

**ALINE CRISTINA DALL ORSOLETTA**

**EFEITO DO PASTEJO E DO MOMENTO DE ACESSO AO  
PASTO SOBRE A INGESTÃO, O DESEMPENHO E A  
EMIÇÃO DE METANO EM VACAS LEITEIRAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, como requisito para obtenção do título de mestre.

Orientador: Prof. Dr. Henrique Mendonça Nunes Ribeiro Filho

**LAGES – SC  
2016**

Ficha catalográfica elaborada pelo(a) autor(a),  
com auxílio do programa de geração  
automática da Biblioteca Setorial do  
CAV/UDESC

Dall Orsoletta, Aline Cristina

Efeito do pastejo e do momento de acesso ao  
pasto sobre a ingestão, o desempenho e a  
emissão de metano em vacas leiteiras / Aline  
Cristina Dall Orsoletta. Lages - 2016.

66 p.

Orientador: Henrique Mendonça Nunes Ribeiro  
Filho Dissertação (Mestrado) - Universidade do  
Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências  
Agroveterinárias, Programa de Pós-  
Graduação em Ciência Animal, Lages, 2016.

1. IMS pasto . 2. Metano. 3. Pastejo. 4.  
Vacas leiteiras. I. Mendonça Nunes Ribeiro  
Filho, Henrique. IV. Título.



**ALINE CRISTINA DALL ORSOLETTA**

**EFEITO DO PASTEJO E DO MOMENTO DE ACESSO AO  
PASTO SOBRE A INGESTÃO, O DESEMPENHO E A  
EMIÇÃO DE METANO EM VACAS LEITEIRAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, área de concentração: Produção Animal.

**Banca Examinadora:**

Orientador: \_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Henrique M. N. Ribeiro Filho  
Universidade do Estado de Santa Catarina

Membro: \_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Dimas Estrasulas de Oliveira  
Universidade do Estado de Santa Catarina

Membro: \_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos  
Universidade Estadual de Maringá

Membro: \_\_\_\_\_  
Rémy Delagarde  
Institut National de la Recherche Agronomique

**Lages, 22/02/2016**



De alguma forma sempre estará  
comigo e espero que meus passos  
nunca deixem de te orgulhar. Ao  
meu pai dedico este trabalho.



## AGRADECIMENTOS

Agradeço sempre em primeiro lugar a minha família! A minha mãe e aos meus irmãos, Alantales e Alaize, pela união, incentivo e apoio.

Ao Felipe, meu “namorado”, por trilhar comigo as minhas escolhas, pelo companheirismo durante esses anos ao meu lado.

Ao professor Henrique pela oportunidade, por acreditar no meu trabalho, pela orientação e pelos conhecimentos compartilhados.

Aos meus amigos Tiago, João Gabriel e Lucélia. Especialmente a Lucélia e o João Gabriel que não mediram esforços para ajudar na condução do projeto, e o João Gabriel que mesmo longe sempre esteve disposto a ajudar.

Aos meus queridos “escraviários” Marilisa, Ricardo, Roger, Gabriel, Morgana, Diana, Luis, André, Camila e Isabela ajudando do primeiro até o último dia de projeto independente do serviço pesado.

A Cecília, minha “best”, agradeço pela amizade, pelas longas conversas, diga-se de passagem, conversas imprescindíveis ao longo dia, pelos conselhos e palavras de incentivo.

As minhas amigas de longa data, Elisandra e Maêve, a amizade verdadeira é estar separado e nada mudar!

A todos que de alguma forma colaboraram para a conclusão de mais esta etapa.





## RESUMO

A inclusão da forragem em sistemas de produção de leite baseados em ração totalmente misturada (RTM) reduz os custos com a alimentação, traz benefícios à saúde do rebanho e reduz o impacto ambiental. O presente estudo objetivou avaliar o efeito do pastejo de azevém (*Lolium multiflorum* Lam.) combinado com o uso de RTM parcial em comparação à RTM sobre a emissão de metano, a ingestão de matéria seca (IMS) e o desempenho das vacas no terço médio de lactação. Os tratamentos experimentais foram 100% RTM (controle), RTM parcial + 6h de pastejo contínuo (09:00–15:00h) e RTM parcial + 6 h de pastejo divididos em dois períodos de três horas (09:00 – 12:00 h; 15:30 – 18:30h). Doze vacas F<sub>1</sub> (Holandês × Jersey; 132 ± 44 DEL) foram divididas em seis lotes e distribuídas em um Quadrado latino com três períodos de 21 dias (15 dias de adaptação e 6 de dias avaliação). O pasto utilizado foi o azevém e a RTM foi composta de 80% de silagem de milho, 18% farelo de soja, e 2% de mistura mineral e vitaminas (na matéria seca, MS). A mesma mistura foi utilizada para as vacas com acesso ao pasto. A IMS total (média = 16,1 kg MS/dia) e a produção de leite (média = 20,0 kg leite/dia) foram similares entre os tratamentos, entretanto, a IMS de pasto (7,4 vs. 6,0 kg/d) e o tempo de pastejo (+ 40 min/d) foram superiores nas vacas com acesso ao pasto por dois períodos de 3h quando comparadas às vacas com acesso ao pasto por 6h contínuas. A emissão de metano foi maior (656 vs. 547 g/d) nas vacas confinadas do que nos animais recebendo RTM parcial + pasto. A inclusão de pasto de azevém na dieta de vacas leiteiras recebendo RTM manteve o desempenho animal e reduziu a emissão de metano entérico. A proporção de forragem pastejada aumentou nas vacas com acesso ao pasto quando o período de acesso foi dividido em dois períodos após a ordenha da manhã e a ordenha da tarde.

**Palavras-chave:** IMS pasto. Metano. Pastejo. Vacas leiteiras.



## ABSTRACT

The inclusion of pasture in dairy feeding systems based on a total mixed ration (TMR) reduces feed costs, benefits herd health and reduces environmental impact. The present study aimed to evaluate the effect of ryegrass pasture (*Lolium multiflorum* Lam.) combined with a partial TMR or a TMR on the enteric methane emissions, dry matter intake (DMI), and performance of dairy cows from mid- to late lactation. The experimental treatments included 100% TMR (control), partial TMR + 6 h of continuous grazing (0900 – 1500 h) and partial TMR + 6 h of grazing that was divided into 2 periods of 3 h after milking (0900 – 1200 h; 1530 – 1830 h). Twelve F<sub>1</sub> cows (Holstein × Jersey; 132 ± 44 days in milk) were divided into 6 lots and distributed in a 3 × 3 Latin square design with 3 periods of 21 d (15 d of adaptation and 6 d of evaluation). Ryegrass pasture was used, and the TMR was composed of 80% corn silage, 18% soybean meal, and 2% mineral and vitamins mixture, based on dry matter (DM). The same mixture was used for cows with access to pasture. The total DMI (average = 16.1 kg/d) and milk production (average = 20.0 kg/d) were similar for all cows; however, the pasture DMI (7.4 vs. 6.0 kg/d) and grazing period (+ 40 min/d) were higher in cows that had access to pasture for 2 periods of 3 h compared to those that grazed for a continuous 6 h period. Methane emission was higher (656 vs. 547 g/d) in confined cows than in those receiving partial TMR + pasture. The inclusion of ryegrass pasture in the diet of dairy cows maintained animal performance and reduced enteric methane emissions. The percentage of grazed forage in the cow's diet increased when access to pasture was provided in 2 periods after morning and afternoon milking.

**Key-words:** Dairy cow. Grazing. Methane. Pasture DMI.



## LISTA DE TABELAS

Table 1 - Chemical and nutritive value of the corn silage and TMR offered to dairy cows with or without access to annual ryegrass pastures.....	36
Table 2 - Pre-grazing pasture characteristics and composition of offered pasture swards when the pasture was grazed by dairy cows during 2 time periods throughout the day.....	44
Table 3 - Post-grazing pasture characteristics and nutritive value of selected pasture when the pasture was grazed by dairy cows during 2 time periods throughout the day.....	45
Table 4 - Milk production and composition in dairy cows that received TMR exclusively or partial TMR with annual ryegrass ( <i>Lolium multiflorum</i> Lam.) strip-grazing during 2 time periods throughout the day..	46
Table 5 - Dry matter intake, energy balance and grazing behavior of dairy cows that received TMR or partial TMR with annual ryegrass ( <i>Lolium multiflorum</i> Lam.) strip-grazing during 2 periods throughout the day.....	47
Table 6 - Enteric methane production of lactating dairy cows that received TMR or partial TMR with annual ryegrass ( <i>Lolium multiflorum</i> Lam.) strip-grazing during 2 time periods throughout the day.....	48



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADF	Acid detergent fiber
AGV	Ácido graxo volátil
BW	Body weight
CD	Consumo diário
CH <sub>4</sub>	Metano
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
CO <sub>2</sub> eq	Dióxido de carbono equivalente
CP	Crude protein
DM	Dry matter
DMI	Dry matter intake
DMO	Digestibilidade da matéria orgânica
EM	Energy metabolic
FCM	Fat corrected milk
FDA	Fibra em detergente ácido
FDN	Fibra em detergente neutro
GEE	Gases de efeito estufa
H <sub>2</sub>	Hidrogênio
IMS	Ingestão de matéria seca
MB	Massa de bocado
MM	Matéria mineral
MO	Matéria orgânica
MS	Matéria seca
MUN	Milk urea nitrogen
NDF	Neutral detergent fiber
OM	Organic matter
OMD	Organic matter digestibility
PB	Proteína bruta
PDIE	Protein truly digested in the intestine when energy is limiting for microbial synthesis in the rumen
PDIN	Protein truly digested in the intestine when nitrogen is limiting for microbial synthesis in the rumen





pH	Potencial hidrogênionico
PM	Pasture mass
RPM	Ração parcialmente misturada
RTM	Ração totalmente misturada
TB	Taxa de bocado
TI	Taxa de ingestão
TMR	Total mixed ration
TP	Tempo de pastejo
TS	Taxa de substituição



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>19</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>21</b>
2.1	USO DE SUPLEMENTAÇÃO EM PASTEJO.....	21
2.2	COMPORTAMENTO INGESTIVO EM PASTEJO....	24
2.3	EMIÇÃO DE METANO .....	29
<b>2.3.1</b>	<b>Metanogênese</b> .....	<b>29</b>
<b>2.3.2</b>	<b>Efeito do consumo e composição da dieta sobre a emissão de metano</b> .....	<b>30</b>
<b>3</b>	<b>HIPÓTESES</b> .....	<b>33</b>
3.1	HIPÓTESE GERAL .....	33
3.2	HIPÓTESES ESPECÍFICAS.....	33
<b>4</b>	<b>RYEGRASS PASTURE COMBINED WITH PARTIAL TOTAL MIXED RATION REDUCES ENTERIC METHANE EMISSIONS AND MANTAINS THE PERFORMANCE OF DAIRY COWS DURING MID TO LATE LACTATION</b> ....	<b>28</b>
4.1	INTRODUCTION.....	34
4.2	MATERIAL AND METHODS.....	35
<b>4.2.1</b>	<b>Treatments, experimental design and animals</b> .....	<b>35</b>
<b>4.2.2</b>	<b>Pasture and grazing management</b> .....	<b>37</b>
<b>4.2.3</b>	<b>Animal measurements</b> .....	<b>38</b>
<b>4.2.4</b>	<b>Feed and pasture measurements</b> .....	<b>40</b>
<b>4.2.5</b>	<b>Chemical analyses</b> .....	<b>42</b>
<b>4.2.6</b>	<b>Statistical analyses</b> .....	<b>42</b>
4.3	RESULTS.....	43
4.4	DISCUSSION.....	48
<b>4.4.1</b>	<b>DMI and grazing behavior</b> .....	<b>49</b>

<b>4.4.2 Milk production and milk composition .....</b>	<b>50</b>
<b>4.4.3 Enteric methane emissions.....</b>	<b>52</b>
<b>4.5 CONCLUSION.....</b>	<b>53</b>
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>54</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>56</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Em sistemas de produção de ruminantes, o pasto representa uma fonte barata de nutrientes, pois estes animais são capazes de digerir a celulose em maior amplitude que outras espécies. O manejo adequado na utilização de alimentos volumosos, como pastagens e forragens conservadas, reflete no desempenho dos animais e conseqüentemente no custo de produção. A inclusão da forragem pastejada em sistemas que utilizam a RTM reduz os custos com a alimentação, promove melhorias quanto à saúde do rebanho (SORIANO; POLAN; MILLER, 2001) e pode interferir na emissão de gases do efeito estufa (GEE), por exemplo, o metano.

Do ponto de vista produtivo, o uso de dietas mistas, incluindo o uso de pasto + RTM, eleva o consumo de matéria seca (MS) e o desempenho de vacas leiteiras de alta produção em comparação a suplementação com alimentos concentrados, mas pode não ser suficiente para a manutenção do seu desempenho em comparação a animais recebendo exclusivamente RTM (KOLVER; MULLER, 1998; BARGO et al., 2002a). Entretanto, o uso deste tipo de dieta para vacas leiteiras em pastejo a partir do terço médio de lactação ainda merece ser estudado. Deve-se considerar, contudo, que além do potencial e estágio de lactação do animal, a resposta produtiva ao uso de dietas mistas depende de condições de manejo, como, a oferta de forragem, o tempo de acesso ao pasto e o número diário de sessões de pastejo (PÉREZ-RAMÍREZ; PEYRAUD; DELAGARDE, 2009). O momento de acesso ao pasto pode ser utilizado como ferramenta de manejo visando aumentar a proporção do tempo gasto em pastejo e a velocidade de ingestão (CHILIBROSTE et al., 2015), isto é possível porque os ruminantes possuem a capacidade de alterar o comportamento ingestivo quando uma restrição no tempo de pastejo é imposta (CHILIBROSTE et al., 2007).

Em termos ambientais, a produção de metano pelos ruminantes relaciona-se principalmente com a quantidade e a qualidade do alimento consumido (BENCHAAAR; POMAR; CHIQUETTE, 2001). Logo, está diretamente relacionada com o manejo alimentar utilizado. Em relação ao uso de suplementação com RTM, O'Neill et al. (2012) trabalharam com silagem de milho e pastos de azevém perenes tipicamente utilizados na Europa e não encontraram diferença na emissão de metano (g CH<sub>4</sub>/kg MS consumida) entre animais mantidos apenas em pastejo ou suplementados com RTM. Contudo, o impacto dos diferentes sistemas alimentares em situações classicamente encontradas no sul do Brasil ainda merece ser investigado.

Desta forma, objetivou-se com o presente trabalho avaliar os efeitos do uso da forragem pastejada e o momento de acesso ao pasto combinado com o uso de RTM em comparação ao uso exclusivo de RTM sobre a ingestão, o desempenho e a emissão de metano de vacas leiteiras no terço médio de lactação.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 USO DE SUPLEMENTAÇÃO EM PASTEJO

Em sistemas de produção de leite onde a forragem pastejada faz parte da dieta dos animais o custo de produção é menor. Entretanto, há épocas do ano em que a taxa de acúmulo de forragem é baixa sendo insuficiente para manter o desempenho de vacas em lactação.

Além disso, dependendo do potencial de produção das vacas, o desempenho produtivo pode ser prejudicado devido a limitações à IMS e energia dos animais mantidos somente em pasto (KOLVER; MULLER, 1998). Estudos sugeriram que essas limitações estariam relacionadas à regulação do consumo, como o enchimento ruminal (ALLEN, 2000), as exigências nutricionais do animal (KOLVER, 2003), as características estruturais do pasto ofertado e limitações no tempo de acesso ao pasto (HODGSON, 1985).

A partir de tais limitações o uso de suplementação pode ser utilizado com o objetivo de diminuir as variações no desempenho animal nas épocas com baixa oferta de pasto otimizando o uso da terra (BARGO et al., 2003). No entanto, com o uso da suplementação a IMS de pasto diminui devido à taxa de substituição (TS), ou seja, para cada kg de alimento fornecido como suplemento o animal deixa de consumir uma determinada quantidade de pasto.

Algumas hipóteses sobre as causas da TS são levantadas. Entre elas podem-se citar os efeitos negativos da suplementação sobre o ambiente ruminal e a digestibilidade dos componentes fibrosos, a relação entre a exigência e o consumo de energia metabolizável (DIXON; STOCKDALE, 1999) e às reduções no tempo em pastejo com o fornecimento da suplementação (BARGO et al., 2002b).

A TS é variável devido às características e manejo do pasto (oferta, massa, altura, qualidade), características do



animal (nível de produção, estágio lactação) e do suplemento oferecido (quantidade e tipo) (DIXON; STOCKDALE, 1999). Normalmente os valores de TS em ruminantes são altos em forragens de alta digestibilidade, provavelmente devido aos mecanismos metabólicos que controlam a ingestão voluntária, reduzindo o consumo da forragem base (DIXON; STOCKDALE, 1999; BARGO et al., 2003). Desta forma, maiores valores de TS são esperados quando oferta-se suplemento com pasto de melhor qualidade e maior oferta. Quanto ao tipo de suplementação, menores valores são esperados com a suplementação baseada em concentrados do que em relação à suplementação com volumosos, como silagem de milho (STOCKDALE, 2000).

A suplementação com forragem conservada para vacas leiteiras em pastejo pode ser utilizada visando reduzir as variações de consumo durante as estações do ano, permitindo a intensificação da produção. Todavia, a resposta produtiva à suplementação irá depender da oferta e qualidade do pasto e da qualidade da silagem oferecidos, os quais irão determinar a TS e a IMS total (PHILLIPS, 1988).

Grande parte das variações entre a resposta produtiva esperada e a observada pode ser explicada pela TS. Com a suplementação de silagem de milho o consumo de MS de pasto reduz de 0,4 kg/kg MS ingerida do suplemento em baixas ofertas até 1,1 kg/kg MS ingerida do suplemento em altas ofertas de pasto (DELAGARDE et al., 2011), afetando diretamente a resposta marginal (kg de leite a mais por kg de MS de suplemento consumido) da suplementação sobre a produção de leite diária. Menores incrementos na produção diária de leite são observados devido a maiores TS (BARGO et al., 2003). Normalmente, quando a forragem conservada é fornecida para animais em baixas ofertas de pasto há aumento da produção de leite diária e da IMS total (DELAGARDE et al., 2011). No entanto, quando não há restrições na oferta de pasto a IMS total depende do valor nutritivo da forragem

conservada ofertada em comparação ao pasto (PHILLIPS, 1988).

Em recente estudo Miguel et al. (2014) relataram o aumento linear na IMS total e na produção de leite quando vacas leiteiras em pastejo de azevém são suplementadas com 0, 4 ou 8 kg MS de silagem de milho. Entretanto, não houve diferença na IMS de pasto. Tal resultado foi explicado pela baixa TS encontrada devido à biomassa pré-pastejo ser limitante ao consumo de pasto. No mesmo sentido, Pérez-Prieto; Peyraud; Delagarde (2011) concluíram que é possível aumentar a IMS total e a produção de leite utilizando suplementação com silagem de milho em altas ofertas de pasto quando a forragem pastejada possui menor valor nutritivo que o suplemento ou baixa massa de forragem pré-pastejo.

Relevando o valor nutritivo da dieta, Hernandez-Mendo; Leaver (2010) ao fornecerem silagem de milho e pasto *ad libitum* sugeriram que os ruminantes possuem a capacidade de escolha de uma dieta de melhor valor nutritivo. Neste caso o consumo da forragem pastejada representou em média 70% do consumo total sendo que o pasto apresentou maior digestibilidade, energia metabolizável e proteína bruta em comparação à silagem de milho.

Além do oferecimento da silagem como único suplemento ou fornecida separadamente do concentrado, as forragens conservadas compõem a maior parte da RTM. Quando comparamos o uso de RTM vs. pastejo para vacas de alta produção é possível observar maior IMS total, consumo de energia e produção de leite nos animais recebendo RTM (KOLVER; MULLER, 1998; O'NEILL et al., 2011).

A utilização da RTM como suplemento para animais em pastejo está relacionada com a fermentação ruminal mais estável devido a menor variação no pH ruminal, e consequentemente menor influência sobre a digestão da fibra em comparação aos animais suplementados com alimento concentrado fornecido separadamente (WALES et al., 2013).

Em trabalho comparando o desempenho de vacas em lactação recebendo RTM, pasto + RTM ou pasto + concentrado, Bargo et al. (2002a) encontraram desempenho intermediário para os animais recebendo pasto + RTM, os quais consumiram 1,5 kg MS a menos que o tratamento RTM e 3,6 kg MS a mais que os animais recebendo suplementação com concentrado. Estes resultados se refletiram sobre a produção de leite diária, - 6,1 kg leite/dia que a RTM e + 3,5 kg de leite/dia que o pasto + concentrado.

No mesmo sentido, Vibart et al. (2008) avaliaram o efeito de diferentes proporções de RTM : pasto (100:00; 79:21; 68:32; 59:41) sobre o desempenho. A maior IMS de pasto com a redução da proporção da RTM na dieta não foi capaz de manter a IMS total e a produção de leite diária em comparação as vacas recebendo apenas RTM, sendo esta resposta atribuída pelos autores ao tempo restrito de acesso ao pasto (~ 7h/d) e o maior gasto de energia com a atividade de pastejo.

Em resumo, o uso da suplementação com forragem conservada para animais em pastejo é uma opção em propriedades leiteiras quando a disponibilidade de pasto não é suficiente para atender as exigências nutricionais da vaca ou para ser utilizada visando à intensificação do sistema de produção. No entanto, para a máxima resposta produtiva e para compensar os custos adicionais com a utilização da suplementação deve-se considerar a oferta e a qualidade do pasto e do suplemento, além do potencial genético e do estágio de lactação das vacas.

## 2.2 COMPORTAMENTO INGESTIVO EM PASTEJO

A distribuição das atividades dos ruminantes em pastejo, ruminação e descanso, por exemplo, resulta de uma série de decisões de “quando” iniciar o pastejo, “qual” intensidade e frequência, e “como” distribuir os eventos ao longo do tempo (GREGORINI, 2012). Os fatores que

influenciam tais decisões estão ligados às características do animal (estado fisiológico), a regulação consumo (fome e saciedade), as características do pasto, ao tempo de acesso ao pasto e ao fornecimento de suplementação (CHILIBROSTE; GIBB; TAMMINGA, 2005), os quais influenciam diretamente o consumo diário total.

Segundo, Forbes (2005) o comportamento ingestivo está relacionado com a integração de mecanismos de regulação do consumo de curto e longo prazo. Em curto prazo os mecanismos relacionados a uma refeição (tamanho e frequência) são diretamente associados com as características do alimento consumido. O controle em longo prazo, 24 horas ou mais, depende principalmente das exigências nutricionais.

De forma geral, Allden; Whittaker (1970) relataram que o consumo diário (CD, g/dia) de pasto é o produto do tempo gasto em pastejo (TP, min) e da taxa de ingestão (TI, g/min em pastejo):

$$CD = TP \times TI$$

Sendo que a TI é o produto da taxa de bocados (TB, bocado/min) e da massa de forragem consumida por bocado (MB, g):

$$TI = TB \times MB$$

Logo, o bocado é considerado a menor escala no processo de pastejo (CARVALHO, 2013), sendo que a massa do bocado é a variável que está mais diretamente associada com as condições do pasto, altura, proporção de folhas e massa (ORR et al., 2004). Normalmente, a massa do bocado declina com a menor massa ou altura do pasto (HODGSON, 1985). Quando a altura do pasto ou a massa são limitantes resultando em diminuição da massa do bocado a taxa de bocados tende a aumentar devido a menor manipulação e mastigação da forragem colhida (LACA; UNGAR; DEMMENT, 1994).

Entretanto, esta adaptação muitas vezes não é suficiente, havendo declínio da taxa de ingestão.

A principal resposta compensatória quando algum fator estrutural do pasto é limitante (por exemplo, a altura) é o aumento no tempo de pastejo e o menor o tempo de ruminação (GIBB et al., 1997). Entretanto, mesmo aumentando o tempo de pastejo vacas em lactação nem sempre são capazes de compensar totalmente a redução na taxa de ingestão, e o consumo diário é reduzido.

Os ruminantes apresentam de três a cinco eventos diários de pastejo, sendo que as duas principais refeições ocorrem no início da manhã e no final da tarde. Nestas refeições o consumo corresponde a 60 – 80% da ingestão diária total sendo esperadas maiores taxas de ingestão (BAUMONT et al., 2000). Neste sentido, justifica-se a realização de estudos que investiguem a possibilidade do manejo do pastejo de vacas leiteiras coincidir com os períodos de maior taxa de ingestão podendo interferir positivamente no desempenho de vacas leiteiras.

Movendo vacas leiteiras para novos piquetes após a ordenha da manhã ou da tarde, Orr et al. (2001) e Abrahamse; Tamminga; Dijkstra (2009) observaram mudanças no padrão de pastejo. Com acesso ao novo piquete após a ordenha da tarde a atividade de pastejo foi menos fragmentada, além disto, os autores discutiram que esta forma de manejo poderia resultar em maior consumo de carboidratos solúveis devido à mudança na composição do pasto ao longo do dia. A IMS total não variou entre os tratamentos (~ 18 kg MS/vaca), mas nos animais com acesso ao pasto após a ordenha da tarde houve maior consumo de MS na primeira sessão de pastejo (15,8 vs. 12,1 kg MS/vaca) (ORR et al., 2001). Maiores teores de carboidratos solúveis são encontrados no pasto no fim do dia em comparação aos teores encontrados pela manhã (DELAGARDE et al., 2000).

Além da estrutura e do momento de acesso ao pasto, o fornecimento de suplementação também pode afetar o comportamento em pastejo. Bargo et al. (2003) em revisão sobre a suplementação de vacas leiteiras em pastejo, discutiram que com o fornecimento de suplementação concentrada é observada uma redução no tempo em pastejo, sendo essa redução maior em altas ofertas de suplemento (BARGO et al., 2002b). De outra forma, não são observados efeitos diretos da suplementação sobre a massa e a taxa de bocados. Com o uso de suplementação com forragem conservada é esperada redução no tempo de pastejo de aproximadamente 35 min/kg de silagem consumida em situações de elevada TS (PHILLIPS; LEAVER, 1985). Além disso, a taxa de ingestão também pode diminuir devido a menor motivação para pastejar (PÉREZ-PRIETO; PEYRAUD; DELAGARDE, 2011a). Em relação ao comportamento de animais em pastejo recebendo suplementação com RTM parcial, Bargo et al. (2002b) não encontraram diferenças no tempo em pastejo entre a ordenha da manhã e da tarde quando comparado com vacas em lactação recebendo suplementação com concentrado (-4,3 horas).

Como já mencionado acima, é possível utilizar o tempo e momento de acesso ao pasto como ferramenta de manejo visando o desempenho animal devido às alterações no comportamento. As adaptações no comportamento ingestivo com a restrição no tempo de acesso ao pasto são bem estabelecidas e dentre as principais adaptações, está o aumento no tempo de pastejo, na proporção do tempo gasto em pastejo, aumento na taxa de ingestão e na eficiência de pastejo (IMS/hora de acesso ao pasto) (PEYRAUD; DELAGARDE, 2013; CHILIBROSTE et al., 2015). Entretanto, essas adaptações devem ser analisadas com cautela, uma vez que estudos reportaram significativa redução na produção de leite e IMS de vacas em lactação com 4 horas de acesso ao pasto + suplementação em comparação a 8 horas de acesso + suplementação, concluindo que o tempo de acesso de 4 horas

foi insuficiente para as adaptações no comportamento manter o desempenho (PÉREZ-RAMÍREZ; DELAGARDE; DELABY, 2008; MATTIAUDA et al., 2013).

As respostas do uso desta ferramenta de manejo sobre o desempenho, IMS e produção de leite, podem variar com o uso de suplementação, a oferta e valor nutritivo do pasto e o potencial produtivo das vacas. Comparando animais mantidos somente a pasto e com restrição no tempo de acesso de 9 horas sem suplementação, Pérez-Ramírez; Peyraud; Delagarde (2009) encontraram reduções na IMS e na produção de leite dos animais com restrição. Em contrapartida, Gregorini et al. (2009) restringiram o tempo de acesso ao pasto em 8 horas e não encontraram diferença significativa sobre a IMS, atribuindo esta resposta a oferta não limitante de pasto ( $\sim 33$  kg MS/vaca.dia). Utilizando suplementação concentrada, 3 kg MS de concentrado/vaca/dia + 9 horas de acesso ao pasto, Kennedy et al. (2009) não encontraram reduções na produção de leite, mas houve redução na IMS de pasto e total em comparação aos animais sem restrição de acesso ao pasto.

Dividindo o tempo restrito de acesso ao pasto, por exemplo, utilizando duas sessões de pastejo após cada ordenha, as adaptações no comportamento e a eficiência de pastejo podem ser maximizadas. Comparando 9 horas com 2,75 + 2,75 horas de acesso ao pasto (PÉREZ-RAMÍREZ; PEYRAUD; DELAGARDE, 2009), ou 4,5 + 4,5 horas; 3 + 3 horas a 22 horas de acesso ao pasto (KENNEDY et al., 2009) não houve diferenças quanto ao consumo de pasto, consumo de MS total e produção de leite, independente do uso de suplementação. Em ambos os estudos houve aumento na proporção do tempo gasto em pastejo ( $\sim 90\%$ ) e na taxa de ingestão ( $\sim 33\%$ ). Estas adaptações demonstraram maior motivação dos animais para pastar quando o tempo de acesso ao pasto por seção de pastejo é reduzido.

## 2.3 EMISSÃO DE METANO

As principais emissões de GEE na produção de ruminantes se devem à emissão de metano entérico a partir da fermentação ruminal, e de óxido nitroso a partir da aplicação de adubos, fertilizantes sintéticos e dejetos dos animais. No Brasil, as emissões do setor em termos de CO<sub>2</sub>eq representam 37% das emissões totais dos GEE, destes, 62% é proveniente da emissão de metano, sendo que a atividade leiteira representa a segunda principal fonte deste GEE (MCTI, 2014).

Além do impacto ambiental, a produção de metano no ruminante representa uma fonte de perda de energia. Esta perda varia de 2 a 12% da energia bruta consumida e está diretamente ligada ao consumo total e a qualidade do alimento consumido (JOHNSON; JOHNSON, 1995). Neste sentido, é relevante considerar estratégias de alimentação que proporcionem menor emissão de metano em sistemas de produção de leite, sendo possível reduzir o impacto da atividade sobre o meio ambiente no que diz respeito à emissão de GEE.

### 2.3.1 Metanogênese

Cerca de 90% do metano produzido pelos ruminantes é de origem ruminal e eliminado pela eructação, sendo o restante oriundo da fermentação no intestino grosso (MURRAY; BRYANT; LENG, 1976). A fermentação ruminal do alimento pelos microrganismos (bactérias, protozoários, fungos) resulta na produção de ácidos graxos voláteis (AGV) os quais são utilizados como fonte de energia pelo animal, e na produção de gases, CO<sub>2</sub> e metano.

A fermentação ruminal é um processo oxidativo, no qual cofatores (NADH; NADPH; FADH) são reoxidados (NAD; NAPD; FAD) por meio de reações de desidrogenação liberando hidrogênio para o meio ruminal. A retirada de H<sub>2</sub> do meio ruminal depende da atividade das bactérias metanógenas



(*Archaea*) que o utilizam para reduzir  $\text{CO}_2$  em metano:  $\text{CO}_2 + \text{H}_2 = \text{CH}_4 + 2 \text{H}_2\text{O}$  (MARTIN; MORGAVI; DOREAU, 2010). Se o  $\text{H}_2$  não fosse retirado do meio ruminal pelas metanógenas ele iria se acumular, impedindo a reoxidação do NADH. Conseqüentemente, haveria morte bacteriana e cessamento da fermentação ruminal (MANNETJE; JONES, 2000).

A taxa de formação de metano é diretamente relacionada com a concentração de  $\text{H}_2$  no fluido ruminal (JANSSEN, 2010), a qual é relacionada com a proporção de AGV produzidos, acetato, propionato e butirato. A produção de acetato e butirato dependem da retirada de  $\text{H}_2$  do meio ruminal, logo, a produção de metano vai ser diretamente proporcional à produção de acetato (MANNETJE; JONES, 2000).

Neste sentido, estratégias para mitigar a emissão de metano visam manipular diretamente ou indiretamente a liberação e utilização de  $\text{H}_2$  no ambiente ruminal. Revisões sobre o assunto destacam como estratégias a manipulação do ambiente ruminal, da dieta e do desempenho produtivo dos animais (BOADI et al., 2004; MARTIN; MORGAVI; DOREAU, 2010).

### **2.3.2 Efeito do consumo e composição da dieta sobre a emissão de metano**

A IMS é considerada o principal fator que afeta a emissão de metano (BENCHAAR; POMAR; CHIQUETTE, 2001). A maior produção de metano com o aumento da IMS pode ser explicada pelo maior consumo de substrato fermentável, incluindo maior consumo de matéria orgânica (MO) e de carboidratos estruturais e não estruturais (amido; fibra em detergente neutro (FDN)) (MOE; TYRRELL, 1979; BENCHAAR; POMAR; CHIQUETTE, 2001). Trabalhos comparando o efeito de diferentes dietas sobre a emissão de metano atribuem a maior emissão de metano à maior IMS. Vacas em lactação alimentadas com RTM emitiram 146 g

CH<sub>4</sub>/dia e consumiram 5,4 kg MS/dia a mais que animais em pastejo (O'NEILL et al., 2011).

A variação individual na emissão de metano segundo Garnsworthy et al. (2012) aumenta até a décima semana de lactação, sendo consistente com o aumento esperado da IMS com o progresso da lactação. Neste sentido, Robertson; Waghorn (2002), observaram maior emissão de metano (g/dia) e IMS em animais no início da lactação e alimentados com RTM em comparação a animais em pastejo.

A produção diária de metano também pode ser relacionada com o consumo diário (g CH<sub>4</sub>/kg MS consumida) sendo possível comparar os dados obtidos relevando a composição do alimento consumido, excluindo o efeito da IMS sobre a emissão. A composição do alimento consumido pode afetar diretamente a produção de metano, por exemplo, a digestibilidade da matéria orgânica (DMO), o teor de FDN e o teor de proteína bruta (PB) afetam a emissão de metano por unidade de alimento consumido (BENCHAAR; POMAR; CHIQUETTE, 2001).

O'Neill et al. (2011) compararam a emissão de metano entre animais recebendo RTM e em pastejo, observaram uma menor produção de CH<sub>4</sub> por kg de MS consumida nos animais em pastejo, atribuindo isto ao maior teor de MO digestível da forragem pastejada em relação à RTM (830 vs. 768 g/kg de MS). O consumo de dietas com maior DMO provoca a redução do pH ruminal, diminui o crescimento de microrganismos metanogênicos, a digestibilidade da fibra e o tempo de retenção ruminal (PINARES-PATIÑO et al., 2003; LEE et al., 2004). Consequentemente, uma menor produção de metano é esperada.

Considerando sistemas em pastejo, Wims et al. (2010) reportaram que é possível mitigar a emissão de metano a partir do manejo de pastos de alto valor nutritivo. Neste caso, o manejo do pasto com menor massa pré-pastejo proporcionou a seleção de uma forragem com maior proporção de folhas,

maior digestibilidade e teor de PB. O teor de PB da dieta afeta a produção de metano porque sua fermentação ruminal produz menos metano que a fermentação dos carboidratos (CONE; VAN GELDER, 1999).

Além dos fatores expostos acima, a produção de metano e a relação g CH<sub>4</sub>/kg de MS consumida podem ser afetadas pelo consumo de FDN e pela qualidade da fibra na dieta (FDA: FDN) (AGUERRE et al., 2011; FREDEEN et al., 2013). Dietas com maiores teores de fibra aumentam a produção de acetato e consequentemente produzem mais metano (BENCHAAR; POMAR; CHIQUETTE, 2001). Em relação à composição da fibra, Hindrichsen et al. (2004) mencionaram que a hemicelulose afeta negativamente a produção de metano devido a menor lignificação da fibra e/ou pelo fato que a hemicelulose solúvel aumenta a produção de propionato.

A partir de um modelo para predizer a emissão de metano, Benchaar; Pomar; Chiquette (2001) avaliaram o efeito de diferentes estratégias de manejo alimentar sobre a emissão de metano. A emissão pode ser reduzida de 9 – 40%, dependendo do manejo utilizado. Como já mencionado, a emissão de metano é dependente do alimento ingerido, devido à proporção de AGV produzidos e/ou pela extensão da fermentação ruminal. Entretanto, além do manejo alimentar, em longo prazo, a busca por melhores índices produtivos na produção de ruminantes representam uma boa alternativa visando a menor emissão de metano por unidade produzida (leite ou carne).

### **3 HIPÓTESES**

#### **3.1 HIPÓTESE GERAL**

A inclusão de forragem pastejada de bom valor nutritivo em dietas para vacas leiteiras recebendo RTM no terço médio de lactação possibilita a manutenção do consumo total de matéria e a mitigação da emissão de metano.

#### **3.2 HIPÓTESES ESPECÍFICAS**

O uso de dietas mistas incluindo azevém anual + RTM parcial para vacas leiteiras no terço médio de lactação possibilita produção de leite individual e composição do leite equivalente a vacas recebendo exclusivamente RTM.

Animais com acesso ao pasto por três horas após cada ordenha apresentarão maior proporção do tempo gasto em pastejo e maior consumo da forragem pastejada em comparação aos animais com acesso ao pasto por seis horas contínuas.

## **4 ARTIGO - RYEGRASS PASTURE COMBINED WITH PARTIAL TMR REDUCES ENTERIC METHANE EMISSIONS AND MAINTAINS THE PERFORMANCE OF DAIRY COWS DURING MID TO LATE LACTATION**

### **4.1 INTRODUCTION**

The inclusion of grazed pasture in dairy feeding systems based on TMR can reduce feed costs (SORIANO; POLAN; MILLER, 2001; TOZER; BARGO; MULLER, 2003) and benefit herd health. The milk production of cows that received supplementation with a partial TMR in pasture-based systems was increased compared to that of cows that consumed solely a pasture diet (MIGUEL et al., 2014; O'NEILL et al., 2012). Further per-cow advantages have also been found during periods of low pasture accumulation rate or in areas with low grazing availability (WALES et al., 2013). Additionally, a mixed diet, including grazed pasture + partial TMR, improved the DMI and milk production of high-producing dairy cows compared to supplementation with concentrate (BARGO et al., 2002). However, comparisons of the effects of a TMR and a mixed diet, such as annual ryegrass pasture and a partial TMR, on dairy cows with low energy requirements, such as during mid- to late lactation, are scarce.

In terms of environmental impact, cows that grazed high-quality pastures in early lactation produced similar or lower methane emissions per kilogram of DMI than cows that received exclusively a TMR (O'NEILL et al., 2011; ROBERTSON; WAGHORN, 2002). Similarly, compared with cows that consumed solely a pasture diet, cows that grazed high-quality pastures during mid- to late lactation did not have lower enteric methane emissions per unit of DMI when they received TMR supplementation (O'NEILL et al., 2012). Additionally, the daily amount of time spent at pasture and in

certain grazing sections (after a.m. or p.m. milking) affected the proportion of pasture in total DMI (ORR et al., 2001). This effect occurs because ruminants change their ingestive behavior when the time available to graze is restricted (CHILIBROSTE et al., 2007); under these conditions, ruminants increase the proportion of time spent grazing and the intake rate (PÉREZ-RAMÍREZ et al., 2008, 2009). However, how these effects influence enteric methane emissions has not been sufficiently studied.

Thus, the aim of this work was to compare the enteric methane emissions and milk production of dairy cows in mid- to late lactation that grazed pastures at different times of day and that received partial TMR or TMR only. We hypothesized that a mixed diet (graze pasture + partial TMR) could maintain milk production and mitigate methane emissions compared with TMR. We further hypothesized that access to pasture after a.m. and p.m. milking would increase the proportion of pasture in total DMI and mitigate methane emissions.

## 4.2 MATERIAL AND METHODS

### 4.2.1 Treatments, Experimental Design and Animals

All procedures were approved by the Santa Catarina State University Ethical Committee, protocol n°. 01.77.14. The treatments included the following: 100% TMR; 6 h of continuous access to pasture between morning and afternoon milking (0900 to 1500 h) + supplementation with partial TMR (**6 h**); and 6 h of access to pasture divided into 2 periods of 3 h after each milking (0900 to 1200 h and 1530 to 1830 h) + supplementation with partial TMR (**3+3 h**). The TMR was a mixture based on the DM of corn silage and soybean meal and was balanced for net energy and protein as recommended by INRA (2007). The same mixture was used in all treatments.

The chemical composition and energy value of the supplements are presented in Table 1.

The mixture was offered twice daily in amounts 20% greater than the amount consumed the previous day. Cows received TMR after the morning and afternoon milking. The cows in the 6 h treatment group received partial TMR after the afternoon milking, while those in the 3+3 h group received it after each grazing event. The TMR and partial TMR were offered in a covered feed trough in an outdoor facility with 2 cows/pen. The remaining mixture was considered refused and removed from the barn once daily (0700 h). Water and minerals were continually available indoors and during grazing.

Table 1 - Chemical and nutritive value of the corn silage and TMR offered to dairy cows with or without access to annual ryegrass pastures.

Item	Corn silage	TMR <sup>1</sup>
DM, g/kg fresh	250	275
<i>Chemical composition, g/kg</i>		
OM	950	928
CP	83	157
NDF	504	425
ADF	257	224
<i>Nutritive value</i>		
NE <sub>L</sub> , Mcal/kg DM	1.58	1.67
PDIN, g/kg of DM	52.0	98.3
PDIE, g/kg of DM	71.0	86.7

Fonte: Produção do próprio autor, 2016.

<sup>1</sup> TMR composition: 800 g/kg DM corn silage; 180 g/kg DM soybean meal; 20 g/kg DM mineral and vitamin supplement that contained 21% Ca, 6% P, 2% S, 7% Na, 3.5% K, 15 mg Co/kg, 700 mg Cu/kg, 200 000 IU vitamin A/kg, 1500 IU vitamin E/kg, and 50 000 IU vitamin D/kg.

The treatments were compared according to a 3 × 3 Latin Square design that was replicated twice. Each experimental

period lasted 21 d, with a 15 d adaptation period and a 6 d measurement period. Twelve multiparous Holstein  $\times$  Jersey F<sub>1</sub> cows were separated into 6 homogeneous groups (experimental unit) according to milk production ( $19.4 \pm 2.3$  kg/d), lactation stage ( $132 \pm 44$  d) and BW ( $501 \pm 52$  kg) 1 week before the start of the experiment.

#### **4.2.2 Pasture and Grazing Management**

The study was performed in Lages, SC, Brazil ( $50.18^\circ\text{W}$ ,  $27.47^\circ\text{S}$ ; 920 m altitude) and was conducted from August 26 to November 5, 2014. An area that contained 6.5 ha of annual ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) pasture was seeded in April 2014, after the corn crop (*Zea mays*) harvest. Thirty days before the start of the experiment and immediately after each experimental period, the experimental area was fertilized with 50 kg N/ha supplied as urea.

The grazing method was strip grazing, and the area allocated daily to each treatment group was calculated from a daily estimate of pre-grazing pasture mass (**PM**; see pasture measurements) to give each cow 35 kg DM/d. One uniform 2.0 ha paddock was split into 4 0.4 ha paddocks; 2 were assigned to the 6 h treatment group, and 2 were assigned to the 3+3 h treatment group. The same paddock was grazed 3 times, once per period. After each period, the entire area was mowed to standardize pasture regrowth between treatments. Between the period intervals (2 periods of 15 d), the cows grazed ryegrass pastures and were supplemented daily with 10 kg DM of partial TMR. During the experiment, the mean temperature was  $17.0^\circ\text{C}$ , and the total rainfall was 147 mm. The 10-year climatic averages of temperature and rainfall were  $14.5^\circ\text{C}$  and 161 mm, respectively.



### 4.2.3 Animal Measurements

Milk production was recorded for each cow at each milking. Milk composition (fat, protein and MUN content) was measured on each of the last 6 d of each period by infrared spectrophotometry (International IDF Standard 141C:2000). The BW was measured at the beginning and end of each experimental period.

The cows' pasture intake was estimated as the difference between the total biomass at pre-grazing and post-grazing (LANTINGA; NEUTEBOOM; MEIJS, 2004) on each of the last 6 d of each period. Their TMR and partial TMR intake were quantified daily as the difference between the quantity supplied and theorts on each of the last 6 d of each period and averaged.

Individual balances for  $NE_L$  and protein truly digested in the intestine with energy-limiting microbial synthesis in the rumen (**PDIE**) were calculated according to the INRA (2007). Theoretical  $NE_L$  requirements were calculated from the pre-experimental BW and the expected 4% FCM production during the experiment. The calculation of theoretical PDIE requirements included these 2 factors and the pre-experimental milk protein concentration. The expected 4% FCM production during the experiment was calculated by applying a monthly persistency of 90% from the pre-experimental 4% FCM production. Net energy and PDIE supplies were calculated from the intake of pasture, corn silage, and soybean meal and from the concentrations of  $NE_L$  and PDIE, respectively. The digestive interactions between forage and concentrates were considered in these calculations by assuming a negative effect of the percentage of concentrate on the energy digestibility (INRA, 2007). Energy balance was calculated because the experimental periods were too short to measure changes in body condition score or BW.

The daily pattern of grazing time was analyzed individually for each cow through visual observations that were made every 5 min. The rumination time was quantified with the same methodology and at the same time as grazing time when the cows were at pasture (PENNING; RUTTER, 2004). No behavior was recorded outdoors when the cows were milked or fed the supplement. The pasture intake rate (g DM/min) was calculated by dividing the mean daily pasture intake per group by the mean of daily grazing time per group.

Daily methane emission was measured individually using the sulfur hexafluoride ( $\text{SF}_6$ ) tracer technique described by Johnson et al. (1994). Of the data from 36 individual measurements, 14% were considered outliers and were not used in the statistical analysis. The  $\text{SF}_6$  permeation tubes used in the experiment had an average permeation rate (**PR**) of  $4.93 \pm 0.36$  mg/d at the time of their deployment in the reticulum, and breath samples were collected after 21 d of tube deployment. The  $\text{SF}_6$  permeation rate was measured by placing permeation tubes in 39°C water bath and measuring the daily weight loss during six weeks. The air sampling system used stainless steel cylinders (0.5 L volume) as the sample collection devices, and sample flow was regulated by a brass ball bearing (GERE; GRATTON, 2010). The cylinders were cleaned with high purity nitrogen gas ( $\text{N}_2$ ) and pre-evacuated ( $< 0.5$  mb) prior to each sample collection. The flow regulators were calibrated to allow a remaining vacuum in the canister of approximately 500 mb at the end of the sample collection period (5 d). The inflow restrictor was located just above the animal's nostrils and included a double filter to protect against water and dust. In addition to the breath samples, 4 background air samples (2 at paddock and 2 indoors) were collected in each period using a sampling system that was placed approximately 2 m above the ground. The periods of gas collection were selected to match the evaluation period for herbage DMI during the last 5 d of each period.

After the collection period, the pressure in each tube was measured. Each sample was then diluted with N<sub>2</sub>, and the pressure was measured again to obtain the final pressure in the tube. Breath and background samples were analyzed for concentrations of methane (ppm, parts per million by volume) and SF<sub>6</sub> (ppt, parts per trillion by volume) by gas chromatography (Shimadzu 2010, Japan) using flame ionization (250°C) and electron capture (350°C) detectors, respectively. Three standards of methane and SF<sub>6</sub> mixtures were used to calibrate the gas chromatograph and to track its performance over a range of 5–20 ppm and 30–1000 ppt for methane and SF<sub>6</sub>, respectively.

Estimates of methane emissions over the sample collection period were calculated using the tracer technique. The specific PR of SF<sub>6</sub> and the methane/SF<sub>6</sub> ratio for mixed ratios (v/v) in breath samples were used after correcting for background gas concentrations (JOHNSON et al., 1994). For this purpose, the PR of SF<sub>6</sub> was expressed per day; consequently, the emission estimates corresponded to daily emissions.

#### **4.2.4 Feed and Pasture Measurements**

Samples of the offered TMR and partial TMR were collected twice daily from the 15<sup>th</sup> to the 20<sup>th</sup> d in each period. These samples were combined to create a composite sample for each period. Samples of the orts for each lot were collected during the last 6 d of each period and were used to create composite samples for the lot and period. All samples were dried in an oven for 72 h at 60°C and ground (Solab SL-31, Piracicaba, Brazil) through a 1 mm screen for subsequent chemical analyses.

The pre- and post-grazing PM above ground level was estimated using a rising plate meter (Farmworks®, F200 model, New Zealand) that was calibrated based on DM content, taking into account the plate area (0.1 m<sup>2</sup>;

(MANNETJE; JONES, 2000). For calibration, during each experimental period, samples from 12 points were cut with scissors at ground level before and after grazing. The samples were dried in an oven for 72 h at 60°C. At the end of experiment, PM was recalculated using one equation to estimate the pre-grazing PM and one equation to estimate the post-grazing PM:

$$\text{Pre-grazing PM (kg DM/ha)} = 88.6 + 355.7 \text{ pre-grazing sward height (cm)}$$

$$(n = 36, R^2 = 0.81)$$

$$\text{Post-grazing PM (kg DM/ha)} = 91.1 + 230.1 \text{ post-grazing sward height (cm)}$$

$$(n = 36 R^2 = 0.83)$$

The pre-grazing extended height of the tallest leaf blade and sheath were measured on 100 randomly selected tillers on days 16, 18 and 20. The post-grazing leaf and sheath extended heights were measured on days 17, 19 and 21 on 100 tillers per treatment.

The morphological and chemical compositions of the sward were determined on days 16, 18 and 20. Twenty handfuls of randomly selected herbage (~800 g fresh) were cut at the average post-grazing extended tiller height. This pasture was considered to represent the pasture selected by grazing cows and was separated into 2 smaller subsamples. One subsample was dried in an oven for 72 h at 60°C with forced ventilation and stored for chemical analyses. The chemical composition of the selected pasture was estimated based on the post-graze tiller height, as proposed by Delagarde et al. (2000). The other subsample was used for morphological classification (ryegrass only). The ryegrass was separated into leaf blades, pseudostems, stems, flowers and dead tissue, if any was present. Each constituent was dried in an oven for 72 h at 60°C

to determine the morphological composition of the pasture on a DM basis.

#### 4.2.5 Chemical Analyses

The DM content was determined by drying the samples at 105°C for 24 h. The ash was quantified by combustion in a muffle furnace at 550°C for 4 h, and the OM was quantified by mass difference. The total N was assayed using the Kjeldahl method (Method 984.13; AOAC 1998). The NDF concentration was assessed according to Mertens et al. (2002), except that the samples were weighed in filter bags and treated with neutral detergent in ANKOM A220 equipment (ANKOM Technology, Macedon NY, USA). This analysis included alpha-amylase but did not include sodium sulfite because sodium sulfite also destroys lignin, thereby reducing its recovery (VAN SOEST, 1994). The concentrations of ADF and ADL were analyzed according to AOAC (1998).

#### 4.2.6 Statistical Analyses

The data were subjected to variance analysis using PROC MIXED of Statistical Analysis Systems (SAS Institute 1999). The animal variables, averaged per group and period (n = 18) were analyzed using the following model:

$$Y_{ijk} = \mu + \text{group}_i + \text{period}_j + \text{treatment}_k + e_{ijk}$$

Where  $Y_{ijk}$ ,  $\mu$ ,  $\text{group}_i$ ,  $\text{period}_j$ ,  $\text{treatment}_k$  and  $e_{ijk}$ , represent the analyzed variable, the overall mean, the random effect of the group, the random effect of the period, the fixed effect of the treatment and the residual error, respectively.

The pasture variables were averaged per treatment and period (n = 12) and analyzed using the following model:

$$Y_{jk} = \mu + \text{period}_j + \text{treatment}_k + e_{jk}$$

The effects of the treatments were tested by orthogonal contrasts that compared the TMR treatment versus the average of the 6 h and 3+3 h treatments and the 6 h treatment versus the 3+3 h treatment. Values of  $P < 0.05$  were considered significantly different, and values between 0.05 and 0.10 were considered to have a tendency to differ.

### 4.3 RESULTS

The pre-grazing PM, pre-grazing sward height and pasture allowance (**PA**) were similar between the treatments that included ryegrass pasture (Table 2). The NDF and ADF content did not differ in the offered ryegrass pasture, but the CP content was lower ( $P < 0.05$ ) in the pastures that were offered to cows for a continuous 6 h period compared to that in pastures that were offered in 2 sessions, each 3 h. The post-grazing PM, post-grazing sward height and NDF, ADF and CP content of the selected pasture did not differ between the ryegrass pasture treatments (Table 3). The energetic value of the selected pasture and protein truly digested in the intestine were similar between treatments, averaging 1.55 Mcal of  $NE_L$ /kg DM and 96 g/kg DM, respectively.

The cows' milk production, FCM, milk fat and milk protein production did not differ between treatments. The milk fat concentration ( $P < 0.05$ ), milk protein concentration ( $P < 0.05$ ) and MUN concentration decreased ( $P < 0.001$ ) in cows that had access to ryegrass pasture compared to cows that received exclusively TMR (Table 4). However, these parameters did not differ between cows that had access to pasture for a continuous 6 h period and those that were offered pasture after each milking.

Table 2 - Pre-grazing pasture characteristics and composition of offered pasture swards when the pasture was grazed by dairy cows during 2 time periods throughout the day.

Item	Treatment		SEM	P-value
	6 h	3+3 h		
<i>Pre-grazing</i>				
Pasture mass, kg DM/ha	2706	2696	43.4	0.937
Pre-grazing sward height				
Rising plate meter	26.8	26.7	0.48	0.937
Extended tiller, cm	42.6	42.3	0.89	0.812
Extended sheath, cm	21.7	20.7	0.52	0.202
Extended lamina, cm	20.9	21.6	0.48	0.320
Offered area, m <sup>2</sup> /cow per day	124	125	3.58	0.843
Pasture allowance, kg DM/d				
Above ground level	33.3	33.4	0.05	0.449
Green material	30.3	29.6	0.13	0.012
Live lamina	8.3	8.7	0.35	0.515
<i>Offered pasture</i>				
Chemical composition, g/kg DM				
DM, g/kg	154	145	2.88	0.063
OM	911	909	1.86	0.417
CP	145	162	4.11	0.022
NDF	547	536	5.63	0.194
ADF	277	283	6.08	0.540

Fonte: Produção próprio autor, 2016.

The total DMI was similar between treatments, averaging 16.1 kg/d, but the pasture DMI increased (+ 1.4 kg DM/d;  $P < 0.05$ ) and the DMI of partial TMR decreased (0.9 kg DM/d;  $P < 0.01$ ) when cows had access to ryegrass pasture after each milking compared to when cows had access to pasture for a continuous 6 h period (Table 5). The total grazing time and the proportion of time spent grazing increased ( $P < 0.001$ ) by 40 min/d and 11%, respectively, in cows that had access to ryegrass pasture after each milking compared to cows that

grazed ryegrass pasture after the morning milking only. The pasture DMI rate was similar between ryegrass pasture treatments, averaging 26 g DM/min.

The daily enteric methane emissions (-110 g/d;  $P < 0.05$ ), the enteric methane emission per kilogram DMI ( $P < 0.05$ ) and NDF consumed ( $P = 0.05$ ), and the enteric methane emission per kilogram of milk yield ( $P < 0.05$ ) and the proportion of gross energy intake ( $P < 0.05$ ) decreased in cows with access to ryegrass pasture + partial TMR compared to cows that received TMR exclusively (Table 6).

Table 3 - Post-grazing pasture characteristics and nutritive value of selected pasture when the pasture was grazed by dairy cows during 2 time periods throughout the day.

Item	Treatment		SEM	P-value
	6 h	3+3 h		
Post-grazing pasture mass, kg DM/ha	2098	2020	30.49	0.115
Post-grazing sward height				
Rising plate meter	20.0	19.2	0.33	0.115
Extended tiller, cm	26.7	25.1	0.67	0.154
Extended sheath, cm	16.1	15.1	0.47	0.211
Extended lamina, cm	10.6	10.0	0.44	0.373
<i>Selected pasture</i>				
Chemical composition, g/kg DM				
CP	171	169	0.65	0.120
NDF	354	348	4.61	0.411
ADF	135	122	6.54	0.181
Nutritive value				
OM digestibility	0.73	0.74	0.003	0.891
NE <sub>L</sub> , Mcal/kg DM	1.54	1.55	0.002	<0.01
PDIN, g/kg DM	111	110	0.49	0.273
PDIE, g/kg DM	96	96	0.15	0.046

Fonte: Produção próprio autor, 2016.



Table 4 - Milk production and composition in dairy cows that received TMR exclusively or partial TMR with annual ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) strip-grazing during 2 time periods throughout the day

Item	Treatment			SEM	Contrast ( <i>P</i> -value)	
	TMR	6 h	3+3 h		TMR vs. grazing	6 vs. 3+3 h
Milk production, kg/d	19.5	20.0	20.2	0.39	0.192	0.728
4%FCM production, kg/d	20.5	20.2	20.5	0.35	0.859	0.579
Milk fat production, g/d	838	805	819	16.9	0.249	0.557
Milk protein production, g/d	649	654	665	11.0	0.455	0.525
Milk fat concentration, %	4.34	4.04	4.08	0.09	0.042	0.782
Milk protein concentration, %	3.35	3.28	3.30	0.01	0.024	0.396
MUN, mg/dL	22.8	18.9	19.5	0.48	<0.001	0.408
SCC, x10 <sup>3</sup> /mL	168	125	124	17.8	0.084	0.965
BW, kg	521	519	516	1.67	0.078	0.271

Fonte: Produção próprio autor, 2016.

Table 5 - Dry matter intake, energy balance and grazing behavior of dairy cows that received TMR or partial TMR with annual ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) strip-grazing during 2 periods throughout the day.

Item	Treatment			SEM	Contrast ( <i>P</i> -value)	
	TMR	6 h	3+3 h		TMR vs. grazing	6 vs. 3+3 h
DMI, kg/d						
Pasture	-	6.0	7.4	0.25	-	0.036
TMR	16.4	9.7	8.8	0.18	<0.001	0.007
Total	16.4	15.7	16.2	0.29	0.292	0.413
NDF intake, kg/d	6.6	6.0	6.0	0.12	0.010	0.995
OM intake, kg/d	15.2	14.6	14.8	0.27	0.176	0.497
NE <sub>L</sub> supply, Mcal/d <sup>2</sup>	27.8	25.9	26.2	0.47	0.017	0.669
NE <sub>L</sub> balance, Mcal/d	4.2	2.5	2.6	0.39	0.009	0.844
Grazing time, min/d	-	240	280	3.96	-	<0.001
Ruminating time, min/d	-	76	43	2.24	-	<0.001
Proportion of time spent grazing	-	0.66	0.77	0.01	-	<0.001
Pasture DMI rate, g/min	-	25.7	26.2	0.66	-	0.655

Fonte: Produção próprio autor, 2016.

Table 6 - Enteric methane production of lactating dairy cows that received TMR or partial TMR with annual ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) strip-grazing during 2 time periods throughout the day.

Item	Treatment			SEM	Contrast ( <i>P</i> -value)	
	TMR	6 h	3+3 h		TMR vs. grazing	6 vs. 3+3 h
Methane						
g/d	656	590	503	33.8	0.049	0.110
g/kg of DMI	41.7	37.4	31.2	2.00	0.024	0.054
g/kg of NDF	104.5	97.3	82.9	5.41	0.058	0.086
g/kg of milk yield	34.2	30.0	25.3	1.93	0.045	0.138
% Gross energy intake	11.3	9.8	8.6	0.56	0.013	0.140

Fonte: Produção próprio autor, 2016.

#### 4.4 DISCUSSION

This study aimed to compare dairy cows during mid- to late lactation; one group received TMR, while the second group grazed high-quality pasture under grazing management conditions that did not restrict pasture intake and were supplemented with partial TMR. We cannot explain the lower CP content in the 6 h treatment pasture compared with the 3 + 3 h treatment pasture. However, the selected pasture for each treatment displayed similar CP content, approximately 17% on average, which is sufficient to avoid N restrictions to microbial growth (PEYRAUD; DELAGARDE, 2013). The NDF averaged less than 40%, with an energy concentration greater than 1.5 Mcal NE<sub>L</sub>/kg DM, consistent with the typical characteristics of pasture with good energetic value (PEYRAUD; DELAGARDE, 2013). Similarly, under grazing management conditions without restrictions on pasture intake,

annual ryegrass must have a pre-grazing herbage mass greater than 2000 kg DM/ha (MIGUEL et al., 2014) and a post-grazing leaf lamina height of no less than 10 cm (Ribeiro Filho et al., 2011). In the current study, the pre-grazing herbage mass, post-grazing herbage mass and post-grazing leaf lamina height were, on average, 2700 kg DM/ha, 2060 kg DM/ha and 10.3 cm, respectively.

#### **4.4.1 DMI and Grazing Behavior**

The maintenance of the total DMI when animals had access to pasture can be explained, at least in part, by the energy value, structural characteristics, and management conditions of the grazed forage. Feed supplementation with preserved forage has been shown to negatively influence pasture intake in cows with access to pasture in the early growing season (organic matter digestibility / OMD = 0.71); however, when cows had access to pasture in the late growing season (OMD = 0.65), silage supplementation had a positive effect on the total DMI and ME (BARGO et al., 2003). In this study, the average OMD of ingested forage was 0.73, demonstrating the potential of pasture with OMD > 0.7 to maintain DMI and milk production in cows during mid-lactation.

The absence of constraints due to the structural characteristics of the forage or the management of forage consumption was reflected in the herbage intake rate and pasture intake. Under severe grazing conditions, some studies have observed an herbage intake rate close to 16 g DM/min, whereas values > 20 g DM/min are typical of better quality, freely grazed pasture (Rook et al., 1994; Perez-Prieto and Delagarde, 2012). In this study, the average herbage intake rate was > 25 g DM/min.

The pasture DMI was 20% lower in animals that had access to pasture for a continuous 6 h period compared with

those that received the 3 + 3 h treatment. This result may be explained by differences in substitution rate (**SR**) and behavioral factors. It is well known that using concentrate supplementation SR is caused by negative associative effects in the rumen or grazing time (BARGO et al., 2003). Moreover, the relationship between SR and corn silage supplementation is dependent on PA; SR increases as PA increases (PHILLIPS, 1988). In the current study, the concentrate content and PA were similar between the 6 h and 3 + 3 h treatments, averaging 10.5% of DMI and 33 kg DM/d, respectively. Thus, the consumption of grazed forage seemed to be directly associated with the ingestion period of the main daily meals, during which consumption can reach 60–80% of the total daily intake (BAUMONT et al., 2000). During grazing, pasture intake is associated with environmental factors (dawn and dusk) and with stimuli such as milking (GREGORINI; TAMMINGA; GUNTER, 2006). Therefore, access to pasture after milking may have encouraged the animals to graze for a longer period, thereby increasing the grazing efficiency from 1.0 to 1.2 kg DM/h; this increase could have then contributed to the higher consumption of grazed forage. Shorter grazing periods can increase grazing efficiency (DM consumed per hour of access to pasture) due to the increased period devoted to grazing activity (KENNEDY et al., 2009; PEREZ-RAMIREZ et al., 2009).

#### **4.4.2 Milk Production and Milk Composition**

The maintenance of milk production with the inclusion of pasture in the diet is closely related not only to the total DMI but also to the stage of lactation and the production potential of the animals. Bargo et al. (2002) evaluated highly productive cows ( $44.9 \pm 7.5$  kg/d) and observed that confined animals produced 19% more milk than animals that received partial TMR + pasture due to the lower energy consumption and

higher energy expenditure of grazing animals (KOLVER; MULLER, 1998). In our study, even with the lowest consumption of  $NE_L$ , cows that had access to pasture did not exhibit lower milk production than cows that were fed exclusively with TMR. In addition, the energy balance was positive for all treatments, indicating that energy consumption among animals that had access to pasture was sufficient to meet the maintenance and production requirements of this stage of lactation and for this level of production.

Although the milk fat concentration of the control cows were higher than those of the cows that had access to pasture, the mean values in all cows were greater than 4.0%. The fat level can be at least partially explained by the relatively low levels of concentrate (approximately 13.0 % of the total DMI) in all of the experimental diets. The decreased milk fat content in the grazing lactating cows that were supplemented with partial TMR compared to those that received exclusively TMR may be associated with the level of NDF in the diet (ELGERSMA et al., 2004; MORALES-ALMARÁZ et al., 2010). In this study, the percentage of NDF decreased from 41% to 37% of the total DM in animals that had access to pasture compared with animals that were fed with TMR. At an average of 20.3 mg/dL, the MUN levels were higher than the level of variation (9.1 - 17.1 mg/dL) reported by other authors (Bargo et al., 2002; Fontaneli et al., 2005; Vibart et al., 2008). This result does not have a satisfactory explanation, but the approach of Faverdin and Vérite (1998) to estimate the MUN concentration was based on the balance of degradable nitrogen in the rumen (relationship between degradable protein and nitrogen required for microbial growth in the rumen). The difference between the intake of degradable nitrogen and the amount of nitrogen required for microbial growth in the rumen was positive in all treatments, with an average of 300 g/d.

### 4.4.3 Enteric Methane Emissions

The higher daily production of methane in animals that were fed TMR compared to those that received the other treatments cannot be attributed to differences in the daily intake of DM because DMI was similar between treatments; this result differs from observations made in previous studies (O'NEILL et al., 2011, 2012; HASSANAT et al., 2013). Thus, in the present study, the higher emission of methane in animals that were fed the TMR compared to those that received the partial TMR treatments was correlated with the NDF content and ADF:NDF relationship.

The NDF intake was greater in the TMR compared to the partial TMR treatments (6.6 vs. 6.0 kg/d). Aguerre et al. (2011) observed that dairy cows that ingested an average of 6.0 kg NDF/d emitted 593 g of methane per day, with a positive correlation between methane emission and NDF consumption. In the present study, the average NDF consumption was 6.2 kg/d, and the average daily emission of methane was 583 g/d. The ADF:NDF relationship was greater in the TMR diet compared to that of the pasture + partial TMR diet (0.52 vs. 0.46). These results indicate that the ryegrass pasture contained more rapidly degradable cell wall carbohydrates than the corn silage. Increasing the dietary fiber content is known to decrease the molar ratio of propionate and to increase the release of hydrogen for methanogenic Archaea (BENCHAAAR; POMAR; CHIQUETTE, 2001). Additionally, the higher daily emission of methane of the animals that received the TMR resulted in higher energy loss relative to the energy consumed. These results agree with a comprehensive review published by Boadi et al. (2004). Compared to the fermentation of soluble sugars, the fermentation of structural carbohydrates results in the loss of a considerable amount of gross energy in the form of methane. According to Johnson and Johnson (1995), this loss

varies between 2% and 12% of the gross energy consumed. In this study, these values ranged between 8.6% and 11.3%.

#### 4.5 CONCLUSION

Providing mid- to late lactation dairy cows that were receiving a TMR access to annual ryegrass pasture for 6 h/d enabled the consumption of 42% of the total DMI from pasture, maintained milk production and mitigated enteric methane emissions. Providing access to pasture after morning and afternoon milking is a method to increase the proportion of pasture in the total DMI.



## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para finalizar, serão brevemente mencionados alguns aspectos de relevância no que diz respeito à metodologia utilizada, às dificuldades encontradas e sobre a importância deste estudo para o desenvolvimento da pecuária regional.

Entre as dificuldades encontradas pode-se citar as instalações para o fornecimento de RTM e RTM parcial, uma vez que não foi possível utilizar alimentação individual. Isto se refletiu na escolha do método para estimar o consumo da forragem pastejada: diferença entre a biomassa pré e pós-pastejo, considerando o lote como a unidade experimental. No entanto, foi possível constatar que o método empregado representa uma boa alternativa para estimar a IMS de pasto além de apresentar baixo custo em comparação ao uso de indicadores, como os n-alcenos (MACOON et al., 2003; PENNING; RUTTER, 2004). O sucesso destes resultados pode ser atribuído, ao menos parcialmente, ao método de pastejo em faixas com medições diárias da quantidade de forragem desaparecida, porque a taxa de acúmulo e o tamanho da área podem ser importantes fontes de erro. O número de medições realizadas por lote (repetição) e período também merece ser destacado. Neste trabalho, a realização de seis medições por repetição experimental em cada período permitiu a obtenção de uma média cuja confiabilidade do resultado se mostrou satisfatória.

Outra dificuldade encontrada foi em relação ao número reduzido de animais, principalmente para a realização das medidas de emissão de metano. Uma das dificuldades na utilização da técnica do marcador SF<sub>6</sub> para estimar a emissão de metano é a ampla variação nos dados entre animais (PINARES-PATIÑO et al., 2011; STORM et al., 2012). Conseqüentemente, um número maior de animais poderia ser necessário para provar a diferença entre tratamentos. Contudo,

mesmo com estas limitações foi possível observar diferença significativa entre os tratamentos utilizados.

Finalmente, pode-se dizer que os dados gerados com a pesquisa apresentam aplicabilidade no cenário da produção de leite na região sul do país, especialmente no estado de Santa Catarina onde predominam sistemas em pastejo. Considerando o pasto a principal fonte de nutrientes, o manejo do tempo de acesso ao pasto e o uso de suplementação com RTM são ferramentas que permitem flexibilizar a utilização da forragem pastejada ao longo do ano a partir da disponibilidade de pasto e do estágio de lactação dos animais. Além disso, este trabalho demonstra que em condições típicas de alimentação utilizadas nos sistemas de produção regional o uso da forragem pastejada pode contribuir para a mitigação da emissão de GEE.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHAMSE, P. A.; TAMMINGA, S.; DIJKSTRA, J. Effect of daily movement of dairy cattle to fresh grass in morning or afternoon on intake, grazing behaviour, rumen fermentation and milk production. **The Journal of Agricultural Science**, v. 147, n. 06, p. 721, 2009.

AGUERRE, M. J. et al. Effect of forage-to-concentrate ratio in dairy cow diets on emission of methane, carbon dioxide, and ammonia, lactation performance, and manure excretion. **Journal of dairy science**, v. 94, n. 6, p. 3081–3093, 2011.

ALLDEN, W. G.; WHITTAKER, I. A. The determinants of herbage intake by grazing sheep: The interrelationship of factors influencing herbage intake and availability. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 21, p. 755–766, 1970.

ALLEN, M. S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of dairy science**, v. 83, n. 7, p. 1598–1624, 2000.

BARGO, F. et al. Performance of High Producing Dairy Cows with Three Different Feeding Systems Combining Pasture and Total Mixed Rations. **Journal of dairy science**, v. 85, n. 11, p. 2948–2963, 2002a.

BARGO, F. et al. Milk response to concentrate supplementation of high producing dairy cows grazing at two pasture allowances. **Journal of dairy science**, v. 85, n. 7, p. 1777–1792, 2002b.

BARGO, F. et al. Invited review: production and digestion of supplemented dairy cows on pasture. **Journal of dairy science**, v. 86, n. 1, p. 1–42, 2003.

BAUMONT, R. et al. How forage characteristics influence behaviour and intake in small ruminants: A review. **Livestock Production Science**, v. 64, p. 15–28, 2000.

BENCHAAR, C.; POMAR, C.; CHIQUETTE, J. Evaluation of dietary strategies to reduce methane production in ruminants: A modelling approach. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 81, p. 563–574, 2001.

BOADI, D. et al. Mitigation strategies to reduce enteric methane emissions from dairy cows: Update review. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 84, p. 319–335, 2004.

CARVALHO, P. C. D. F. Harry Stobbs Memorial Lecture : Can grazing behavior support innovations in grassland management ? **Tropical Grasslands**, v. 1, p. 137–155, 2013.

CHILIBROSTE, P. et al. Short term fasting as a tool to design effective grazing strategies for lactating dairy cattle: A review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 47, n. 9, p. 1075–1084, 2007.

CHILIBROSTE, P. et al. Behavioural adaptation of grazing dairy cows to changes in feeding management : do they follow a predictable pattern ? **Animal Production Science**, v. 55, p. 328–338, 2015.

CHILIBROSTE, P.; GIBB, M.J.; TAMMINGA, S. Pasture Characteristics and Animal Performance. In: DIJKSTRA, J.; FORBES, J. M.; FRANCE, J. (Eds.). . **Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism**. 2. ed. Cambridge: USA CABI Publishing, 2005. p. 681–706.

CONE, J. W.; VAN GELDER, A. H. Influence of protein fermentation on gas production profiles. **Animal Feed Science**

**and Technology**, v. 76, n. 3-4, p. 251–264, 1999.

DELAGARDE, R. et al. Vertical distribution of biomass, chemical composition and pepsin-cellulase digestibility in a perennial ryegrass sward: Interaction with month of year, regrowth age and time of day. **Animal Feed Science and Technology**, v. 84, p. 49–68, 2000.

DELAGARDE, R. et al. GrazeIn: a model of herbage intake and milk production for grazing dairy cows. 3. Simulations and external validation of the model. **Grass and Forage Science**, v. 66, n. 1, p. 61–77, 9 mar. 2011.

DIXON, R. M. AND; STOCKDALE, C. R. Associative effects between forages and grains consequences for feed utilization. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 50, p. 757–773, 1999.

ELGERSMA, A. et al. Quick changes in milk fat composition from cows after transition from fresh grass to a silage diet. **Animal Feed Science and Technology**, v. 117, n. 1-2, p. 13–27, 2004.

FAVERDIN, P.; VÉRITÉ, R. Utilisation de la teneur en urée du lait comme indicateur de la nutrition protéique et des rejets azotés chez la vache laitière. **Rencontre Recherche Ruminants**, v. 5, p. 209–212, 1998.

FONTANELI, R. S. et al. Performance of lactating dairy cows managed on pasture-based or in freestall barn-feeding systems. **Journal of dairy science**, v. 88, n. 3, p. 1264–1276, 2005.

FORBES, J. M. Selection Voluntary Feed Intake and Diet. In: DIJKSTRA, J.; FORBES, J. M.; FRANCE, J. (Eds.). . **Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and**

**Metabolism**. 2. ed. Cambridge: CABI Publishing, 2005.

FREDEEN, A. et al. Implications of dairy systems on enteric methane and postulated effects on total greenhouse gas emission. **Animal : an international journal of animal bioscience**, v. 7, p. 1875–83, 2013.

GARNSWORTHY, P. C. et al. Variation among individual dairy cows in methane measurements made on farm during milking. **Journal of dairy science**, v. 95, n. 6, p. 3181–9, 2012.

GERE, J. I.; GRATTON, R. Simple, low-cost flow controllers for time averaged atmospheric sampling and other applications. **Latin American Applied Research**, v. 40, n. 4, p. 377–381, 2010.

GIBB, M. J. et al. Effect of sward surface height on intake and grazing behaviour by lactating Holstein Friesian cows. **Grass and Forage Science**, v. 52, n. 3, p. 309–321, 1997.

GREGORINI, P. et al. Restricting time at pasture: effects on dairy cow herbage intake, foraging behavior, hunger-related hormones, and metabolite concentration during the first grazing session. **Journal of dairy science**, v. 92, n. 9, p. 4572–4580, 2009.

GREGORINI, P. Diurnal grazing pattern : its physiological basis and strategic management. **Animal Production Science**, v. 52, p. 416–430, 2012.

GREGORINI, P.; TAMMINGA, S.; GUNTER, S. A. Review: Behavior and Daily Grazing of Cattle. **The Professional Animal Scientist**, v. 22, p. 201–209, 2006.

HASSANAT, F. et al. Replacing alfalfa silage with corn silage in dairy cow diets: Effects on enteric methane production, ruminal fermentation, digestion, N balance, and milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 7, p. 4553–67, 2013.

HERNANDEZ-MENDO, O.; LEAVER, J. D. Choice of grazed herbage or maize silage by lactating dairy cows: influence of sward height and concentrate level. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 5, p. 1158–1166, 2010.

HINDRICHSEN, I. K. et al. Effects of feed carbohydrates with contrasting properties on rumen fermentation and methane release in vitro. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 84, n. 2, p. 265–276, 2004.

HODGSON, J. The control of herbage intake in the grazing ruminant. **The Proceedings of the Nutrition Society**, v. 44, n. 2, p. 339–346, 1985.

INRA. **Alimentation des bovins, ovins et caprins. Besoins des animaux - valeurs des aliments. Tables Inra 2007**. 4. ed. [s.l.: s.n.].

JANSSEN, P. H. Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentation thermodynamics. **Animal Feed Science and Technology**, v. 160, n. 1-2, p. 1–22, 2010.

JOHNSON, K. et al. Measurement of methane emissions from ruminant livestock using a sulfur hexafluoride tracer technique. **Environmental Science & Technology**, v. 28, n. 2, p. 359–362, 1994.

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

KENNEDY, E. et al. Effect of restricted access time to pasture on dairy cow milk production, grazing behavior, and dry matter intake. **Journal of dairy science**, v. 92, n. 1, p. 168–176, 2009.

KOLVER, E. S. Nutritional limitations to increased production on pasture-based systems. **The Proceedings of the Nutrition Society**, v. 62, n. 2, p. 291–300, 2003.

KOLVER, E. S.; MULLER, L. D. Performance and nutrient intake of high producing Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. **Journal of dairy science**, v. 81, n. 5, p. 1403–1411, 1998.

LACA, E. A.; UNGAR, E. D.; DEMMENT, M. W. Mechanisms of handling time and intake rate of a large mammalian grazer. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 39, p. 3–19, 1994.

LANTINGA, E. A.; NEUTEBOOM, J. H.; MEIJS, J. A. C. Sward methods. In: PENNING, P. D. (Ed.). **Herbage Intake Handbook**. 2. ed. Maidenhead, U.K.: The British Grassland Society, 2004. p. 1–191.

LEE, J. M. et al. Methane emissions by dairy cows fed increasing proportions of white clover (*Trifolium repens*) in pasture. **Proceedings of the New Zealand Grassland Association**, v. 66, p. 151–155, 2004.

MACOON, B. et al. Comparison of three techniques for estimating the forage intake of lactating dairy cows on pasture. **Journal of dairy science**, v. 81, p. 2357–2366, 2003.



MANNETJE, L.; JONES, R. M. **Field and laboratory methods for grassland and animal production.** Oxon, UK: CABI Publishing, 2000.

MARTIN, C.; MORGAVI, D. P.; DOREAU, M. Methane mitigation in ruminants: from microbe to the farm scale. **Animal**, v. 4, n. 03, p. 351–365, 2010.

MATTIAUDA, D. A. et al. Restricting access time at pasture and time of grazing allocation for Holstein dairy cows: Ingestive behaviour, dry matter intake and milk production. **Livestock Science**, v. 152, n. 1, p. 53–62, 2013.

MCTI. **Estimativas anuais de emissões de gases de efeito estufa no Brasil.** 2. ed. Brasília: Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, 2014.

MERTENS, D. R. et al. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: Collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 85, n. 6, p. 1217–1240, 2002.

MIGUEL, M. F. et al. Pasture intake and milk production of dairy cows grazing annual ryegrass with or without corn silage supplementation. **Animal Production Science**, v. 54, p. 1810–1816, 2014.

MOE, P. W.; TYRRELL, H. F. Methane production in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 62, n. 10, p. 1583–1586, 1979.

MORALES-ALMARÁZ, E. et al. Improving the fatty acid profile of dairy cow milk by combining grazing with feeding of total mixed ration. **The Journal of dairy research**, v. 77, n. 2, p. 225–230, 2010.

MURRAY, R. M.; BRYANT, A. M.; LENG, R. A. Rates of production of methane in the rumen and large intestine of sheep. **The British journal of nutrition**, v. 36, n. 1, p. 1–14, 1976.

O'NEILL, B. F. et al. Effects of a perennial ryegrass diet or total mixed ration diet offered to spring-calving Holstein-Friesian dairy cows on methane emissions, dry matter intake, and milk production. **Journal of dairy science**, v. 94, p. 1941–1951, 2011.

O'NEILL, B. F. et al. The effects of supplementing grazing dairy cows with partial mixed ration on enteric methane emissions and milk production during mid to late lactation. **Journal of dairy science**, v. 95, p. 6582–90, 2012.

ORR, R. J. et al. Matching grass supply to grazing patterns for dairy cows. **Grass and Forage Science**, v. 56, n. 4, p. 352–361, 2001.

ORR, R. J. et al. Changes in ingestive behaviour of yearling dairy heifers due to changes in sward state during grazing down of rotationally stocked ryegrass or white clover pastures. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 87, n. 3-4, p. 205–222, 2004.

PENNING, P. D.; RUTTER, S. M. Ingestive Behaviour. In: PENNING, P. D. (Ed.). **Herbage Intake Handbook**. 2<sup>o</sup>. ed. Maidenhead, U.K.: The British Grassland Society, 2004. p. 1–191.

PEREZ-PRIETO, L. A.; DELAGARDE, R. Meta-analysis of the effect of pregrazing pasture mass on pasture intake, milk production, and grazing behavior of dairy cows strip-grazing temperate grasslands. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p.

5317–5330, 2012.

PÉREZ-PRIETO, L. A.; PEYRAUD, J. L.; DELAGARDE, R. Substitution rate and milk yield response to corn silage supplementation of late-lactation dairy cows grazing low-mass pastures at 2 daily allowances in autumn. **Journal of dairy science**, v. 94, n. 7, p. 3592–3604, jul. 2011a.

PÉREZ-PRIETO, L. A.; PEYRAUD, J. L.; DELAGARDE, R. Pasture intake, milk production and grazing behaviour of dairy cows grazing low-mass pastures at three daily allowances in winter. **Livestock Science**, v. 137, n. 1-3, p. 151–160, maio 2011b.

PÉREZ-RAMÍREZ, E.; DELAGARDE, R.; DELABY, L. Herbage intake and behavioural adaptation of grazing dairy cows by restricting time at pasture under two feeding regimes. **Animal**, v. 2, p. 1384–1392, 2008.

PÉREZ-RAMÍREZ, E.; PEYRAUD, J. L.; DELAGARDE, R. Restricting daily time at pasture at low and high pasture allowance: effects on pasture intake and behavioral adaptation of lactating dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 92, p. 3331–3340, 2009.

PEYRAUD, J. L.; DELAGARDE, R. Managing variations in dairy cow nutrient supply under grazing. **Animal**, v. 7, p. 57–67, 2013.

PHILLIPS, C. J. C. The use of conserved forage as a supplement for grazing dairy cows. **Grass and Forage Science**, v. 43, p. 215–230, 1988.

PHILLIPS, C. J. C.; LEAVER, J. D. Supplementary feeding of forage to grazing dairy cows. 2. Offering grass silage in early

and late season. **Grass and Forage Science**, v. 40, p. 193–199, 1985.

PINARES-PATIÑO, C. S. et al. Rumen function and digestion parameters associated with differences between sheep in methane emissions when fed chaffed lucerne hay. **The Journal of Agricultural Science**, v. 140, p. 205–214, 2003.

PINARES-PATIÑO, C. S. et al. Assessment of the sulphur hexafluoride (SF<sub>6</sub>) tracer technique using respiration chambers for estimation of methane emissions from sheep. **Animal Feed Science and Technology**, v. 166-167, p. 201–209, 2011.

RIBEIRO FILHO, H. M. N. et al. Relationship between diurnal grazing time and herbage intake in dairy cows in rotational grazing. **Ciência Rural**, v. 41, n. 11, p. 2010–2013, 2011.

ROBERTSON, L. J.; WAGHORN, G. C. Dairy industry perspectives on methane emissions and production from cattle fed pasture or total mixed rations in New Zealand. **Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production**, v. 62, p. 213–218, 2002.

ROOK, A. J.; HUCKLE, C. A.; PENNING, P. D. Effects of sward height and concentrate supplementation on the ingestive behaviour of spring-calving dairy cows grazing grass-clover swards. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 40, n. 2, p. 101–112, 1994.

SORIANO, F. D.; POLAN, C. E.; MILLER, C. N. Supplementing pasture to lactating Holsteins fed a total mixed ration diet. **Journal of dairy science**, v. 84, n. 11, p. 2460–2468, 2001.

STOCKDALE, C. R. Levels of pasture substitution when

concentrates are fed to grazing dairy cows in northern Victoria. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 40, p. 913–921, 2000.

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

TOZER, P. R.; BARGO, F.; MULLER, L. D. Economic analyses of feeding systems combining pasture and total mixed ration. **Journal of dairy science**, v. 86, n. 3, p. 808–818, 2003.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. 2. ed. Ithaca and London: Cornell University Press, 1994.

VIBART, R. E. et al. Performance of lactating dairy cows fed varying levels of total mixed ration and pasture. **The Journal of dairy research**, v. 75, p. 471–480, 2008.

WALES, W. J. et al. Use of partial mixed rations in pasture-based dairying in temperate regions of Australia. **Animal Production Science**, v. 53, p. 1167–1178, 2013.

WIMS, C. M. et al. 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**, v. 93, n. 10, p. 4976–4985, 2010.