

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO – PPGCA**

**LARISSA GODESKI MOREIRA**

**EMISSÃO DE METANO E PRODUÇÃO DE LEITE EM VACAS PASTEJANDO  
AZEVÉM PURO OU EM ASSOCIAÇÃO COM LEGUMINOSAS**

**LAGES  
2024**

**LARISSA GODESKI MOREIRA**

**EMISSÃO DE METANO E PRODUÇÃO DE LEITE EM VACAS PASTEJANDO  
AZEVÉM PURO OU EM ASSOCIAÇÃO COM LEGUMINOSAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, Área de Concentração: Produção Animal.  
Orientador: Prof. Dr. Henrique M.N.R Filho  
Coorientador: Tiago Celso Baldissera

**LAGES  
2024**

**Ficha catalográfica**

**LARISSA GODESKI MOREIRA**

**EMISSÃO DE METANO E PRODUÇÃO DE LEITE EM VACAS PASTEJANDO  
AZEVÉM PURO OU EM ASSOCIAÇÃO COM LEGUMINOSAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, Área de Concentração: Produção Animal.  
Orientador: Prof. Dr. Henrique M.N.R Filho  
Coorientador: Tiago Celso Baldissera

**BANCA EXAMINADORA**

Dr. Henrique Mendonça Nunes Ribeiro Filho  
Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC

Membros:

Prof. Dr. André Thaler Neto  
Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC

Dr. Fabio Cervo Garagorry  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA

Lages

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a Deus, por me dar forças nos inúmeros momentos difíceis que passei nesses dois anos de mestrado, por me manter firme na minha escolha de vida e ter fé que dias melhores estavam por vir.

Aos meus pais, Maurício e Lourdes, por tanto apoio, carinho e amor incondicional sempre que me deram. Certamente não tenho palavras para expressar o quanto significam para mim, com certeza chegar até aqui é mérito do esforço e dedicação de vocês.

Aos meus irmãos, Daicon e Fabrício, minhas cunhadas, Patrícia e Daiane, que mesmo de longe sempre estiveram presentes em todos os momentos me apoiando e incentivando, assim como minha querida sobrinha Ilana que veio ao mundo durante o período do mestrado e que me deu ainda mais forças para seguir em frente.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Henrique Ribeiro Filho, por toda compreensão, paciência e todos os ensinamentos repassados nesse período. Sem dúvidas me sinto privilegiada pela oportunidade de trabalhar na equipe do LABRUP.

Aos meus colegas de grupo e estagiários que fazem parte do laboratório, por toda colaboração no experimento e por partilhar bons momentos com vocês.

Aos amigos que fiz nessa jornada e que se tornaram a minha família, que compartilharam comigo momentos bons e ruins, vocês foram meu alicerce no decorrer desse período.

Aos membros da EPAGRI, que viabilizaram a parceria e através do financiamento fornecido pelo Governo do Estado de Santa Catarina a possibilidade do investimento e utilização do sistema GreenFeed.

Aos Membros da Banca Prof. Dr. André Thaler Neto e Dr. Fabio Cervo Garagorry, pela disponibilidade em auxiliar no enriquecimento do trabalho.

Por fim, minha eterna gratidão a todas as pessoas que estiveram presentes de alguma forma em minha vida.

*“A educação é a arma mais poderosa que  
você pode usar para mudar o mundo.”*

*Nelson Mandela*

## RESUMO

A introdução de leguminosas forrageiras nos sistemas de produção leiteira pode contribuir para mitigação das emissões de gases de efeito estufa. Isso ocorre em função da sua capacidade de fixação do nitrogênio no solo e melhoria do valor nutritivo da dieta. Objetivou-se avaliar o efeito da introdução de leguminosas em pastos de azevém anual (*Lolium multiflorum* Lam.) e seu impacto nos parâmetros produtivos e emissões de metano ( $\text{CH}_4$ ) para vacas em lactação. Os tratamentos experimentais foram pasto azevém puro com ou sem a inclusão de ervilhaca (*Vicia sativa* L.) e trevo vermelho (*Trifolium pratense* L.). O tratamento com leguminosas recebeu 50% da adubação nitrogenada aplicada no azevém puro (75 vs. 150 kg N/ha). O método de pastoreio foi rotacionado com meta de severidade de desfolha entre 40 e 50% da altura de entrada. Doze vacas, cruz Hollandês × Jersey em início de lactação ( $67 \pm 25$  dias) foram distribuídas em dois lotes uniformes, em função da paridade, produção de leite, dias em lactação e peso vivo, e avaliadas num delineamento experimental em reversão simples. Todas as vacas receberam 4 kg/dia de um concentrado energético (grão de sorgo moído + sal mineral). A proporção de ervilhaca + trevo branco no tratamento com leguminosas foi 8,9% da MS. A biomassa pré-pastejo e a oferta de forragem foram, respectivamente, 1773 kg/ha e 51,7 kg MS/dia nos pastos de azevém puro, e 1549 kg/ha e 45,8 kg MS/dia nos pastos com leguminosas. A produção diária e a intensidade de emissão de metano foram semelhantes entre os tratamentos, com médias de 325 g/dia e 11 g/kg leite corrigido para energia. A produção de leite (-1,8 kg/dia) e a produção de proteína do leite (-88,3 g/dia) diminuíram ( $P < 0,05$ ) nas vacas pastando azevém + leguminosas em comparação àquelas ingerindo a gramínea pura. A proporção de leguminosas presentes no consórcio não foi suficiente para compensar a redução na adubação nitrogenada, com impacto negativo no desempenho animal sem afetar as emissões de metano.

**Palavras-chave:** Vaca leiteira, metano, pastejo, leguminosas

## ABSTRACT

The introduction of legumes into dairy production systems can contribute to mitigating greenhouse gas emissions because of lower synthetic nitrogen (N) input and improvements in feed value of diet. The objective was to evaluate the effect of introducing legumes into annual ryegrass (*Lolium multiflorum Lam.*) pastures and its impact on production parameters and methane (CH<sub>4</sub>) emissions for lactating cows. The treatments were ryegrass pasture alone or ryegrass + vetch (*Vicia sativa L.*) and red clover (*Trifolium pratense L.*). The treatment with legumes received 50% of the N fertilizer applied to ryegrass alone (75 vs. 150 kg N/ha). The grazing method was rotational with a target defoliation severity between 40 and 50% of the pre-grazing height. Twelve Holstein × Jersey crossbreed cows at the beginning of lactation (67 ± 25 days) were distributed into two uniform lots, depending on parity, days in milk, milk production and live weight, and assessed in a simple reversal experimental design. Cows were supplemented with 4 kg/day of ground sorghum + mineral salt. The proportion of vetch + white clover in the legume treatment was 8.9% of total DM. Pre-grazing herbage mass and herbage allowance were, respectively, 1773 kg/ha and 51.7 kg DM/day in ryegrass alone, and 1549 kg/ha and 45.8 kg DM/day in ryegrass + legume pastures. Methane production and methane intensity were similar between treatments, averaging 325 g/day and 11 g/kg milk corrected for energy, respectively. Milk production (-1.8 kg/day) and milk protein production (-88 g/day) decreased ( $P < 0.05$ ) in cows grazing ryegrass + legumes compared to those grazing ryegrass alone. The proportion of legumes in mixed swards did not offset lower N fertilization, impairing animal performance without effect on methane emissions.

**Keywords:** Dairy cow, methane, grazing, legumes.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Médias da biomassa pré pastejo, oferta, alturas, composição química e composição botânica do azevém anual ou azevém + leguminosas nos dois períodos avaliados.. .....	29
<b>Tabela 2.</b> Composição química média do grão de sorgo moído + mistura mineral utilizado nos dois períodos do experimento. ....	30
<b>Tabela 3.</b> Emissão de metano, produção e composição do leite em vacas leiteiras pastejando azevém anual ou azevém + leguminosas. ....	30
<b>Tabela 4.</b> Tempo de pastejo por vacas leiteiras em áreas de azevém anual ou azevém + leguminosas. ....	31

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

CH<sub>4</sub> – Metano

CO<sub>2</sub> – Dióxido de carbono

DEL – Dias em lactação

DMO – Digestibilidade da matéria orgânica

FAO – Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura

FBN – Fixação biológica do Nitrogênio

FDA – Fibra em detergente ácido

FDN – Fibra em detergente neutro

GEE – Gases de efeito estufa

H<sub>2</sub> – Gás hidrogênio

H<sub>2</sub>O(v) – vapor d'água

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IEA – Agência Internacional de Energia

IPCC – Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas

MS – Matéria seca

MO – Matéria orgânica

N<sub>2</sub> – Nitrogênio

N<sub>2</sub>O – Óxido Nitroso

O<sub>2</sub> – Oxigênio

PB – Proteína bruta

SARLE – Serviço de Análise em Rebanhos Leiteiros

SF<sub>6</sub> – Hexafluoreto de enxofre

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>15</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	15
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>16</b>
3.1 METANOGENESE .....	17
3.2 MENSURAÇÃO DE CH <sub>4</sub> ENTÉRICO .....	18
3.3 FORMAS DE MITIGAÇÃO DOS GEE .....	20
<b>4 HIPÓTESE .....</b>	<b>23</b>
<b>5 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>24</b>
5.1 TRATAMENTOS, ANIMAIS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	24
5.2 ÁREA EXPERIMENTAL E PERÍODO .....	24
5.3 MEDIDAS SOBRE O PASTO .....	24
5.4 MEDIDAS SOBRE OS ANIMAIS .....	26
5.5 ANÁLISES LABORATORIAIS.....	27
5.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	28
<b>6 RESULTADOS.....</b>	<b>29</b>
<b>7 DISCUSSÃO .....</b>	<b>32</b>
7.1 EMISSÕES DE CH <sub>4</sub> .....	32
7.2 PARÂMETROS PRODUTIVOS .....	34
<b>8 CONCLUSÃO .....</b>	<b>36</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>37</b>



## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente, a produção agropecuária vem enfrentando desafios emergentes relacionados às mudanças climáticas, aumento da população, às crises hídricas e à perda de áreas agricultáveis. Diante desse cenário, surge uma significativa preocupação quanto à necessidade de reavaliação e modificação dos modelos de produção animal, incluindo mudanças de manejo e os sistemas utilizados para torná-la mais produtiva e sustentável. A utilização de tecnologias para aprimorar o desempenho animal não apenas contribui indiretamente para valorizar o produto, mas também demanda uma avaliação e quantificação, especialmente quando exploramos o conceito ambientalista. Aditivos nutricionais, adubação de pastagens, consorciação entre espécies forrageiras, melhoramento genético e diversas outras variáveis podem ser introduzidas e analisadas no contexto do balanço de gases de efeito estufa (GEE) na produção de carne e leite (BERNDT, 2010).

Os principais processos que resultam em emissões de gases de efeito estufa na pecuária estão correlacionados a fermentação entérica dos animais ruminantes, que corresponde a uma etapa da digestão, sendo a principal fonte de emissão de CH<sub>4</sub>, porém, a intensidade desse processo depende de diversos fatores, como a categoria animal, alimentação, nível de consumo do animal e das diversas práticas de criação. Outra prática que contribui para as emissões de GEE é decorrente da aplicação de fertilizantes nitrogenados, tanto de origem sintética quanto animal, e da deposição de dejetos de animais em pastagem que levam a uma emissão de Óxido Nitroso (N<sub>2</sub>O) para a atmosfera terrestre (BORRÉ et al., 2023).

Em contrapartida, a pecuária bovina tem sido associada ao progresso econômico em várias regiões do Brasil, e o método de produção predominante é fundamentado em pastagens, devido ao seu custo de produção reduzido, proporcionando condições superiores de saúde e conforto aos animais (MARTINS-COSTA, 2015). Pensando nisso, novas formas de manejo, que conseguem abranger tanto a questão ambiental como a econômica vem ganhando espaço, uma delas é a introdução de leguminosas nas dietas dos ruminantes, que além de contribuir na elevação da fertilidade do solo a partir da fixação biológica do nitrogênio (VIEIRA, 2017), demonstra inúmeros benefícios do ponto de vista nutricional para os animais, pela melhora no valor nutritivo da dieta devido a uma melhor qualidade da forragem

oferecida aos animais (LÜSCHER et al., 2014). Sendo assim, este se torna um tema de crescente interesse, considerando busca por estratégias que otimizem a produção animal e minimizem os impactos ambientais, como as emissões de CH<sub>4</sub>.

Pesquisas abordando os efeitos nutricionais das leguminosas, explorando seus impactos sobre a produção e composição do leite, incluindo teores de gordura, proteína e da possível mitigação nas emissões de CH<sub>4</sub> entérico advindo dos ruminantes têm sido realizadas. Contudo, para os sistemas de produção de leite em regiões de clima subtropical ainda é necessário que sejam realizadas mais investigações sobre os possíveis benefícios econômicos e, principalmente ambientais, associados à mitigação de GEE com a introdução de leguminosas nas dietas de vacas leiteira.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos da introdução de leguminosas em pastos formados predominantemente por gramíneas anuais de inverno nos sistemas de produção leiteira do sul do Brasil.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito da introdução de leguminosas forrageiras em pastos anuais de inverno sobre a produção (g/dia) e a intensidade de emissão (g/kg leite corrigido para energia, LCE) de CH<sub>4</sub>.
- Avaliar o efeito da introdução de leguminosas forrageiras em pastos anuais de inverno sobre a produção e a composição química do leite.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O crescimento da população mundial e do seu poder aquisitivo tem promovido aumento da demanda por alimentos de origem animal. Nesse contexto, o Brasil apresenta destaque por possuir o maior rebanho comercial bovino do mundo com cerca de 234 milhões de cabeças (IBGE, 2022). A disponibilidade de terras agricultáveis e as condições climáticas, associadas à constante geração e adoção de tecnologias, possibilitou que o Brasil ocupasse esse papel de destaque na produção e comércio global de proteína animal. No entanto, paralelo a esse crescimento, houve aumento da pressão sobre os recursos naturais. Dados do Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas (IPCC, 2022) mostraram que as emissões globais de gases de efeito estufa (GEE) vêm crescendo ano a ano, sendo a última década o maior crescimento da história.

A atmosfera terrestre é composta por diversos gases, como, oxigênio ( $O_2$ ), nitrogênio ( $N_2$ ),  $CO_2$ ,  $CH_4$  e vapor d'água ( $H_2O(v)$ ). Dentre esses gases, o  $CO_2$ , o  $CH_4$  e o  $H_2O(v)$  têm por finalidade reter parte da radiação infravermelha da luz solar, a qual promove o aquecimento global da terra (MOREIRA et al., 2008). Esses gases impedem que a energia do sol absorvida pela Terra durante o dia, seja emitida de volta para o espaço, atuando como protetores e mantendo a temperatura estável no planeta. Com as atividades antrópicas, esses gases são liberados em taxas superiores à capacidade de assimilação do meio ambiente, trazendo diversas mudanças climáticas, e consequentemente, mais desastres naturais que estão sendo presenciados com maior frequência na atualidade. Além disso, o  $N_2O$  também está entre os três principais GEE, embora sua concentração na atmosfera seja relativamente baixa em comparação com outros gases. O aumento no uso de fertilizantes nitrogenados na agricultura tem sido apontado como um dos principais fatores para o aumento dos níveis de  $N_2O$  na atmosfera, desempenhando assim um papel significativo nas mudanças climáticas globais (ZHANG et al., 2015), sendo que, a agricultura é responsável por cerca de 70% das emissões globais (TIAN et al., 2020). O  $N_2O$  tem a capacidade de destruir a camada de ozônio estratosférico, além disso possui uma vida útil atmosférica de  $116 \pm 9$  anos, uma elevada capacidade de absorver energia ultravioleta e exibe alta estabilidade na atmosfera, possuindo um potencial de aquecimento global de até 298 vezes maior do que o  $CO_2$ , tendo uma

contribuição significativa para o processo de aquecimento global (JANTALIA et al., 2006).

O CH<sub>4</sub> é o segundo maior contribuinte para o aquecimento global, apresentando potencial 28 vezes maior que o CO<sub>2</sub> e tempo de vida na atmosfera de 9 a 15 anos. As estimativas mais recentes e abrangentes, sugerem que as emissões globais anuais de CH<sub>4</sub> estão em torno de 580 milhões de toneladas e as emissões de GEE do Brasil representam 3% do total global (International Energy Agency - IEA, 2022). Dentro das emissões brasileiras, no setor da agropecuária, correspondente a 35% das emissões totais do país, são consideradas as emissões advindas dos dejetos dos animais, cultivo do arroz, queima de resíduos agrícolas, utilização de insumos, principalmente através da adubação nitrogenada e a fermentação entérica dos ruminantes que foi o subsetor que mais contribuiu com as emissões de GEE, correspondendo a 65% do total emitido (SEEG, 2021).

A produção de CH<sub>4</sub> entérico pelos ruminantes depende de diversos fatores, sendo eles, dieta, nível de ingestão, tamanho, idade e espécie do animal (ABDALLA et al., 2012; ARCHIMÈDE et al., 2011). Uma característica importante dos animais ruminantes é a de possuir um rúmen onde há alta densidade e diversidade populacional de microrganismos que são capazes de sintetizar inúmeras substâncias, como, por exemplo, o CH<sub>4</sub> que é produzido pelos microrganismos metanogênicos.

### 3.1 METANOGENESE

Os ruminantes apresentam um sistema digestório especializado no processo de fermentação, sendo capazes de digerir diferentes tipos de forragens, isso foi consequência da interação evolutiva que desenvolveram com os microrganismos, trazendo benefícios para o animal hospedeiro e para a microbiota (LI et al., 2016). As principais características observadas no rúmen são: ambiente anaeróbico com temperatura entre 39 e 42°C, pH que varia normalmente entre 6,0 e 7,0, e com a presença de três tipos de microrganismos ativos: bactérias, protozoários e fungos (KOZLOSKI, 2009). A colonização microbiana do rúmen é influenciada pelas mudanças da dieta e pelo ambiente de criação desses animais (GRANDL et al., 2016). Os alimentos ingeridos chegam ao rúmen e sofrem a ação das enzimas microbianas, gerando os ácidos graxos de cadeia curta, principalmente o acetato, propionato e

butirato, que são absorvidos pela parede do rúmen e representam a principal fonte de energia dos ruminantes (HENDERSON et al., 2015; BOTERO et al., 2013).

Os microrganismos responsáveis pela produção de CH<sub>4</sub> são as bactérias metanogênicas, pertencentes ao reino das *Archaeobacteria*, além delas, outro grupo importante, são os protozoários, responsáveis por fornecer o substrato para a ação dessas bactérias (CARDOSO et al., 2003). Esses microrganismos obtêm energia para seu crescimento através da redução de substratos, principalmente o H<sub>2</sub> e formato, porém, outros compostos como CO<sub>2</sub>, metanol, mono, di e tri-metilamina e acetato também podem ser utilizados (MILLER, 1995). Através de uma rota aceptora de elétrons, a metanogênese permite remover o H<sub>2</sub> (gasoso) produzido no rúmen, portanto, a formação de CH<sub>4</sub> é imprescindível para o equilíbrio do ambiente ruminal, porque impede o acúmulo excessivo de H<sub>2</sub>, o que poderia levar à inibição da atividade desidrogenase, envolvida na re-oxidação dos cofatores reduzidos e afetar o processo de degradação da fração fibrosa do alimento (MCALLISTER; NEWBOLD, 2008). No entanto, a produção de CH<sub>4</sub> não é equivalente para todos os ácidos graxos de cadeia curta produzido, e isso se dá principalmente porque durante a fermentação de carboidratos fibrosos ocorre uma maior produção de acetato e butirato resultando em uma maior liberação de H<sub>2</sub>, favorecendo a metanogênese. Em contrapartida, a formação do propionato é uma via competitiva de utilização do H<sub>2</sub>, sendo assim, diminui a disponibilidade de substrato para a metanogênese (HEGARTY, 2001). Portanto, a inclusão de concentrado na alimentação dos animais pode contribuir para a diminuição da produção de CH<sub>4</sub> entérico, uma vez que o concentrado apresenta uma maior quantidade de carboidratos solúveis e uma digestibilidade superior, resultando na redução do substrato disponível para a síntese de CH<sub>4</sub> (LIMA et al., 2007). No mesmo sentido, melhorias na qualidade da forragem ingerida pelos animais podem se constituir em uma prática mitigadora das emissões em sistemas de produção de ruminantes (CONGIO et al., 2021).

### 3.2 MENSURAÇÃO DE CH<sub>4</sub> ENTÉRICO

A mitigação das emissões de CH<sub>4</sub> por ruminantes contribui para a proteção do meio ambiente e a luta contra as mudanças climáticas, promovendo a sustentabilidade da produção animal com ganhos na eficiência global do setor agrícola. Portanto, métodos de pesquisa para elucidar com maior precisão as emissões de CH<sub>4</sub> entérico

são imprescindíveis para contribuir com a sustentabilidade do planeta. A medida das emissões advindas dos ruminantes é necessária para agregar um maior banco de dados, criação e avaliação das estratégias de mitigação e desenvolvimento de protocolos para uma possível seleção genética de animais que emitem uma menor quantidade de CH<sub>4</sub> (HAMMOND et al., 2016). Para isso, existem diversas tecnologias utilizadas que são capazes de quantificar a emissão de CH<sub>4</sub> entérico, podendo ser realizadas por métodos *in vitro* ou *in vivo*, podendo diferir em seu modo de aplicação, custo, acurácia e precisão. Dentre as técnicas de mensuração, é possível utilizar a câmara respirométrica; técnica do gás traçador hexafluoreto de enxofre (SF<sub>6</sub>); face mask system (método do capuz); câmara de cabeça para amostragens pontuais (GreenFeed®); laser portátil e produção de gases *in vitro*. Dentre as técnicas citadas, duas delas serão abordadas no presente trabalho e serão descritas com mais detalhes a seguir.

A metodologia que utiliza o gás traçador SF<sub>6</sub> é amplamente empregada para medir as taxas de emissão de CH<sub>4</sub> resultante da fermentação entérica em bovinos (PRIMAVESI et al., 2004) . O método baseia-se na premissa de que a emissão de CH<sub>4</sub> entérico pode ser estimada se a taxa de emissão de um gás traçador dentro do rúmen-retículo for conhecida. Para isso, é essencial utilizar um gás não-tóxico, estável e que se comporte de maneira semelhante ao CH<sub>4</sub> dentro da dinâmica de gases no rúmen (STORM et al., 2012). Essa técnica é aplicável tanto a animais confinados quanto em pastoreio livre e faz uso de um tubo de permeação (cápsula). As amostras de ar são coletadas ao longo de 24 horas, sendo comum repetir as coletas durante cinco a oito dias, possibilitando amostras acumuladas em medidas ao longo dos dias de avaliação (BERNDT et al., 2014). Um dos principais requisitos para um gás traçador é que suas concentrações no ambiente sejam extremamente baixas em comparação com a concentração do traçador nas amostras coletadas, portanto, conhecer as concentrações no ambiente é crucial para a precisão das estimativas de emissão de CH<sub>4</sub> (BERNDT et al., 2014; STORM et al., 2012).

O sistema GreenFeed® (C-Lock Inc., Rapid City, South Dakota, USA) é um dispositivo estático sendo possível fazer medições individuais a curto prazo de CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub> dos animais por meio da integração das medidas de fluxo de ar, concentração de gás e detecção da posição da cabeça durante a visita de cada animal ao equipamento (ZIMMERMAN, 2008). A medida das emissões ocorre a partir do momento que o animal introduz a cabeça no cocho, através da combinação de um exaustor e sensor

de posição que induz o fluxo de ar passando pela cabeça do animal, permitindo que o ar expirado seja recolhido e amostrado. O ar recolhido é homogeneizado, filtrado e a taxa de fluxo de ar é medida por meio de um anemômetro ultrassônico. A concentração de CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> presente nas amostras é determinada através de um analisador de espectro infravermelho não dispersivo (HAMMOND et al., 2016).

As medidas da emissão de CH<sub>4</sub> são normalmente realizadas ao longo de períodos curtos (5 min), distribuídos durante dias/semanas/meses e é dependente da visita do animal ao equipamento. Contudo, uma das vantagens dessa técnica é a possibilidade de utilização em uma variedade de sistemas de produção, inclusive a pasto (HRISTOV et al., 2015). O software do equipamento é capaz de agregar os dados e calcular a emissão de CH<sub>4</sub> durante o período de amostragem e apresenta resultados apenas quando o animal visitou o equipamento, recebeu uma recompensa alimentar, manteve a posição adequada da cabeça dentro do cocho de amostragem por um tempo que atinja a quantidade suficiente de eructações. Além disso, também é de suma importância que não haja a interferência de outro animal no momento de amostragem (HAMMOND et al., 2016).

### 3.3 FORMAS DE MITIGAÇÃO DOS GEE

A pecuária é uma fonte significativa de emissões de GEE, especialmente CH<sub>4</sub> e N<sub>2</sub>O. A mitigação dessas emissões é crucial para promover práticas agrícolas sustentáveis e contribuir para a redução do impacto ambiental. Segundo Sloat et al. (2018), 20% das pastagens do mundo estão perdendo produtividade devido ao processo degradação e/ou manejo inadequado, consequentemente levando a uma perda da produtividade e fertilidade do solo prejudicando a produção de alimentos. No Brasil, cerca de 28 milhões de hectares de pastagens cultivadas apresentam níveis de degradação consideráveis, oscilando entre intermediários e severos (BOLFE et al., 2024). A degradação de uma pastagem é um processo que ocorre de forma gradativa levando a perda de vigor e produtividade daquela cultura, culminando na degradação do solo e dos recursos naturais em função de manejos inadequados, resultando em uma redução na qualidade e quantidade de forragem disponível para os animais. Isso pode levar a uma ingestão subótima de nutrientes, afetando negativamente a digestão no rúmen e, consequentemente, aumentando a produção de CH<sub>4</sub>(MACEDO et al., 2000).

Levando em consideração que as emissões de GEE são majoritariamente advindas de atividades antrópicas, vem aumentando o interesse de criar estratégias para tornar a pecuária mais sustentável. Porém, esse processo envolve a implementação de práticas e estratégias que minimizem os impactos ambientais, promovam o bem-estar animal e garantam a viabilidade econômica. Sabe-se que na grande maioria das propriedades de produção de leiteira, as pastagens constituem a base da dieta dos ruminantes, sendo possível utilizar estratégias que contribuam de forma positiva na questão ambiental. Sendo assim, o manejo sustentável de pastagens tem alto potencial para mitigação dos GEE, tendo em vista a extensa área ocupada com esse uso no Brasil (MALAFAIA & CANELLA FILHO, 2019).

### 3.4 INCLUSÃO DE LEGUMINOSAS NA DIETA DE RUMINANTES

Dentre as opções de manejo mais sustentável, a pastagem de gramíneas com a inclusão de leguminosas tem sido objeto de estudo devido à sua rica composição nutricional, composta por proteínas de alta qualidade, fibras, minerais e compostos bioativos. Dentre elas, o trevo vermelho (*Trifolium pratense L.*), uma das aproximadamente 250 espécies pertencentes ao gênero *Trifolium*, (TAYLOR; QUESENBERRY, 1996), é uma leguminosa forrageira com hábito de crescimento ereto podendo atingir até 0,70 m de altura, amplamente cultivada em regiões de clima temperado em todo o mundo para alimentação animal (MARSHALL et al., 2017). Além disso, é reconhecida por sua rica composição em proteínas e pela capacidade significativa de fixação biológica de nitrogênio (FBN) (DHAMALA et al., 2017). Por sua vez, o cultivo consorciado de ervilhaca (*Vicia sativa L.*) com gramíneas anuais também apresenta inúmeras vantagens, além de ser uma leguminosa anual de inverno, herbácea e glabra, apresentando raízes profundas e ramificadas, com hábito de crescimento trepador, que contém altos níveis de proteína (ANIL et al., 1998; FONTANELI et al., 2012; LITHOURGIDIS et al., 2006) ela contribui para o aumento da conservação do solo, melhora a supressão de plantas daninhas (AVCI; AKAR, 2006).

O uso de leguminosas forrageiras pode contribuir para a mitigação dos impactos ambientais, principalmente relacionado as emissões de gases de efeito estufa, reduzindo a necessidade de fertilizantes químicos nitrogenados, resultando em menor emissão de N<sub>2</sub>O, auxiliando na recuperação de áreas degradadas devido à

capacidade dessas espécies em se associarem às bactérias fixadoras de nitrogênio, estimulando o desenvolvimento das gramíneas, e além disso, levando a uma mitigação das emissões de CH<sub>4</sub> por ruminantes devido ao melhor desempenho animal (LÜSCHER et al., 2014, MACEDO et al., 2014, TERRA et al., 2019). A disponibilidade de nitrogênio é crucial para o crescimento das plantas sendo um nutriente limitante no seu desenvolvimento. A Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) destaca-se como o principal processo responsável por incorporar o nitrogênio atmosférico ao sistema solo-planta (PEOPLES; CRASWELL, 1992). A FBN em plantas da família *Leguminosae* ocorre pela associação simbiótica com bactérias conhecidas como rizóbio, que interagem com as raízes para formar estruturas especializadas denominados nódulos. Nesses nódulos, as bactérias fixam o N<sub>2</sub> atmosférico, transformando-a para uma forma combinada, a amônia, que pode ser utilizada pela planta hospedeira. A eficácia adequada dessa relação simbiótica está condicionada a diversos fatores, sendo o crescimento da planta hospedeira um elemento crucial. Isso se deve ao fato de que o processo de fixação do N<sub>2</sub> demanda energia, a qual é obtida por meio dos produtos fotossintéticos gerados pela planta. Por sua vez, a simbiose proporciona o nitrogênio (N), promovendo o crescimento da planta. A fixação biológica do nitrogênio, portanto, é um procedimento intrinsecamente vinculado ao desenvolvimento, sendo suscetível a todas as variáveis que impactam a evolução das leguminosas (VIEIRA, 2017).

A composição da ração ou a qualidade da forragem também é um fator que influencia a produção de CH<sub>4</sub> em ruminantes. A digestão no rúmen depende da atividade de microrganismos, que necessitam de energia, nitrogênio e minerais (MOSS et al., 2000). Portanto, a qualidade da forragem afeta a atividade dos microrganismos ruminais e a produção de CH<sub>4</sub> no rúmen. Sendo assim, o manejo adequado desses sistemas consorciados pode, portanto, representar uma abordagem promissora para a gestão eficiente de pastagens. A inclusão de leguminosas, pode ter efeitos positivos na produção e qualidade do leite, na eficiência da utilização de nitrogênio e nas emissões de CH<sub>4</sub>. No entanto, a complexidade das interações entre tipos específicos de leguminosas, composição da dieta e características individuais dos animais destaca a necessidade contínua de pesquisa para otimizar práticas alimentares sustentáveis na produção leiteira.

#### **4 HIPÓTESE**

A introdução de leguminosas em pastos anuais de inverno permite a redução do uso da adubação nitrogenada com melhorias na produção de leite e reduções na intensidade de emissão de CH<sub>4</sub>.

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos adotados sobre os animais foram previamente aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Estado de Santa Catarina (protocolo nº 6051180521).

### 5.1 TRATAMENTOS, ANIMAIS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os tratamentos experimentais foram pasto de azevém puro com ou sem a inclusão de ervilhaca (*Vicia sativa L.*) e trevo vermelho (*Trifolium pratense L.*), sendo que a semeadura das espécies forrageiras utilizadas ocorreu no dia 28 de junho de 2023, na densidade de 40kg/ha e 6kg/ha, respectivamente. No tratamento com leguminosas recebeu 50% da adubação nitrogenada aplicada no azevém puro (75 vs. 150 kg N/ha). O método de pastoreio foi rotacionado com quatro dias de ocupação e meta de severidade de desfolha entre 40 e 50% da altura de entrada. Doze vacas cruza Holandês × Jersey em início de lactação foram distribuídas em dois lotes uniformes, de acordo com a paridade ( $2,6 \pm 1,24$ ), produção de leite ( $31,6 \pm 3,8$ ) dias em lactação ( $66,5 \pm 24,6$ ) e peso vivo ( $544 \pm 24,6$ ). O delineamento experimental foi em reversão simples com dois períodos de 12 dias, sendo oito de adaptação e quatro de coleta. No mínimo 15 dias antes do início do experimento, e ao logo de todo o período experimental, os animais receberam 4 kg/dia de um concentrado energético (grão de sorgo moído) + mistura mineral, dividido em duas doses após cada ordenha.

### 5.2 ÁREA EXPERIMENTAL E PERÍODO

O experimento foi conduzido no Setor de Bovinocultura de Leite pertencente à Universidade do Estado de Santa Catarina (CAV/UDESC), município de Lages - SC ( $27^{\circ}47'S$  e  $50^{\circ}18'W$ , 920 m altitude), nos meses de setembro a novembro de 2023. A área experimental possuía 4,2 ha, a qual foi dividida em duas subparcelas, uma para cada tipo de pasto. Cada subparcela foi subdividida em três unidades, sendo duas para o período de adaptação e uma para o período de medida.

### 5.3 MEDIDAS SOBRE O PASTO

A altura dos pastos foi medida antes e após o pastejo em cada período. No primeiro período, as alturas das parcelas foram obtidas a partir de 100 medições por parcela com auxílio de uma régua graduada (“sward stick”) e 200 medições de altura comprimida utilizando um prato ascendente (Farmworks®, F200 model, New Zealand). A massa de forragem pré-pastejo foi estimada usando o mesmo equipamento, o qual foi calibrado a partir de 5 pontos onde foi medida a altura, e a biomassa acima do solo na área do prato ( $0,1\text{ m}^2$ ) foi cortada. Após o corte, as amostras foram pesadas e secas em estufa com ventilação forçada por 72h a  $60^\circ\text{C}$ . A massa de forragem (kg MS/ha) na parcela de gramíneas (equação 1) e no consórcio de gramíneas e leguminosas (equação 2) foi estimada pelas equações descritas abaixo, a partir de média de mínimo 100 leituras com o prato ascendente por parcela.

$$\begin{aligned} \text{(equação 1)} \quad & y = 142 - 340 \times \text{altura comprimida pré-pastejo (cm)} \\ & (R^2=0,83) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{(equação 2)} \quad & y = 215 - 1008 \times \text{altura comprimida pré-pastejo (cm)} \\ & (R^2=0,89) \end{aligned}$$

No segundo período, foram realizadas as mesmas avaliações utilizando a régua graduada (“sward stick”) em cada parcela e, devido a um problema técnico no prato ascendente, a determinação da biomassa pré-pastejo foi quantificada por um método destrutivo, a partir do corte da forragem num total de vinte amostras por parcela em áreas delimitadas por quadros de  $0,24\text{ m}^2$  ( $0,8 \times 0,3\text{ m}$ ). Após o corte, as amostras foram pesadas e transferidas para estufa com ventilação forçada a  $60^\circ\text{C}$  por 72h para posterior determinação do teor de MS.

A determinação da composição química e botânica dos pastos foi realizada em amostras coletadas no dia anterior à entrada dos animais nas parcelas utilizadas durante o período de medida. No mínimo 20 amostras, com diâmetro de aproximadamente 20 cm, foram cortadas aleatoriamente em nível do solo com auxílio de uma tesoura manual, formando uma amostra composta por piquete. As amostras foram congeladas a  $-20^\circ\text{C}$ . Após o descongelamento, uma subamostra foi destinada à separação para a determinação da composição botânica e a outra foi cortada na altura média dos perfilhos após o pastejo. A parte superior desta última foi utilizada para a determinação da composição química da forragem desaparecida. A altura

residual de perfilhos foi medida logo após o último dia de pastejo, em 160 perfilhos estendidos em cada parcela, conforme proposto por Wade et al. (1989).

#### 5.4 MEDIDAS SOBRE OS ANIMAIS

A produção e a composição do leite foram medidas nos quatro últimos dias de cada período experimental. A produção foi registrada nas duas ordenhas diárias, às 7:00 e 15:00, através de um medidor eletrônico de leite (Waikato Milking Systems, Nova Zelândia) e amostras de leite também foram coletadas em cada ordenha e destinadas ao SARLE – Serviço de Análise em Rebanhos Leiteiros, localizado em Passo Fundo/RS, para determinação da composição do leite.

O tempo de pastejo foi registrado visualmente, a cada 5 minutos, em dois dias de cada período de medida, utilizando o método proposto por Penning (2004). Em cada dia, as observações foram registradas desde o início do primeiro ciclo de pastejo no período da manhã até o final do último ciclo de pastejo ao entardecer, caracterizando as seguintes atividades: pastejo (atividades relacionadas a procura, seleção e apreensão de forragem); ruminação (movimentos mandibulares não relacionadas com pastejo) e ócio (momentos em que os animais não estavam pastejando ou ruminando, por exemplo, descansando ou bebendo água). Esses dados foram utilizados para estimar o tempo e a proporção do tempo empregado com cada atividade.

A digestibilidade da forragem ingerida foi estimada a partir da composição química das fezes e da forragem. Amostras de fezes foram coletadas após cada ordenha por quatro dias consecutivos, durante o período de medida. Todas as amostras foram secas em estufa com ventilação forçada por 72 horas a 60°C. As amostras foram moídas em peneiras de 1 mm para posterior análise da composição química. A digestibilidade da MO da forragem (DMO, g/g MO) foi calculada a partir do teor fecal de PB ( $PB_f$  g/kg MO), do teor fecal de FDA ( $FDA_f$  g/kg MO) e do teor de PB da forragem ( $PB_h$  g/kg MO). De acordo com a equação proposta por Ribeiro-Filho et al. (2005), onde:

$$DMO = 1.035 - 24,78/PB_f - 0.00027FDA_f - 0.0571PB_h/PB_f$$

A produção de CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub> foi medida em dois dos últimos quatro dias de cada período experimental, de maneira a não coincidir com os dias em que se avaliou o tempo de pastejo. Para isso, foram utilizados dois equipamentos GreenFeed (C-Lock Inc., Rapid City, South Dakota, USA). Os animais eram encaminhados em diferentes horários do dia para próximo dos equipamentos de maneira a se obter uma amostra representativa de 3 em 3 horas num ciclo de 24 horas. Para isso, no segundo dia de visita dos animais ao GreeFeed os horários foram adiantados em três horas quando comparados à coleta anterior. Em cada período experimental todos os animais visitaram os GreeFeed no mínimo uma vez em cada um dos seguintes horários: 06:30h, 8h30h, 10:30h, 15:30h, 14:30h e 18:30h,

Os equipamentos GreenFeed possuem uma tecnologia de radiofrequência a qual realiza a leitura do brinco do animal que estava próximo, havendo liberação de alfafa peletizada para atrair os animais até o cocho. Sendo assim, os animais eram motivados a permanecer por no mínimo 4 minutos no equipamento e se alimentar por meio desse sistema pré-programado que faz a liberação automática dos pellets conforme a configuração adotada no software. A quantificação dos gases acontecia através da combinação de um exaustor e sensor de posição que induz o fluxo de ar passando pela cabeça do animal, permitindo que o ar expirado seja recolhido e amostrado. No interior do equipamento, sensores medem em tempo real as concentrações dos gases e o volume emitido por meio de um analisador de espectro infravermelho não dispersivo (HAMMOND et al., 2016).

## 5.5 ANÁLISES LABORATORIAIS

O teor de MS foi determinado por secagem a 105°C por 24 horas. As cinzas foram medidas por combustão em mufla a 550°C por 4 h, e a MO foi quantificada com base na diferença de massa. O teor de N total foi medido pelo método de combustão de Dumas 968.06 (AOAC, 2019) utilizando equipamento Leco FP 528 (LC, Leco Corporation, Saint Joseph, EUA). A fibra em detergente neutro (FDN) foi determinada de acordo com Mertens (2002), exceto que as amostras foram pesadas em sacos de filtro e tratadas com detergente neutro em sistema ANKOM A220 (ANKOM Technology, Macedon NY, EUA). Esta análise incluiu α-amilase termoestável e cinza residual, mas não incluiu sulfito de sódio. A fibra em detergente ácido (FDA) foi analisada de acordo com o Método 973.18 da AOAC (AOAC, 2019).

## 5.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram submetidos à análise de variância considerando os efeitos da vaca, tratamento e período. Valores de  $P < 0,05$  foram considerados significativamente diferentes e valores entre 0,05 e 0,10, foram considerados tendência.

## 6 RESULTADOS

A biomassa inicial não excedeu a 1800 kg MS/ha nos piquetes com gramínea pura, apresentando valores próximos a 1500 kg MS/ha no tratamento com leguminosas (Tabela 1). A oferta de forragem foi superior a 45 kg MS/dia em ambos os tratamentos, mas as vacas com acesso aos pastos de gramínea pura receberam aproximadamente 6 kg de MS/dia a mais que as vacas que tiveram acesso aos pastos de gramínea + leguminosa. A severidade de pastejo foi em média 42% da altura inicial, e os teores de PB, FDN e FDA apresentaram médias de 175, 578 e 254 g/kg MS, considerando ambos os tratamentos. A porcentagem de leguminosas no tratamento com ervilhaca e trevo vermelho foi de aproximadamente 9% da MS total.

Tabela 1. Médias da biomassa pré pastejo, oferta, alturas, composição química e composição botânica do azevém anual ou azevém + leguminosas nos dois períodos avaliados.

	Gramínea	Gram + Leg
Biomassa pré pastejo (kg MS/ha)	1773	1549
Oferta <sup>1</sup> (kg MS/dia)	51,7	45,8
Altura pré-pastejo (cm)	32,4	28,23
Altura pós-pastejo (cm)	18,2	16,9
Desfolha <sup>2</sup>	0,44	0,40
<i>Composição química (g/kg MS)</i>		
Matéria seca (g/kg verde)	144	160
Matéria orgânica	897	901
Proteína bruta	172	178
FDN	562	594
FDA	248	260
<i>Composição botânica (% MS)</i>		
Azevém		
Lâmina	43,4	39,8
Colmo + pseudocolmo	35,7	34,2
Leguminosas	0,0	8,9
Outras espécies	0,82	1,9
Material morto	20,5	15,1

Oferta<sup>1</sup> = biomassa pré pastejo/(nº animais \* nº dias no piquete) \* área

Desfolha<sup>2</sup> = (altura pré-pastejo – altura pós-pastejo) /altura pré-pastejo.

Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

Tabela 2. Composição química média do grão de sorgo moído + mistura mineral utilizado nos dois períodos do experimento.

	Concentrado
Matéria seca (%)	84,9
Matéria orgânica (% MS)	91,7
Proteína bruta (% MS)	10,0
FDN <sup>1</sup> (% MS)	14,5
FDA <sup>2</sup> (% MS)	5,2

<sup>1</sup> Fibra em detergente neutro; <sup>2</sup> Fibra em detergente ácido.

Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

A produção diária de CH<sub>4</sub> (média = 325 g/dia) e suas intensidades de emissão (média = 11 g/kg leite corrigido para energia, LCE) não diferiram entre as vacas com acesso aos pastos de gramínea pura comparadas àquelas com acesso aos pastos em associação com leguminosas (Tabela 3). A produção de leite e a produção de proteína foram, respectivamente, 2,0 kg/dia e 88 g/dia maiores ( $P < 0,05$ ) no tratamento contendo a gramínea pura em comparação ao tratamento onde havia leguminosas. A produção de LCE, bem como os teores de gordura, proteína e N ureico no leite não diferiram entre tratamentos, com médias de 30,5 kg/dia, 39,6 g/kg, 32,9 g/kg e 6,0 mg/dL, respectivamente.

Tabela 3. Emissão de metano, produção e composição do leite em vacas leiteiras pastejando azevém anual ou azevém + leguminosas.

	Gramínea	Gram + Leg	<i>dpr</i>	<i>P &lt;</i>
Metano				
g/dia	330	321	21,4	0,362
g/kg LCE <sup>1</sup>	11,0	10,6	1,01	0,377
Produção leite (kg/dia)	31,9	29,9	1,23	0,040
Produção LCE (kg/dia)	30,9	30,0	1,66	0,393
Teor de gordura (g/kg)	38,5	40,7	3,44	0,282
Teor de proteína (g/kg)	33,4	32,3	1,71	0,273
Produção gordura (g/dia)	1220	1213	90,6	0,893
Produção proteína (g/dia)	1053	965	21,6	0,001
N ureico (mg/dL)	5,9	6,1	1,18	0,732
Peso vivo (kg)	551	553	6,9	0,341
Digestibilidade da MO	0,807	0,803	0,0056	0,067

<sup>1</sup>Leite corrigido para energia = kg de produção de leite × [37,6 × gordura (g/kg) + 20,9 × proteína (g/kg) + 948]/3,138 (TYRRELL; REID, 1965).

Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

O tempo de pastejo foi semelhante entre as vacas com acesso aos pastos de gramínea pura ou gramínea consorciada com leguminosas, perfazendo a média de aproximadamente 390 min/dia (6,5 h/dia). O período em que se registrou maior atividade de patejo foi logo após a ordenha da tarde (16 às 20h, 34%), seguido do período logo após a ordenha da manhã (8 às 12h, 28%), com atividades menores nos períodos anteriores às ordenhas da tarde (12 às 16h, 23%) e da manhã (5 às 8h, 15%).

Tabela 4. Tempo de pastejo por vacas leiteiras em áreas de azevém anual ou azevém + leguminosas.

	Gramínea	Gram + Leg	dpr	P <
<b>Tempo de pastejo (min)</b>				
5:00 – 8:00 h	60	54	6,4	0,170
8:00 – 12:00 h	112	109	14,6	0,706
12:00 – 16:00 h	92	86	15,0	0,474
16:00 – 20:00 h	130	135	2,4	0,008
Total	394	384	25,9	0,541

Fonte: Elaborada pela autora.

## 7 DISCUSSÃO

### 7.1 EMISSÕES DE CH<sub>4</sub>

Embora as emissões de CH<sub>4</sub> não tenham apresentado diferenças significativas entre os tratamentos, é importante destacar que os resultados provenientes do sistema GreenFeed foram consideravelmente inferiores em comparação a outros estudos previamente realizados com vacas do mesmo rebanho, utilizando a técnica do traçador hexafluoreto de enxofre (SF<sub>6</sub>). Dall-Orsoletta et al. (2016) observaram que as emissões diárias de metano entérico foram menores (545 g/d) nos animais com acesso ao pasto de azevém anual quando comparado aos animais estabulados recebendo ração total misturada (656 g/dia). No mesmo sentido, Civiero et al. (2021) observaram que as emissões de CH<sub>4</sub> (g/d) diminuíram linearmente de 540 g/d para 436 g/d com a inclusão progressiva de pastagem de milheto na dieta. No presente estudo, as emissões individuais de CH<sub>4</sub> não ultrapassaram a 330 g/dia.

Existe a possibilidade de que o uso do hexafluoreto de enxofre (SF<sub>6</sub>) para estimar a emissão de CH<sub>4</sub> em ruminantes possa superestimar os resultados. Em um estudo comparando as duas técnicas de avaliação, realizado por Hristov et al. (2016), foi observado que as medições através do SF<sub>6</sub> foram 8% maiores em relação ao uso da técnica do GreenFeed. A utilização do SF<sub>6</sub> como um gás traçador é baseada na premissa de que a taxa de emissão do SF<sub>6</sub> é proporcional à taxa de emissão de CH<sub>4</sub>. No entanto, o estudo sugere que podem ocorrer maiores variações nos resultados quando os animais permanecem em locais menos ventilados, onde há uma maior concentração do gás traçador no ambiente, podendo superestimar os resultados. Apesar das limitações dessa técnica, o SF<sub>6</sub> ainda é amplamente utilizado e pode fornecer estimativas valiosas das emissões de CH<sub>4</sub>. No entanto, a interpretação dos resultados deve levar em conta as limitações específicas do método e ser complementada com outras abordagens, como o uso de sistemas de monitoramento contínuo, como o GreenFeed, para obter uma visão mais abrangente das emissões de CH<sub>4</sub> em ruminantes.

Com relação ao uso do sistema Green Feed, ele se destaca pela capacidade de monitorar as emissões de CH<sub>4</sub> em tempo real, em condições de pastejo mais naturais. Estudos de Waghorn et al. (2016), Jonker et al. (2019), e Ryan et al. (2022), utilizaram o GreenFeed para avaliar as emissões de CH<sub>4</sub> em bovinos em pastagem,

o que permitiu uma abordagem mais realista e dinâmica do sistema, porém, apontam que o número de visitas diárias ao GreenFeed pode alterar os resultados, sendo necessário que os animais visitem em diversos horários do dia para se obter resultados confiáveis e representativos. No presente trabalho, optou-se por um protocolo com visitas direcionadas, o que garantiu um número mínimo de amostragem em todos os animais nos diferentes horários do dia.

A inexistência de diferença nas emissões entre os tratamentos pode ser explicada, ao menos em parte, pela similaridade na composição química dos pastos. A composição da dieta também é um fator crucial na modulação das emissões de CH<sub>4</sub> nos ruminantes. A fermentação microbiana no rúmen, durante a digestão, é a principal fonte de CH<sub>4</sub>. Portanto, dietas que influenciam na atividade microbiana e na composição dos substratos fermentáveis podem impactar diretamente as emissões de CH<sub>4</sub> (WALLACE et al., 2015).

Outro fator que deve ser levado em consideração é a variação climática entre regiões tropicais e temperadas, que pode desempenhar um papel significativo nas emissões de CH<sub>4</sub> em sistemas de produção baseados em pastagens. Os resultados do presente trabalho mostram emissões relativamente menores quando comparados aos que utilizam pastagens de clima tropical, assim como em (PRIMAVESI et al., 2004). Esses achados podem ser relacionados à menor qualidade da forragem em ambientes tropicais, quando comparados aos de clima temperado, principalmente em estado fisiológico mais avançado da forragem (RELLING et al., 2001) sendo que, o principal fator está relacionado à presença de maior teor de fibra e menor digestibilidade. No estudo de Assoumaya et al. (2007), os autores relataram que a principal diferença entre forrageiras temperadas e tropicais está na menor ingestão destas últimas, pois a digestão da parede celular das forragens tropicais requer maior trabalho de mastigação. Nonaka et al. (2008) observaram que digestibilidade da dieta tende a crescer devido ao menor consumo e taxas de passagem mais lentas. Porém, em ambientes tropicais, o aumento nos teores de parede celular, fibra em detergente ácido e lignina podem levar a uma menor digestibilidade da forragem, resultando em maior perda de energia e, consequentemente, um aumento na produção de CH<sub>4</sub> por unidade de produto devido à redução na eficiência de uso do alimento pelo animal. No mesmo sentido, Kurihara et al. (1999), relataram que a emissão de CH<sub>4</sub> tende a aumentar em condições de temperatura elevada, sendo este resultado atribuído ao

prolongamento do tempo de retenção no rúmen e à redução da taxa de saída de metanógenos do rúmen para o abomaso.

## 7.2 PARÂMETROS PRODUTIVOS

A redução na produção diária de leite e de proteína do leite no tratamento com leguminosas vai de encontro a umas das principais hipóteses do trabalho. Este resultado pode ser explicado pela pequena participação das leguminosas na dieta (< 9% da MS total) e por características estruturais do pasto. Considerando que a mistura recebeu metade da adubação nitrogenada aplicada nos pastos de azevém puro, é lógico assumir que o teor de leguminosas não foi suficiente para compensar essa redução, com impacto na biomassa pré-pastejo e na oferta de forragem. Estes resultados corroboram com o trabalho de Ribeiro Filho et al. (2005), onde foi observado que o consórcio entre trevo branco e azevém perene, abdicando da adubação nitrogenada, não resultou em melhorias no consumo de forragem e produção de leite, associado principalmente pela diminuição acentuada na altura e na biomassa pré-pastejo, portanto, essa baixa proporção pode impactar diretamente a resposta produtiva, com efeitos significativos em fatores estruturais do pasto e na composição nutricional da dieta.

Determinar o nível de inclusão ideal de leguminosas na dieta de vacas leiteiras para obter uma resposta positiva nos parâmetros produtivos é uma questão complexa e depende de vários fatores, incluindo a espécie de leguminosa, as condições de manejo, as características específicas do rebanho e os objetivos nutricionais. Pesquisas como as de Dihel et al. (2013) destacam que em torno 30% de inclusão de leguminosas seria recomendado para tornar o sistema mais sustentável e resultar em melhorias significativas na qualidade nutricional da dieta e, consequentemente, na produção de leite. Além disso, assim como foi observado por Crestani et al. (2013) e Andrade et al. (2016) a distribuição espacial no consórcio entre gramíneas e leguminosas em pastagens pode influenciar a ingestão das leguminosas pelos ruminantes. Essa distribuição irregular pode impactar a acessibilidade, a seleção e o consumo de leguminosas pelos animais. A variação na altura e morfologia das plantas entre gramíneas e leguminosas pode influenciar a facilidade de ingestão pelos animais. Se as gramíneas são mais altas e densas, enquanto as leguminosas são mais curtas e dispersas, os animais podem preferir as gramíneas, resultando em uma

ingestão desigual. Estudos como os de Solomon et al. (2011) propõe que uma das alternativas para aumentar a adoção de leguminosas em pastagens de clima temperado pode ser explorada através da implantação de pastos onde gramíneas e leguminosas são espacialmente separadas dentro do mesmo piquete.

## 8 CONCLUSÃO

Através dos dados coletados a partir desta pesquisa, foi possível concluir que a proporção de leguminosas presentes no consórcio não foi suficiente para compensar a redução na adubação nitrogenada, com impacto negativo em características estruturais do pasto e no desempenho animal, sem afetar as emissões de metano.

Os resultados irão contribuir para a elaboração de inventários relacionados às emissões de GEE a partir da pecuária leiteira no estado de SC. Contudo, mais pesquisas utilizando a técnica do GreenFeed são necessárias para ampliar a base de dados regionais e definir estratégias de mitigação das emissões dos GEE nos sistemas de produção de leite do sul do Brasil.

## REFERÊNCIAS

- ABDALLA, A. L. et al. In vitro evaluation, in vivo quantification, and microbial diversity studies of nutritional strategies for reducing enteric methane production. **Tropical Animal Health and Production**, v. 44, n. 5, p. 953–964, jun. 2012.
- ANDRADE, E. A. et al. Herbage intake, methane emissions and animal performance of steers grazing dwarf elephant grass v. dwarf elephant grass and peanut pastures. **Animal**, v. 10, n. 10, p. 1684–1688, 1 out. 2016.
- ANIL, L. et al. Temperate intercropping of cereals for forage: a review of the potential for growth and utilization with particular reference to the UK. **Grass and forage Science**, v. 53, p. 301–317, 9 mar. 1998.
- ARCHIMÈDE, H. et al. Comparison of methane production between C3 and C4 grasses and legumes. **Animal Feed Science and Technology**, v. 166–167, p. 59–64, 23 jun. 2011.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 21. ed. Gaithersburg: [s. n.], 2019.
- ASSOUMAYA, C.; SAUVANT, D.; ARCHIMÈDE, H. Etude comparative de l'ingestion et de la digestion des fourrages tropicaux et tempérés. **INRA Productions Animales**, v. 20, n. 5, p. 383–392, 2007.
- AVCI, M.; AKAR, T. Ecological production of dryland hairy vetch by mechanical control. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 26, n. 1, p. 29–34, jan. 2006.
- BERNDT, A. Impacto da pecuária de corte brasileira sobre os gases do efeito estufa. **VII Simpósio de Produção de Gado de Corte**, p. 121–147, 2010.
- BERNDT, A. et al. **Guidelines for use of sulphur hexafluoride (SF 6 ) tracer technique to measure enteric methane emissions from ruminants**. New Zealand: Ministry for Primary Industries, 2014. v. 1
- BOLFE, É. L. et al. Potential for Agricultural Expansion in Degraded Pasture Lands in Brazil Based on Geospatial Databases. **Land**, v. 13, n. 2, 1 fev. 2024.
- BORRÉ, J. et al. DINÂMICA DAS EMISSÕES DE GASES DO EFEITO ESTUFA (GEE) EM SISTEMAS EXTENSIVOS E CONSORCIADOS COM LEGUMINOSA. Em: **Tecnologia e Inovação na Agricultura: aplicação, produtividade e sustentabilidade em pesquisa**. [s.l.] Editora Científica Digital, 2023. p. 93–112.
- BOTERO, I. C. M. et al. In vitro methane production from two tropical grasses alone or in combination with Leucaena leucocephala or Gliricidia sepium. **Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia**, v. 8, n. 2, p. 15–31, 2013.
- CARDOSO, A. M. et al. Archaea: Potencial Biotecnológico Utilização e aplicação de arqueas na biotecnologia. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 30, p. 71–77, jun. 2003.

- CIVIERO, M. et al. Progressive inclusion of pearl millet herbage as a supplement for dairy cows fed mixed rations: Effects on methane emissions, dry matter intake, and milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 3, p. 2956–2965, 1 mar. 2021.
- CONGIO, G. F. DE S. et al. Enteric methane mitigation strategies for ruminant livestock systems in the Latin America and Caribbean region: A meta-analysis. **Journal of Cleaner Production**, v. 312, 20 ago. 2021.
- CRESTANI, S. et al. Steers performance in dwarf elephant grass pastures alone or mixed with Arachis pintoi. **Tropical Animal Health and Production**, v. 45, n. 6, p. 1369–1374, ago. 2013.
- DALL-ORSOLETTA, A. C. et al. Ryegrass pasture combined with partial total mixed ration reduces enteric methane emissions and maintains the performance of dairy cows during mid to late lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 6, p. 4374–4383, 1 jun. 2016.
- DHAMALA, N. R. et al. Highly productive forage legume stands show no positive biodiversity effect on yield and N<sub>2</sub>-fixation. **Plant and Soil**, v. 417, n. 1–2, p. 169–182, 1 ago. 2017.
- DIEHL, M. S. et al. Produtividade de sistemas forrageiros consorciados com leguminosas. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 5, p. 1527–1536, 2013.
- FONTANELI, R. S. et al. **Forrageiras para Integração Lavoura-Pecuária-Floresta na Região Sul-Brasileira**. [s.l.: s.n.].
- GRANDL, F. et al. Biological implications of longevity in dairy cows: 2. Changes in methane emissions and efficiency with age. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 5, p. 3472–3485, 1 maio 2016.
- HAMMOND, K. J. et al. Review of current in vivo measurement techniques for quantifying enteric methane emission from ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v. 219, p. 13–30, 1 set. 2016.
- HEGARTY, R. Greenhouse gas emissions from the Australian livestock sector. What do we know, what can we do? **Canberra: NSW Agriculture Australian Greenhouse Office**, p. 35, 2001.
- HENDERSON, G. et al. Rumen microbial community composition varies with diet and host, but a core microbiome is found across a wide geographical range. **Scientific Reports**, v. 5, 9 out. 2015.
- HRISTOV, A. N. et al. The use of an automated system (GreenFeed) to monitor enteric methane and carbon dioxide emissions from ruminant animals. **Journal of Visualized Experiments**, v. 2015, n. 103, 7 set. 2015.
- HRISTOV, A. N. et al. Short communication: Comparison of the GreenFeed system with the sulfur hexafluoride tracer technique for measuring enteric methane emissions from dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 7, p. 5461–5465, 1 jul. 2016.

IBGE- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção da pecuária municipal.** Rio de Janeiro: IBGE, 2022. Disponível em: [https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm\\_2022\\_v50\\_br\\_informativo.pdf](https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2022_v50_br_informativo.pdf). Acesso em: 10 dez. 2023.

Intergovernmental Technical Panel on Soils (ITPS). **Status of the World's Soil Resources:** main report. Roma: Fao, 2015. 607 p. Disponível em: <https://www.fao.org/news/story/en/item/357059/icode/>. Acesso em: 01 dez. 2023.

INTERNATIONAL ENERGY AGENCY - IEA. **Global Methane Tracker**, Paris, 2022. Disponível em: [www.iea.org/reports/global-methane-tracker-2022](http://www.iea.org/reports/global-methane-tracker-2022).

IPCC. **Climate Change 2022: Impacts, Adaptation and Vulnerability.** Contribution of Working Group II to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge, UK and New York, NY, USA, 3056 p, 2022. Disponível em: doi:10.1017/9781009325844

JANTALIA, C. P. ; ZOTARELLI, L. ; SANTOS, H P. dos ; TORRES, E. ; URQUIAGA, S. ; BODDEY, R. M. ; ALVES, B. J. R. . Em Busca da Mitigação da Produção de Óxido Nitroso em Sistemas Agrícolas: Avaliação de Práticas Usadas na Produção de Grãos no sul do País. In: ALVES, B.J. R. ; URQUIAGA, S. ; URQUIAGA, S. ; AITA, C. ; BODDEY, R. M. ; JANTALIA, C. P. ; CAMARGO, F. A. O.. (Org.). **Manejo de Sistemas Agrícolas: Impacto no sequestro de C e nas Emissões de Gases de Efeito Estufa.** Porto Alegre: Gênesis, v. 1, p. 81-108, 2006.

JONKER, A. et al. Methane and carbon dioxide emissions from lactating dairy cows grazing mature ryegrass/white clover or a diverse pasture comprising ryegrass, legumes and herbs. **Animal Production Science**, v. 59, n. 6, p. 1063–1069, 2019.

KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos Ruminantes.** 2º edição. UFSM (ed.). Santa Maria, Rio Grande do Sul, p. 13-109, 2009.

KURIHARA, M. et al. Methane production and energy partition of cattle in the tropics. **British Journal of Nutrition**, v. 81, n. 3, p. 227–234, 1999.

LI, D. et al. Effects of Phytoecdysteroids (PEDS) Extracted from Cyanotis arachnoidea on Rumen Fermentation, Enzyme Activity and Microbial Efficiency in a Continuous-Culture System. **PLoS ONE**, v. 11, n. 4, 1 abr. 2016.

LIMA, M. A. DE et al. **Influência do manejo da produção animal sobre a emissão de metano em bovinos de corte.** Ministério da Ciência e Tecnologia São Paulo - SP, jan. 2007.

LITHOURGIDIS, A. S. et al. Forage yield and quality of common vetch mixtures with oat and triticale in two seeding ratios. **Field Crops Research**, v. 99, n. 2–3, p. 106–113, 30 out. 2006.

LÜSCHER, A. et al. Potential of legume-based grassland-livestock systems in Europe: A review. **Grass and Forage Science**, v. 69, n. 2, p. 206–228, 2014.

MACEDO, M. C. M.; KICHER, A. N.; ZIMMER, A. H. **Degradação e alternativas de recuperação e renovação de pastagens**Embrapa Gado de Corte. Campo Grande - MS: [s.n.].

MALAFIA, P.; FILHO, C.F.C.C. Critical Review of the Articles Nutrition of Cattle and Buffaloes Finished in Feedlots or At Pastures, With or Without Protein. **Revista Universidade Do Vale Do Rio Verde**, p.1-16, 2019.

MARSHALL, A. H. et al. Improved persistence of red clover (*Trifolium pratense L.*) increases the protein supplied by red clover/grass swards grown over four harvest years. **European Journal of Agronomy**, v. 89, p. 38–45, 1 set. 2017.

MARTINS-COSTA, T. V. A. Produção de leite e emissões de metano na região do Corede, RS. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, v. 67, n. 5, p. 1381–1389, 2015.

MCALLISTER, T. A.; NEWBOLD, C. J. Redirecting rumen fermentation to reduce methanogenesis. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 48, n. 1–2, p. 7–13, 2008.

Mertens, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. **J. Assoc. Off. Assoc. Chem. Int.**, v. 85, n. 6, p. 1217-1240,2002.

MILLER, T.L. Ecology of methane production and hydrogen sinks in the rumen. In: ENGELHARDT, W.V.; LEONHARD-MAREK, S.; BRAVES, G.; GIESECKE, D. (Ed.) Ruminant physiology: Digestion, metabolism, growth and reproduction. **Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag**, p. 317-332, 1995.

MOREIRA, H. M.; GIOMETTI, A. B. D. R. O Protocolo de Quioto e as possibilidades de inserção do Brasil no mecanismo de desenvolvimento limpo por meio de projetos em energia limpa. **Contexto internacional**, v. 30, n. 1, p. 9–47, abr. 2008.

MOSS, A. et al. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. **Annales de zootechnie**, v. 49, n. 3, p. 231–253, jun. 2000.

NOLAN, J. V. et al. Effects of dietary nitrate on fermentation, methane production and digesta kinetics in sheep. **Animal Production Science**, v. 50, n. 8, p. 801–806, 2010.

NONAKA, I. et al. Effects of high environmental temperatures on physiological and nutritional status of prepubertal Holstein heifers. **Livestock Science**, v. 113, n. 1, p. 14–23, jan. 2008.

PENNING, P. D.; RUTTER, S. M. Ingestive behaviour. Em: **HERBAGE INTAKE HANDBOOK**. 2. ed. Maidenhead: British Grassland Society, 2004. p. 151–176.

PEOPLES, M. B.; CRASWELL, E. T. **Biological nitrogen fixation: Investments, expectations and actual contributions to agriculture**Plant and Soil.1992. Disponível em: <<https://about.jstor.org/terms>>.

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

- RELLING, E. A. et al. An evaluation of *Panicum maximum* cv. Gatton: 2. The influence of stage of maturity on diet selection, intake and rumen fermentation in sheep. **South African Journal of Animal Science**, v. 31, n. 2, p. 85–91, 2001.
- RIBEIRO FILHO, H. M. N.; DELAGARDE, R.; PEYRAUD, J. L. Herbage intake and milk yield of dairy cows grazing perennial ryegrass swards or white clover/perennial ryegrass swards at low- and medium-herbage allowances. **Animal Feed Science and Technology**, v. 119, n. 1–2, p. 13–27, 7 mar. 2005.
- RYAN, C. V. et al. Phenotypic relationship and repeatability of methane emissions and performance traits in beef cattle using a GreenFeed system. **Journal of Animal Science**, v. 100, n. 12, 1 dez. 2022.
- SEEG. **Análise das emissões brasileiras de Gases de Efeito estufa e suas implicações para as metas climáticas do Brasil**. Disponível em: <<http://seeg.eco.br>>. Acesso em: 24 jan. 2024.
- SLOAT, L. L. et al. Increasing importance of precipitation variability on global livestock grazing lands. **Nature Climate Change**, v. 8, n. 3, p. 214–218, 1 mar. 2018.
- SOLOMON, J. K. Q. et al. A novel approach to grass-legume management. **Crop Science**, v. 51, n. 4, p. 1865–1876, jul. 2011.
- STORM, I. M. L. D. et al. Methods for measuring and estimating methane emission from ruminants. **Animals**, v. 2, n. 2, p. 160–183, jun. 2012.
- TAYLOR, N. L.; QUESENBERRY, K. H. **Red clover science**. Berkshire. UK: [s.n.]. v. 28
- TERRA, A. B. C. et al. Leguminosas forrageiras na recuperação de pastagens no Brasil Forage legumes in pasture recovery in Brazil. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 42, n. 2, p. 305–313, 2019.
- TIAN, H. et al. A comprehensive quantification of global nitrous oxide sources and sinks. **Nature**, v. 586, n. 7828, p. 248–256, 8 out. 2020.
- TYRRELL, H. F.; REID, J. T. Prediction of the Energy Value of Cow's Milk. **Journal of Dairy Science**, v. 48, n. 9, p. 1215–1223, 1965.
- VIEIRA, R. F. **Ciclo do Nitrogênio em Sistemas Agrícolas**. Brasília - DF: Embrapa Meio Ambiente, 2017.
- WAGHORN, G. C.; JONKER, A.; MACDONALD, K. A. Measuring methane from grazing dairy cows using GreenFeed. **Animal Production Science**, v. 56, n. 3, p. 252–257, 9 fev. 2016.
- WALLACE, R. J. et al. The rumen microbial metagenome associated with high methane production in cattle. **BMC Genomics**, v. 16, n. 1, 23 out. 2015.
- ZHANG, X. et al. **Managing nitrogen for sustainable development**. Nature Publishing Group, 3 dez. 2015.
- ZIMMERMAN, P. R. **Method and system for monitoring and reducing ruminant methane production**. 2008.

