

Protocolos Aplicados nas Amostragens para as Estimativas de Emissão de Metano pelos Bovinos no Pantanal



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Pantanal
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos 136

Protocolos Aplicados nas Amostragens para as Estimativas de Emissão de Metano pelos Bovinos no Pantanal

Luiz Orcirio Fialho de Oliveira
Ana Helena B. M. Fernandes
Fernando Antônio Fernandes
Sandra Aparecida Santos
Sandra Mara Araújo Crispim
João Batista Garcia
Reginaldo dos Santos

Exemplares dessa publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Pantanal

Rua 21 de Setembro, 1880, CEP 79320-900, Corumbá, MS

Caixa Postal 109

Fone: (67) 3234-5800

Fax: (67) 3234-5815

Home page: www.embrapa.br/pantanal

Email: www.embrapa.br/fale-conosco/sac/

Unidade Responsável pelo conteúdo

Embrapa Pantanal

Comitê Local de Publicações da Embrapa Pantanal

Presidente: *Suzana Maria de Salis*

Membros: *Ana Helena B.M. Fernandes*

Sandra Mara Araujo Crispim

Vanderlei Doniseti Acassio dos Reis

Viviane de Oliveira Solano

Secretária: *Eliane Mary P. de Arruda*

Supervisora editorial: *Suzana Maria de Salis*

Normalização: *Viviane de Oliveira Solano*

Tratamento de ilustrações: *Eliane Mary P. de Arruda*

Foto da capa: *Luiz Orcirio Fialho de Oliveira*

Editoração eletrônica: *Eliane Mary P. de Arruda*

Disponibilização na página: *Marilisi Jorge da Cunha*

1ª edição

Formato digital (2015)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Pantanal

Protocolos aplicados nas amostragens para as estimativas de emissão de metano pelos bovinos no Pantanal / Orcirio Fialho de Oliveira ... [et al.]. Corumbá : Embrapa Pantanal, 2015.

25 p. : il. color. - (Documentos / Embrapa Pantanal, 1981-7223 ; 136).

Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: <<http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/DOC136.pdf>>

Título da página da Web: (acesso em 20 dez. 2015)

1. Pecuária. 2. Metano. 3. Carbono I. Oliveira, Luiz Orcirio Fialho de. II. Fernandes, Ana Helena B. M. III. Fernandes, Fernando Antônio. IV. Santos, Sandra Aparecida. V. Crispim, Sandra Mara Araújo. VI. Garcia, João Batista. VII. Santos, Reginaldo dos. VIII. Embrapa Pantanal. IX. Série.

CDD 636.21 (21. ed.)

©Embrapa 2015

Autores

Luiz Orcirio Fialho de Oliveira

Médico-veterinário, Doutor
Pesquisador na Embrapa Pantanal
Corumbá, MS
luiz.orcirio@embrapa.br

Ana Helena B. M. Fernandes

Engenheira Agrônoma, Mestre
Pesquisadora na Embrapa Pantanal
Corumbá, MS
ana.marozzi-fernandes@embrapa.br

Fernando Antônio Fernandes

Engenheiro Agrônomo, Doutor
Pesquisador na Embrapa Pantanal
Corumbá, MS
fernando.fernandes@embrapa.br

Sandra Aparecida Santos

Zootecnista, Doutora
Pesquisadora na Embrapa Pantanal
Corumbá, MS
sandra.santos@embrapa.br

Sandra Mara A. Crispim

Eng. Agrônoma, Mestre em zootecnia
Pesquisadora na Embrapa Pantanal
Corumbá, MS
sandra.crispim@embrapa.br

João Batista Garcia

Matemático
Analista na Embrapa Pantanal
Corumbá, MS
joao-batista.garcia@embrapa.br

Reginaldo dos Santos

Assistente nos campos experimentais da Embrapa Pantanal
Corumbá, MS.
reginaldo.santos@embrapa.br

Apresentação

O metano (CH₄), o dióxido de carbono (CO₂) e o óxido nitroso (N₂O), são chamados de gases de efeito estufa (GEE), em função da sua capacidade de absorção de parte da radiação infravermelha emitida pela superfície da Terra e posterior liberação desta energia para a superfície, provocando o aquecimento do clima. Apesar de estar em uma concentração mais baixa e possuir um tempo de permanência atmosférica menor, o metano tem um potencial de aquecimento sessenta vezes maior que o gás carbônico, o que o torna muito importante nesta questão. As emissões de metano podem ser de origem natural (emanação de vulcões e falhas geológicas, decomposição de resíduos orgânicos, pântanos e queima de biomassa, por exemplo) ou antropogênicas (atividades agrícolas, geração de energia e digestão de forragens pelos herbívoros, entre outras).

O Brasil possui um dos maiores rebanhos de bovinos do mundo e um sistema de produção basicamente a pasto. Ocupa a posição de maior exportador mundial, o que evidentemente vem gerando divisas à economia brasileira e renda ao meio produtor. Em virtude destas questões, o País precisa estar preparado mediante a comunidade internacional para responder sobre os impactos e/ou benefícios desta produção o que requer necessariamente o conhecimento do Balanço de Carbono da Pecuária Brasileira (BCPB). Neste sentido, a EMBRAPA estabeleceu uma Rede de Pesquisa Nacional com o propósito de estudar o BCPB nos diversos biomas brasileiros, sendo à Embrapa Pantanal designada a missão deste estudo no Pantanal.

Assim, uma equipe de vários pesquisadores da Embrapa Pantanal vêm trabalhando e estudando o Balanço de Carbono da Pecuária Pantaneira, sendo este documento uma breve apresentação dos modelos de coletas das amostras e do esforço realizado por esta equipe para as estimativas de metano entérico pelo bovinos em pastagens nativas e cultivadas do Pantanal.

Emiko Kawakami de Resende
Chefe-Geral da Embrapa Pantanal

Sumário

Protocolos Aplicados nas Amostragens para as Estimativas de Emissão de Metano pelos Bovinos no Pantanal

Introdução	7
Considerações sobre o papel dos bovinos no ciclo do carbono	8
Pantanal – vocação natural para a pecuária.....	9
Preparo e manejo dos animais.....	10
Princípios da determinação da emissão de metano pelos bovinos	11
Preparação das áreas de coleta	12
Sala de manutenção, de laboratório e equipe	13
Preparo dos equipamentos	15
Coletas dos gases entéricos	17
Transferência dos gases das cangas para os tubos de cromatografia	18
Determinação da produção fecal e consumo	19
Avaliação das pastagens.....	20
Considerações finais.....	23
Agradecimentos	23
Referências	23

Protocolos Aplicados nas Amostragens para as Estimativas de Emissão de Metano pelos Bovinos no Pantanal

Luiz Orcirio Fialho de Oliveira

Ana Helena B. M. Fernandes

Fernando Antônio Fernandes

Sandra Aparecida Santos

Sandra Mara A. Crispim

João Batista Garcia

Reginaldo dos Santos

Introdução

De acordo com a FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), em recente publicação sobre as perspectivas para a agricultura, a demanda mundial por alimentos irá expandir-se rapidamente na próxima década, devido ao crescimento populacional, à melhoria de renda e ao processo de urbanização, principalmente dos países em desenvolvimento. Enquanto que para a população espera-se um crescimento de 1% ao ano, devendo ultrapassar o número de 8 bilhões de pessoas em 2024; para a economia os indicativos são de forte crescimento para a Índia e a China, com taxas anuais de 6,6% e 5,2%, respectivamente, de 1,7% para os países da União Europeia e de 2,6% para os Estados Unidos (OECD-FAO, 2015).

Aliado a estas questões, observa-se também tendências de elevação da demanda por biocombustíveis (fontes limpas de energia), competindo em espaços hoje ocupados na produção de alimentos (OECD-FAO, 2015). Soluções de verticalização da produção, por meio da intensificação do uso de insumos e do aumento da produtividade, já não são tão fáceis, visto a preocupação mundial com o uso equilibrado e sustentável dos recursos naturais, que tem como prerrogativa principal “provir o bem-estar desta e preservar o suficiente para as futuras gerações”. Cabe à pesquisa encontrar caminhos para a solução desta difícil equação e ao mesmo tempo aos governos, o equilíbrio e o bom senso de controlar e regular os processos de crescimento em consonância com as boas práticas de sustentabilidade.

Processos produtivos intensificados e sem a devida preocupação ambiental, tais como a queima de combustíveis fósseis, o desmatamento descontrolado, a drenagem de pântanos, as fertilizações nitrogenadas ineficientes, as queimadas, o preparo intensivo do solo, entre outros, provocam elevada emissão de gases efeito estufa (GEE), como o dióxido de carbono (CO₂), o metano (CH₄) e o óxido nitroso (N₂O), capazes de aprisionar o calor e consequentemente elevar o aquecimento do planeta Terra. Conforme o Painel Intergovernamental de Mudanças do Clima (IPCC, 2007), é possível que a temperatura média da Terra aumente entre 1,4 °C e 5,8 °C nos próximos 100 anos, caso não haja nenhuma ação efetiva contrária às tendências e exigências da atual geração.

O clima na Terra é regulado pelo fluxo constante de energia solar que atravessa a atmosfera na forma de radiação de ondas curtas. Cerca de 70% dessa energia é absorvida pela superfície terrestre e os 30% restantes são re-irradiados na forma de ondas longas, as quais são absorvidas pelo vapor d'água e certos gases presentes na atmosfera. Essa retenção de energia conhecida como efeito estufa, é responsável pela manutenção da temperatura média do planeta e consequentemente da vida existente. O crescente aumento da concentração dos GEE na atmosfera, em grande parte devido a ações antrópicas, tem provocado o aquecimento global, o qual favorece a velocidade de reações na atmosfera com consequente alterações dos eventos e dos padrões climáticos (IPCC, 2007).

O Brasil assumiu espontaneamente o compromisso de redução da emissão dos GEE (entre 36,1% e 38,9%), durante a COP 15 (United Nations Climate Change Conference 15^a), realizada em Copenhague no ano de 2009, e vem realizando desde então esforços neste sentido (BRASIL, 2011). Em 2010 foi estabelecido o “Plano Setorial de Mitigação e Adaptação às Mudanças Climáticas para a Consolidação de uma Economia de Baixa Emissão de Carbono na Agricultura e na Indústria”, regulamentado pelo Decreto 7.390/2010, visando a aplicação de estímulos e incentivos à adoção de práticas de manejo que favorecem a incorporação de carbono aos sistemas produtivos.

Segundo Primavesi et al. (2004), acredita-se que aproximadamente 70% das emissões de metano estão relacionadas com as atividades humanas (aterros sanitários, uso de combustíveis fósseis e práticas agrícolas). Entre as principais fontes agrícolas, a fermentação entérica de ruminantes contribui com cerca de 22%, o cultivo de arroz em áreas inundadas com 16% e a queima da biomassa com 11% do total emitido no mundo. No Brasil, as atividades agrícolas contribuem com 69% das emissões de CH₄ totais, dos quais 92% são oriundos da fermentação entérica de ruminantes, principalmente dos bovinos (BRASIL, 2004). O metano é produzido por microrganismos fermentadores da matéria orgânica, processo este que ocorre em condições naturais como nos ambientes aquáticos e/ou úmidos com baixa saturação de oxigênio (brejos, lagos e lagoas), como também durante o processo digestivo de animais ruminantes. Conforme Johnson e Johnson (1995), a síntese de metano pelos ruminantes tem grande importância no contexto da emissão global, sendo o conhecimento deste volume essencial ao desenvolvimento de sistemas de produção mais eficientes quanto ao custo ambiental de produção dos alimentos e produtos (carne, leite, lã, etc.).

O projeto PECUS surgiu da necessidade de estimar a real contribuição da pecuária brasileira para as emissões de GEE. Tem como objetivo avaliar a dinâmica dos GEE e o balanço de carbono (C) nos principais sistemas de produção agropecuários presentes em cada um dos seis biomas brasileiros – Mata Atlântica, Caatinga, Pantanal, Pampa, Amazônia e Cerrado. Além de ampliar e aprimorar os conhecimentos existentes, os resultados gerados auxiliarão na identificação de alternativas de mitigação e conseqüentemente fortalecendo a competitividade e a sustentabilidade da pecuária brasileira. Além da Embrapa (coordenadora do projeto), a rede de pesquisa é formada por mais de 300 pesquisadores de diversas instituições nacionais e internacionais (EMBRAPA)¹.

A principal atividade econômica do Pantanal é a pecuária bovina de corte, a qual vem convivendo harmoniosamente no ambiente há mais de 200 anos (ABREU et al., 2008), reciclando nutrientes e gerando renda à sua população. No entanto, os processos fermentativos ocorridos no rúmen dos bovinos com a finalidade de degradação da fibra (celulose e hemicelulose, principalmente), além da geração de energia e outros nutrientes utilizados no metabolismo animal, produzem também, de acordo com as dietas, menor ou maior quantidade do gás metano (CH₄), havendo necessidade do conhecimento deste volume de emissão.

Além de outras medidas necessárias para os avanços nos estudos sobre o ciclo do C na pecuária pantaneira, as estimativas de emissão de metano constituem papel fundamental neste processo. Desta forma, este trabalho tem como objetivo apresentar as estratégias e práticas adotadas nas coletas de dados e de amostras, visando sua aplicação nas estimativas de metano no ciclo de produção da pecuária pantaneira.

Considerações sobre o papel dos bovinos no ciclo do carbono

Plantas verdes, bactérias cianofíceas e outras espécies clorofiladas utilizam o dióxido de carbono e a água para gerar glicose (composto energético), utilizando para tanto a energia da luz solar, processo este conhecido como fotossíntese. A quantidade de energia sintetizada pelas plantas é suficiente para o atendimento das suas exigências metabólicas – tanto para sua manutenção quanto multiplicação celular. No processo evolutivo das espécies, as plantas desenvolveram interessante estratégia: enquanto uma parte da energia é armazenada na forma de amido e outros carboidratos solúveis (frutanosas, glicosanas, etc.), geralmente no interior de suas células, uma outra parte é utilizada para dar estruturação ao corpo vegetal, sendo esta formada pelos compostos de celulose, seus derivados e análogos, presentes em sua maior parte nas paredes das células vegetais e em maior concentração nos tecidos estruturais da planta (esclerênquima, parênquima, etc.).

A solução adaptada pelas plantas foi uma diferenciação química das ligações existentes entre as unidades glicosídicas que compõem a cadeia do amido ou da celulose, sendo que no amido prevalece ligações do tipo α 1-6, enquanto na celulose ligações do tipo β 1-4. Ocorre que nenhum organismo superior, nem mesmo a própria planta geradora dos compostos polissacarídeos é capaz de quebrar a ligação β 1-4 e desta forma, esta grande massa de carbono permanece retida e armazenada nos vegetais na forma de carboidratos estruturais ou ainda no que chamamos na nutrição de herbívoros de carboidratos fibrosos ou simplesmente “fibras” (GRENET; BESLE, 1991).

O resultado final da fotossíntese é a fixação do carbono (C) em uma substância orgânica, no entanto a vida na Terra também depende da reciclagem deste C por meio da sua oxidação e retorno à forma gasosa (CO₂), a fim de que posteriormente seja novamente reduzido pela fotossíntese. Organismos superiores aeróbicos requerem oxigênio (também produzido na fotossíntese) para a oxidação (utilização da energia dos compostos orgânicos), enquanto microrganismos anaeróbicos (eubacteria, archaeobacteria, alguns fungos e protozoários) fermentam a matéria orgânica sem a necessidade de oxigênio (O₂), aproveitando uma parte da energia contida nestes compostos e liberando outra parte em substratos energéticos (ácidos graxos voláteis e metano por exemplo) (VAN SOEST, 1994).

¹ EMBRAPA. **Projeto da Rede PECUS**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-projetos/-/projeto/38213/projeto-da-rede-pecus>>. Acesso em: 14 nov. 2015.

Celulose é o carboidrato mais abundante da Terra, sendo que sua reciclagem depende essencialmente da atividade microbiana. Estima-se que sejam produzidas 85 bilhões de toneladas métricas de CO₂ por meio da degradação microbiana da celulose, e supõe-se que na hipótese de interrupção da fermentação microbiana da celulose e continuação dos níveis de fotossíntese normais, a Terra entraria em colapso em 20 anos por falta de CO₂ (COWLING; BROWN, 1969 citado por VAN SOEST, 1994)².

Os organismos capazes de aproveitar a energia contida nestes carboidratos são microrganismos anaeróbicos sintetizadores de enzimas fibrolíticas (1-4 β glucanase, celobiohidrolase, β glucosidase, D xylanase, β xilosidase, etc.) (CHESSON; FORSBERG, 1997). Por sua vez, os animais herbívoros desenvolveram um mecanismo simbiótico com os microrganismos fermentadores de carboidratos fibrosos, dando à eles um ambiente favorável à sua multiplicação e recebendo destes os substratos energéticos gerados pelo aproveitamento parcial da energia original dos mesmos. Neste contexto, ressaltam-se os ruminantes que desenvolveram um mecanismo simbiótico mais eficiente, onde a câmara de fermentação ocorre no primeiro estágio do trato digestivo (rúmen-retículo), aumentando a eficiência de absorção e aproveitamento dos produtos gerados (DEHORITY, 2004).

A síntese de metano no rúmen dos bovinos, está diretamente relacionada aos processos de fermentação da fibra, sendo mais significativa em condições de dietas mais fibrosas (HOLTER; YOUNG, 1992). O mecanismo físico de consumo, descrito por Mertens (1994), é o mecanismo regulador do volume de ingestão de matéria seca (MS) em situações a pasto (dietas de baixa energia), podendo o mesmo ser estimado por equações que consideram os teores de fibra das dietas (Fibra em detergente neutro – FDN, ou Fibra em detergente ácido – FDA).

Para Hunter (1991), o consumo de animais em pastagens com digestibilidade aparente superior a 65% (de alta energia – NDT > 65%) pode atingir o nível de 3% do peso vivo (PV) em matéria seca (MS), reduzindo para 1% do PV em pastagens com menos de 40% de digestibilidade aparente. Além da digestibilidade, a proteína bruta (PB) também é capaz de afetar o nível de consumo voluntário, já que em pastagens com teores de PB abaixo de 7%, a atividade microbiana no rúmen fica comprometida, diminuindo a taxa de passagem e retendo o alimento por maior tempo (EGAN; DOYLE, 1985). As pastagens tropicais e em especial na planície pantaneira, apresentam de forma geral baixos teores de PB e digestibilidade, o que impede consumo elevado de MS.

A convivência simbiótica entre os herbívoros e os microrganismos fermentadores dos carboidratos estruturais, permite a reciclagem destes compostos carbônicos, tendo como resultado a nutrição dos herbívoros e conseqüente produção de alimentos e renda ao homem, aspecto importante para a vida na Terra e a alimentação da população humana. No entanto, há necessidade de que este processo seja regulado em sua intensidade, para que não ocorra desequilíbrio entre os fatores de entrada e saída do sistema e conseqüente quebra das bases de sustentabilidade do mesmo.

Pantanal – vocação natural para a pecuária

O Pantanal é uma das maiores extensões úmidas contínuas do planeta e está localizado no centro da América do Sul, na bacia hidrográfica do Alto Paraguai, ocupando uma área de aproximadamente 139 mil km² (SILVA; ABDON, 1998). Dentre as inúmeras paisagens existentes no Pantanal, destacam-se as savanas gramíneo-lenhosas, ocupando, segundo Silva et al. (2000), aproximadamente 31,1% de seu território. Santos (2001), estudando o uso espacial e temporal das unidades de paisagens em uma área natural da sub-região da Nhecolândia, observou que os sítios de pastejo preferidos pelos bovinos foram os campos limpos (savana gramíneo-lenhosa), bordas de baías, baías temporárias, vazantes e baixadas, representando 45,8% da área estudada.

Existem no Pantanal vastos campos de pastagens nativas, que quando não consumidas acumulam-se formando uma grande reserva de carboidratos, a qual pode representar riscos de incêndios em épocas secas. Parte dessa reserva de carboidratos pode ser reciclada via ação fermentação gástrica dos ruminantes gerando produtos e alimento proteico de alto valor nutricional. Partindo deste princípio, a bovinocultura de corte encontrou nesta região uma real experiência de sustentabilidade, pois ambos (homem e natureza) podem usufruir deste recurso desde que respeitados seus limites ou controlada sua intensidade de exploração.

Conforme dados apresentados pelo Ministério da Ciência e Tecnologia (BRASIL, 2010), a agricultura e a pecuária são atividades econômicas de grande importância no Brasil, mas que geram emissões de GEE por diversos processos, dentre os quais se destacam: a fermentação entérica nos ruminantes (CH₄); a produção dos dejetos de animais (CH₄ e N₂O); o cultivo de arroz inundado (CH₄); a queima de resíduos agrícolas (CH₄ e N₂O); e a emissão de N₂O em solos pelo uso de fertilizantes nitrogenados.

² VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**, 2th ed. Ithaca, NY: Cornell University Press, 1994. 476 p.

As informações sobre o sistema de produção pecuária, tais como, estrutura de rebanho e categorias predominantes, estágio de produção dos animais (novilhas, vacas prenhas, vacas amamentando, etc.), condições ambientais (tamanho das áreas, taxa de lotação, etc.) são importantes para os modelos de estimativas da emissão de metano e desta forma servirem como orientação para o estabelecimento dos critérios de escolha e cuidados para os ensaios de coleta e delineamentos experimentais a serem implantados no campo. De acordo com o trabalho apresentado por Carvalho et al. (2009), sobre os custos da produção no Pantanal, por meio de análise do tipo “painel”, o percentual de matrizes (paridas, secas ou falhadas) foi de 48,93%, sendo a estrutura do rebanho de uma propriedade modal apresentada na Tabela 1.

O sistema de produção de pecuária no Pantanal é extensivo, tendo como atividade principal a produção de bezerros. É realizado em propriedades com vastas extensões de terra apresentando de baixa a média taxa de lotação, com predominância de animais zebuínos, com elevado sangue da raça Nelore. Conforme conhecimento tradicional, esse sistema de produção foi um processo decorrente das características maternas (vacas de alta fertilidade, carinhosas com suas crias, de boa habilidade materna, apresentando tetas pequenas e fáceis de serem acessadas, pouco exigentes, adaptadas ao clima, com excelente facilidade de parto, fruto do baixo peso e tamanho dos bezerros), além de bezerros extremamente saudáveis e espertos, dotados da capacidade de realizarem a primeira mamada pouco tempo após seu nascimento, o que lhes garantem maiores taxas de sobrevivência em razão da proteção adquirida via colostro.

Tabela 1. Estrutura do rebanho bovino na planície pantaneira do município de Corumbá (MS).

Categoria	Quantidade (nº de cabeças)	Peso (kg)	Participação (%)
Bezerros	455	93	14,70
Bezerras	455	83	14,70
Novilhas de 12 a 24 meses	345	175	11,14
Novilhas de 24 a 36 meses	257	240	8,30
Vacas paridas	1.020	345	32,94
Vacas falhadas, solteiras	495	310	15,99
Touros	69	600	2,23
Total	3.096	-	100,00

Fonte: Carvalho et al. (2009).

Preparo e manejo dos animais

A escolha dos animais (categorias) levou em consideração o perfil das classes da população de bovinos descritas no item anterior. Desta forma, as primeiras coletas foram realizadas com novilhas em fase de recria, seguida de coleta de novilhas em período de gestação e finalmente de vacas paridas e falhadas, representando assim, tanto o ciclo de vida, como as principais categorias presentes no rebanho.

Inicialmente, foram selecionadas 20 fêmeas, sendo 10 com idade entre 8 e 16 meses e outras 10 com idade entre 16 e 24 meses. Os animais foram identificados (numeração na perna), pesados e lotados em área (invernada) próxima do curral para facilitar o manejo. Deve-se ressaltar que numa fazenda tradicional de pecuária de cria no Pantanal, os lotes de vacas permanecem em grandes invernadas e os animais jovens (bezerros) convivem muito pouco com a presença humana, ocorrida na maioria das situações apenas uma vez por semana, durante o trabalho de rodeio realizado pela equipe de campo.

A fim de facilitar o aprendizado e a convivência das fêmeas com a presença do homem, as mesmas foram colocadas em uma invernada próxima à sede da fazenda Nhimirim (Campo Experimental da Embrapa Pantanal), onde há constante fluxo de pessoas a cavalo ou em veículos, assim como, sons e movimentos realizados pelas pessoas que moram no local. Ao mesmo tempo, foram preparadas instalações contendo cochos para ração. Nos primeiros dias procurou-se estimulá-las ao consumo, trazendo-as tocadas a cavalo até os cochos.

Este processo foi considerado finalizado no momento em que todas as novilhas deslocavam-se naturalmente ao local dos cochos nos horários de distribuição da ração, sem a necessidade de serem tocadas a cavalo, o que levou aproximadamente 30 dias. Posteriormente, transferiu-se os cochos para o interior de um curral de arame (cercado), realizando-se o mesmo processo de aprendizado descrito anteriormente. Nas primeiras semanas os animais foram

mantidos fechados no curral, pelo tempo necessário para o consumo do suplemento. Após 15 dias aproximadamente não houve mais necessidade de busca e apreensão dos animais, pois os mesmos entravam e saíam naturalmente do curral para consumirem a ração.

Durante esta fase inicial de aproximação e doma das novilhas, foram anotadas observações quanto ao temperamento dos animais (primeiros e últimos a chegarem nos cochos), aceitação da presença de pessoas próximas do cocho, etc., permitindo posteriormente a escolha das novilhas com temperamento mais tranquilo para permanecerem no processo de aprendizado. Inicialmente foram descartadas 4 e posteriormente outras 4 novilhas, restando para o lote final a quantidade de 12 fêmeas. Em seguida, as fêmeas foram submetidas ao convívio diário com o curral de manejo (processo similar ao adotado nas eventualidades de doma de novilhas para produção de leite), ou seja, diariamente as mesmas eram trazidas ao mangueiro, mantidas para consumo de ração, e manejadas circulando pelo brete e apartes em porteiras.

Uma vez “mansas” (período que durou aproximadamente 6 meses) as novilhas foram preparadas para o convívio diário com os aparatos de adaptação para coleta do metano entérico. Os buçais e as cangas foram ajustados individual, e respectivamente, na cabeça e no pescoço das mesmas, processo este finalizado após a observação da aceitação e convívio natural com os equipamentos, tanto no campo (rotina de pastejo, ruminação e ócio) quanto no curral (comportamento calmo ao serem manejados no brete e nas porteiras). Este cuidado foi importante pois permitiu que não houvessem perdas elevadas de amostras em razão de quebra das cangas ou de desacoplamento dos engates durante as coletas. Os animais foram submetidos aos mesmos protocolos de vacina (aftosa, raiva e clostridioses), de desverminação e de reprodução (IATF e repasse com touros) do rebanho da fazenda Nhumirim. O desempenho em ganho de peso foi acompanhado por meio de pesagens periódicas (30 a 45 dias), sendo realizado diagnóstico de gestação por meio de ultrassonografia.

Princípios da determinação da emissão de metano pelos bovinos

A técnica do gás traçador SF₆ (hexafluoreto de enxofre), desenvolvida na Washington State University e adaptada para as condições brasileiras por Primavesi et al. (2004), consiste no uso de pequena cápsula de permeação do SF₆, com emissão constante e conhecida deste. Todo o gás metano produzido pelos ruminantes é resultante dos processos de fermentação da forragem, sendo totalmente expelido via narinas e boca. O princípio desse método pressupõe que a emissão do SF₆ simula exatamente a emissão do metano, sendo idênticas as taxas de diluição de ambos. Desta forma, é possível calcular sua emissão a partir das concentrações do metano e do SF₆ presentes no gás absorvido e retido nos depósitos das cangas e da taxa conhecida de emissão de SF₆, por meio de equações de ajustes descritas por Primavesi et al. (2004).

As cápsulas de permeação de SF₆ usadas foram especialmente preparadas na Embrapa Pecuária Sudeste, contendo maior carga de SF₆ e permitindo seu aproveitamento em período superior a 12 meses, potencializando o uso dos animais e o número de coletas. Assim, foi possível realizar três coletas com os mesmos animais (outubro/2014; março/2015 e agosto/2015), completando um ciclo anual do clima (alterações ambientais e alimentares) e da produção (novilhas gestantes e vacas paridas em amamentação). As cápsulas foram introduzidas dois meses antes da primeira coleta a fim de que fosse atingida a estabilidade nas emissões de SF₆ previamente às coletas (Figura 1).



Foto: Luiz Orcínio F. de Oliveira

Figura 1. Procedimento de infusão da cápsula de SF₆ no rúmen das novilhas na fazenda Nhumirim da Embrapa Pantanal.

Preparação das áreas de coleta

No projeto PECUS para o bioma Pantanal foram previstas coletas de gases entéricos em pastagens nativas e cultivadas. Foram selecionadas duas invernadas, uma com pastagem nativa (Figura 2) e outra com pastagem cultivada, próximas do curral, a fim de que o tempo entre deslocamento, coleta e retorno dos animais ao campo, não comprometesse o comportamento de pastejo e outras atividade de rotina dos animais, o que poderia provocar alterações no consumo individual, e consequentemente, perda de qualidade dos dados coletados.



Foto: Luiz Orcirio F. de Oliveira

Figura 2. Lote de novilhas e vacas em campo de pastagens nativas durante coletas na fazenda Nhumirim da Embrapa Pantanal.

Segundo Santos (2001), os animais modificam o uso e a intensidade dos sítios de pastejo de uma mesma área, conforme a variação do clima e período do ano. No entanto, os principais sítios de pastejo ocorrem nas partes mais baixas do mesorrelevo, local de maior presença das espécies forrageiras nativas preferidas. Na invernada escolhida para representar a área de pastagens nativas são observadas duas “baías” separadas por uma “cordilheira”, contendo alguns pontos de passagens entre as mesmas. Da mesma forma, observou-se também a presença de um sítio de pastejo contendo grande concentração de grama-do-cerrado (*Mesosetum chaseae*) e de capim mimoso (*Axonopus purpusii*), também separado de uma das baías por outra “cordilheira”.

Os pontos de passagens dos animais e de circulação pelos sítios de pastejo foram limpos e seus galhos cortados, a fim de que se evitassem possíveis batidas e danos às cangas, com conseqüente perda de dados. Este processo de limpeza e preparação das áreas foram realizados após prévia vistoria das mesmas e em tempo suficiente para que as mudanças ambientais não prejudicassem o comportamento dos animais.

Sala de manutenção, de laboratório e equipe

Para as coletas de campo foram utilizados aparatos com a finalidade coletora (buçal) ou armazenadora (canga), os quais podem ser visualizados em detalhes na Figura 3. Esses equipamentos funcionam de forma sincronizada, absorvendo e armazenando os gases pelo período de 24 horas, a uma taxa fixa de absorção, regulada por tubos com diferentes diâmetros e capilares, e calibrados rigorosamente, a fim de que a velocidade de fluxo fique dentro dos limites esperados, o que corresponde na prática entre 50% a 60% da capacidade de armazenamento da canga. Para tanto, é necessário aferição e manutenção constante destes equipamentos, requerendo assim peças de substituição e ferramentas apropriadas (Tabela 2). Instalou-se na fazenda Nhumirim, uma sala para armazenamento de peças, reparos e manutenção dos equipamentos, assim como, para a aferição e o preparo dos equipamentos e materiais utilizados nas coletas. Em termos práticos, o processo utilizado nas coletas de metano no Pantanal pode ser dividido em quatro etapas, denominadas abaixo e posteriormente descritas com detalhes no tópico sobre cuidados na coleta:

- Preparo dos equipamentos (buçais e cangas);
- Coletas de campo;
- Transferência dos gases das cangas armazenadoras para os tubos da cromatografia;
- Transporte para o laboratório central e procedimentos de leituras e análises.



Foto: Ana Helena B.M. Fernandes

Figura 3. Detalhe dos aparatos coletores de metano entérico na forma de cangas de depósito (a) e buçais para coleta (b) utilizados nas novilhas na fazenda Nhumirim da Embrapa Pantanal.

Tabela 2. Ficha de estoque de materiais e ferramentas necessárias aos procedimentos de coleta de gases metano.

Material	Estoque ideal
Dióxido de Titânio (12 x 20 x 10 x 2)	5,0 kg
Papel pellets (saquinhos de pipoca)	300 un
Embalagem plástica para coleta de fezes	350 un
Luvas para palpação	100 un
Luvas para manipulação	1 cx
Isopores grandes	2 un
Isopores médios	2 un
Isopores pequenos	2 un
Etiquetas	800 un
Fita adesiva crepe (45 mm)	6 un
Fita isolante (20 mm) para cabresto e capilar	12 un
Fita veda-rosca	4 un
Canetas identificadora de brinco (tinta resistente)	2 un
Prancheta de campo	2 un

Aplicador de bólus	2 un
Mangueira de jardim completa (10 metros)	2 un
Tesouras	2 un
Balança de campo para pesar forragem	1 un
Sacos de papel	100 un
Álcool 70°	2 L
Vidros com tampa rosqueável	20 un
Sacos Ankom F-57 para digestibilidade	200 un
Freezer	1 un
Balança semi-analítica	1 un
Animais fistulados para coleta de amostras de digestibilidade	2 an
Cochos	5 un
Ração / animal / ano	240 kg
Cabrestos de adaptação (12 animais) x 1,5 (segurança)	18 un
Cabrestos para coletas (12 animais + 2 ambiente) x 1,3 (segurança)	18 un
Cangas ((12 animais + 2 ambiente) x 2 dias (uso e transporte) x 1,5 (segurança)	42 un
Tubos de PVC marrom (classe 20) 60 mm DE	12 m
Tampas de PVC marrom (idem)	10 un
Cotovelos de PVC marrom (idem)	10 un
Lixas para ferro 100	10 un
Válvulas para gás, de agulha em latão com rosca macho NPT de 6,4 mm de DE (1/4") x 6,4 mm de DE (1/4") conexão para tubo	10 un
Cola para PVC	2 un
Porcas de conexão com 6,4 mm de DI (1/4")	1 cx
Anilhas de 6,4 mm de DI (1/4")	1 cx
Tubos de PTFE (mangueira) de 6,4 mm de DE (1/4") e 1,2 ou 1,4 mm de espessura	2 m
Engates rápido em aço inoxidável de 6,4 mm (1/4")	1 cx
Chave inglesa de boca de 14,3 mm (9/16")	1 un
Estufa com regulagem entre 120 e 135°C	1 un
Compressor de ar comprimido ou bomba de inflar pneu de bicicleta	1 un
Bomba de alto vácuo com 2 estágios, monofásica	1 un
Manômetro digital portátil, faixa de operação de -1 a 1 atm.	2 un
Adaptador constituído de parte de engate rápido para conectar canga à bomba de vácuo, com possibilidade de adaptar válvula de pneu de caminhão, na ponta oposta, a fim de permitir conexão de mangueira do compressor e do manômetro manual	1 un
Cabrestos	18 un
Tubos de silicone com 8 mm de DI, espessura de 1,9 mm, cortados com 4 cm	2 m
Tubos de PTFE com 3,2 mm de DE (1/8") e 0,9 mm de espessura cortados com 1,5 cm	7 un
Conexões de redução em latão (reducing union), com rosca de 1,6 mm de (1/16") x 3,2 mm de DE (1/8"), ponta lisa, com porcas de conexão (Swageloknuts) e anilhas (ferrules) correspondentes	10 un
União de redução de latão (brass reducer), com rosca de 3,2 mm de DE (1/8") x 1,6 mm de DE (1/16")	10 un
Tubo capilar de aço inoxidável, com 1,6 mm de DE (1/16") e 0,127 mm de DI (0,005")	10 un
Cortador de tubo capilar de 1/32" a 1/8" ou lima fina e suporte de madeira com canaleta para alojar tubo capilar	2 un
Tubos PFTE (mangueira condutora do gás/saída do cabresto), de 3,2 mm de DE (1/8") e 0,9 mm de espessura	10 un
Conjunto de engate rápido em aço inoxidável (quickconnect)	10 un
Anel elástico externo E12 de 6,4 mm de DI (1/4"), a ser colado na parte fêmea do engate rápido nacional, para melhorar posicionamento da parte macho	10 un
Alicate de anéis curvo externo, 5,5", tipo 1 mm, para colocar o anel elástico ou de trava	2 un
Mangueira lonada de 9 mm de DE, para reforçar a proteção ao tubo capilar, porcas e anilhas, e também ao tubo de PTFE até o engate rápido, antes de envolver com fita isolante	10 un
Velcro® com 50 mm de largura, para fixação de canga ao cabresto	20 m
Braçadeiras plásticas de 5 x 175 mm, para fixar o tubo de silicone ao filtro e este à aba de couro sobre as	50 un

narinas, e a mangueira lonada ao cabresto e ao engate rápido	
Chaves de boca de 11,15 mm (7/16"), para as porcas de 1/8"	2 un
Chaves de boca de 8 mm (5/16"), para as porcas de 1/16"	2 un
Chave inglesa	1 un
Alicate	1 un
Faca	1 un
Tubos armazenar amostras de gases com tampa	250 un
Seringas descartáveis (100 ml)	20 un
Agulhas (0,55 x 20 mm)	1 cx
Caixas plásticas de verdura (transporte das cangas)	4 cx
Cápsulas SF6	12 un

Para a realização dos testes de aferição e coletas, instalou-se uma linha de vácuo na sala de manutenção/laboratório, contendo uma bomba de ar, tubos e conectores para os equipamentos (cangas e manômetro). As aferições das cangas visam verificar a presença de vazamentos e perdas irregulares da pressão, o que pode causar alterações e perdas de amostras. Além da linha de vácuo, instalou-se também a linha de nitrogênio (N₂), contendo um botijão de gás N₂ acoplado a uma linha de tubos e conectores para a canga e o manômetro. O N₂ é usado para servir como gás de arraste, explicado posteriormente em outro tópico.

A fim de se obter êxito nas coletas, a equipe foi treinada quanto aos cuidados, manuseio, técnicas de reparo e outras instruções sobre manutenção e cuidados dos equipamentos na Embrapa Pecuária Sudeste, Unidade da Embrapa com rotina estabelecida da técnica do gás traçador SF6. Durante o treinamento a equipe, acompanhou uma coleta e foi capacitada para realizar os diversos procedimentos de manutenção e de aferição dos equipamentos. Para dar maior segurança à equipe da Embrapa Pantanal, recebeu-se a visita do Dr. Alexandre Berndt, da Embrapa Pecuária Sudeste, maior especialista brasileiro na referida técnica, no Campo Experimental da fazenda Nhumirim, a fim de orientar, conferir e validar as instalações e demais procedimentos adotados.

Preparo dos equipamentos

Antes do início do período de coletas, é necessário proceder aferições dos buçais e das cangas, os quais precisam estar dentro dos limites estabelecidos para a velocidade de fluxo, assim como, não apresentarem vazamentos e perdas de pressão. O teste das cangas consiste em seu esvaziamento (colocação do vácuo – pressão de -13 atm.) e a sua aferição no dia seguinte (24 horas), devendo a mesma estar com pequena variação de pressão, aceitando-se perda até o limite de -12,5 atm, sendo os valores obtidos registrados em planilha própria (Figura 4). São consideradas perfeitas as cangas que mantiveram a pressão negativa por 3 dias consecutivos/aferidos, sendo as cangas defeituosas submetidas aos reparos necessários (identificação do local de vazamentos nos tubos ou conectores).

Para os testes dos buçais, os mesmos devem ser conectados às cangas perfeitas (sem vazamentos) e preparadas com vácuo (- 13 atm.), sendo desconectados 24 horas após (período da coleta). Após desconectá-los, procede-se a leitura da pressão das cangas, devendo as mesmas estarem entre -5,2 e -7,8 o que representa entre 40% a 60% de absorção do volume da canga, processo este também realizado durante três dias, para que os mesmos sejam considerados adequados, tendo os valores anotados em planilha própria (Figura 5).

EXPERIMENTO PECUS - FAZENDA NHUMIRIM							
TESTE CANGAS							
Número	Pressão - Dia 1		Pressão - Dia 2		Pressão - Dia 3		OBS.
Canga	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	

Figura 4. Ficha de testes das cangas.

Durante todo o período de testes e aferições dos equipamentos são utilizadas planilhas de anotações (Figuras 4 e 5), a fim de preservar as informações e o histórico dos equipamentos. Após sua aprovação, os equipamentos devem ser colocados em local exclusivo e identificado para que não sejam misturados àqueles considerados reprovados nos dias das coletas. Ressalta-se a importância de que sejam mantidas em perfeitas condições os equipamentos da linha de vácuo (bomba) e de medição (manômetros), a fim de que não ocorram falhas durante o período de coletas e consequente perda experimental. Neste sentido, é importante que sejam verificadas as instalações elétricas, tubos, conectores, baterias do manômetro (digital), além da manutenção da bomba de vácuo (troca de óleo e limpeza).

Nos dias das coletas, as cangas devem ser preparadas, imediatamente antes de serem levadas ao curral, para colocação nos animais, sendo esvaziadas (vácuo) à pressão aproximada de -13 atm., valor a ser aferido pelo manômetro e anotado em ficha de controle (Figura 5). Importante observar a qualidade da identificação das cangas, normalmente feita à caneta, e que com o tempo e lavagens, vai perdendo sua nitidez. Após estes cuidados de preparação e testes dos equipamentos, os mesmos encontram-se prontos para serem utilizados nas coletas.

EXPERIMENTO PECUS - FAZENDA NHUMIRIM							
COLETAS							
Número Animal				Período			
Cápsula Permeação (TP)				Cabresto			
Taxa de emissão (TP)							
Data	Data	Tempo	Tempo	Número	Pressão	Pressão	OBS.
Inicial	Final	Inicial	Final	Canga	Inicial	Final	

(TP) – Taxa de permeação

Figura 5. Ficha de campo para anotações durante o período de coletas.

Coletas dos gases entéricos

Antes de iniciar os procedimentos de coleta, os animais devem ser submetidos a uma avaliação geral do seu estado (condicionamento físico e de saúde), serem pesados e avaliados quanto ao escore de condição corporal. Os animais devem ser tratados contra parasitas internos e externos, para que não haja alteração comportamental de consumo – moscas de chifre excitam os animais, por exemplo –, sendo que tais procedimentos devem ser realizados pelo menos com sete dias de antecedência do início das coletas.

O lote de animais testes na fazenda Nhumirim foi apartado levando-se em consideração as diferentes categorias (vacas paridas ou falhadas, ou novilhas prenhas ou vazias, etc.) a fim de serem distribuídos igualmente entre os dois tratamentos (pastagens nativas ou pastagem cultivada). Desta forma, tal procedimento deve ser realizado previamente em prazo mínimo de 14 dias, a fim de que todos os animais se adaptem ao ambiente estudado. Cangas de adaptação foram ajustadas sempre com pelo menos 7 dias antes do início das coletas para que as mesmas (vacas/novilhas) não se incomodassem com as cangas coletoras durante o período de coletas.

Após todos os cuidados descritos anteriormente, o primeiro dia de coleta inicia-se com a equipe do laboratório esvaziando e aferindo a pressão negativa (aproximadamente – 13 atm.) das cangas, organizando o material e os buçais que sairão da sala de manutenção para o campo. Para o transporte das cangas e materiais devem ser utilizadas caixas plásticas, também chamadas de caixas de verduras, as quais permitem o transporte de forma segura, evitando danos durante o trajeto. Enquanto isto, a equipe de campo faz o transporte (busca) dos animais das invernadas para o curral, tomando o cuidado de trazê-las calmamente para que não fiquem estressadas, prejudicando o trabalho a ser feito posteriormente no curral. Com os animais apreendidos no tronco, realiza-se a colocação do buçal, procurando mantê-lo ajustado de forma a não se movimentar excessivamente, e não tão apertado que possa causar ferimentos ou incômodo ao animal.

A canga deve ser colocada no animal e em seguida anexada ao cabresto por meio de fita velcro de dupla face e especialmente reforçadas com lona (costuradas), a fim de garantir a firmeza da amarração (Figura 6). Após a colocação da canga e sua fixação ao buçal, procede-se à conexão da mesma por meio da união dos conectores de engate rápido (macho/fêmea) do buçal e da canga, sendo que no momento desta conexão deve ser realizada a anotação do horário em ficha de controle – modelo (Figura 5). Após realizar o trabalho de colocação dos equipamentos nos animais, procede-se a colocação da canga de campo em um local previamente escolhido nas invernadas testes, a fim de medir a concentração ambiental do metano (Figura 7).



Foto: Luiz Orcirio F. de Oliveira

Figura 6. Na seta detalhe da canga afixada ao buçal com fita de velcro enlonada.



Foto: Luiz Orciño F. de Oliveira

Figura 7. Colocação da canga e buçal para estimativas da concentração ambiental de metano na fazenda Nhumirim da Embrapa Pantanal.

Todos os procedimentos realizados no primeiro dia são repetidos por mais quatro dias, totalizando cinco dias de coletas. A troca das cangas deve ocorrer em horário similar durante o período de coletas, tentando aproximar-se das 24 horas de intervalo, e favorecendo o estabelecimento da rotina para os animais. No momento da troca das cangas, devem ser procedidas as leituras da pressão final da canga retirada e dos horários de desconexão e conexão da canga seguinte, os quais devem ser anotados nas fichas de controle. Para facilitar a manutenção das cangas é importante que se faça a lavagem das mesmas logo após a retirada de todas as cangas dos lotes, com auxílio de bucha, sabão/detergente, e posteriormente, enxague com água corrente e secagem com panos limpos.

Transferência dos gases das cangas para os tubos de cromatografia

Como explicado anteriormente, após a retirada das cangas dos animais, as mesmas são conectadas ao manômetro para aferição da pressão final, posteriormente lavadas, secas e cuidadosamente transportadas ao laboratório/sala de manutenção. No laboratório, são retiradas amostras dos gases coletados e armazenados nas cangas e transferidas aos tubos de cromatografia. Em razão do volume da canga não ter sido totalmente ocupado, as mesmas apresentam pressão negativa no final da coleta (já descrito), havendo então a necessidade de injetar o gás de arraste (N_2) para que a transferência ocorra. Conforme Primavesi et al. (2004), recomenda-se injetar o N_2 gradativamente até que a pressão se estabilize entre + 1,0 a + 2,0 atm. A colocação de vácuo nos tubos facilita a transferência das amostras da canga para os mesmos, a qual pode ser feita com o auxílio de uma seringa de 50 mL com adaptações para o engate nas cangas (Figura 8).



Foto: Luiz Orcirio F. de Oliveira

Figura 8. Transferência das amostras de gases entéricos das cangas para os tubos de cromatografia.

Observa-se que os tubos devem estar previamente etiquetados, numerados e lacrados. Recomendando-se que sobre a etiqueta seja colada uma fita “durex” a fim de que a mesma não se descole, perdendo sua identificação. Até o transporte dos tubos para o laboratório onde será feita a leitura das concentrações dos gases por cromatografia gasosa, recomenda-se que os mesmos sejam acondicionados resfriados em geladeiras, evitando-se possíveis perdas. Os procedimentos laboratoriais de leitura e posteriores cálculos dos valores encontram-se descritos no documento editado por Primavesi et al. (2004).

Determinação da produção fecal e consumo

Além dos procedimentos de coletas dos gases entéricos, há necessidade de que seja determinado o consumo animal diário de MS. Os procedimentos adotados para as estimativas de produção fecal e consumo foram definidos em comum acordo entre os pesquisadores do projeto PECUS, aceitando-se as adaptações consolidadas de acordo com o bioma estudado.

As estimativas de produção fecal foram realizadas por meio do uso do dióxido de titânio (TiO_2) como indicador externo (MYERS et al., 2004). Foram preparados “pellets” (em embalagens de papel) contendo 20 g de TiO_2 , os quais foram administrados com o auxílio de um aplicador de bólus, durante 12 dias consecutivos, divididos em dois fornecimentos diários (Figura 9). Esperou-se sete dias para a estabilização do indicador no trato digestivo dos animais, realizando coletas de fezes do oitavo ao décimo segundo dia, diretamente do reto dos animais. As fezes foram coletadas em sacos plásticos e identificados com o auxílio de etiquetas, sendo que para não haver perdas, cada amostra foi embalada em dois sacos plásticos e posteriormente levadas ao laboratório e armazenadas em freezer à -20°C . Realizou-se também a coleta de amostras que foram utilizadas para análises micro histológica da dieta.

As amostras de fezes foram secas em estufa ventilada a 62°C por 72 horas, moídas em peneira de 2 mm e analisadas conforme Myers et al. (2004). A produção fecal (PF) foi calculada conforme equação:

$$PF (\text{kg}.\text{dia}^{-1}) = \text{quantidade de indicador administrado (g)} / \text{concentração do indicador nas fezes (kg.g}^{-1}\text{)}$$

Equação 1. Cálculo da produção fecal (PF), em $\text{kg}.\text{dia}^{-1}$

O consumo foi estimado a partir da PF e da digestibilidade *in situ* (ORSKOV et al., 1980) do FDNi e do FDAi de amostras representativas das forragens (nativas e cultivadas).

Para a digestibilidade *in situ*, as amostras de forragens foram secas e moídas em peneiras de 2 mm, acondicionadas em bolsas de filtros TNT 100 g/m² (tecido não tecido) (VALENTE et al., 2011) e incubadas no rúmen de dois animais providos de cânula por 240 horas (CASALI et al., 2008), consumindo dieta mista com 30% de concentrado. Após retirada das bolsas, procede-se a lavagem com água corrente até o clareamento, e secagem em estufa a 105 °C por 12 horas. Determinou-se a concentração de FDN segundo Van Soest et al. (1991) no resíduo remanescente nas bolsas, sendo o resultado considerado o teor de FDNi.

A indigestibilidade da forragem foi determinada pela concentração de FDNi dos alimentos dividida pela concentração de FDNi nas fezes, sendo que o consumo de forragem (CMS) determinado pela equação:

$CMS\ forragem\ (kg.dias^{-1}) = Produção\ fecal\ total / indigestibilidade\ da\ forragem$

Equação 2. Cálculo do consumo de matéria seca (CMS) de forragem em kg.dia⁻¹



Foto: Luiz Orcínio F. de Oliveira

Figura 9. Aplicação de bólus contendo dióxido de titânio como indicador fecal para as estimativas de consumo.

Avaliação das pastagens

No Pantanal, as invernadas são compostas por um mosaico de paisagens, com comunidades vegetais de florestas, savanas, campos e áreas inundáveis (bordas de corpos d'água, baixadas e vazantes). Os bovinos podem pastar em toda a área, mas preferem as áreas mais baixas onde estão localizadas as forrageiras de melhor qualidade e também as áreas de campo com forrageiras nativas e/ou cultivadas. Portanto, para a avaliação das pastagens na região, primeiramente identifica-se as áreas chaves que são as preferidas para pastejo conforme Santos (2001). Na unidade de pastejo (invernada) a ser avaliada, identifica-se primeiramente o principal local de alimentação, podendo ser mais de um, por meio da observação visual dos animais durante o principal turno de pastejo (horário próximo ao pôr-do-sol). Nesses locais, procede-se a identificação das unidades de paisagem (fitofisionomias) usadas para pastejo com o auxílio de um mapa da invernada e GPS para marcar as coordenadas do local. Nestes locais de pastejo são feitas as seguintes avaliações das pastagens: taxa de crescimento e acúmulo de forragens; grau de utilização das pastagens conforme Santos et al. (2013); disponibilidade das forrageiras; composição botânica; análise da dieta e composição bromatológica; uso espacial dos bovinos e análise termográfica.

Taxa de crescimento e acúmulo de forragem, massa aérea da forragem e massa radicular

A taxa de crescimento e acúmulo de forragem (TAF) foi avaliada periodicamente com auxílio de cinco gaiolas de exclusão (1m²) na invernada 1 (pastagem nativa) e de sete gaiolas na invernada com cultivo de gramínea exótica. A alocação das gaiolas foi feita por meio da técnica do triplo emparelhamento, proposta por Moraes (1991). Para o cálculo da taxa de acúmulo, utiliza-se o método da diferença entre a massa seca da amostra colhida dentro da gaiola na data da amostragem e a massa seca da amostra colhida fora da gaiola na data da amostragem anterior, dividida pelo número de dias entre as avaliações. A produção acumulada de forragem foi calculada pela soma da massa total de forragem acumulada mais a massa residual colhida no primeiro dia de avaliação. As espécies forrageiras foram classificadas em preferidas, desejáveis e indesejáveis conforme Santos et al. (2003), visando avaliar as forrageiras disponíveis. Na avaliação também foram analisadas a altura média, comprimida e a cobertura de plantas e dos solos.

As coletas das amostras de raízes foram feitas no final do período chuvoso com a utilização de um coletor de raízes de 0,00085m³. As raízes coletadas foram lavadas em laboratório com a utilização de mangueira e peneiras para a separação destas, do solo. Em seguida, as raízes foram pesadas e secas em estufa.

Avaliação da dieta seletiva

Nos locais/unidades de paisagem previamente identificados, foram efetuadas as amostragens das principais forrageiras consumidas por bovinos, manualmente, simulando o pastejo efetuado pelos animais. O material colhido foi colocado em saco de papel, identificado, pesado e enviado para laboratório para processamento e análise da composição nutricional, e da digestibilidade da dieta da Embrapa Pantanal.

Análise da composição química da dieta

Procederam-se as análises da matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), matéria mineral (MM), cálcio, fósforo e carbono, segundo AOAC (1990); fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) e lignina, segundo Van Soest et. al. (1991); nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN ou N-FDN), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA ou N-FDA), segundo Licitra et al. (1996).

Os nutrientes digestíveis totais (NDT), foram estimados segundo equações propostas por Capelle et al. (2001), e os carboidratos não fibrosos (CNF), estimados pela equação:

$$\text{CNF (\%MS)} = 100 - (\text{PB} + \text{EE} + (\text{FDN} - \text{NIDN}) + \text{MM});$$

Digestibilidade *in situ*

O método consiste basicamente na incubação ruminal por um determinado tempo, de amostras preparadas das forragens que compõem a dieta (nativas e cultivadas), pesadas e colocadas em sacos padronizados, lacrados com uma argola e elástico e marcados para a sua identificação. Após a retirada, os sacos passam por um processo de lavagem antes de serem pesados novamente, afim de se calcular a quantidade da forragem (alimento) desaparecido (digerido) (HUNTINGTON; GIVENS, 1995).

Foram preparadas bolsas de tecido não tecido (TNT) com porosidade de 100 micras, contendo cada uma 4 g da amostra e introduzidas no rúmen dos animais e retiradas de forma que a avaliação temporal da digestibilidade foi realizada nos tempos – 0, 12, 24, 48, 96, 168, 240 horas (Figura 10). Após retiradas as bolsas foram lavadas em água corrente até o seu clareamento total, e posteriormente levadas para o laboratório para serem secas e estimados os percentuais de desaparecimento da matéria seca e dos demais nutrientes. Parte do peso perdido é devido à solubilização dos constituintes da amostra e parte devido à perda de partículas muito pequenas durante a lavagem, processo este corrigido pela lavagem e secagem de amostras controle (não incubadas e incubadas em 0 horas).

Todos os procedimentos respeitaram as recomendações e ajustes sugeridos por Orskov et al. (1980) e por Vanzant et al. (1998). Ou seja, os animais permaneceram a pasto recebendo leve suplementação (30% da MS) em concentrado, número mínimo de dois animais, volume da amostra entre 10 a 20 mg/cm², posição rúmen-ventral, lavagem até o clareamento, entre outros.



Foto: Luiz Orcirio F. de Oliveira

Figura 10. Digestibilidade *in situ*.

Análise da disponibilidade das pastagens e composição botânica

A disponibilidade de biomassa (matéria seca kg/ha) do estrato herbáceo foi realizada em duas épocas do ano, abril e setembro, que corresponde aos períodos chuvoso e seco, nas duas áreas representativas: pastagem nativa e pastagem cultivada. O método utilizado foi o Botanal, com a utilização de molduras de ferro de 0,5 m x 0,5 m, alocadas ao acaso, num total de 100 pontos por amostragem. Em cada quadrado, foram anotadas todas as espécies presentes, a cobertura do solo total e o rank (valor correspondente ao peso seco, variando de 1 a 5 e todas as suas combinações), utilizando-se o software Botanal-2, Tothill et al. (1978) modificado por Costa e Gardner (1984). Esse procedimento combina os métodos do peso seco escalonado com o método do rendimento visual comparativo, e permite estimativas para composição botânica, matéria seca e cobertura do solo.

Composição botânica da dieta

Em pastagens dinâmicas e complexas como o Pantanal, o método comumente utilizado para analisar a composição botânica e química da dieta tem sido a análise microhistológica fecal (SANTOS et al., 2002a; 2002b), que também pode ser adotado para avaliar uma pastagem sob uso múltiplo (DESBIEZ et al., 2011). Para a utilização deste método tem-se como pré-requisito a confecção de lâminas microhistológicas de referência das forrageiras presentes na área de estudo. Para esta avaliação, cada animal ajustado com a canga, logo após o término da colheita dos gases entéricos, tiveram fezes colhidas diretamente do reto e acondicionadas em álcool 70. Foram feitas duas coletas: uma no período seco e outra no período das águas. As amostras foram enviadas para o Laboratório de Dieta Animal e Recursos Forrageiros, no qual foram confeccionadas duas lâminas de cada amostra conforme metodologia adaptada por Galvani et al. (2010). A leitura das lâminas é baseada nos descritores anatômicos padronizados que estão descritos no programa DELTADIET (DESBIEZ et al., 2010).

Avaliação do comportamento espacial de pastejo

A distribuição do pastejo ou grau de utilização de uma pastagem pode ser determinado por tecnologia de precisão, como sistema de informação geográfica. Foram usados colares GPS nos animais para registrar seus movimentos no espaço (Figura 11). Cinco GPSs foram colocados em cinco novilhas em período concomitante com a colocação das cangas.



Figura 11. Novilhas com GPS acoplado ao buçal condicionados em tubo de PVC (a) e sacola de lona (b).

Análise termográfica

Imagens termográficas foram tiradas de cada novilha no campo a uma distância de 2 metros a cada 30 minutos no período de 9 às 16 horas, totalizado 20 pontos de amostragens no tempo, em cada mês de observação (Figura 12). Termômetros foram colocados no campo para aferir a temperatura em cada um destes tempos.

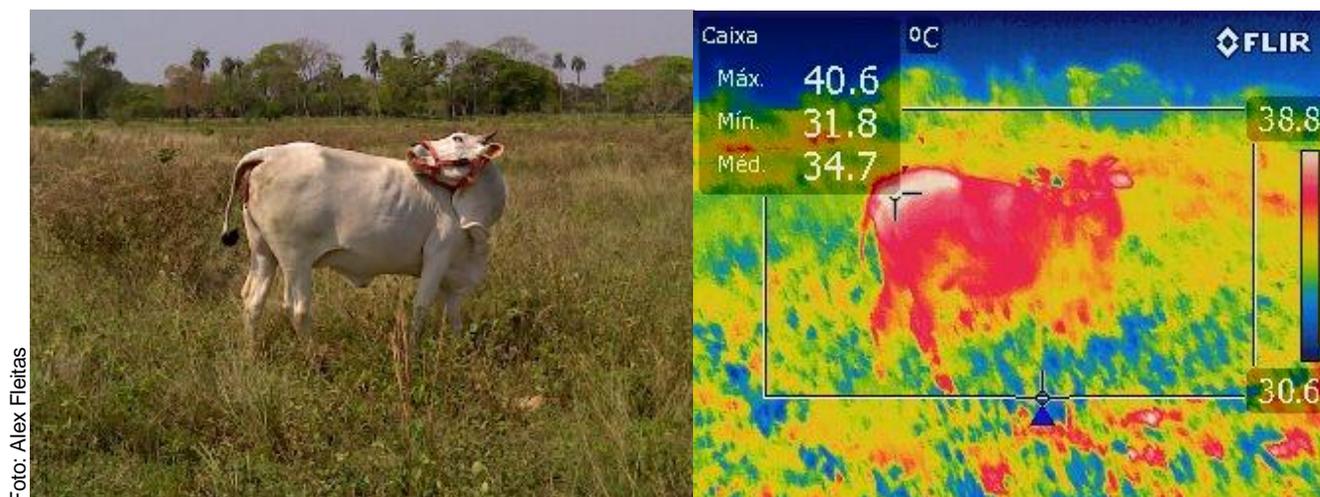


Foto: Alex Fleitas

Figura 12. Imagem termográfica de novilha no campo mostrando toda a variação da temperatura superficial, indicando a garupa como uma das principais áreas de dissipação de calor nas condições avaliadas na fazenda Nhumirim da Embrapa Pantanal.

Considerações Finais

As coletas de gases entéricos e de outras amostras (forragens, fezes) com o objetivo de aplicação nas estimativas de emissão de metano por meio da técnica do gás traçador SF₆, no Campo Experimental da Embrapa Pantanal – fazenda Nhumirim (Corumbá, MS), foi possível em razão das medidas adotadas previamente como: doma e preparo dos animais, adequações das instalações (campo, laboratório e sala de manutenção), e treinamento da equipe.

As coletas realizadas na fazenda Nhumirim, vêm permitindo estimar as emissões de metano pelos bovinos no Pantanal, ao longo dos diversos períodos do ano e diferentes estágios do ciclo de produção da pecuária pantaneira. Esses resultados, além de dar subsídios aos objetivos do Projeto PECUS, permitirão a criação de um banco de informações que possibilitarão conhecer a relação e a importância da pecuária para a região.

Agradecimentos

A Embrapa Pantanal agradece à toda equipe da Embrapa Pecuária Sudeste, nas pessoas do Dr. Alexandre Berndt e da Dra. Patrícia Anção Oliveira; pelo auxílio na confecção dos equipamentos e pelo treinamento nas técnicas de coleta; ao Srs. Antonio Arantes B. Sobrinho e Hernandez de Campos Monteiro pelo apoio fundamental nas amostragens e análises dos materiais.

Referências

- ABREU, U. P. G.; GOMES, E. G.; LOPES, P. S.; TORRES, R. A.; SANTOS, H. N. Avaliação sistêmica da introdução de tecnologias na pecuária de gado de corte do Pantanal por meio de modelos de análise envoltória de dados (DEA). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.11, p. 2069-2076, 2008.
- AOAC. ASSOCIATION OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 15. ed. Washington: AOAC, 1990. 771 p.
- BRASIL. Ministério da Ciência e Tecnologia. **Comunicação nacional inicial do Brasil à convenção quadro nas Nações Unidas sobre mudança climática**. Brasília: Ministério da Ciência e Tecnologia, 2004. 274 p. Disponível em: <http://www.mct.gov.br/upd_blob/0005/5586.pdf>. Acesso em: 10 dez. 2015.
- BRASIL. Ministério da Ciência e Tecnologia. **Segunda comunicação nacional do Brasil à convenção-quadro das Nações Unidas sobre mudança do clima**. vol. 1 e 2. Brasília: Ministério da Ciência e Tecnologia, 2010. 280 p. Disponível em: <http://www.mct.gov.br/upd_blob/0215/215070.pdf>. Acesso em: 10 dez. 2015.

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; Ministério do Desenvolvimento Agrário. **Plano setorial de mitigação e de adaptação às mudanças climáticas para a consolidação de uma economia de baixa emissão de carbono na agricultura**: plano ABC (Agricultura de Baixa Emissão de Carbono). Brasília, DF: MAPA; MDA, 2011. 173 p. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/download.pdf>. Acesso em 20 dez. 2015.
- CAPELLE, E. R.; VALADARES FILHO, S. C.; SILVA, J. F. C. et al. Estimativas do valor energético a partir de características químicas e bromatológicas dos alimentos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.1837-1856, 2001.
- CARVALHO, T. B.; ABREU, U. P. G.; ALMEIDA, B. S.; ZEN, S. **Custo de produção em pecuária de corte em 2009, no Pantanal de Corumbá (MS)**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2009. 6 p. (Embrapa Pantanal. Comunicado Técnico, 76).
- CASALI, A. O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C.; PEREIRA, J. C.; HENRIQUES, L. T.; FREITAS, S. G.; PAULINO, M. F. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos in situ. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.2, p.335-342, 2008.
- CHESSON, A.; FORSBERG, C. W. Polysaccharide degradation by rumen microorganism. In: HOBSON, P.N., STEWART, C.S. (Ed.) **The rumen microbial ecosystem**. London: Blackie Academic & Professional, 1997. p. 329-381.
- COSTA, J. M. V.; GARDNER, A. L. **Sistema Botanal-2**: Manual prático do usuário. Brasília: EMBRAPA-DMQ, 1984. 27 p.
- DESBIEZ, A. L. J.; ALVAREZ, J. M.; SANTOS, S. A.; CAVALCANTI, M. J. **DELTA DIET**: guia para identificação da dieta de herbívoros usando o Sistema DELTA. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2010. 1 CDROM.
- DESBIEZ, A. L. J.; SANTOS, S. A.; ALVAREZ, J. M.; TOMAS, W. M. Forage use in domestic cattle *Bos indicus*, capybara *Hydrochoerus hydrochaeris* and pampas deer *Ozotoceros bezoarticus* in a seasonal Neotropical wetland. **Mammalian Biology**, v. 76, n.3, p. 351-357, 2011.
- DEHORITY, B. A. In vitro determination of generation times for *Entodinium exiguum*, *Ophryoscolex purkynjei* and *Eudiplodinium maggii*. **Journal Eukariotic Microbiology**, v.51, n.3, p.333-338, 2004.
- EGAN, J.K., DOYLE, P.T. Effect of intraruminal infusion of urea on the response in voluntary feed intake by sheep. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.36, n.3, p. 483-495, 1985.
- EMBRAPA. **Projeto da Rede PECUS**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-projetos/-projeto/38213/projeto-da-rede-pecus>>. Acesso em: 14 nov. 2015.
- GALVANI, F.; GARCIA, J. B.; SANTOS, S. A. **Adequação de metodologia: preparação de lâminas microhistológicas de referência de tecidos vegetais e fezes**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2010. 5 p. (Embrapa Pantanal. Circular Técnica, 91).
- GRENET, E.; BESLE, J. M. Microbes and fiber degradation. In: JOUANY, J. P. (Ed.). **Rumen microbial metabolism and ruminant digestion**. Paris: INRA, 1991. 374 p.
- HOLTER, J. B.; YOUNG, A. J. Nutrition, feeding and calves: methane prediction in dry and lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.75, p. 2165-2175, 1992.
- HUNTER, R. A. Strategic supplementation for survival, reproduction and growth of cattle. In: GRAZING LIVESTOCK NUTRITION CONFERENCE, 2, 1991, Stemboat Springs. **Proceedings...** Stemboat Springs: McCollum III F.T. Oklahoma State University, 1991. p. 32-47.
- HUNTINGTON, J. A., GIVENS, D. I. The in situ technique for studying the rumen degradation of feeds: A review of the procedure. **Nutrition Abstract Reviews**. v.65, n.2, p.63-93, 1995. (Series B).
- IPCC. Summary for policymakers. In: PARRY M. L.; CANZIANI, O. F.; PALUTIKOF, J. P.; LINDEN, P. J. van der; HANSON, C. E. (Ed.). **Climate Change 2007: the physical science basis**. Contribution of working group I to the fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. Cambridge: Cambridge University Press, 2007. p. 1-18. Disponível em: <<https://www.ipcc.ch/pdf/assessment-report/ar4/wg1/ar4-wg1-spm.pdf>>. Acesso em: 20 nov. 2015.
- JOHNSON, K. A.; JOHNSON, D. E. Methane emissions from cattle. **Journal of Animal Science**, v. 73, n.8, p. 2483-2492, aug. 1995.
- LICITRA, G., HERNANDEZ, T. M., VAN SOEST, P. J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.57, p.347-358, 1996.
- MERTENS, D. R. Regulation of forage intake. In: FAHEY JÚNIOR, G.C. (Ed.) **Forage quality, evaluation and utilization**. Ohio, USA: American Society of Agronomy, 1994. p. 450-493.

- MORAES, A. **Produtividade animal e dinâmica de uma pastagem de angola (*Digitaria decumbens* Stent), azevém (*Lolium multiflorum* Lam.) e trevo branco (*Trifolium repens* L.), submetida a diferentes pressões de pastejo**. 1991. 200 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- MYERS, W. D.; LUDDEN, P. A.; NAYIGIHUGU, V.; HESS, B. W. Technical note: a procedure for the preparation and quantitative analysis of samples titanium dioxide. **Journal of Animal Science**, v. 82, p.179-183, 2004.
- OECD-FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Agricultural Outlook 2015-2024**. Paris, France: OECD Publishing, 2015. Disponível em: <<http://www.oecd-ilibrary.org/docserver/download/51115021e.pdf?expires=1453386516&id=id&accname=guest&checksum=AB381911FECA7A4F03610BE78A91FCDA>>. Acesso em: 12 dez. 2015.
- ORSKOV, E. R.; HOVEL, F. D. D.; MOULD, F. Uso de la técnica de la bolsa de nylon para lá evaluación de los alimentos. **Produccion Animal Tropical**, v.5, p.213-233, 1980.
- PRIMAVESI, O.; FRIGHETTO, R. T. S.; PEDREIRA, M. S.; LIMA, M. A.; BERCHIELLI, T. T.; DEMARCHI, J. A. A.; MANELLA, M. Q.; BARBOSA, P. F.; JOHNSON, K. A.; WESTBERG, H. H. **Técnica do gás traçador SF₆ para medição de campo do metano ruminal em bovinos: adaptações para o Brasil**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2004. 77p. (Embrapa Pecuária Sudeste. Série Documentos, 39).
- SANTOS, S. A. **Caracterização dos recursos forrageiros nativos as sub-região da Nhecolândia, Pantanal, Mato Grosso do Sul, Brasil**. 2001. 197 f. Tese (Doutorado em Zootecnia, área de concentração: Nutrição e Produção animal) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, São Paulo.
- SANTOS, S. A.; COSTA, C.; SOUZA, G. S.; MORAES, A. S.; ARRIGONI, M. de B. Qualidade da dieta selecionada por bovinos na sub-região da Nhecolândia, Pantanal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1663-1673, 2002a.
- SANTOS, S. A.; COSTA, C.; SOUZA, G. S. E.; POTT, A.; ALVAREZ, J. M.; RODRIGUES, S. Identificação da composição botânica da dieta de bovinos criados em pastagem nativa na sub-região da Nhecolândia, Pantanal, Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1648-1662, 2002b.
- SANTOS, S. A.; COSTA, C.; POTT, A.; CRISPIM, S. M. A.; SORIANO, B. M. A.; ALVAREZ, J. M.; ORTIZ, A. G. **Grau de preferência e índice de valor forrageiro das pastagens nativas consumidas por bovinos no Pantanal**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2003. 43 p. (Embrapa Pantanal. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 49).
- SANTOS, S. A.; DESBIEZ, A. L. J.; PEROTTO-BALDIVIESO, H. L.; PELLEGRIN, L. A. **Uso de tecnologia de precisão na estimativa da capacidade de suporte em pastagens sob uso múltiplo no Pantanal**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2013. 6 p. (Embrapa Pantanal. Circular Técnica, 107). Disponível em: <<http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/CT107.pdf>>. Acesso em: 02 dez. 2015.
- SILVA, J. V. da; ABDON, M. M. Delimitação do Pantanal brasileiro e suas sub-regiões. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.33, número especial, p.1703-1711, 1998.
- SILVA, M. P.; MAURO, R.; MOURÃO, G.; COUTINHO, M. Distribuição e quantificação de classes de vegetação do Pantanal através de levantamento aéreo. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 23, p.143-152, 2000.
- TOTHILL, J. C.; HARGRAVES, J. N. G.; JONES, R. M. **BOTANAL: a comprehensive sampling and computing procedure for estimating pasture yield and composition. I. Field sampling**. Brisbane, AU: CSIRO, Division of the Tropical Crops and Pastures, 1978. 20 p. (Tropical Agronomy Technical Memorandum, 8).
- VALENTE, T. N. P.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C.; QUEIROZ, A. C.; SAMPAIO, C. B.; GOMES, D. I. Avaliação dos teores de fibra em detergente neutro em forragens, concentrados e fezes bovinas moídas em diferentes tamanhos e em sacos de diferentes tecidos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.5, p.1148-1154, 2011.
- VAN SOEST, P. J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**, 2 ed. Ithaca, NY, US: Cornell University Press, 1994. 476 p.
- VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3583-3597, 1991.
- VANZANT, E. S.; COCHRAN, R. C.; TITGEMEYER, E. C. Standardization of in situ techniques for ruminant feedstuff evaluation. **Journal of Animal Science**, v.76, p. 2717-2729, 1998.

Embrapa

Pantanal

Embrapa

Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento

GOVERNO FEDERAL
BRASIL
PÁTRIA EDUCADORA