos de rebrotação

O acúmulo de forragem (AF) não foi afetado pelas estratégias de pastejo ($P = 0,1720$). Os valores médios de AF foram $8.870 \pm 807 \text{ kg MS ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$. As estratégias de manejo impactaram na $MF_{\bar{x}}$ ($P < 0,0001$), com incrementos significativos nos tratamentos C30, RL30 e RM30 comparados aos manejos C20, RL20 e RM20 (Tabela 1). Os principais efeitos do aumento da $MF_{\bar{x}}$ foram as maiores $\%Colmo_{\bar{x}}$ ($P < 0,0001$; Tabela 1), enquanto a $\%Folha_{\bar{x}}$ e $\%Morto_{\bar{x}}$ não diferiram entre as estratégias de manejo ($P = 0,0585$ e $P = 0,0505$, respectivamente). Os valores médios da $\%Folha_{\bar{x}}$ e $\%Morto_{\bar{x}}$ na MF foram de $29\% \pm 1,33$ e $41\% \pm 2,96$, respectivamente. Os maiores incrementos nos valores da $\%Colmo_{\bar{x}}$ foram nos manejos RL30 e RM30, seguido do C30.

Na lotação rotativa os intervalos de rebrotação (IR) foram afetados pelas estratégias de manejo ($P < 0,0001$). Os tratamentos RL20 e RM30 foram os manejos com menor e maior IR, respectivamente, com 32 dias de diferença (Tabela 1). Os manejos RM20 e RL30 resultaram em IR semelhantes de 33,5 dias em média, o que equivale um IR maior em 10,5 dias em relação ao RL20 e uma redução de 21,5 dias comparado ao RM30 (Tabela 1).

Tabela 1. Intervalo de rebrotação (IR), massa de forragem média (MF \bar{x}), proporção média de colmo (%Colmo \bar{x}) do dossel forrageiro de capim Mulato II manejado em alturas médias de 20 ou 30 cm sob lotação contínua (C) e rotativa com severidade de desfolhação leniente (RL) ou moderada (RM) em Piracicaba, Brasil.

Variáveis	Estratégias de manejo						‡EPM	†P valor
	C20	RL20	RM20	C30	RL30	RM30		
MF \bar{x} , kg MS ha $^{-1}$	6520b	5840bc	5510c	8300a	7910a	7650a	459	<,0001
IR, dia	-	23c	35b	-	32b	55a	2,8	<,0001
%Colmo \bar{x}	27c	28c	29bc	30b	32a	33a	1,95	<,0001

†As médias dentro das linhas seguidas da letra diferente diferem pelo teste 't' ($p < 0.05$). ‡ EPM: erro padrão da média.

Na distribuição vertical dos componentes morfológicos no estrato de pastejo, apenas os manejos RM20 e RM30 apresentaram colmo e material morto na composição. As proporções médias de colmo foram de 0,3% e 0,8%, e as de material morto foram de 1% e 2,7%, respectivamente (Figura 3). A participação desses componentes reduziu a proporção de folhas para 98,6% e 96,5% no RM20 e RM30, respectivamente. Nas demais estratégias de manejo, foram quantificadas 100% de folhas no estrato pastejado (Figura 3).

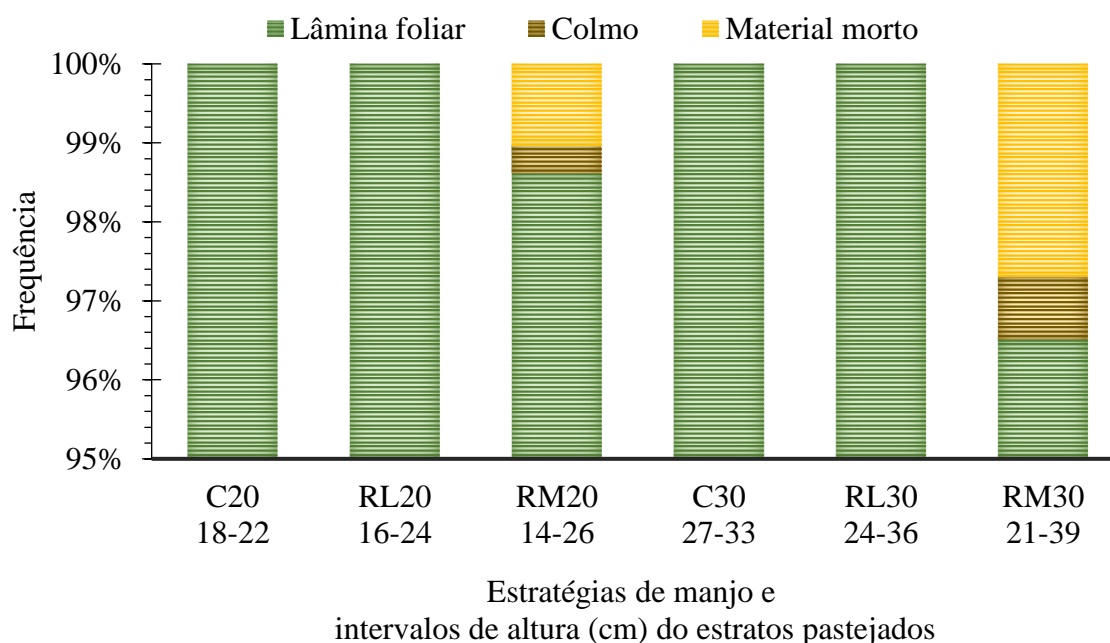


Figura 3. Distribuição vertical dos componentes morfológicos no estrato pastejado do dossel forrageiro de capim Mulato II manejado em alturas médias de 20 ou 30 cm sob lotação contínua (C) e rotativa com severidade de desfolhação leniente (RL) ou moderada (RM) em Piracicaba, Brasil.

3.3.2. Caracterização bromatológica da forragem no estrato de pastejo e o fracionamento de proteínas e carboidratos de acordo com o modelo do CNCPS

Na composição química da forragem, as estratégias de manejo não afetaram a MM ($P = 0,1800$) e a MO ($P = 0,1800$), mesmo com aumento da MS no RM30 ($P = 0,0141$). Os valores médios de MO e MM foram $877 \pm 2,3$ e $123 \pm 2,3$ g kg⁻¹ MS, respectivamente. Apenas a estratégia de manejo RM30 foi afetada na concentração de EE ($P = 0,0390$), e foi em média de 16,7% menor em relação aos demais tratamentos de manejo.

Na composição da parede celular, as estratégias de manejo afetaram a concentração de CEL ($P = 0,0112$), o que determinou variações em FDN ($P < 0,0001$) e FDA ($P < 0,0001$). Entre os carboidratos da parede celular, a CEL, o FDN e o FDA aumentaram 14%, 6% e 11%, respectivamente, no RM30 em comparação às concentrações mais baixas nos manejos C20 e C30 (Tabela 2). O FDN, em particular, foi tão alto no manejo RM20 quanto na estratégia RM30 (Tabela 2). A HEMI e a Lignina não foram afetadas pelas estratégias de manejo ($P = 0,2668$ e $P = 0,1219$). Os valores médios de HEMI e Lignina foram $33 \pm 5,3$ e $42 \pm 3,5$ g kg⁻¹ MS, respectivamente.

O efeito das estratégias de manejo na composição da parede celular afetou a fração B_{2CHO} ($P < 0,0001$), e determinou variações nos CT ($P < 0,0001$) entre os tratamentos. O aumento de 9% na fração B_{2CHO} foi determinante para incrementos de 7% dos CT do manejo RM30 em contraste com o manejo C20 (Tabela 2). As estratégias de manejo não afetaram os CNF ($P = 0,1152$) e as frações C_{CHO} ($P = 0,0709$). Os valores médios de CNF e da fração C_{CHO} foram de $56 \pm 14,6$ e $102 \pm 8,1$ g kg⁻¹ dos CT, respectivamente.

A concentração de PB foi afetada pelas estratégias de manejo ($P < 0,0001$), assim como as concentrações das frações proteicas B_{3PB} ($P = 0,0052$) e C_{PB} ($P = 0,0450$), e resultaram em alterações na PBd ($P < 0,0001$). A concentração de PB foi maior no C20 do que no RM20, assim como no manejo C30 para RM30. As estratégias mais contrastantes foram C20 e RM30, com maior e menor valores de PB respectivamente, e uma diferença de 33% no teor de PB entre elas (Tabela 3). A redução da PB não afetou a maioria das estratégias de manejo nas frações B_{3PB} e C_{PB}, exceto o manejo RM30 que resultou em redução de 22% da fração B_{3PB} e aumentou 32% a fração C_{PB} em comparação a média das demais estratégias de manejo (Tabela 3). As estratégias de manejo C20, RL20, RM20 e C30 resultaram nas maiores frações de PBd (Tabela 3). As frações proteicas A_{PB}, B_{1PB} e B_{2PB} não foram afetadas pelas estratégias de manejo ($P = 0,9461$, $P = 0,0574$ e $P = 0,2239$, respectivamente). Os valores médios das concentrações de A_{PB}, B_{1PB} e B_{2PB} foram 148 ± 15 , 100 ± 27 e 393 ± 41 g kg⁻¹ PB, respectivamente.

Tabela 2. Matéria seca (MS), extrato etéreo (EE), composição da parede celular e fracionamento dos carboidratos de acordo com o modelo Cornell Net Carbohydrate and Protein System (CNCPS) da forragem de capim Mulato II manejado em alturas médias de 20 ou 30 cm sob lotação contínua (C) e rotativa com severidade de desfolhação leniente (RL) ou moderada (RM) em Piracicaba, Brasil.

Variáveis	Estratégias de manejo						‡EPM	†P valor
	C20	RL20	RM20	C30	RL30	RM30		
MS, g kg ⁻¹	907b	907b	907b	906b	908b	912a	1,5	0,0141
EE, g kg ⁻¹ DM	31a	27ab	30a	32a	30a	25b	1,9	0,0390
Composição da parede celular								
FDN _{mo} , g kg ⁻¹ DM	624bc	638bc	645ab	622c	636bc	662a	10,3	0,0112
FDA _{mo} , g kg ⁻¹ DM	295c	309b	312b	293c	314b	329a	7,4	<,0001
CEL, g kg ⁻¹ DM	252c	267b	265b	250c	273b	293a	5,7	<,0001
‡Fracionamento de carboidratos de acordo com o modelo CNCPS								
CT, g kg ⁻¹ DM	694 c	712 b	725 b	711 b	716 b	748 a	6,4	<,0001
Fração B2 _{CHO} , g kg ⁻¹ CT	551b	562b	551b	546b	564b	603a	7,1	<,0001

FDN, fibra solúvel em detergente neutro livre de cinzas; FDA, fibra solúvel em detergente ácido livre de cinzas; CEL, celulose; Fração calculada ‡CNCPS: TC, total de carboidratos; e fração de carboidratos B2, B2_{CHO}. †Médias seguidas por uma letra comum dentro das linhas não diferem pelo teste t (P < .05). ‡EPM, erro padrão da média.

Tabela 3. Concentração e digestibilidade estimada (PBd) da proteína bruta (PB), e fracionamento da PB de acordo com o modelo Cornell Net Carbohydrate and Protein System (CNCPS) da forrageiro de capim Mulato II manejado em alturas médias de 20 ou 30 cm sob lotação contínua (C) e rotativa com severidade de desfolhação leniente (RL) ou moderada (RM) em Piracicaba, Brasil.

Variáveis	Estratégias de manejo						‡EPM	†P valor
	C20	RL20	RM20	C30	RL30	RM30		
PB, g kg ⁻¹ MS	150a	137ab	126b	135b	129b	100c	4,9	<,0001
PBd, g kg ⁻¹ MS	65 a	53 ab	52 ab	62 ab	47 b	19 c	6,0	<,0001
‡Fracionamento da proteína bruta de acordo com o modelo CNCPS								
Fração B3 _{PB} , g kg ⁻¹ PB	344 a	337 a	313 a	331 a	303 a	256 b	38,1	0,0052
Fração C _{PB} , g kg ⁻¹ PB	50 b	51 b	44 b	43 b	43 b	68 a	6,4	0,0450

‡Frações calculadas CNCPS: fração B3 da proteína bruta, B3_{PB} e fração C da proteína bruta, C_{PB}. †Médias seguidas por uma letra comum dentro das linhas não diferem pelo teste t (P < .05). ‡EPM, erro padrão da média.

3.3.3. Perfil e parâmetros cinéticos da fermentação *in vitro* e produção de metano

Nos parâmetros cinéticos da fermentação em 48h, não houve efeito de estratégia de manejo na taxa de digestão (P = 0,2144) e no *lag time* (P = 0,0659), mas alterou o Vf (P = 0,0008; Tabela 4). Os valores médios da taxa de digestão e do *lag time* foram de 0,083 ± 0,002 h⁻¹ e 1,06 ± 0,11 h, respectivamente, para as estratégias de manejo. A suplementação afetou a taxa de digestão (P < 0,0001), o *lag time* (P < 0,0001) e o Vf foram variados entre os tratamentos (P < 0,0001) (Tabela 5).

As estratégias de manejo afetaram a MOVD ($P < 0,0001$) e a FDND ($P = 0,0486$). Os manejos C20 e RM30 resultaram na maior e na menor MOVD, respectivamente, e valores intermediários nos tratamentos RL20, RM20, C30 e RL30 (Tabela 4). A FDND foi maior nos manejos C20, RL20 e RM20 comparado aos C30, RL30 e RM30, mas não diferiram entre tratamentos com mesma altura média do dossel (Tabela 4). A inclusão de suplementos afetou a MOVD ($P < 0,0001$) e a FDND ($P < 0,0001$). A estratégia com inclusão de OS+FM resultou na maior e o NS na menor MOVD. No entanto, em relação a FDND, os maiores valores foram registrados no tratamento controle e na inclusão de SO, e o NS permaneceu com a menor degradabilidade (Tabela 5).

O fator de partição diferiu entre as estratégias de manejo e de suplementação ($P < 0,0001$, em ambos; Tabela 4 e 5). O maior contraste na eficiência microbiana foi entre os tratamentos com suplementação, com maior FP na estratégia NS e menor na forragem controle.

Tabela 4. Matéria orgânica (MOVD) e fibra em detergente neutro (FDND) verdadeiramente degradada *in vitro*, volume de gás cumulativo assintótico (Vf), fator de partição (PF) e produção de metano do capim Mulato II manejado em alturas médias de 20 ou 30 cm sob lotação contínua (C) e rotativa com severidade de desfolhação leniente (RL) ou moderada (RM) em Piracicaba, Brasil.

Variáveis	Estratégias de manejo						‡EPM	†P valor
	C20	RL20	RM20	C30	RL30	RM30		
FDND, g Kg ⁻¹	395a	383a	372ab	373ab	372ab	353b	12,03	0,0486
MOVD, g Kg ⁻¹	601a	581b	578b	587b	578b	550c	12,50	<,0001
Parâmetro cinético da fermentação, 48 h de incubação								
Vf, mL g MOVD ⁻¹	200,3 c	206,5 b	203,5b c	205,1b c	208,1a b	212,8 a	7,14	0,0008
Parâmetros Ruminais, 48 h de incubação								
N-NH ₃ ⁻ , mg dL ⁻¹	42,7a	41,0b	41,4ab	41,3b	40,1b	38,7c	0,01	<,0001
CH ₄ P _{FDN} 48h, mL g FDN ⁻¹	6,6a	6,0bc	5,7c	6,3ab	6,0bc	5,5c	0,27	0,0017
FP, mg MOVD mL PGT ⁻¹	2,3a	2,2b	2,2b	2,2b	2,2b	2,0c	0,09	<,0001

CH₄P_{NDF} 48h, total de metano produzido em 48 horas por g de FDN; †As médias dentro das linhas seguidas da letra diferente diferem pelo teste 't' ($p < 0,05$). ‡ EPM: erro padrão da média.

Tabela 5. Matéria orgânica (MOVD) e fibra em detergente neutro (FDND) verdadeiramente degradada *in vitro*, fator de partição (PF) e produção de metano comparando a forragem de capim Mulato II sem suplemento (Controle) com estratégias de suplementação que incluem: 1) $\text{NO}_3^- + \text{S}$ elementar (NS), 2) óleo de soja (OS), 3) farelo de milho (FM) e 4) óleo de soja+farelo de milho (OS+FM).

Variáveis	Suplementação					‡EPM	†P-valor
	Controle	NS	OS	FM	OS+FM		
FDND, g Kg	447a	276c	424a	373b	352b	11,4	<,0001
MOVD g Kg	584c	505d	592bc	600b	614a	12,3	<,0001
$\text{CH}_4\text{P}_{\text{MOVD}}$ 48h, mL g MOVD^{-1}	25,1a	2,8d	23,0bc	23,3b	22,2c	1,08	<,0001
$\text{CH}_4\text{P}_{\text{FDN}}$ 48h, mL g FDN^{-1}	8,8a	0,6e	7,7b	6,7c	6,2d	0,26	<,0001
FP, mg MOVD mL GPT^{-1}	1,9e	2,7a	2,1c	2,0d	2,2b	0,17	<,0001

$\text{CH}_4\text{P}_{\text{MOVD}}$, total de metano produzido em 48 horas por g de MOVD; $\text{CH}_4\text{P}_{\text{FDN}}$ 48h, total de metano produzido em 48 horas por g de FDN. †As médias dentro das linhas seguidas da letra diferente diferem pelo teste 't' ($p < 0.05$). ‡ EPM: erro padrão da média.

Tabela 6. Cinética da fermentação e parâmetros ruminiais comparando a forragem de capim Mulato II sem suplemento (Controle) com estratégias de suplementação que incluem: 1) $\text{NO}_3^- + \text{S}$ elementar (NS), 2) óleo de soja (OS), 3) farelo de milho (FM) e 4) óleo de soja+farelo de milho (OS+FM).

Variáveis	Suplementação					‡EPM	†P-valor
	Controle	NS	OS	FM	OS+FM		
¶Parâmetros cinéticos da fermentação, 48 h de incubação							
Vf, mL g MOVD^{-1}	235,9a	123,6c	213,7b	217,7b	239,3a	7,09	<,0001
Taxa de digestão, h^{-1}	0,080b	0,090a	0,080b	0,086ab	0,086ab	0,003	<,0001
Lag time, h	1,46a	0,02c	1,44a	1,19b	1,21b	0,108	<,0001
Parâmetros Ruminiais, 48 h de incubação							
pH	6,56b	6,84a	6,56b	6,47c	6,50c	0,073	<,0001
N-NH_3^- , mg dL^{-1}	37,2b	54,0a	37,5b	37,8b	37,8b	0,001	<,0001
AGV, mM L^{-1}	139,8bc	116,5d	134,9c	145,9a	143,9ab	19,0	<,0001
c3, mM mol^{-1}	27,7b	16,3c	27,3b	34,2a	33,3a	3,68	<,0001
c4, mM mol^{-1}	13,09b	3,40c	12,90b	15,90a	15,80a	1,26	<,0001
2c4i, mM mol^{-1}	11,70ab	11,95a	11,70ab	11,35b	11,43b	1,09	0,0096
c4i, mM mol^{-1}	0,29a	0,27a	0,28a	0,18b	0,19b	0,14	<,0001
c5, mM mol^{-1}	1,21b	0,57c	1,22b	1,73a	1,65a	0,17	<,0001
c5i, mM mol^{-1}	1,83a	1,68b	1,84a	1,79a	1,80a	0,26	0,0062

¶, Variáveis preditas usando o modelo unicompartmental de Gompertz em dados de produção de gás *in vitro*: Vf, volume de gás cumulativo assintótico. N-NH_3^- , nitrogênio amoniacal; AGV, concentração total de ácidos graxos voláteis (acetato, propionato e butirato); c3, propionato; c4, butirato; 2c4i, 2-etilbutirato; c4i, etilbutirato; c5, valerato; e c5i, etilvalerato. †As médias dentro das linhas seguidas da letra diferente diferem pelo teste 't' ($p < 0.05$). ‡ EPM: erro padrão da média.

O nitrogênio amoniacal foi afetado pela estratégia de manejo ($P < 0,0001$) e pela suplementação ($P < 0,0001$). A maior concentração de N-NH_3^- no líquido ruminal foi no C20, com valores intermediários nos manejos RL20, RM20, C30 e RL30, e menor no RM30 (Tabela 4). A estratégia de suplementação com maior incremento de N-NH_3^- no líquido ruminal foi o NS (Tabela 6). O pH foi afetado apenas pela suplementação dietética ($P < 0,0001$), e não foi

afetado pelas estratégias de manejo ($P = 0,8000$). O valor médio de pH no fluido ruminal das estratégias de manejo foi de $6,59 \pm 0,07$. Nos substratos com inclusão de NS o pH aumentou, mas nas estratégias que incluem FM o pH reduziu, enquanto a suplementação de OS não diferiu do controle (Tabela 6).

A concentração total de AGV e do c3, c4, 2c4i, c4i, c5 e c5i variou com a suplementação ($P < 0,05$; Tabela 6), e não houve efeito das estratégias de manejo ($P > 0,05$; Tabela 7). Apenas o c2 não foi afetado pelas estratégias de manejo ($P = 0,9798$; Tabela 7), e nem pela suplementação ($P = 0,5420$). A concentração média de c2 no fluido ruminal foi de $96,2 \pm 14 \text{ mM mol}^{-1}$. Percentual o c2 foi 7,5% maior no suplemento NS em comparação ao controle e OS, e 11,7% maiores que FM e OS+FM (Figura 4). Com a inclusão de NS, também foram registrados menor concentração, mas com maior percentual do c5, enquanto que o c3 e c4 foi menor em concentração e percentualmente em relação aos demais tratamentos (Tabela 7; Figura 4).

A relação acetato:propionato (c2:c3) foi afetada pelas estratégias de manejo ($P = 0,0013$), suplementação ($P < 0,0001$) e houve interação estratégia de manejo \times suplementação ($P = 0,0041$). A inclusão do suplemento NS aumentou na relação c2:c3 da estratégia de manejo RM30 (Tabela 8).

Tabela 7. Média geral (MG) dos ácidos graxos voláteis (AGV) do capim Mulato II manejado em alturas médias de 20 ou 30 cm sob lotação contínua e rotativa com severidade de desfolhação leniente ou moderada em Piracicaba, Brasil.

Variáveis	MG	‡EPM	†P-valor
AGV, mM L^{-1}	136,2	18,99	0,9847
c2, mM mol^{-1}	96,2	14,27	0,9798
c3, mM mol^{-1}	27,8	3,69	0,9366
c4, mM mol^{-1}	12,2	1,26	0,9507
2c4i, mM mol^{-1}	11,6	1,08	0,9998
c4i, mM mol^{-1}	0,24	0,14	0,6110
c5, mM mol^{-1}	1,26	0,17	0,2110
c5i, mM mol^{-1}	1,79	0,26	0,2771

AGV, total de ácidos graxos voláteis (acetato, propionato e butirato); c2, acetato; c3, propionato; c4, butirato; 2c4i, 2-etilbutirato; c4i, etilbutirato; c5, valerato; e c5i, etilvalerato. †As médias dentro das linhas seguidas da letra diferente diferem pelo teste 't' ($p < 0,05$). ‡ EPM: erro padrão da média.

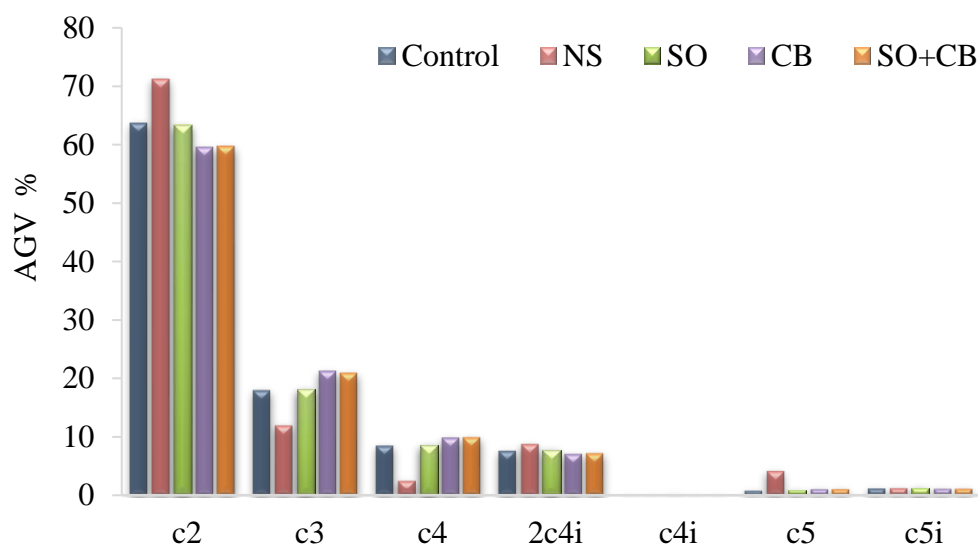


Figura 4. Proporção relativa dos ácidos graxos voláteis (AGV) comparando a forragem de capim Mulato II sem suplemento (Controle) com estratégias de suplementação que incluem: 1) NO_3^- + S elementar (NS), 2) óleo de soja (OS), 3) farelo de milho (FM) e 4) óleo de soja+farelo de milho (OS+FM). AGV: c2, acetato; c3, propionato; c4, butirato; 2c4i, 2-etilbutirato; c4i, etilbutirato; c5, valerato; e c5i, etilvalerato.

Tabela 8. Interação entre estratégia de pastejo e suplementação da relação acetato:propionato (c2:c3) do capim Mulato II em Piracicaba, Brasil.

‡Suplementos	€Estratégias de manejo						‡EPM
	C20	RL20	RM20	C30	RL30	RM30	
	----- C2 : C3 -----						
Controle	3,53Ba	3,50Ba	3,51Ba	3,51Ba	3,52Ba	3,62Ba	0,14
NS	5,97Ab	6,03Ab	5,96Ab	6,10Ab	5,96Ab	6,50Aa	0,14
OS	3,47Ba	3,48Ba	3,41Ba	3,47Ba	3,48Ba	3,49Ba	0,14
FM	2,85Ca	2,82Ca	2,78Ca	2,81Ca	2,77Ca	2,85Ca	0,14
OS+FM	2,87Ca	2,87Ca	2,93Ca	2,84Ca	2,85Ca	2,87Ca	0,14
‡EPM	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	

€ Estratégias de manejo: lotação contínua com altura constante de 20 cm (C20) ou 30 cm (C30), da altura do dossel coincidente na média de 20 e 30 cm do estrato de pastejo em lotação rotativa com desfolha leniente (RL20 e RL30) ou lotação rotativa com desfolha moderada (RM20 e RM30). ‡ Suplementação: Controle, forragem das estratégias de manejos sem suplementação; NS, NO_3^- + enxofre elementar; OS, óleo de soja; FM, farelo de milho; OS+FM, óleo de soja + farelo de milho. As médias seguidas por uma letra iguais dentro das linhas não diferem pelo teste t ($P < 0,05$). Letras maiúsculas comparam médias na coluna. Letras minúsculas comparam médias na linha. ‡ EPM: erro padrão da média.

As produções de CH_4 por unidade de MOVD ($\text{CH}_4\text{P}_{\text{MOVD}}$) em 48 horas foram afetadas pela suplementação ($P < 0,0001$; Tabela 6), mas não houve efeito de estratégias de manejo ($P = 0,0550$, respectivamente). Os volumes médios de $\text{CH}_4\text{P}_{\text{MOVD}}$ em 48 h de incubação das estratégias de manejo foi de $19,25 \pm 1,08 \text{ mL g MOVD}^{-1}$. As produções de $\text{CH}_4 \text{ mL g FDND}^{-1}$ ($\text{CH}_4\text{P}_{\text{FDN}}$) em 48h foram afetados pelas estratégias de manejo ($P < 0,0001$) e suplementação ($P = 0,0017$) Tabela 4 e 5).

Tabela 9. Interação entre estratégia de pastejo e suplementação da proporção de metano (%CH₄) do gás produzido (GP) em 48 horas de incubação da forragem de capim Mulato II em Piracicaba, Brasil.

‡Suplementos	€Estratégias de manejo						‡EPM
	C20	RL20	RM20	C30	RL30	RM30	
	----- % CH ₄ do GP em 48 horas-----						
Control	27.7Aa	24.7Ac	25.5Abc	27.2Aab	24.9ABc	22.9Ad	0.78
NS	4.7Da	4.2Ca	4.3Ca	5.1Ca	4.6Ca	4.2Ba	0.80
SO	25.3Bab	24.7ABbc	24.9Abc	26.8Aa	25.5Aab	23.5Ac	0.78
CB	23.9BCab	22.7Bab	21.8Bb	24.0Ba	23.2Bab	23.3Aab	0.78
SO+CB	22.8Cb	23.1ABb	23.2ABb	25.4ABa	24.2ABab	24.6Aab	0.80
‡EPM	0.78	0.78	0.92	0.78	0.78	0.78	

€ Estratégias de manejo: lotação contínua com altura constante de 20 cm (C20) ou 30 cm (C30), da altura do dossel coincidente na média de 20 e 30 cm do estrato de pastejo em lotação rotativa com desfolha leniente (RL20 e RL30) ou lotação rotativa com desfolha moderada (RM20 e RM30). ‡ Suplementação: Controle, forragem das estratégias de manejo sem suplementação; NS, NO₃⁻ + S elementar; OS, óleo de soja; FM, farelo de milho; OS+FM, óleo de soja + farelo de milho.

As médias seguidas por uma letra iguais dentro das linhas não diferem pelo teste t ($P < 0,05$). Letras maiúsculas comparam médias na coluna. Letras minúsculas comparam médias na linha. ‡ EPM: erro padrão da média.

A %CH₄ em relação ao gás total produzido em 48h de incubação foi afetada pelo manejo ($P < 0,0001$) Tabela 4) e estratégias de suplementação ($P < 0,0001$); Tabela 6). Houve efeito da interação na %CH₄-48h ($P = 0,0440$; Tabela 9). A adição de OS, FM e OS+FM interagiu com estratégias de manejo em função do valor nutritivo da forragem, o que resultou em menor %CH₄ do GP em 48h de incubação nos tratamentos C20 e RL20. Na estratégia de suplementação com NS, a %CH₄ em 48 h foi equivalente entre as estratégias de manejo.

3.4. Discussão

3.4.1. Efeito das estratégias de manejo do pastejo

Efeitos de critérios como altura de manejo e severidade de desfolhação devem ser considerados à medida que resultam em importantes variações nos IR. Intervalos de rebrotação mais longos não levam necessariamente a maiores produções de forragem (Belesky, 2006). De fato, nas estratégias de manejos sob lotação rotativa, dosséis altos somados a maior nível de severidade de desfolhação (~ 47%) resultaram em longos IR no RM30, enquanto o RL20 resultou no IR mais curto entre os tratamentos, em função da menor altura média do dossel (20 cm) e menor nível de severidade de desfolhação (~ 33%), sem alterações no AF (Tabela 1). Estudos de aprimoramentos do manejo do pastejo estabeleceram que a entrada no pré-pastejo associada a desfolhações com severidade máxima de 50% são critérios para maximização do CMS em curto prazo (Fonseca et al., 2012; Trindade et al., 2007), uma vez que as folhas

predominam a metade superior do dossel forrageiro (Da Silva et al., 2015). Dessa forma, ajustes distintos entre esses critérios podem resultar em IR semelhantes. Os manejos RL30 e RM20 resultaram em IR semelhantes, mas intermediários entre RL20 e RM30 (Tabela 1). O que indica que tanto o aumento da altura de manejo do dossel, quanto a maior severidade de desfolhação afetam o IR e as características estruturais da forragem.

O capim Mulato II mostrou flexibilidade sob as estratégias de manejo do pastejo utilizadas no presente estudo com produção de forragem semelhante independente do método de lotação, altura do dossel ou intensidade de desfolhação dos tratamentos. Segundo Moojen et al. (2022), a produção total de forragem está entre os fatores mais importantes para determinar o ganho de peso vivo por hectare, enquanto o GMD depende das características estruturais do pasto (ou seja, altura do dossel). Quando o AF é constante em uma gama de manejos do pastejo, a principal restrição é a estrutura do dossel. Dosséis manejados mais altos resultam em maior MF e incrementos de colmo, que são tecidos vegetais mais rígidos e conferem à estrutura do pasto uma barreira que limita a massa do bocado (Gordon & Benvenuti, 2006), e aumenta o tempo de manipulação da forragem pelos animais (Benvenuti et al., 2008). Essas são limitações importantes quanto ao aumento da $MF\bar{x}$ nos manejos C30, RL30 e RM30 em relação aos C20, RL20 e RM20, e resultaram em aumentos entre 3 e 4% nas $\%Colmo\bar{x}$ da $MF\bar{x}$ (Tabela 1).

A avaliação descritiva do ponto inclinado corrobora com as maiores participações de colmo e material morto no estrato de pastejo nas estratégias de manejo RM20 e RM30 (Tabela 1; Figura 3). Mesmo sendo manejos que não ultrapassam 50% da severidade de desfolhação, o aumento de ~33% para ~47% é suficiente para que os animais explorem estratos mais baixos do dossel. O aumento da proporção de colmos na forragem normalmente implica em redução na proporção de lâminas foliares ingeridas e afeta diretamente o valor nutritivo da dieta (Pereira et al., 2015).

Em pastagem o valor nutritivo da forragem é determinado pela estrutura e composição do dossel, principalmente pela altura do dossel (Gordon & Benvenuti, 2006), que são as características que mais influenciam a decisão do animal na colheita (Mezzalira et al., 2017). As proporções de colmo e material morto impactaram a composição química da forragem. Isso determinou maiores concentrações de CEL, FDN, FDA e redução no EE no manejo RM30 seguido do RM20 (Tabela 2). Branco et al. (2010), ao avaliarem os efeitos dos níveis de FDN da forragem em dietas para cabras em lactação, relataram efeito linear decrescente nos consumos de MS, PB, EE, CNF, %NDT e na produção de leite à medida que os níveis de FDN aumentaram, mesmo sem efeito nos coeficientes de digestibilidade. A CEL é o principal componente da parede celular da célula vegetal, e compõe 35-45% da MS das paredes celulares

secundárias das gramíneas (Vogel, 2008). Os resíduos FDN e FDA incluem a CEL dentre os constituintes dessas frações, o qual foi o principal componente da parede celular que resultou em incrementos significativos entre as partições dos carboidratos fibrosos (CF) (Tabela 2). A CEL forma camadas de cobertura de célula vegetal (Kozloski, 2002) que conferem resistência à célula, dificultando a degradação em nível ruminal por obstruir o ataque dos microrganismos degradadores de fibra (Carvalho & Pires, 2008). Essas características e a alta contribuição da CEL no espessamento da parede celular do capim Mulato II determinaram maiores frações B_{2CHO} no manejo RM30 e, conseqüentemente, nos TC calculados (Tabela 2).

Curiosamente, os incrementos nas concentrações de FDN são mínimos e não significativos na ampla variação dos manejos nas estratégias C20, RL20, RM20, C30 e RL30 (Tabela 2). A ausência de alterações efetivas em FDN é comum em uma gama de estudos que comparam alturas de manejo e severidades de desfolhação (O'Donovan & Delaby, 2005; Lee et al., 2008; Pembleton et al., 2017). No entanto, à medida que a desfolhação é mais leniente, ocorrem menores concentrações de FDN e a energia metabolizável é maior (Fulkerson & Donaghy, 2001; Turner et al., 2013; Pembleton et al., 2017). Alterações na quantidade de CEL na parede celular fazem com que a proporção relativa de HEMI na fração B_{2CHO} e nos CT seja maior. Mesmo não havendo diferenças nas concentrações de HEMI entre tratamentos, os aumentos proporcionais nas frações fibrosas podem conferir menor resistência à degradação em nível ruminal quando comparado à celulose (Oliveira et al., 2016). A FDA é formada majoritariamente por compostos lignocelulósicos. As menores concentrações de FDA nos manejos C20 e C30 estão relacionadas ao método de lotação, caracterizados pela oportunidade de seleção dos animais e participação de folhas na dieta. Sob lotação rotativa a forragem pastejada com menor proporção de colmos está associada à menor severidade de desfolhação (rotativos lenientes no presente estudo).

O espessamento da parede celular é inversamente correlacionado ao teor de PB, nesse sentido, modulando o declínio da digestibilidade da MS (Vitor et al., 2009). A composição dos CT diminuiu drasticamente a PB e a PBd na estratégia de manejo RM30. O declínio de 71% do PBd na MS do RM30 em relação ao manejo C20 é explicado pelo aumento substancial da fração C_{PB} e redução da fração B_{3PB} , que é potencialmente digestível (Tabela 3). A fração C_{PB} representa a proteína complexada à parede celular vegetal e não é degradável por microrganismos do rúmen (Van Soest, 1994), portanto, indisponível para o animal. Gonçalves et al. (2003) encontraram incrementos lineares nos teores fração C da PB no capim Tifton-85 cortado em idades crescentes, demonstrando que a maturidade fisiológica de corte ou pastejo aumenta as frações menos digestíveis da PB e reduz o suprimento de nitrogênio para síntese de

proteína microbiana no rúmen. Segundo Valadares Filho & Pina (2011), a maior parte dos aminoácidos absorvidos pelos ruminantes é proveniente da proteína microbiana ruminal.

A maturidade fisiológica das plantas forrageiras está diretamente relacionada com o IR. O manejo RM30 demandou maior IR, de quase 2 meses entre um ciclo e outro para entrada dos animais (Tabela 1). A maturidade dos tecidos está associada a um menor teor de PB e de PBd devido a menores concentrações das frações digestíveis ($A_{PB}+B1_{PB}+B2_{PB}+B3_{PB}$). Essas frações digestíveis da PB são otimizadas nos demais manejos sob lotação rotativa, principalmente nos RL20 e RL30 (Tabela 3), em que os IR foram mais curtos e variaram entre 20 e 35 dias, ou seja, metade ou menos comparado ao RM30 (Tabela 1). Nas estratégias C20 e C30 as frações de PBd da forragem foram as maiores (Tabela 3). Sob lotação contínua, os animais têm acesso irrestrito e ininterrupto a toda a área de pasto e as plantas são desfolhadas em intervalos indefinidos (Allen et al., 2011). Nesse método, a menos que as taxas de lotação sejam excessivamente baixas, os IR teóricos seriam menores (não mensurados) quanto consideradas as maturidades fisiológicas de perfilhos individuais (Yasuoka et al., 2021).

Altas concentrações de parede celular podem prejudicar a atividade microbiana por reduzirem a disponibilidade de carboidratos rapidamente fermentáveis (Wilson & Hatfield, 1997), e estão negativamente correlacionadas com a produção de gás (Njidda & Nasiru, 2010), quando a digestibilidade é comprometida. No presente estudo, os incrementos da fração $B2_{CHO}$, todavia, resultaram em aumentos do V_f , mas o *lag time* e a taxa de digestão foram similares entre as estratégias de pastejo, enquanto a MOVD e a FDND foram inversamente proporcionais aos CF e V_f (Tabela 4). Essas relações entre o volume total de gás produzido e a degradabilidade expressam a eficiência microbiana. Altos valores do FP são, em geral, positivamente correlacionados com o CMS de ruminantes (Blümmel et al., 1997). Os valores do FP nas estratégias de manejo são consistentes com uma composição bromatológica, e indicam que as variações ocorreram em três níveis, com o maior FP no manejo C20, seguido dos RL20, RM20, C30 and RL30, e por último com menor eficiência, o RM30 (Tabela 4). Dessa forma, a FP é uma variável interessante para identificar estratégia de manejo que resulta em maior eficiência de conversão da energia da forragem em proteína microbiana. Segundo Blümmel et al. (2003), a seleção de espécies forrageiras deve ser com base na alta degradabilidade do substrato com produção de gás proporcionalmente baixa.

Níveis adequados de energia e proteína disponível na forragem é um importante ajuste que deve ser considerado na dieta de bovinos em pastejo, nas estratégias de manejo, o maior contraste entre a disponibilidade de carboidratos e de proteína foi no RM30, com maiores diferenças em relação a estratégia C20. Segundo Hariadi & Santos, (2010), concentrações de

PB inferiores a 70 g kg^{-1} MS restringem a disponibilidade de nitrogênio e afetam negativamente o crescimento microbiano no rúmen. No presente estudo, apesar das reduções graduais da PB, nenhuma das estratégias resultou em valores inferiores a 100 g kg^{-1} MS (Tabela 3). Porém, maiores níveis de PB e, principalmente, da proteína degradável no rúmen, aumentaram a concentração de N-NH_3^- no fluido ruminal (Tabela 4). Incrementos da concentração de N-NH_3^- são desejáveis durante a fermentação da forragem para favorecer o crescimento das bactérias fibrolíticas. Níveis acima de $20 \text{ mg de N-NH}_3^- \text{ dL}^{-1}$ potencializam a digestão do substrato e contribuem para o aumento do CMS (Leng, 1990). Embora nenhuma das estratégias de manejo tenha resultado em concentrações de PB inferiores ao recomendado pela literatura, os maiores valores de PBd aumentaram de 6 a 9% as concentrações de N-NH_3^- entre estratégias de manejo (Tabela 3 e 4).

Os fatores que afetaram negativamente a degradabilidade da forragem foram as maiores concentrações de CEL, que aumentaram a fração $\text{B}_{2\text{CHO}}$ dos CT, e menores disponibilidades da PB, resultando em declínio do N-NH_3^- disponível. Esses fatores, implicaram em menor MOVD e FDND no tratamento RM30, com uma diferença de 8,5% e 10,6%, respectivamente, comparado ao C20 (Tabela 4). A fração $\text{B}_{2\text{CHO}}$ compreende carboidratos fibrosos formados por polímeros de CEL e HEMI que conferem resistência à célula vegetal, mas também responsáveis por lenta taxa de degradação na ordem de 3 a $20\% \text{ h}^{-1}$ (Silva & Silva, 2013), ocupando espaço no trato gastrointestinal (Cabral et al., 2000), a digestibilidade potencial e o CMS pela baixa taxa de passagem.

3.4.2. Efeito das estratégias de suplementação da dieta

No modelo matemático de Gompertz, que descreve o perfil da cinética ruminal de forma sigmóide (Mertens, 1977; Van Milgen et al., 1991; Dhanoa et al., 1995), ocorre um atraso inicial (*lag time*) causado pelo tempo de colonização das bactérias no tecido vegetal, com subsequente crescimento exponencial que, em seguida, desacelera até atingir uma fase assintótica (Vieira et al., 2008). O menor fator de partição na fermentação da forragem do capim Mulato II sem adição de suplemento (controle) sugere que todas as estratégias de suplementação foram efetivas em modular a fermentação, alterando os processos digestivos dos substratos e resultaram em maior eficiência da massa microbiana ruminal, mesmo que com mecanismos distintos, como será discutido nas sessões à frente.

3.4.3. Suplementação com óleo de soja e/ou farelo de milho

O óleo de soja (OS) usado como estratégia de suplementação, é rico em ácido α -linolênico (LNA; C 18:3 cis-9, cis-12, cis-15), e o ácido linoleico (LA; C18:2 cis-9, cis-12) é seu primeiro e principal produto de biohidrogenação. Juntos, esses ácidos graxos tem um efeito inibitório sobre os microrganismos ruminais (Maia et al., 2007; Yang et al., 2009; Rodrigues et al., 2018). Reconhecido o efeito inibitório do OS na degradação dos CF, no presente estudo com dieta à base de forragem, a inclusão de OS não resultou em defasagem no *lag time* e na taxa de digestão. O OS não é fermentescível e a forragem demanda tempo de colonização nos tecidos com lenta degradação dos carboidratos fibrosos pelos microrganismos, o que resultou em maior *lag time* e menor taxa de digestão no tratamento OS e controle comparado às demais estratégias de suplementação (Figura 7). A MOVD e FDND também não foram prejudicadas pela inclusão de OS, mas o menor *Vf* em relação ao controle determinaram um menor FP, sem afetar o pH ou o perfil de AGV (Tabela 5 e 7). Portanto, efeitos negativos da suplementação de gordura em ruminantes geralmente podem ser explicados pelos níveis de inclusão na dieta (Weld & Armentano, 2017). Os parâmetros da fermentação do substrato são fortes indicativos de que o nível de inclusão de OS foi adequado. A ausência de efeito negativo na degradabilidade do capim Mulato II foi consistente com resultados obtidos com capim Marandu (*Brachiaria brizantha* Stapf var. Marandu) e inclusões de níveis de 30 e 60 g OS (kg MS)⁻¹ (Rodrigues et al., 2018).

Ressalvas aos efeitos e sensibilidades adversas na fermentação ruminal em resposta à suplementação com OS podem existir em diferentes espécies forrageiras (Rodrigues et al., 2018). Diferentes perfis de ácidos graxos atuam de formas diversas nas populações de cada tipo de bactéria, mas eles não são efetivamente fermentados e, portanto, não contribuem com energia e com o crescimento da microbiota ruminal (Enjalbert et al., 2017). Isso deve ser levado em consideração no momento de equilibrar a proteína degradável e a energia da dieta fermentescíveis no rúmen. Apesar de não fornecerem energia para a massa microbiana, um dos grandes apelos para a inclusão de fontes de gordura na alimentação de ruminantes é o aumento da energia metabolizável e a melhora na eficiência da conversão de alimentos (Rabiee et al., 2012).

Em estudos de inclusão de fontes de gordura, a dieta basal parece ter efeito inibitório distinto na população de bactérias ruminais. Isso ocorre porque as características da fibra da forragem têm influência direta nas taxas de biohidrogenação (Beauchemin et al., 2009; Rodrigues et al., 2018). Neste estudo, a composição da parede celular e a inclusão dos

suplementos OS+FM associados parece ter efeito sinérgico positivo tanto na degradabilidade da fibra, quanto nos parâmetros cinéticos da fermentação (Tabela 5 e 6). Segundo José Neto et al. (2018), a suplementação com óleo reduziu a emissão de CH₄ entérico de animais recebendo dietas com alto ou baixo teor de amido. Outros estudos têm explorado os mecanismos inibitórios dos óleos em culturas puras de cepas do rúmen com foco em bactérias diversas que desempenham papel na fibrólise, amilólise e metabolismos de ácidos graxos (Maczulak et al., 1981; Maia et al., 2007). A inclusão de fontes diversas de carboidratos como forragem e FM, ou seja, CF e CNF, associada à inclusão de baixos níveis de OS podem ter efeitos sinérgicos positivos e favorecer a diversidade bacteriana no rúmen, possivelmente reduzindo a sensibilidade da população microbiana aos lipídios. Evidências existem de que bactérias produtoras de propionato não são afetadas negativamente pelo ácido oleico, enquanto as produtoras de c2 e c4 são afetadas negativamente por ácido oleico e ácidos graxos saturados (Henderson, 1973). Em meio de cultura, as cepas de microrganismos fibrolíticos (JW11) não foram inibidas com 50 mg do ácido linoleico L⁻¹ (Maia et al., 2007) e outras espécies do gênero *Butyrivibrio* são inibidas a partir de 5 mg de ácido linoleico L⁻¹ (Paillard et al., 2007a). Os efeitos das gorduras nas bactérias do rúmen dependem de fatores como o metabolismo bacteriano, insaturação dos ácidos graxos e configuração geométrica das ligações duplas (Maczulak et al., 1981; Henderson, 1973).

O efeito aditivo na estratégia de suplementação OS+FM resultou em Vf superior ao OS e FM adicionados isoladamente, mas semelhante ao controle (Tabela 6). O menor *lag time* e a maior taxa de digestão foram equivalentes aos da estratégia FM (Tabela 6). Portanto, esses efeitos associativos positivos estão ligados à inclusão de concentrado na dieta. O menor *lag time* ocorre com a disponibilidade rápida de energia proporcionada pelos carboidratos não fibrosos do suplemento FM, especialmente amido. Segundo Beauchemin et al. (2008), o uso de concentrados tem como um dos efeitos o aumento da taxa de fermentação devido à alteração parcial do tipo de substrato fermentado, ou seja, que incluem CNF. O principal efeito aditivo da associação OS+FM foi a maior MOVD entre todas as estratégias de suplementação testadas, o que resultou em um FP superior à de controle, OS e FM (Figura 6). O aumento da degradabilidade é um dos efeitos mais desejados em se tratando de alimentação de ruminantes. Segundo a meta-análise de Congio et al., (2021), o CMS foi maior em 24,9% quando usado milho moído ou grão como fonte suplementar de alimentação na categoria de níveis de concentrado aumentados para animais em pastagens, com variações de 67 e 90% de forragem (e 33 e 10% de concentrado) na MS da dieta, para milho moído e milho grão, respectivamente. Os níveis mínimos de inclusão analisados por Congio et al., (2021) são o dobro do presente

estudo. Entretanto, níveis menores de inclusão de concentrado foram testados em um experimento com incubação *in vitro* de capim Marandu e os autores relataram efeitos positivos como o aumento da degradabilidade, menor relação c2:c3 e redução no CH₄ produzido com inclusão de 0.3 g (kg PV)⁻¹ (Santos et al., 2020). Em sistemas de pastejo comerciais, onde a redução de custos é desejável, o foco está em inclusões mínimas de suplementação que maximizem a digestibilidade e, conseqüentemente, o consumo de forragem (Paterson et al., 1994).

3.4.3. Efeito da suplementação com nitrato e enxofre elementar

A estratégia de suplementação com NS resultou na disponibilidade imediata de NNP, que foi usado como fonte inicial não só de nitrogênio, mas também de energia pelos microrganismos ruminais. Isso promoveu o início imediato do processo de fermentação, e não foi mensurável o tempo de colonização dos microrganismos na forragem pela ausência de *lag time*. Fontes de NNP são prontamente degradadas no fluido ruminal, e a taxa com a qual a energia da dieta (forragem) é disponibilizada talvez seja o fator mais limitante para síntese microbiana (Valadares Filho & Pina et al., 2011), uma vez que os CF apresentam taxa de degradação lenta. O uso do NS como substrato prontamente disponível pode ter retardado a colonização e a degradação da forragem, justificando a diferença média de 31% na FDND e 15% na MOVD em relação às outras estratégias de suplementação. Isso apesar de ter sido essa a estratégia de suplementação de maior eficiência da microbiota ruminal, ou seja, resultou em maior FP, o que torna difícil afirmar o real impacto que o NS teve na degradabilidade da forragem.

Outra explicação é que o próprio mecanismo de inibição da produção de metano também pode ter efeitos negativos na população de microrganismos fibrolíticos, especialmente se não adaptadas previamente (como foi o caso das condições experimentais do presente estudo) para manter condições semelhantes a todas as dietas incubadas. Segundo Natel et al. (2019), a inclusão de níveis de NO₃⁻ encapsulado (NO₃⁻; 0, 1.5, 3 e 4.5 % da MS) em duas dietas (concentrado:forragem; 20:80 e 80:20) não reduziu a degradabilidade *in vitro* da MO, MS e FDN. O uso de NO₃⁻ encapsulado no estudo citado foi, provavelmente, a principal causa de contraste nos resultados de degradabilidade. Fontes de NO₃⁻ encapsulado são uma alternativa que tem sido bem sucedida para evitar problemas com envenenamento de animais causados pelo fornecimento abrupto de NNP (Rebelo et al., 2019). O metabolismo no rúmen pode ser melhorado quando os micróbios são aclimatados ao NO₃⁻ (Natel et al., 2019). Outro ponto é que a maior parte dos estudos com inclusão de NO₃⁻ são oriundos de condições experimentais

em confinamentos (Congio et al., 2021), em que a inclusão de concentrado promove aumento da energia fermentável oriunda de CNF. Dietas baseadas em sistemas de confinamento são essencialmente distintas do substrato do presente estudo que, desconsiderando os suplementos aditivos, foi 100% à base de forragem. A inclusão de NS na dieta de bovinos avaliados em confinamento, em níveis idênticos aos usados no presente estudo, não afetou a digestibilidade da MO ingerida pelos animais e melhorou a eficiência na síntese de proteína (Rebello et al., 2019), assim como o uso de NO_3^- também não comprometeu o CMS e o GMD em outros estudos incluídos na meta-análise de Congio et al. (2021).

Um dos efeitos para o animal de fontes de NNP de liberação mais lenta é o aumento no fluxo de proteína microbiana para o abomaso, devido à sua velocidade de solubilização no rúmen, favorecendo a disponibilização de proteína metabolizável de alto valor biológico (Ítavo et al., 2007a). Porém, em condições de produção de gás *in vitro*, Rymer et al. (2005) relataram que essa técnica é amplamente usada e tem suas vantagens, mas trata-se de um sistema fechado com limitações. Em algumas situações, como no caso de dietas que têm alto potencial redutor como o NS, pode haver interferência na degradação potencial do substrato, já que alguns dos produtos da fermentação, como N-NH_3^- , são acumulados durante o período de fermentação.

Tanto o NO_3^- quanto o S elementar são aceptores exógenos prontamente e completamente reduzidos para N-NH_3^- (Weimer & Kohn, 2016). Neste estudo a estratégia NS, tem o NO_3^- , que foi o modulador ruminal que proporcionou considerável input de N-NH_3^- . Esse é um ponto importante na inclusão de NS, o teor de nitrogênio da dieta basal, no qual o capim mulato II já apresentava valor de PB entre 10 e 15% da MS. Lee & Beauchemin, (2014), recomendam que o aporte de nitrogênio da forragem deve ser levado em consideração no momento de recomendar os níveis de NO_3^- na dieta basal. O uso de NNP é comumente indicado como uma opção para suprir a demanda de nitrogênio em pastagens diferidas, que o valor nutritivo da forragem é baixo, especialmente o teor de proteína (geralmente, inferior a 7%), e não atende as exigências nutricionais de bovinos (Ítavo et al., 2016). O manejo RM30 é um exemplo de estratégia de manejo que pode ser uma opção para uso de pastagens diferidas associada ao uso de NS. Essa estratégia de suplementação também pode ser incorporada em sistemas, no qual o controle das metas de manejo não foi efetivo, ou pastagens em que se deseja utilizar maiores níveis de severidade de desfolhação do dossel, em que a participação de componentes morfológicos de menor valor nutritivo é aumentado. Contudo, são necessários pesquisas com produção de bovinos em pastagens que englobem o sistema como um todo, que seja considerando o dispêndio energético dos animais para metabolizar níveis de PB da forragem associado com a suplementação NS, e os possíveis impactos na troca de poluente,

como aumento das emissões de óxido nitroso depositados pela urina. Alguns estudos indicam que o NO_3^- em dietas isonitrogênicas e balanceadas aumenta a excreção N na urina dos animais como ocorre com a ureia (C. Lee et al., 2015a; Olijhoek et al., 2016).

O mecanismo bioquímico do NS é distinto das estratégias de suplementação OS, FM e OS+FM em relação a produção de AGV, dos quais o aumento de c3 é a principal alteração nas rotas metabólicas da produção de AGV (Tabela 6). O desvio da fermentação de glicose da propiogênese para via de acetato é energeticamente favorecida pela redução de NO_3^- à N-NH_3^- (Ungerfeld & Kohn, 2006). Neste estudo, constatamos menor concentração de c3 e c4, e foi especialmente esses ácidos graxos de cadeia curta que contribuíram para a menor concentração total dos AGV com a inclusão de NS, já que as concentrações de c2 não diferiram entre as estratégias de suplementação (Tabela 6). A compreensão mais razoável é que menor concentração de AGV com a suplementação com NS foi simplesmente pela menor degradabilidade da forragem, mas que o total de AGV produzido possivelmente não é menor por unidade de substrato degradado. Alguns estudos concordam com o perfil dos AGV (Raphélis-Soissan et al., 2014; Troy et al., 2015), nos quais obtiveram incrementos e reduções de c2 e c3 em cerca de 8% e 21,2%, respectivamente, com aumento de 29,9% na relação c2:c3 ao fornecerem NO_3^- . Já outros autores não obtiveram diferenças para c2, c3 e para a relação c2:c3 (Olijhoek et al., 2016). Lee et al. (2015) constataram apenas efeito quadrático na concentração de acetato com reduções de NO_3^- (inclusão de 1,4 - 2,1 - 2,8%) na MS. De fato, quando os valores de AGV foram expressos percentualmente (apenas análise descritiva dos dados), as proporções de c2 e c5 foram maiores assim com c3 e c4 foram menores no NS comparado as demais estratégias (Figura 4). A qualidade da forragem determinada pelo manejo também parece influenciar as relações c2:c3. A suplementação com NS interagiu com RM30, visto que foi a estratégia de manejo com maior relação c2:c3, ou seja, reduziu ainda mais a produção de c3 em forragens com menor valor nutritivo (Tabela 8).

3.4.4. Emissão de metano e a relação com o perfil fermentativo da dieta

As estratégias de manejo não impactaram diretamente a produção de CH_4 por unidade de MOVD em 48h de incubação *in vitro*. De acordo com Meale et al. (2012), a fermentação *in vitro* de cultura descontínua tem baixa sensibilidade para elucidar pequenas diferenças entre substratos com características muito próximas (por exemplo, mesma espécie forrageira com variações em nível de composição bromatológica). No entanto, estratégias que proporcionaram melhor valor nutritivo, tiveram substratos mais fermentescíveis e com maior MOVD e da

FDND, conseqüentemente maiores foram as produções de CH₄ por unidade de FDN digestível (CH₄P_{FDN}) em 48h de incubação (Tabela 5). Além disso, a interação manejo × suplementação na proporção de CH₄ na PGT (%CH₄) em 48h de incubação foi essencialmente em função do valor nutritivo da forragem associado a cada estratégia de suplementação (Tabela 9). Assim como foi na CH₄P_{FDN}, as forragens do capim Mulato II sob lotação contínua resultaram nas maiores %CH₄ no tratamento controle. O NS não diferiu em nenhuma estratégia de manejo. A inclusão de OS ou FM nos tratamentos RM20 e RM30, caracterizados por desfolhação moderada, a %CH₄ tendeu a ser menor que os demais manejos. No entanto, o efeito aditivo de OS+FM resultou na menor %CH₄ nos tratamentos C20, RL20 e RM20, seguidos das maiores proporções nos manejos C30, RL30 e RM30 (Tabela 9). A contribuição do OS está principalmente relacionada à mitigação de CH₄, visto que o OS foi tão eficiente quanto a inclusão de FM. No processo fermentativo, os microrganismos ruminais biohidrogenam ácidos graxos insaturados, consumindo hidrogênio do ambiente ruminal (Reiser, 1951), o que é considerado uma adaptação desintoxicante (Maia et al., 2010), contribuindo para o descarte de equivalentes redutores produzidos na fermentação de outros substratos (Lourenço et al., 2010).

No animal, a produção de CH₄ entérico é afetada pela quantidade, natureza da dieta e extensão da degradação no trato digestivo que, por sua vez, determina a quantidade de hidrogênio formado no rúmen (Janssen, 2010). É esperado que dietas com forragens de alto valor nutritivo tenham menor tempo de fermentação, maior taxa de passagem no rúmen, que resultem em maior CMS e maior GMD e, conseqüentemente, menores intensidades de emissões de CH₄ (CH₄ por kg de produto animal produzido). Em estudos com emissões de CH₄ entérico de bovinos em pastejo, o valor nutritivo variado de MF altas e baixas afetaram o CMS, mas não diferiram nas emissões diárias de CH₄ por vaca leiteira, mas foram quantificados valores entre 10 e 20% menores na intensidade de CH₄ (g kg⁻¹ de leite produzido) quando o manejo foi adequado (Wims et al., 2010; Muñoz et al., 2016; Congio et al., 2018). De acordo com Congio et al. (2018), as reduções no rendimento de CH₄ são compensadas com o maior CMS, aumentando o desempenho animal e diminuindo as emissões diárias de CH₄. Dessa forma, o aumento nas emissões de CH₄ por unidade de substrato fermentado é esperado, mas os benefícios em otimizar o manejo para aumentar o valor nutritivo da forragem pastejada devem estar associados a uma análise completa de fatores que determinam a eficiência do sistema de produção. Apesar de no presente estudo as concentrações de AGV não terem sido afetadas pelas estratégias de manejo do pastejo (Tabela 3), as vias que produzem subprodutos mais reduzidos são provavelmente mais favoráveis termodinamicamente, otimizando a retirada de hidrogênio do rúmen em detrimento da metanogênese.

Um mecanismo importante na produção de CH_4 é a produção de AGV. O aumento na produção de c_3 é a rota termodinamicamente favorecida que reduz hidrogênio livre no rúmen. Consequentemente, é esperada uma redução na relação $\text{c}_2:\text{c}_3$ simultânea à diminuição da produção de CH_4 (Janssen, 2010). Nas estratégias com inclusão de FM, foram observados aumento na concentração total de AGV, c_3 , c_4 , c_5 , c_5i e redução no $2\text{c}_4\text{i}$ e na relação $\text{c}_2:\text{c}_3$, além do aceitável valor de pH mais baixo (Tabela 6). Essas respostas são consistentes com o relatado na literatura, que descreve que as inclusões de CNF causam subsequente alteração no perfil de AGV e diminuição do pH ruminal (Beauchemin et al., 2008), e podem reduzir a proporção de energia da dieta convertida em CH_4 (Blaxter & Clapperton, 1965). É possível que a redução de CH_4 sob manejos em que a forragem tem maior valor nutritivo esteja associada à maior disponibilidade de nitrogênio, uma vez que há mais Pbd em geral para a síntese de proteína microbiana. A concentração de N-NH_3^- no rúmen está relacionada com o metabolismo de proteínas (Lima et al., 2020), e as maiores concentrações de N-NH_3^- estão em concordância com maiores valores de PB entre as estratégias de manejo (Tabela 3). Assim com as estratégias de suplementação, em os tratamentos OS, FM, OS+FM e o controle não diferiram nas concentrações de N-NH_3^- (Tabela 6). Dessa forma, os suplementos que não têm input significativo de nitrogênio adicional no substrato não causaram mudanças nos níveis de N-NH_3^- no fluido ruminal, mas quando a forragem tem maior teor de N esses suplementos podem ser mitigadores mais eficientes de CH_4 .

Os resultados obtidos com a suplementação de NS demonstram um potencial de redução na produção de metano. Muito superior ao substrato controle e a qualquer uma das outras estratégias de suplementação abordadas (Tabela 5 e 9). De modo geral, o NO_3^- e o S são aceptores de elétrons preferenciais no rúmen às custas da metanogênese (Latham et al., 2016). As reduções da produção de CH_4 do NS comparado ao controle foram de 89% por unidade de MOVD, chegaram a 93% menor se calculados por unidade de FDN (Tabela 5), e o CH_4 foi percentualmente 82% menores na PGT (Tabela 9). Segundo Ungerfeld, (2015), a inibição da produção de metano suprime a metanogênese por envenenamento por nitrito e óxido nitroso. Esse mecanismo regulatório alternativo do NS que compõem duas fontes de aceptores de elétrons, promoveram a elevação do pH, mas se manteve dentro da faixa aceitável para máxima digestibilidade da fibra, entre 6 e 7 (Hoover & Stokes, 1991). Fontes de alimentação forrageira como as pastagens, os valores de pH são relativamente constantes, e a ocorrência de alterações bruscas não fazem parte das preocupações constantes nesse tipo de alimentação. Particularmente, a elevação do pH pode ser interessante estratégia para contrabalancear a depleção existente em dietas com alto concentrado. O NS como sumidouro de elétrons mantém

o fornecimento de energia para o crescimento dos microrganismos do rúmen (Weimer & Kohn, 2016), além de manter baixos níveis de emissões de CH₄. Para os animais, o fornecimento de NS tem as seguintes vantagens: (i) no aumento do fornecimento de proteína microbiana, inclusive de aminoácido sulfurados devido a presença do S elementar, o que permite fontes de alto valor biológico para o suprimento de aminoácidos metabolizáveis (Broderick, 1994); (ii) aumentos da energia retida dos carboidratos em detrimento a redução da metanogênese.

3.5. Conclusões

O critério de comparar métodos sob lotação contínua e rotativa com base no descritor altura média do dossel (\bar{x}) forrageiro resultou produção de forragem equivalente entre as estratégias de manejo. Entretanto, a composição morfológica e o valor nutritivo do capim Mulato II mostraram-se equivalente entre os tratamentos que o regime de desfolhação a que são submetidos seja baseado em valores com baixo IAF médio (C20, RL20 e RM20). O C20, seguido do RL20, e RM20 (para sistemas com maior nível de severidade da desfolhação) foram as estratégias em que o manejo do pastejo do capim Mulato II teve melhor perfil e cinética da degradabilidade da fibra, com maior emissão absoluta de metano. Parâmetros esses, favorecidos pela menor proporção de colmo, maior valor nutritivo e PB digestível da forragem. Enquanto que, a análise vertical do dossel no estrato de pastejo indicou que pastagens com desfolhação moderada têm participação de colmo e material morto, mas a contribuição desses componentes das plantas afetou especialmente o RM30, que está associado à altura de pré-pastejo excessivamente alta.

As estratégias de suplementação com óleo de soja (OS), farelo de milho (FM), OS+FM ou NS foram eficientes em alterar a fermentação ruminal do capim Mulato II e reduziram as emissões de CH₄ em todos os manejos. O suplemento FM melhorou os parâmetros da fermentação, reduziu a relação c2:c3 (ou seja, maior produção de propionato), e aumentou a degradabilidade da forragem. Enquanto que o OS não afetou a degradabilidade e melhorou a eficiência microbiana em relação a forragem sem suplementação ou com a adição exclusiva de farelo de milho. A suplementação associada de OS+FM promoveu um efeito aditivo em diversos parâmetros ruminiais com ênfase nos resultados de degradabilidade da forragem, que foi superior entre todos os tratamentos de suplementação. O NS foi a estratégia mais promissora em mitigar CH₄, com cerca de 90% menos emissões de metano em relação a forragem não suplementadas, além de apresentar a maior eficiência microbiana entre todos os tratamentos.

Nos animais é esperado que dietas com forragens de alto valor nutritivo, associadas a suplementação, reduzam o tempo de fermentação, aumentem a taxa de passagem no rúmen, o que pode resultar em alto CMS e GMD, e conseqüentemente, menores intensidades de emissões de CH₄ (g kg⁻¹ de produto animal), direcionando à intensificação sustentável em sistemas de lotação contínua ou rotativa em pastagens do capim Mulato II.

Referências

- Allen, V. G., Batello, C., Berretta, E. J., Hodgson, J., Kothmann, M., Li, X., McIvor, J., Milne, J., Morris, C., Peeters, A., & Sanderson, M. (2011). An international terminology for grazing lands and grazing animals. *Grass and Forage Science*, 66(1), 2–28. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.2010.00780.x>
- AOAC (1990) Métodos oficiais de análise da Associação de Químicos Analíticos Oficiais. 2 vol. 15ª edição. Washington DC.
- Alvares, C. A., Stape, J. L., Sentelhas, P. C., De Moraes Gonçalves, J. L., & Sparovek, G. (2013). Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift*, 22(6), 711–728. <https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>
- Azevêdo, J. A. G., Valadares Filho, S. C., Costa e Silva, L. F., Santos, A. B. dos, Souza, L. L., Rotta, P. P., Rennó, L. N., & Prado, I. N. (2016). Regulação e predição de consumo de matéria seca. Exigências Nutricionais de Zebuínos Puros e Cruzados - BR CORTE, 15–43. <http://www.brcorte.com.br/br/>
- Barbero, R. P., Malheiros, E. B., Araújo, T. L. R., Nave, R. L. G., Mulliniks, J. T., Berchielli, T. T., Ruggieri, A. C., & Reis, R. A. (2015). Combining Marandu grass grazing height and supplementation level to optimize growth and productivity of yearling bulls. *Animal Feed Science and Technology*, 209, 110–118. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.09.010>
- Beauchemin, K. A., Kreuzer, M., O'Mara, F., & McAllister, T. A. (2008). Nutritional management for enteric methane abatement: A review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 48(1–2), 21–27. <https://doi.org/10.1071/EA07199>
- Beauchemin, K. A., McGinn, S. M., Benchaar, C., & Holtshausen, L. (2009). Crushed sunflower, flax, or canola seeds in lactating dairy cow diets: Effects on methane production, rumen fermentation, and milk production. *Journal of Dairy Science*, 92(5), 2118–2127. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1903>
- Belesky, D. (2006). Regrowth Interval Influences Productivity, Botanical Composition, and Nutritive Value of Old World Bluestem and Perennial Ryegrass Swards. *Agronomy Journal*, May. <https://doi.org/10.2134/agronj2005-0100>
- Benchaar, C., & Greathead, H. (2011). Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 166–167, 338–355. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.04.024>
- Benvenutti, M. A., Gordon, I. J., & Poppi, D. P. (2008). The effects of stem density of tropical swards and age of grazing cattle on their foraging behaviour. *Grass and Forage Science*, 63(1), 1–8. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.2007.00609.x>
- Blaxter, K. L., & Clapperton, J. L. (1965). Prediction of the amount of methane produced by ruminants. *British Journal of Nutrition*, 19(1), 511–522. <https://doi.org/10.1079/bjn19650046>

- Blümmel, M., Karsli, A., & Russell, J. R. (2003). Influence of diet on growth yields of rumen micro-organisms in vitro and in vivo: influence on growth yield of variable carbon fluxes to fermentation products. *British Journal of Nutrition*, 90(3), 625–634. <https://doi.org/10.1079/bjn2003934>
- Blümmel, M., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (1997). In vitro gas production: A technique revisited. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 77(1), 24–34. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.1997.tb00734.x>
- Borrell, A. K., Hammer, G.L., Henzel, R.G. (2000) Does maintaining green leaf area in sorghum improve yield under drought? II. Dry matter production and yield. *Crop Sci* 40:1037–1048
- Branco, R. H., Rodrigues, M. T., Leão, M. I., Rodrigues, C. A. F., da Silva, M. M. C., & Pereira, V. V. (2010). Effect of levels of neutral detergent fiber derived from forage on microbial efficiency and digestive parameters in dairy goats. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39(2), 372–381. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010000200021>
- Broderick, G. A. Quantifying forage protein quality. In: Fahey Jr., G. C. Collins, M. D.; Mertens, D. R.; Moser, L. E. (Ed.). *Forage Quality, Evaluation, and Utilization*. American Society of Agronomy, Madison: WI, 1994. p. 200-228.
- Bueno, I. C. S., Cabral Filho, S. L. S., Gobbo, S. P., Louvandini, H., Vitti, D. M. S. S., & Abdalla, A. L. (2005). Influence of inoculum source in a gas production method. *Animal Feed Science and Technology*, 123-124 Pa, 95–105. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.05.003>
- Cabral, S., Campos, S. De, Filho, V., Muniz, P. A., Lana, R. D. P., Fernando, J., Augusto, R., Vieira, M., & Pereira, E. S. (2000). Frações de Carboidratos de Alimentos Volumosos e suas Taxas de Degradação Estimadas pela Técnica de Produção de Gases. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 29(6), 2087–2098.
- Carvalho, G. P. P., & Pires, A. J. V. (2008). Leguminosas tropicais herbáceas em associação com pastagens. *Archivos de Zootecnia*, 57 (R), 11.
- Congio, G. F. de S., Bannink, A., Mayorga Mogollón, O. L., Jaurena, G., Gonda, H., Gere, J. I., Cerón-Cucchi, M. E., Ortiz-Chura, A., Tieri, M. P., Hernández, O., Ricci, P., Juliarena, M. P., Lombardi, B., Abdalla, A. L., Abdalla-Filho, A. L., Berndt, A., Oliveira, P. P. A., Henrique, F. L., Monteiro, A. L. G., ...Hristov, A. N. (2021). Enteric methane mitigation strategies for ruminant livestock systems in the Latin America and Caribbean region: A meta-analysis. *Journal of Cleaner Production*, 312. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.127693>
- Congio, G. F. S., Batalha, C. D. A., Chiavegato, M. B., Berndt, A., Oliveira, P. P. A., Frighetto, R. T. S., Maxwell, T. M. R., Gregorini, P., & Da Silva, S. C. (2018). Strategic grazing management towards sustainable intensification at tropical pasture-based dairy systems. *Science of the Total Environment*, 636, 872–880. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.301>
- D’aura, A. P., da Silva Cardoso, A., Guimarães, Y. S. R., Fernandes, L. B., Ferreira, L. E., & Reis, R. A. (2021). Mitigating greenhouse gas emissions from beef cattle production in Brazil through animal management. *Sustainability (Switzerland)*, 13(13), 1–9. <https://doi.org/10.3390/su13137207>
- Davies, D.A., Fothergill, M., & Jones, C.T. (1993). Avaliação de contrastes de azevém perene com e trevo branco, em lotação contínua nas terras altas. 5. Produção, qualidade e ingestão de forragem nos anos 4-6. *Grass and Forage Science*, 48, 213-222. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.1993.tb01854.x>

- Da Silva, S. C., Sbrissia, A. F., & Pereira, L. E. T. (2015). Ecophysiology of C4 Forage Grasses—Understanding Plant Growth for Optimising Their Use and Management. *Agriculture (Switzerland)*, 5(3), 598–625. <https://doi.org/10.3390/agriculture5030598>
- Da Trindade, Júlio K., Pinto, C. E., Neves, F. P., Mezzalira, J. C., Bremm, C., Genro, T. C. M., Tischler, M. R., Nabinger, C., Gonda, H. L., & Carvalho, P. C. F. (2012). Forage allowance as a target of grazing management: Implications on grazing time and forage searching. *Rangeland Ecology and Management*, 65(4), 382–393. <https://doi.org/10.2111/REM-D-11-00204.1>
- De Raphélis-Soissan, V., Li, L., Godwin, I. R., Barnett, M. C., Perdok, H. B., & Hegarty, R. S. (2014). Use of nitrate and Propionibacterium acidipropionici to reduce methane emissions and increase wool growth of Merino sheep. *Animal Production Science*, 54(10), 1860–1866. <https://doi.org/10.1071/AN14329>
- de Souza Filho, W., Nunes, P. A. de A., Barro, R. S., Kunrath, T. R., de Almeida, G. M., Genro, T. C. M., Bayer, C., & de Faccio Carvalho, P. C. (2019). Mitigation of enteric methane emissions through pasture management in integrated crop-livestock systems: Trade-offs between animal performance and environmental impacts. *Journal of Cleaner Production*, 213, 968–975. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.12.245>
- Dhanao, M. S.; France, J.; Siddons, R. C.; Lopez, S. and Buchanan-Smith, J. G. 1995. A non-linear compartmental model to describe forage degradation kinetics during incubation in polyester bags in the rumen. *British Journal of Nutrition* 73:3-15. <https://doi.org/10.1079/BJN19950004>
- Duffield, T.F., Rabiee, A.R., Lean, I.J. Uma meta-análise do impacto da monensina em gado leiteiro em lactação. Parte 2. Efeitos de produção. *Revista de Ciência do Leite*. 2008;91(4):1347–1360. doi:10.3168/jds.2007-0608
- Enjalbert, F., Combes, S., Zened, A., & Meynadier, A. (2017). Rumen microbiota and dietary fat: a mutual shaping. *Journal of Applied Microbiology*, 123(4), 782–797. <https://doi.org/10.1111/jam.13501>
- Feng, X. Y., Dijkstra, J., Bannink, A., van Gastelen, S., France, J., & Kebreab, E. (2020). Antimethanogenic effects of nitrate supplementation in cattle: A meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, 103(12), 11375–11385. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18541>
- Fonseca, L., Mezzalira, J. C., Bremm, C., Filho, R. S. A., Gonda, H. L., & Carvalho, P. C. d. F. (2012). Management targets for maximising the short-term herbage intake rate of cattle grazing in Sorghum bicolor. *Livestock Science*, 145(1–3), 205–211. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2012.02.003>
- Fulkerson, W. J., & Donaghy, D. J. (2001). Plant-soluble carbohydrate reserves and senescence - Key criteria for developing an effective grazing management system for ryegrass-based pastures: A review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 41(2), 261–275. <https://doi.org/10.1071/EA00062>
- Gallaher, R. N., Weldon, C. O., & Futral, J. G. (1975). An Aluminum Block Digester for Plant and Soil Analysis. *Soil Science Society of America Journal*, 39(4), 803–806. <https://doi.org/10.2136/sssaj1975.03615995003900040052x>
- Gonçalves, G. D., Dos Santos, G. T., Jobim, C. C., Damasceno, J. C., Cecato, U., & Branco, A. F. (2003). Feed intake, digestibility, protein and carbohydrate fractions of tifton 85 hay with different harvest ages. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 32(4), 804–813. <https://doi.org/10.1590/s1516-35982003000400004>
- Hadipour, A., Mohit, A., Kuhi, H. D., & Hashemzadeh, F. (2021). Recent Nutritional Advances to Mitigate Methane Emission in Cattle: A Review. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 11(1), 1–14.

- Hambleton, L. G. (1977). Semiautomated Method for Simultaneous Determination of Phosphorus, Calcium, and Crude Protein in Animal Feeds. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 60(4), 845–852. <https://doi.org/10.1093/jaoac/60.4.845>
- Haque, M. N. (2018). Dietary manipulation: A sustainable way to mitigate methane emissions from ruminants. *Journal of Animal Science and Technology*, 60(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s40781-018-0175-7>
- Hare, M. D., Phengphet, S., Songsiri, T., Sutin, N., & Stern, E. (2013). Effect of cutting interval on yield and quality of two *Panicum maximum* cultivars in Thailand. *Tropical Grasslands - Forrajes Tropicales*, 1, 84–86. [https://doi.org/10.17138/TGFT\(1\)87-89](https://doi.org/10.17138/TGFT(1)87-89)
- Hariadi, B. T., & Santoso, B. (2010). Evaluation of tropical plants containing tannin on in vitro methanogenesis and fermentation parameters using rumen fluid. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(3), 456–461. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3839>
- Hegarty, R. S., Passetti, R. A. C., Dittmer, K. M., Wang, Y., Shelton, S., Emmet-Booth, J., Wollenberg, E., McAllister, T., Leahy, S., Beauchemin, K., & Gurwick, N. (2021). An evaluation of evidence for efficacy and applicability of methane inhibiting feed additives for livestock. Edition 1. A Report Coordinated by Climate Change, Agriculture and Food Security (CCAFS) and the New Zealand Agricultural Greenhouse Gas Research Centre (NZAGRC) Initiative of the Global Research Alliance (GRA)., November, 1–104.
- Honan, M., Feng, X., Tricarico, J. M., & Kebreab, E. (2021). Feed additives as a strategic approach to reduce enteric methane production in cattle: Modes of action, effectiveness and safety. *Animal Production Science*. <https://doi.org/10.1071/AN20295>
- Hoover, W. H., & Stokes, S. R. (1991). Balancing Carbohydrates and Proteins for Optimum Rumen Microbial Yield. *Journal of Dairy Science*, 74(10), 3630–3644. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78553-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78553-6)
- Hristov, A. N., Oh, J., Firkins, J. L., Dijkstra, J., Kebreab, E., Waghorn, G., Makkar, H. P. S., Adesogan, A. T., Yang, W., Lee, C., Gerber, P. J., Henderson, B., & Tricarico, J. M. (2013). SPECIAL TOPICS-Mitigation of methane and nitrous oxide emissions from animal operations: II. A review of manure management mitigation options. *Journal of Animal Science*, 91(11), 5070–5094. <https://doi.org/10.2527/jas.2013-6584>
- Ítavo, L. C. V., Ítavo, C. C. B. F., Dias, A. M., Franco, G. L., Pereira, L. C., Leal, E. S., Araújo, H. S., & Souza, A. R. D. L. (2016). Combinations of non-protein nitrogen sources in supplements for Nellore steers grazing. *Revista Brasileira de Saude e Producao Animal*, 17(3), 448–460. <https://doi.org/10.1590/S1519-99402016000300011>
- IPCC, 2014. Summary for policymakers. Pages 6–10 in *Climate Change 2014: Mitigation of Climate Change. Contribution of Working Group III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC)*. O. Edenhofer, R. Pichs-Madruga, Y. Sokona, E. Farahani, S. Kadner, K. Seyboth, A. Adler, I. Baum, S. Brunner, P. Eickemeier, B. Kriemann, J. Savolainen, S. Schlomer, C. von Stechow, T. Zwickel, and J.C. Minx, ed. Cambridge University Press, Cambridge, UK. https://www.ipcc.ch/pdf/assessment-report/ar5/wg3/WGIIIAR5_SPM_TS_Volume.pdf
- Janssen, P. H. (2010). Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentation thermodynamics. *Animal Feed Science and Technology*, 160(1–2), 1–22. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.07.002>

- Jose Neto, A.; Messana, J.D.; Rossi, L.G.; Carvalho, I.P.C.; Berchielli, T.T. Methane emissions from Nelore bulls on pasture fed two levels of starch-based supplement with or without a source of oil. *Animal Production Science*, v. xx, p. xx, 2018.
- Klop, G., Hatew, B., Bannink, A., & Dijkstra, J. (2016). Feeding nitrate and docosaheptaenoic acid affects enteric methane production and milk fatty acid composition in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 99(2), 1161–1172. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10214>
- Kosambi, D.D. (1944) The estimation of map distance from recombination values. *Ann Eugen* 12:172-175.
- Kosloski, G. V. *Bioquímica dos ruminantes*. 2ª edição, revista ampliada, editora UFSM. Santa Maria, 2002.
- Latham, E. A., Anderson, R. C., Pinchak, W. E., & Nisbet, D. J. (2016). Insights on alterations to the rumen ecosystem by nitrate and nitrocompounds. *Frontiers in Microbiology*, 7(MAR), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00228>
- Latham, E. A., Anderson, R. C., Pinchak, W. E., & Nisbet, D. J. (2016). Insights on alterations to the rumen ecosystem by nitrate and nitrocompounds. *Frontiers in Microbiology*, 7(MAR), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00228>
- Lee, C., Araujo, R. C., Koenig, K. M., & Beauchemin, K. A. (2015a). Effects of encapsulated nitrate on enteric methane production and nitrogen and energy utilization in beef heifers. *Journal of Animal Science*, 93(5), 2391–2404. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8845>
- Lee, C., Araujo, R. C., Koenig, K. M., & Beauchemin, K. A. (2015b). Effects of feed consumption rate of beef cattle offered a diet supplemented with nitrate ad libitum or restrictively on potential toxicity of nitrate. *Journal of Animal Science*, 93(10), 4956–4966. <https://doi.org/10.2527/jas.2015-9435>
- Lee, Chanhee, & Beauchemin, K. A. (2014). A review of feeding supplementary nitrate to ruminant animals: Nitrate toxicity, methane emissions, and production performance. *Canadian Journal of Animal Science*, 94(4), 557–570. <https://doi.org/10.4141/CJAS-2014-069>
- Lee, J. M., Donaghy, D. J., & Roche, J. R. (2008). Effect of defoliation severity on regrowth and nutritive value of perennial ryegrass dominant swards. *Agronomy Journal*, 100(2), 308–314. <https://doi.org/10.2134/agronj2007.0099>
- Leng, R. A. (1990). Factors Affecting the Utilization of ‘Poor-Quality’ Forages by Ruminants Particularly Under Tropical Conditions. *Nutrition Research Reviews*, 3(1), 277–303. <https://doi.org/10.1079/nrr19900016>
- Licitra, G., Hernandez, T. M., & Van Soest, P. J. (1996). Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Animal Feed Science Technology*, 57(4), 347–358. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(95\)00837-3](https://doi.org/10.1016/0377-8401(95)00837-3)
- Lima, P. D. M. T., Filho, A. L. A., Issakowicz, J., Ieda, E. H., Corrêa, P. S., De Mattos, W. T., Gerdes, L., McManus, C., Abdalla, A. L., & Louvandini, H. (2020). Methane emission, ruminal fermentation parameters and fatty acid profile of meat in Santa Inês lambs fed the legume macrotiloma. *Animal Production Science*, 60(5), 665–673. <https://doi.org/10.1071/AN19127>
- Littell, R.C., Stroup, W.W., Milliken, G.A., Wolfinger, R.D. e Schabenberger, O. 2006. SAS para modelos mistos. 2ª edição. SAS Inst., Cary, Carolina do Norte.
- Longo, C., Bueno, I. C. S., Nozella, E. F., Goddoy, P. B., Cabral Filho, S. L. S., & Abdalla, A. L. (2006). The influence of head-space and inoculum dilution on in vitro ruminal methane measurements. *International Congress Series*, 1293, 62–65. <https://doi.org/10.1016/j.ics.2006.03.017>

- Lourenço, M., Ramos-Morales, E., & Wallace, R. J. (2010). The role of microbes in rumen lipolysis and biohydrogenation and their manipulation. *Animal*, 4(7), 1008–1023. <https://doi.org/10.1017/S175173111000042X>
- Maczulak, A. E., Dehority, B. A., & Palmquist, D. L. (1981). Effects of long-chain fatty acids on growth of rumen bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 42(5), 856–862. <https://doi.org/10.1128/aem.42.5.856-862.1981>
- Maia, M. R., Chaudhary, L. C., Bestwick, C. S., Richardson, A. J., McKain, N., Larson, T. R., Graham, I. A., & Wallace, R. J. (2010). Toxicity of unsaturated fatty acids to the biohydrogenating ruminal bacterium, *Butyrivibrio fibrisolvens*. *BMC Microbiology*, 10, 8–10. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-10-52>
- Maia, M. R. G., Chaudhary, L. C., Figueres, L., & Wallace, R. J. (2007). Metabolism of polyunsaturated fatty acids and their toxicity to the microflora of the rumen. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 91(4), 303–314. <https://doi.org/10.1007/s10482-006-9118-2>
- Mauricio, R. M., Mould, F. L., Dhanoa, M. S., Owen, E., Channa, K. S., & Theodorou, M. K. (1999). A semi-automated in vitro gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. *Animal Feed Science and Technology*, 79(4), 321–330. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(99\)00033-4](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(99)00033-4)
- Meale, S. J., Chaves, A. V., Baah, J., & McAllister, T. A. (2012). Methane production of different forages in in vitro ruminant fermentation. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 25(1), 86–91. <https://doi.org/10.5713/ajas.2011.11249>
- Mertens, D. R., Allen, M., Carmany, J., Clegg, J., Davidowicz, A., Drouches, M., Frank, K., Gambin, D., Garkie, M., Gildemeister, B., Jeffress, D., Jeon, C. S., Jones, D., Kaplan, D., Kim, G. N., Kobata, S., Main, D., Moua, X., Paul, B., ... Wolf, M. (2002). Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: Collaborative study. *Journal of AOAC International*, 85(6), 1217–1240. <https://doi.org/10.1093/jaoac/85.6.1217>
- Mertens, D. R. (1977). Dietary fiber components: relationship to the rate and extent of ruminal digestion. *Federation Proceedings* 36:187-192.
- Mezzalira, J. C., Bonnet, O. J. F., Carvalho, P. C. d. F., Fonseca, L., Bremm, C., Mezzalira, C. C., & Laca, E. A. (2017). Mechanisms and implications of a type IV functional response for short-term intake rate of dry matter in large mammalian herbivores. *Journal of Animal Ecology*, 86(5), 1159–1168. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12698>
- Moojen, F. G., Bremm, C., Laca, E. A., Machado, D. R., Savian, J. V., & Carvalho, P. C. d. F. (2022). Herbage allowance and stocking method effect on grazing systems: Results of a long-term experiment. *Grass and Forage Science*, 77(1), 45–54. <https://doi.org/10.1111/gfs.12556>
- Muñoz, C., Letelier, P. A., Ungerfeld, E. M., Morales, J. M., Hube, S., & Pérez-Prieto, L. A. (2016). Effects of pregrazing herbage mass in late spring on enteric methane emissions, dry matter intake, and milk production of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 99(10), 7945–7955. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-10919>
- Natel, A. S., Abdalla, A. L., de Araujo, R. C., McManus, C., Paim, T. do P., de Abdalla Filho, A. L., Louvandini, P., & Nazato, C. (2019). Encapsulated nitrate replacing soybean meal changes in vitro ruminal fermentation and methane production in diets differing in concentrate to forage ratio. *Animal Science Journal*, 90(10), 1350–1361. <https://doi.org/10.1111/asj.13251>

- Njidda, A. A. and Nasiru, A. (2010). In vitro gas production and dry matter digestibility of tannin-containing forages of semi-arid region of north-eastern Nigeria. *Pakistan J. Nutr.* 9(1), 60-66.
- O'Donovan, M., Delaby, L. (2005). A comparison of perennial ryegrass cultivars differing in heading date and grass ploidy with spring calving dairy cows grazed at two different stocking rates. *Animal Research* 54, 337–350. doi:10.1051/animres:2005027
- Olijhoek, D. W., Hellwing, A. L. F., Brask, M., Weisbjerg, M. R., Højberg, O., Larsen, M. K., Dijkstra, J., Erlandsen, E. J., & Lund, P. (2016). Effect of dietary nitrate level on enteric methane production, hydrogen emission, rumen fermentation, and nutrient digestibility in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 99(8), 6191–6205. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10691>
- Oliveira, S., Adelson, J., Neto, S., Valença, R. D. L., Dantas, C., & Caroline, A. (2016). REVIEW CARBOIDRATOS FIBROSOS E NÃO FIBROSOS NA DIETA DE RUMINANTES E SEUS EFEITOS SOBRE A MICROBIOTA RUMINAL. 1–18.
- Parsons, A. J., & Penning, P. D. (1988). The effect of the duration of regrowth on photosynthesis, leaf death and the average rate of growth in a rotationally grazed sward. *Grass and Forage Science*, 43(1), 15–27. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.1988.tb02137.x>
- Paterson, J.A., Belyea, R., Bowman, J., Kerley, M., Williams, J., 1994. The impact of forage quality on supplementation regimen on ruminant animal intake and performance. In: Fahey Jr., G.C. (Ed.), *Forage Quality, Evaluation, and Utilization*. American Society of Agronomy, Madison, WI, pp. 59–114. <https://doi.org/10.2134/1994.foragequality.c2>.
- Pembleton, K. G., Rawnsley, R. P., Turner, L. R., Corkrey, R., & Donaghy, D. J. (2017). Quantifying the interactions between defoliation interval, defoliation intensity and nitrogen fertiliser application on the nutritive value of rainfed and irrigated perennial ryegrass. 2001, 1100–1111.
- Pereira, L. E. T., Paiva, A. J., Geremia, E. V., & da Silva, S. C. (2015). Grazing management and tussock distribution in elephant grass. *Grass and Forage Science*, 70(3), 406–417. <https://doi.org/10.1111/gfs.12137>
- Preston, TR (1995). *Alimentação de animais tropicais: Um manual para pesquisadores (2ª ed.)*. Roma: FAO.
- Preston, T. R. (2008). *Tropical animal feeding: A manual for research workers (2nd ed.)*.
- Rebello, Lucas R., Luna, I. C., Messana, J. D., Araujo, R. C., Simioni, T. A., Granja-Salcedo, Y. T., Vito, E. S., Lee, C., Teixeira, I. A. M. A., Rooke, J. A., & Berchielli, T. T. (2019). Effect of replacing soybean meal with urea or encapsulated nitrate with or without elemental sulfur on nitrogen digestion and methane emissions in feedlot cattle. *Animal Feed Science and Technology*, 257(October 2018), 114293. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114293>
- Rebello, Lucas Rocha. (2017). *Influência De Nitrato Encapsulado E Enxofre Na*.
- Reiser, R. (1951) Hydrogenation of polyunsaturated fatty acids by the ruminant. *Fed Proc* 10, 236.
- Rodrigues, J. P. P., Ramin, M., Huhtanen, P., Aru, F., Detmann, E., & Marcondes, M. I. (2018). Effect of soya bean oil supplementation and forage type on methane production and fibre digestibility using the in vitro gas production system. *Grass and Forage Science*, 73(2), 368–380. <https://doi.org/10.1111/gfs.12326>
- Rymer, C., Huntington, J. A., Williams, B. A., & Givens, D. I. (2005). In vitro cumulative gas production techniques: History, methodological considerations and challenges. *Animal Feed Science and Technology*, 123-124 Pa, 9–30. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.04.055>

- Santos, A. R. M. dos, Barros, L. V. de, Abreu, M. L. C., & Pedreira, B. C. (2020). In vitro ruminal fermentation parameters and methane production of Marandu palisadegrass (*Urochloa brizantha*) in a silvopastoral system associated with levels of protein supplementation. *Grass and Forage Science*, 75(3), 339–350. <https://doi.org/10.1111/gfs.12476>
- Savian, J. V., Priano, M. E., Nadin, L. B., Tieri, M. P., Schons, R. M. T., Basso, C., Pontes Prates, A., Bayer, C., & Carvalho, P. C. de F. (2019). Effect of sward management on the emissions of CH₄ and N₂O from faeces of sheep grazing Italian ryegrass pastures. *Small Ruminant Research*, 178(April), 123–128. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.08.011>
- Schofield, P., Pitt, R. E., & Pell, A. N. (1994). Kinetics of fiber digestion from in vitro gas production. *Journal of Animal Science*, 72(11), 2980–2991. <https://doi.org/10.2527/1994.72112980x>
- Silva, V. J., Pedreira, C. G. S., Sollenberger, L. E., Silva, L. S., Yasuoka, J. I., & Almeida, I. C. L. (2016a). Canopy height and nitrogen affect herbage accumulation, nutritive value, and grazing efficiency of ‘Mulato II’ brachiariagrass. *Crop Science*, 56(4), 2054–2061. <https://doi.org/10.2135/cropsci2015.12.0764>
- Silva, V. J., Pedreira, C. G. S., Sollenberger, L. E., Silva, L. S., Yasuoka, J. I., & Almeida, I. C. L. (2016b). Carbon assimilation, herbage plant-part accumulation, and organic reserves of grazed ‘mulato II’ brachiariagrass pastures. *Crop Science*, 56(5), 2853–2860. <https://doi.org/10.2135/cropsci2016.03.0148>
- Smith, L. W., Goering, H. K., & Gordon, C. H. (1972). Relationships of Forage Compositions With Rates of Cell Wall Digestion and Indigestibility of Cell Walls. *Journal of Dairy Science*, 55(8), 1140–1147. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(72\)85636-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(72)85636-4)
- Sniffen C.J., O'Connor J.D., Van Soest P.J., Fox D.G., Russell, J.B. Um sistema líquido de carboidratos e proteínas para avaliar dietas de bovinos: II. Disponibilidade de carboidratos e proteínas, *Journal of Animal Science*, Volume 70, Edição 11, novembro de 1992, Páginas 3562–3577, <https://doi.org/10.2527/1992.70113562x>
- Sun, K., Liu, H., Fan, H., Liu, T., & Zheng, C. (2021). Research progress on the application of feed additives in ruminal methane emission reduction: A review. *PeerJ*, 9. <https://doi.org/10.7717/peerj.11151>
- Tecnologia ANKOM. 2014. Fibra detergente neutro na técnica de saco de filtro de rações (para A2000 e A2000I). Método 13. ANKOM. <https://www.ankom.com/search?contains=Method+A2000>. (acessado em 25 de maio de 2022).
- Teixeira Vitor, C. M., da Fonseca, D. M., Cóser, A. C., Martins, C. E., do Nascimento Júnior, D., & Ribeiro Júnior, J. I. (2009). Dry matter production and nutritional value of elephant grass pasture under irrigation and nitrogen fertilization. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 38(3), 435–442. <https://doi.org/10.1590/s1516-35982009000300006>
- Theodorou, M. K., Williams, B. A., Dhanoa, M. S., McAllan, A. B., & France, J. (1994). A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 48(3–4), 185–197. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(94\)90171-6](https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)90171-6)
- Thurrow, J. M., Nabinger, C., de Souza Castilhos, Z. M., de Faccio Carvalho, P. C., Oliveira Medeiros, C. M., & Machado, M. D. (2009). Estrutura da vegetação e comportamento ingestivo de novilhos em pastagem natural do Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 38(5), 818–826. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982009000500006>
- Trindade, Júlio Kuhn da, Silva, S. C. da, Souza Júnior, S. J. de, Giacomini, A. A., Zeferino, C. V., Guarda, V. D. A., & Carvalho, P. C. de F. (2007). Composição morfológica da forragem consumida por bovinos de corte

- durante o rebaixamento do capim-marandu submetido a estratégias de pastejo rotativo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 42(6), 883–890. <https://doi.org/10.1590/s0100-204x2007000600016>
- Troy, S. M., Duthie, C. A., Hyslop, J. J., Roehe, R., Ross, D. W., Wallace, R. J., Waterhouse, A., & Rooke, J. A. (2015). Effectiveness of nitrate addition and increased oil content as methane mitigation strategies for beef cattle fed two contrasting basal diets. *Journal of Animal Science*, 93(4), 1815–1823. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8688>
- Turner, K. E., Cassida, K. A., & Zajac, A. M. (2013). Weight gains, blood parameters and faecal egg counts when meat-goat kids were finished on alfalfa, red clover and orchardgrass pastures. *Grass and Forage Science*, 68(2), 245–259. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.2012.00893.x>
- UNFCCC. (2015). ADOPTION OF THE PARIS AGREEMENT Draft decision -/CP.21. Conference of the Parties, CP/2015/L.(30 November to 11 December), 1–32.
- Ungerfeld, E.M., Kohn, R.A., 2006. The role of thermodynamics in the control of ruminal fermentation. In: Sejrsen, K., Hvelplund, T., Nielsen, M.O. (Eds.), *Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism and Impact of Nutrition on Gene Expression, Immunology and Stress*. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands, pp. 55–85.
- Ungerfeld, E. M. (2015). Shifts in metabolic hydrogen sinks in the methanogenesis-inhibited ruminal fermentation: A meta-analysis. *Frontiers in Microbiology*, 6(FEB), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00037>
- Valadares Filho, S. C.; Pina, D. S. Fermentação Ruminal. IN: BERCHIELLI et al. *Nutrição de Ruminantes*. Jaboticabal: Funep, 2011.
- Van Milgen, J.; Murphy, M. R. and Berger, L. L. 1991. A compartmental model to analyze ruminal digestion. *Journal of Dairy Science* 74:2515-2529. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)784294](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)784294)
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B., & Lewis, B. A. (1991). Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74(10), 3583–3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)
- Van Soest, P. J. (1967). Development of a Comprehensive System of Feed Analyses and its Application to Foragesfile:///Users/rafael/Downloads/0377-8401%252891%252990069-5.pdf. *Journal of Animal Science*, 26(1), 119–128.
- Van Soest, P. J. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. 2. A rapid method for the determination of fiber and lignin. *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists*, v.46, p.829-835, 1963.
- _____. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2.ed. Ithaca, New York: Cornell University Press, 1994. 476 p.
- Vieira, R. A. M.; Tedeschi, L. O. and Cannas, A. 2008. A generalized compartmental model to estimate the fibre mass in the ruminoreticulum: 1. Estimating parameters of digestion. *Journal of Theoretical Biology* 255:345-356. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2008.08.014>
- Vogel, J. (2008). Unique aspects of the grass cell wall. *Current Opinion in Plant Biology*, 11(3), 301–307. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2008.03.002>
- Weimer, P. J., & Kohn, R. A. (2016). Impacts of ruminal microorganisms on the production of fuels: how can we intercede from the outside? *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(8), 3389–3398. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7358-2>

- Williams, B.A., 2000. Cumulative gas production techniques for forage evaluation. In: Givens, D.I., Owen, E., Axford, R.F.E., Omed, H.M. (Eds.), *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*. CABI Publishing, Wallingford, UK, pp. 189–213.
- Wilson, J. W. (1960). Inclined Point Quadrats. *New Phytologist*, 59(1), 1–7. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1960.tb06195.x>
- Wilson J.R. and Hatfield R.D. (1997). Structural and chemical changes of cell wall types during stem development: Consequences for fibre degradation by rumen microflora. *Australian J. Agric. Res.* 48(2), 165-180.
- Wims, C. M., Deighton, M. H., Lewis, E., O’Loughlin, B., Delaby, L., Boland, T. M., & O’Donovan, M. (2010). Effect of pregrazing herbage mass on methane production, dry matter intake, and milk production of grazing dairy cows during the mid-season period. *Journal of Dairy Science*, 93(10), 4976–4985. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3245>
- Wolfinger, R., & O’Connell, M. (1993). Generalized Linear Mixed Models: A Pseudo-Likelihood Approach. *Journal of Statistical Computation and Simulation*, 48(3–4), 233–243. <https://doi.org/10.1080/00949659308811554>
- Yang, S. L., Bu, D. P., Wang, J. Q., Hu, Z. Y., Li, D., Wei, H. Y., Zhou, L. Y., & Looor, J. J. (2009). Soybean oil and linseed oil supplementation affect profiles of ruminal microorganisms in dairy cows. *Animal*, 3(11), 1562–1569. <https://doi.org/10.1017/S1751731109990462>
- Yasuoka, J. I., Pedreira, C. G. S., Holschuch, S. G., Almeida, O. G., & Pedroso, G. B. (2021). The enclosure cage technique revisited: Pasture responses under continuous stocking and their relationship with estimates of forage accumulation in grazing experiments. *Crop Science*, 61(2), 1488–1499. <https://doi.org/10.1002/csc2.20447>
- Zeng Z-B (1994) Precision mapping of quantitative trait loci. *Genetics* 136:1457-1468