

## PRODUÇÃO DE METANO ENTÉRICO DE VACAS LEITEIRAS SUPLEMENTADAS COM UM PRODUTO A BASE DE *LITHOTHAMNIUM CALCAREUM* USANDO EQUAÇÕES ESTIMADAS A PARTIR DOS ÁCIDOS GRAXOS VOLÁTEIS DO FLUIDO RUMINAL

MAGNA FABRÍCIA BRASIL SAVELA<sup>1</sup>; LAURA VALADÃO VIEIRA<sup>2</sup>; URIEL  
SECCO LONDERO<sup>2</sup>; CARLA AUGUSTA SASSI DA COSTA GARCIA<sup>2</sup>;  
FRANCISCO AUGUSTO BURKERT DEL PINO<sup>2</sup>; MARCIO NUNES CORRÊA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas/NUPEEC HUB – fabibrasil93@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas/NUPEEC HUB – nupeec@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas/NUPEEC HUB – marcio.nunescorreia@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

Os ruminantes são responsáveis por até 18% do total das emissões globais dos gases de efeito de estufa (GEE) principalmente na forma de metano entérico (CH<sub>4</sub>) (SIMANUNGKALIT et al., 2023). A produção de CH<sub>4</sub> entérico durante a fermentação ruminal, além de causar impactos ambientais também significa perda na produtividade animal, representando até 11% da energia bruta dietética consumida pelos ruminantes (ROQUE et al., 2019).

Estratégias nutricionais tem sido cada vez mais exploradas para mitigar a produção de metano entérico e aumentar a produtividade em ruminantes, entre elas, a suplementação com dietas alto amido e a suplementação com algas vermelhas tem sido bastante exploradas nos últimos anos (KILLEY et al., 2020). *Lithothamnium Calcareum* (*L. Calcareum*) é uma alga marinha vermelha muito utilizada na alimentação de ruminantes como tamponante do pH ruminal (NEVILLE et al., 2022). Entretanto, poucos estudos observando seus os efeitos como aditivo antimetanogênico foi explorado. SAUVANT; GIGER-REVERDIN (2009) observaram uma diminuição na produção de CH<sub>4</sub> quando a proporção de concentrado foi maior que 40% do consumo de matéria seca (CMS) e ROQUE et al. (2019) observaram diminuição da produção de CH<sub>4</sub> em vacas leiteiras em 26,4% e 67,2% com a suplementação de 0,5% e 1% da matéria orgânica com a alga *Asparagopsis armata*.

No entanto, a produção de CH<sub>4</sub> nos rebanhos são custosos de mensurar, dependem de equipamentos caros e pessoas qualificadas, sendo impraticável para uso rotineiro em fazendas leiteiras (HAMMOND et al., 2015). Dessa forma, algumas alternativas tem sido usadas para prever a produção de CH<sub>4</sub>, a partir do CMS perfil de ácidos graxos do leite e proporções de ácidos graxos volateis (AGV) no fluido ruminal (WILLIAMS et al., 2019). A produção de CH<sub>4</sub> prevista a partir das proporções de AGV no rúmen utilizando modelos de equações, é considerado uma abordagem barata e prática de estimar as emissões de metano produzido pelo bovino (NIU et al., 2018).

Diante do exposto, o objetivo do presente estudo, foi estimar a produção de metano de vacas leiteiras da raça Holandesa suplementadas com a alga vermelha *L. calcareum* como um ingrediente alimentar antimetanogênico em uma dieta rica em amido, previsto a partir das proporções de AGV no fluido ruminal.

## 2. METODOLOGIA

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (Cód. 13784-2021). O experimento foi conduzido em uma propriedade leiteira comercial localizada no município de Rio Grande, Rio Grande do Sul, nas coordenadas geográficas 32°16'S, 52°32'E, sendo as vacas mantidas em um galpão de sistema de *compost barn* com acesso a comedouros automatizados e individuais e água a vontade.

Seis vacas da raça Holandesa multíparas em lactação, com  $63.74 \pm 18.63$  dias em lactação (DEL), paridade média de  $3 \pm 0,59$  lactações, e média de produção de leite de  $38.83 \pm 9.29$  kg/d foram distribuídas aleatoriamente em dois grupos experimentais: grupo controle (CON) e grupo *L. calcareum* (LITHO), ambos com três animais. Os grupos receberam a mesma dieta basal, na forma de ração total misturada (TMR), com uma relação volumoso:concentrado de 46:54% e 29,28% de amido durante 56 dias de período experimental. As diferenças entre os grupos foram atribuídas a inclusão de 0,5 % da MS/dieta de *L. calcareum* para o grupo LITHO e para o grupo CON, inclusão de 1,1% da MS de bicarbonato de sódio, misturados no cocho à TMR antes da oferta.

Amostras de líquido ruminal foram coletados por ruminocentese 4h após a alimentação matinal no dia 0, anterior a suplementação, e após nos dias 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 e 56 do experimento. O pH do líquido ruminal foi imediatamente mensurado através de um Phmetro de bancada. Amostras do fluido ruminal foram armazenadas a  $-80^{\circ}$  C e posteriormente utilizadas para determinar as concentrações de AGV (acetato, propionato e butirato total), sendo quantificada pela técnica de ressonância magnética nuclear de hidrogênio, como descrito por WANG et al. (2021).

Para quantificar o rendimento de metano (RM, g CH<sub>4</sub>/kg de CMS) foram utilizadas equações validadas por WILLIAMS et al. (2019), Utilizando dados publicados a partir de estudos com bovinos leiteiros consumindo uma ampla variedade de dietas, possibilitando estimar a produção de metano através de AGV. As seguintes equações propostas por WILLIAMS et al. (2019) foram utilizadas:

$$\begin{aligned} \text{RM} &= 4,08 \times (\text{acetato/propionato}) + 7,05 && \text{Equação 1} \\ \text{RM} &= 3,28 \times (\text{acetato} + \text{butirato}) / \text{propionato} + 7,6 && \text{Equação 2} \\ \text{RM} &= 316 / \text{propionato} + 4,4 && \text{Equação 3} \end{aligned}$$

Os resultados foram analisados usando o programa JMP® Pro 14 (SAS Institute inc., 2018). Ácidos graxos voláteis e rendimento de CH<sub>4</sub>, foram analisados como medidas repetidas. A correlação entre o rendimento de CH<sub>4</sub> e as proporções de acetato/propionato (A/P) foram analisados utilizando o Teste de Correlação de Pearson.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das concentrações de AGV (mol/100 mol de VFA), relação A/P (mM) e rendimento de CH<sub>4</sub> (g de CH<sub>4</sub>/kg MS) para os grupos LITHO e CON são fornecidas na Tabela 1.

Tabela 1. pH ruminal, AGV individual (acético, propiônico, butírico; mol/100 mol de VFA), relação A/P (mM) e rendimento de CH<sub>4</sub> (RM) de vacas da raça holandesa alimentadas com dietas suplementadas com bicarbonato de sódio (CON) ou *Lithothamnium calcareum* (LITHO).

Parâmetros	Grupo <sup>1</sup> e média±SEM <sup>2</sup>		Valor de P		
	CON	LITHO	Tratamento	Coleta/Dia	T*C <sup>3</sup>
pH ruminal	6,80±0,11	6,70±0,11	0,57	0,48	0,56
Acetato M%	60,62±1,42	60,33±1,42	0,88	0,59	0,99
Propionato M%	24,11±0,74	23,62±0,74	0,65	0,36	0,92
Butirato M%	15,14±0,84	15,92±0,84	0,52	0,84	0,99
Acetato/Propionato (mM)	2,59±0,12	2,64±0,12	0,77	0,44	0,97
CH <sub>4</sub> (g de CH <sub>4</sub> /kg MS) <sup>4</sup>	17,64±0,50	17,85±0,50	0,77	0,44	0,97
CH <sub>4</sub> (g de CH <sub>4</sub> /kg MS) <sup>5</sup>	18,19±0,40	18,49±0,40	0,60	0,34	0,94
CH <sub>4</sub> (g de CH <sub>4</sub> /kg MS) <sup>6</sup>	17,78±0,38	18,06±0,38	0,61	0,35	0,94

<sup>1</sup>Grupo: CON = Bicarbonato de sódio; LITHO = Lithothamnium calcareum. <sup>2</sup>Média ± erro padrão da média (SEM). <sup>3</sup>T\*C: Interação do tratamento e coleta. <sup>4</sup>RM = 4,08 × (acetato/propionato) + 7,05.

<sup>5</sup>RM = 3,28 × (acetato + butirato) / propionato + 7,6. <sup>6</sup>RM = 316 / propionato + 4,4.

O tratamento não teve efeito no pH ruminal 4 h após a alimentação matinal ( $P > 0,10$ ) e as concentrações totais de acetato, propionato e butirato não diferiram entre os grupos ( $P > 0,10$ ). A relação A/P não foi significativamente diferente entre os grupos LITHO e CON (2,64 mM e 2,59 mM respectivamente,  $P = 0,77$ ).

O rendimento de metano (g CH<sub>4</sub>/kg CMS) não teve diferença entre os grupos nos três modelos de equações testados ( $P > 0,05$ ), demonstrando um desempenho semelhante entre os grupos. Embora, o rendimento de CH<sub>4</sub>, não tenha sido diferente entre os tratamentos, a produção de CH<sub>4</sub> prevista, em ambos os grupos foi consistente com os mensurados por métodos tradicionais publicados na literatura (WILLIAMS et al. 2019), ou seja, os parâmetros de AGV no fluido ruminal combinados com CMS medido ou estimado, oferecem uma ferramenta potencial para prever a produção de metano em ruminantes.

A semelhança na produção de CH<sub>4</sub> entre os grupos LITHO e CON é consistente com a concentração dos perfis de AGV, bem como, com a relação A/P que não diferiram, provavelmente não alterando a produção líquida de H<sub>2</sub>, que é aumentada com a produção de acetato durante a fermentação ruminal, favorecendo a metanogênese, já com a formação do ácido propionato no rúmen tem-se a redução do metano, uma vez que é uma via competitiva de utilização de H<sub>2</sub> no rúmen, reduzindo assim disponibilidade de H<sub>2</sub> para a metanogênese (KINLEY et al., 2020).

Estudos que avaliaram os efeitos das algas vermelhas (*A. taxiformes* e *A. armata*) na produção de CH<sub>4</sub>, apresentaram redução do gás, relacionado ao aumento na produção de propionato ruminal e uma diminuição benéfica na relação A/P (ROQUE et al., 2019; KINLEY et al., 2020) atribuindo esses resultados ao bromofórmio que é um potente agente antimetanogênico presente nessas algas.

Embora o *L. calcareum* seja uma espécie de algas vermelhas, é composto basicamente de carbonato de cálcio e magnésio, sendo muito utilizado como agente tamponante do pH em dietas altamente energéticas (NEVILLE et al., 2022). No presente estudo, os resultados demonstram que as dietas LITHO e CON mantiveram o pH ruminal em 6,7 e 6,8 respectivamente, pH que favorece as bactérias metanogênicas (BERCHIELLI et al. 2006). Desta forma, mesmo sendo fornecida uma dieta com alto amido, a suplementação com *L. calcareum* não reduziu a mitigação de metano, corroborando com o estudo de SIMANUNGKALIT et al. (2023) onde o rendimento CH<sub>4</sub> (g/kg de CMS) de novilhos suplementados com *L. calcareum* foi superior aos de novilhos do grupo monensina.

## 4. CONCLUSÕES

A suplementação de *Lithothamnium calcareum* em dieta rica em amido no presente estudo, não reduziu a produção de CH<sub>4</sub> entérico previsto a partir de equações baseadas nas proporções de ácidos graxos voláteis ruminais em vacas Holandesas em lactação.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BERCHIELLI, T. T., PIRES, A. V., OLIVEIRA, S. G. D. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2011.
- EUGÈNE, M.; MARTIN, C.; MIALON, M.M.; KRAUSS, D.; RENAND, G.; DOREAU, M. Dietary linseed and starch supplementation decreases methane production of fattening bulls. **Animal Feed Science and Technology**. V 166. P. 330–337. 2011.
- HAMMOND, K. J.; HUMPHRIES, D. J.; CROMPTON, L. A.; GREEN, C.; REYNOLDS, C.K. Methane emissions from cattle: Estimates from short-term measurements using a GreenFeed system compared with measurements obtained using respiration chambers or sulphur hexafluoride tracer. **Animal Feed Science and Technology**. V 203. P 41–52. 2015.
- KINLEY, R.D.; MARTINEZ-FERNANDEZ, G.; MATTHEWS, M.K.; DE NYS, R.; MAGNUSSON, M.; TOMKINS, N.W. Mitigating the carbon footprint and improving productivity of ruminant livestock agriculture using a red seaweed. **Journal of Cleaner Production**. V 259. P 120836. 2020.
- MACHADO, L.; MAGNUSSON, M.; PAUL, N. A.; KINLEY, R.; DE NYS, R.; TOMKINS, N. Dose-response effects of *Asparagopsis taxiformis* and *Oedogonium* sp. on in vitro fermentation and methane production. **Journal of Applied Phycology**. V 28. P 1443-1452. 2016.
- NEVILLE, E.W.; FAHEYF, A.G.; MEADE, K.G.; MULLIGAN, F.J. Effects of calcareous marine algae on mil yield, feed intake, energy balance, mineral status, and inflammatory markers in transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**. V 105. P 6616–6627. 2022.
- NIU, M.; KEBREAB, E.; HRISTOV, A.N.; OH, J.; ARNDT, C.; BANNINK, A.; YU, Z. Prediction of enteric methane production, yield, and intensity in dairy cattle using an intercontinental database. **Global Change Biology**. V 24. P 3368–3389. 2018.
- ROQUE, B.M.; SALWEN, J.K.; KINLEY, R.; KEBREAB, E. Inclusion of *Asparagopsis armata* in lactating dairy cows' diet reduces enteric methane emission by over 50 percent. **Journal of Cleaner Production**. V 234. P 132-138. 2019.
- SAUVANT, D.; GIGER-REVERDIN, S. Modélisation des interactions digestives et de la production de méthane. **INRAE Productions Animales**. V 22. P 375–384. 2009.
- SIMANUNGKALIT, G.; BHUIYAN, M.; BELL, R.; SWEETING, A.; MORTON, C. L.; COWLEY, F.; HEGARTY, R. The effects of antibiotic-free supplementation on the ruminal pH variability and methane emissions of beef cattle under the challenge of subacute ruminal acidosis (SARA). **Research in Veterinary Science**. V 160. P 30-38. 2023.
- WANG, M.; WANG, H.; ZHENG, H.; UHRIN, D.; DEWHURST, R.; ROEHE, R. Comparison of HPLC and NMR for quantification of the main volatile fatty acids in rumen digesta. **Scientific Reports**. V 11. P 1-15. 2021
- WILLIAMS, S. R. O.; HANNAH, M. C.; JACOBS, J. L.; WALES, W. J.; MOATE, P. J. Volatile Fatty Acids in Ruminal Fluid Can Be Used to Predict Methane Yield of Dairy Cows. **Animals**. V 9. P 1006. 2019.