

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia**

Elaine Cristina Teixeira

**POTENCIAL DE UTILIZAÇÃO DO FENO DE *Cratylia Argentea*
PARA PRODUÇÃO DE OVINOS EM CRESCIMENTO**

**Belo Horizonte – Minas Gerais
Escola de Veterinária da UFMG**

2023

Elaine Cristina Teixeira

**POTENCIAL DE UTILIZAÇÃO DO FENO DE *Cratylia Argentea*
PARA PRODUÇÃO DE OVINOS EM CRESCIMENTO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Zootecnia

Orientador: Profa. Dra. Ângela Maria Quintão Lana

Co-orientadores: Prof. Dr. Luciano Soares de Lima e Dr. Walter Rodriguez Matrangolo

**Belo Horizonte – Minas Gerais
Escola de Veterinária da UFMG**

2023

Teixeira, Elaine Cristina, 1977 -
T266p Potencial de utilização do feno de *Cratylia argentea* para produção de ovinos em crescimento/
Elaine Cristina Teixeira. – 2023.
83 f.il

Orientadora: Ângela Maria Quintão Lana

Coorientadores: Luciano Soares de Lima

Walter Rodriguez Matrangolo

Tese (Doutorado) apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais
para obtenção do título de Doutora em Zootecnia.

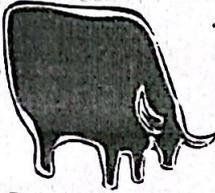
Área de Concentração: Produção animal.

Inclui Bibliografia

1. Ruminante – Alimentação e rações - Teses - 2. Digestibilidade - Teses – 3. Zootecnia - Teses - I.
Lana, Ângela Maria Quintão - II. Lima, Luciano Soares de – III. Matrangolo, Walter Rodrigues –
IV. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária – V. Título.

CDD – 636.085

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes – CRB2569
Biblioteca da Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais.



Escola de Veterinária
UFMG

ESCOLA DE VETERINÁRIA DA UFMG
COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
Av. Antônio Carlos 6627 - CP 567 - CEP 30123-970 - Belo Horizonte- MG
TELEFONE (31)-3409-2173

www.vet.ufmg.br/academicos/pos-graduacao
E-mail cpzootec@vet.ufmg.br

ATA DE DEFESA DE TESE DA ALUNA ELAINE CRISTINA TEIXEIRA

As 08:00 horas do dia 27 de fevereiro de 2023, reuniu-se, a Comissão Examinadora de Tese, aprovada em reunião ordinária no dia 14/12/2022, para julgar, em exame final, a defesa da tese intitulada:

Potencial de utilização do ymo de Cratylia Argentina para produção de búfalos em crescimento

_____, como requisito final para a obtenção do Grau de Doutor em Zootecnia, área de concentração Produção de Ruminantes. Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, Profa. Ângela Maria Quintão Lana, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares da Defesa de Tese, passou a palavra ao (a) candidato (a), para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa do candidato (a). Logo após, a Comissão se reuniu, sem a presença do candidato e do público, para julgamento da tese, tendo sido atribuídas as seguintes indicações:

	Aprovada	Reprovada
Prof.(a)/Dr.(a) <u>Edilane Aparecida da Silva</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof.(a)/Dr.(a) <u>Karina Toledo da Silva</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof.(a)/Dr.(a) <u>Hemilly Cristina Mendes de Sá</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof.(a)/Dr.(a) <u>Eloisa de Oliveira Simões Saliba</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof.(a)/Dr.(a) <u>Ângela Maria Quintão Lana</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Pelas indicações, o (a) candidato (a) foi considerado (a): Aprovado (a)

Reprovado (a)

Para concluir o Doutorado, o(a) candidato(a) deverá entregar 03 volumes encadernados da versão final da tese acatando, se houver, as modificações sugeridas pela banca, e a comprovação de submissão de pelo menos um artigo científico em periódico recomendado pelo Colegiado dos Cursos. Para tanto terá o prazo máximo de 60 dias a contar da data defesa.

O resultado final, foi comunicado publicamente ao (a) candidato (a) pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ata, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora e encaminhada juntamente com um exemplar da tese apresentada para defesa.

Belo Horizonte, 27 de fevereiro de 2023.

Assinatura dos membros da banca:

Edilane Aparecida da Silva
Hemilly Cristina Mendes de Sá
Ângela Maria Quintão Lana

gov.br

Documento assinado digitalmente
EDILANE APARECIDA DA SILVA
Data: 27/02/2023 13:42:55-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

gov.br

Documento assinado digitalmente
KARINA TOLEDO DA SILVA
Data: 27/02/2023 19:03:46-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Tese defendida e aprovada em 27 de fevereiro de 2023 pela Comissão Examinadora
composta por:

Prof.^a Ângela Maria Quintão Lana
(Orientadora)

Dra. Eloisa de Oliveira Simões Saliba

Dra. Hemilly Cristina Menezes de Sá

Dra. Karina Toledo da Silva

Dra. Edilane Aparecida da Silva

Belo Horizonte, 27 de fevereiro de 2023

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Alcides e Quitéria

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Aos meus filhos Yan e Maria Isabel, por compreenderem minhas “ausências” quando precisei me dedicar a esse trabalho. Ao meu marido Iran, pelo apoio e incentivo.

À professora Ângela, agradeço a orientação, apoio, amizade e por suas palavras sempre incentivadoras. Meus respeitosos agradecimentos também aos professores e pesquisadores pela participação na banca de defesa e pela contribuição no trabalho.

Aos professores Luciano e Hemilly pela orientação e apoio durante a execução do experimento de desempenho. As alunas IC Raquel, Ana e Laura da Escola de Veterinária da UFMG.

Ao professor Adibe Abdala, do CENA – Esalq, pela orientação e apoio para a realização das análises de produção de gases. Na pessoa da Regina, agradeço a toda equipe do laboratório do CENA, pelo apoio para realização dos ensaios *in vitro* para análise de produção de gases. Em especial agradeço o colega Simón, por todo apoio durante a execução do experimento no CENA- Esalq, em Piracicaba

À Embrapa Milho e Sorgo, principalmente ao pesquisador Walter Matrangolo, agradeço pela ajuda na realização do experimento de campo e pela ótima convivência. Na pessoa do Davidson, agradeço a toda equipe de apoio de campo da Embrapa Milho e Sorgo.

À EPAMIG, principalmente as pesquisadoras Maria Celuta e Karina, agradeço pela ajuda na realização do experimento, pela ótima convivência e ensinamentos durante a execução das atividades de campo. A toda equipe de campo da EPAMIG (Delmo, Acácio, Adilson) e do laboratório, em especial a “Bete” por todo apoio para as análises laboratoriais.

Ao colega Fernando pela ajuda com as análises estatísticas, e principalmente pela paciência em me ajudar na construção desse documento.

Aos colegas (técnicos e professores) e alunos (André, Ricardo, Pedro, Bruno e Ivo) da UFSJ, campus Sete Lagoas, pelo apoio na realização em diversos momentos ao longo da execução do experimento.

Aos amigos da pós-graduação Daniela, Edilane, Luiz, Mariana, Natália, Hitalo, Clélia, Yara, Janaína, Leonardo, Lucas e tantos outros nomes que cruzaram meu caminho na UFMG, agradeço a amizade durante essa fase. Com certeza fizeram a caminhada mais leve e divertida.

Agradecimento ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio na realização deste trabalho.

RESUMO

As características bromatológicas da cratília (*Cratylia argentea*), indicam sua potencialidade para integrar os sistema de produção de ruminantes. Assim, o objetivo dessa pesquisa foi avaliar o potencial da leguminosa arbustiva cratília conservada na forma de feno, como alternativa para alimentação de ovinos em crescimento, e avaliar a produção de gases e parâmetros de fermentação ruminal de dietas contendo feno de cratília como volumoso em substituição ao feno de capim *Cynodon spp* cv. Tifton-85. Para avaliação do potencial forrageiro do feno de cratília, avaliou-se o desempenho produtivo de vinte e quatro cordeiros Lacaune (não castrados) com idade entre cinco e seis meses e peso médio e desvio padrão de $21,48 \pm 3,38$ kg distribuídos em delineamento em blocos ao acaso, em arranjo de parcelas subdivididas, onde as dietas constituíram as parcelas (0, 20, 40 e 100% na MS) de feno de cratília em substituição feno de capim Tifton-85 como volumoso na dieta total, em dois períodos de avaliação (subparcelas). As categorias de peso Leves, Intermediário leve, Intermediário pesado e Pesados constituíram quatro blocos com seis repetições por tratamento. As variáveis ganho de peso (GP), ingestão de matéria seca (IMS), coeficientes de digestibilidade da matéria seca (DMS), da matéria orgânica (DMO), da proteína bruta (DPB), conversão alimentar (CA) e eficiência alimentar (EA) não foram influenciadas pelo nível de inclusão de feno de cratília no volumoso da dieta para cordeiros ($p>0,05$). A IMS e o GP apresentaram comportamento linear e crescente à medida que as semanas de avaliação avançaram durante o experimento. O coeficiente de digestibilidade da FDN (DFDN) apresentou comportamento linear e decrescente à medida que se aumentou o nível de inclusão de cratília. Para os índices CA e EA das dietas adotadas, o nível de inclusão da cratília não influenciou os resultados, independentemente do período de avaliação considerado. Para o balanço de nitrogênio, os níveis de inclusão de feno de cratília não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$) para todas as variáveis analisadas independente do período de avaliação. Para avaliar o efeito na produção total de gases e metano (CH_4), bem como em parâmetros de fermentação ruminal por meio de ensaio *in vitro*, as quatro dietas foram incubadas em sistema semiautomático. As variáveis avaliadas consistiram na produção acumulada de gases (ml/g MS) e produção de metano (CH_4 ml/g MS), concentração de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), degradabilidade da matéria seca (DMS) e da matéria orgânica (DMO), fator de partição (FP), concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH_3) e pH. Os níveis 40 e 100% de substituição apresentaram menor

produção acumulada de gases, embora a velocidade de produção destes foi superior aos tratamentos 0 e 20% de substituição ao feno de Tifton-85. Já a produção de CH₄ diminuiu à medida que aumenta a substituição de feno de cratília na dieta. Para os parâmetros de fermentação *in vitro* em função do tempo, apenas a taxa de degradabilidade da matéria seca (DMS) e degradabilidade da matéria orgânica (DMO) diminuíram ao longo do tempo conforme o aumento no nível de substituição do feno de cratília à dieta. Para os demais parâmetros: FP, pH, N-NH₃, AGCC, relação de Acetato:Propionato e isoácidos não foi observado diferença entre o feno de cratília e o feno de capim Tifton-85 nas dietas avaliadas. Concluímos que o feno de cratília pode ser processado e fornecido como fonte segura de volumoso de qualidade para ruminantes podendo, portanto, ser recomendado como intervenção alimentar de apoio a produção pecuária, principalmente em regiões com característica edafoclimáticas desfavoráveis, inviáveis para a produção de gramíneas forrageiras, como no caso do capim Tifton-85. O ensaio *in vitro* de produção de gases mostrou que não há efeito negativo sobre o uso de 100% de substituição de feno de cratília em substituição ao feno de capim Tifton-85, apresentando ainda, efeito positivo na redução de emissão de gases oriundos do processo de fermentação ruminal.

Palavras-chave: conservação de forragem, digestibilidade de leguminosas, alimentação de ruminantes, leguminosa arbustiva

ABSTRACT

The bromatological characteristics of cratílica (*Cratylia argentea*) indicate its potential to integrate the production system of ruminants. Thus, the objective of this research was to evaluate the potential of the shrub legume cratílica conserved in the form of hay, as an alternative for feeding sheep in growth, and to evaluate the production of gases and parameters of ruminal fermentation of diets containing cratílica hay as forage in replacement to *Cynodon spp* cv. Tifton-85. To evaluate the forage potential of cratílica hay, the productive performance of twenty-four Lacaune lambs (not castrated) aged between five and six months and mean weight and standard deviation of 21.48 ± 3.38 kg, distributed in randomized block design, in a split-plot arrangement, where the diets constituted the plots (0, 20, 40 and 100% in DM) of cratílica hay replacing Tifton-85 grass hay as roughage in the total diet, in two evaluation periods (subplots). The Light, Light Intermediate, Heavy Intermediate and Heavy weight categories constituted four blocks with six repetitions per treatment. The variables weight gain (WG), dry matter intake (DMI), coefficients of digestibility of dry matter (DDM), organic matter (DOM), crude protein (DCP), feed conversion (FC) and feed efficiency (FE) were not influenced by the inclusion level of cratílica hay in the roughage of the diet for lambs ($p > 0.05$). DMI and WG showed a linear and increasing behavior as the evaluation weeks progressed during the experiment. The NDF digestibility coefficient (DNFD) showed a linear and decreasing behavior as the level of inclusion of cratílica was increased. For the FC and FE indices of the adopted diets, the level of inclusion of cratílica did not influence the results, regardless of the evaluation period considered. For the nitrogen balance, the inclusion levels of cratílica hay did not show significant difference ($p > 0.05$) for all the variables analyzed, regardless of the evaluation period. To evaluate the effect on the total production of gases and methane (CH₄), as well as on parameters of ruminal fermentation through *in vitro* assay, the four diets were incubated in a semiautomatic system. The evaluated variables consisted of the accumulated production of gases (mL/g DM) and methane production (CH₄ mL/g DM), concentration of short chain fatty acids (SCFA), degradability of dry matter (DDM) and organic matter (DOM), partition factor (PF), ammonia nitrogen concentration (N-NH₃) and pH. Levels 40 and 100% of substitution showed lower accumulated production of gases, although their production speed was higher than treatments 0 and 20% of substitution of Tifton-85 hay. On the other hand,

the production of CH₄ decreased as the replacement of cratília hay in the diet increased. For *in vitro* fermentation parameters as a function of time, only the rate of dry matter degradability (DMD) and organic matter degradability (DOM) decreased over time as the level of replacement of cratília hay in the diet increased. For the other parameters: PF, pH, N-NH₃, AGCC, Acetate:Propionate ratio and isoacids, no difference was observed between Cratyilia hay and Tifton-85 grass hay in the evaluated diets. We conclude that cratília hay can be processed and provided as a safe source of quality roughage for ruminants and can therefore be recommended as a dietary intervention to support livestock production, especially in regions with unfavorable edaphoclimatic characteristics, unfeasible to produce forage grasses. as in the case of Tifton-85 grass. The *in vitro* test of gas production showed that there is no negative effect on the use of 100% replacement of cratília hay in substitution of Tifton-85 grass hay, also showing a positive effect on the reduction of gas emissions from the process of rumen fermentation.

Keywords: forage conservation, legume digestibility, ruminant feeding, shrub legume

LISTA DE FIGURAS

- Figura 4.1:Gráfico pluviométrico e de temperatura máxima e mínima durante a coleta de C. argentea para produção de feno (Ano agrícola 2019 a 2020). 54
- Figura 4.2:Produção de gases de dietas com inclusão de 0, 20, 40 e 100% de feno C. argentea em substituição ao feno de Tifton-85 em função do período de incubação 61
- Figura 4.3:.. Produção de metano de dietas com inclusão de 0, 20,40 e 100% de feno C. argentea em substituição ao feno de Tifton-85 em função de período de incubação 63
- Figura 4.4:Degradabilidade da matéria orgânica de dietas com 0, 20, 40 e 100% de inclusão de feno C. argentea em substituição ao feno de Tifton-85 em função do tempo (horas) 66
- Figura 4.5:Degradabilidade da matéria seca de dietas com 0,20,40 e 100% de inclusão de feno C. argentea em substituição ao feno de Tifton-85 em função do tempo (horas) 67
- Figura 4.6:.. Matéria orgânica verdadeiramente degradada em função dos níveis de inclusão de feno C. argentea em substituição ao feno de Tifton-85 68
- Figura 4.7:Amônia de dietas com 0, 20, 40 e 100% de inclusão de feno C. argentea em substituição ao feno de Tifton-85 em função do tempo (horas) 69
- Figura 4.8:Isoácidos de dietas com 0, 20,40 e 100% de inclusão de feno C. argentea em substituição ao feno de Tifton-85 em função do tempo (horas) 69

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1: Composição percentual e química das rações experimentais	55
Tabela 4.2: Fenol total e teores de tanino de <i>C. argentea</i> no material comestível, lenhoso e planta inteira	57
Tabela 4.3: Modelos matemáticos para avaliação da cinética fermentativa	60
Tabela 4.4: Parâmetros estimados (Erro Padrão) da cinética fermentação das dietas com níveis de 0, 20, 40 e 100 % feno de <i>C. argentea</i> em substituição ao feno de Tifton-85 em função do tempo de incubação	62
Tabela 4.5: Produção de metano em função do substrato com 0, 20, 40 e 100 % de inclusão de feno de <i>C. argentea</i> em substituição ao feno de Tifton-85 em função de tempo de incubação	63
Tabela 4.6: Parâmetros de produção e fermentação de gás <i>in vitro</i> de dietas com níveis de inclusão de feno <i>C. argentea</i> (0, 20, 40 e 100%) em substituição ao feno de Tifton-85 e períodos de incubação (24, 48 e 96 horas)	65
Tabela 4.7: Parâmetros das regressões de produção e fermentação de gás <i>in vitro</i> de dietas com níveis de inclusão de feno <i>C. argentea</i> (0, 20, 40 e 100%) em substituição ao feno de Tifton-85 e períodos de incubação (24, 48 e 96 horas)	665

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AGV – Ácidos graxos voláteis

AGCC – Ácidos graxos de cadeia curta

CH₄ – Metano

CMS – Consumo de matéria seca

DMS – Degradabilidade da matéria seca

DMO – Degradabilidade da matéria orgânica

FDN – Fibra detergente neutro

FDA – Fibra detergente ácido

NIDA - Nitrogênio insolúvel em detergente ácido

NIDIN - Nitrogênio insolúvel em detergente neutro

FP – Fator de partição

FT – Fenóis total

GEE – Gases de efeito estufa

MS – Matéria seca

MO – Matéria orgânica

MOVD - Matéria orgânica verdadeiramente degradada

N- Nitrogênio

N-NH₃ – Nitrogênio amoniacal

NRC – National Research Council

PB – Proteína bruta

PC – Peso corporal

TC – Taninos condensados

TT – Taninos totais

ACRONYMS AND ABBREVIATIONS LIST

VFA - Volatile fatty acids

SCFA - Short chain fatty acids

CH₄ – Methane

DMC - Dry matter consumption

DMD - Dry matter degradability

DMO - Degradability of organic matter

NDF – Neutral detergent fiber

ADF – Acid Detergent Fiber

NIAD - Nitrogen insoluble in acid detergent

NIDIN - Neutral detergent insoluble nitrogen

PF - Partition factor

TP - Total Phenols

GHG - Greenhouse gases

DM - Dry matter

OM - Organic matter

TDOM - Truly Degraded Organic Matter

N- Nitrogen

N-NH₃ - Ammoniacal nitrogen

NRC – National Research Council

CP - Crude protein

PW – Body Weight

CT – Condensed tannins

TT - Total tannins

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	16
2. CAPÍTULO I - REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1. <i>Cratylia argentea</i> (Desvaux) O. Kuntze - Origem, Distribuição e Taxonomia	18
2.2. Características nutricionais da <i>Cratylia argentea</i> e suas potencialidades na nutrição animal	20
2.4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
3. CAPÍTULO II- ARTIGO I: SUBMETIDO NA PLOSONE: Full title: Could <i>Cratylia argentea</i> replace Tifton 85 hay on finishing lamb diets in tropical areas?	32
3.1. Abstract	32
3.2. Introduction	33
3.3. Materials and methods	35
3.3.1. Study area	35
3.3.2. <i>Cratylia</i> hay and feed management	36
3.3.3. Feeding trial	38
3.3.4. Statistical analyses	39
3.4. Results	40
3.4.1. Intake and digestibility of <i>Cratylia</i> hay	40
3.4.2. Effects of <i>Cratylia</i> hay on nitrogen variables	44
3.5. Discussion	44
3.5.1. Lambs' performance on <i>Cratylia argentea</i> hay	44
3.5.2. Digestibility	45
3.5.3. Feed conversion and feed efficiency	46
3.5.4. Nitrogen variables	46
3.6. Conclusion	47
3.7. Referencias	48
4. CAPÍTULO III- ARTIGO II: Ensaios <i>in vitro</i> de produção de gases para avaliação nutricional de dietas com de feno de <i>Cratylia argentea</i> em substituição ao feno de Tifton-85.	52
4.2. Introdução	53
4.3. Material e métodos	55
4.3.1. Organização experimental e preparo de amostras	55
4.3.2. Ensaio de produção de gases e degradabilidade <i>in vitro</i>	57
4.3.3. Cinética de produção de gases e produção de metano	59
4.3.4. Parâmetros de Degradabilidade " <i>In vitro</i> "	61
4.4. Resultados	61

4.4.1. Produção de Gases	61
4.4.2. Parâmetros de degradação e fermentação <i>in vitro</i>	64
4.5. Discussão	71
4.5.1. Produção de gases	71
4.5.2. Parâmetros de degradação e fermentação <i>in vitro</i>	73
4.6. Conclusões	75
4.8. Referências bibliográficas.....	76

1. INTRODUÇÃO GERAL

Os produtos de origem animal representam uma fonte importante de alimentos para a população mundial. De acordo com o relatório da FAO "State of the World's Forage and Fodder Resources" publicado em 2020, a produção mundial de forragem para ruminantes foi estimada em cerca de 7,5 bilhões de toneladas. Isso representa cerca de 60% da produção total de forragem e fornece a base para a produção de leite, carne e outros produtos de origem animal em todo o mundo.

No Brasil, o sistema de produção de ruminantes é alicerçado sob sistema pastoril, composto em sua grande maioria por espécies gramíneas tropicais. Essas forrageiras, principalmente os capins, apresentam uma estacionalidade produtiva marcante. Durante a estação chuvosa, essas forrageiras apresentam um período de maior crescimento e produção, no entanto, na estação seca, a produção das forrageiras é reduzida e a qualidade da planta pode ser comprometida devido à falta de água e nutrientes. Uma das principais limitações está relacionada à baixa produtividade das forrageiras utilizadas nos sistemas de pastejo e a deficiência generalizada de proteínas, que é acentuada em áreas com longa estação seca.

Para que o efeito da estacionalidade da produtividade de gramíneas tropicais seja minimizado pode-se utilizar da intensificação com irrigação, ressemeadura e confinamento de animais, entretanto, essas alternativas exigem investimentos em infraestrutura e maquinário, que por consequência, reduzem a lucratividade líquida do sistema de produção (Cardoso et al. 2020). Acrescenta que, mesmo dispondo da utilização de insumos externos, ainda assim essas espécies não responderam tão positivamente em determinadas épocas do ano.

Outro ponto a se levar em consideração, é que apesar da eficiência dos ruminantes em aproveitar diversas forragens, desde fenos, silagens e resíduos altamente fibrosos que não são aptos para a alimentação humana, estima-se que 214 milhões de toneladas de grãos ainda são usadas para a alimentação desses animais por ano (Smith et al., 2013; Mottet et al., 2017). Portanto estratégias de alimentação sazonal, e que não disputam diretamente com os recursos com a alimentação humana, e que garantam o desempenho animal durante o período de escassez de forragem, poderiam melhorar o desempenho animal e garantir a sustentabilidade do sistema de produção de ruminantes, assim como na redução de insumos externos utilizados pelo produtor (Gerber et al., 2013; Herrero et al., 2016).

Dentre as estratégias para alimentação dos rebanhos, a introdução de forrageiras alternativas, têm sido identificadas como estratégia para melhorar a eficiência alimentar e a produtividade animal. Dietas com arbustos forrageiros e árvores localmente disponíveis, podem contribuir significativamente com a melhora do desempenho dos animais e a redução no uso de insumos externos.

A *Cratylia argentea* (Desvaux) O. Kuntze é uma leguminosa arbustiva que vem sendo utilizada para recuperação de áreas degradadas (Argel e Lascano, 1998; Ramos et al., 2003), e despertou o interesse como alternativa para alimentação animal, principalmente em regiões tropicais, onde são uma opção para amenizar a falta de pastagens de qualidade na época de seca (Lascano, 1998; Luz et al., 2015). As características bromatológicas da *C. argentea* indicam a potencialidade de sua utilização para suplementação animal no período de déficit de alimentos ou como alternativas para redução dos custos com rações comerciais (Rodríguez et al. 2015; Silva et al. 2017; Gámez, 2018).

Assim, o objetivo dessa pesquisa foi avaliar o potencial da leguminosa arbustiva *Cratylia argentea* conservada na forma de feno, como alternativa para alimentação de ruminantes, e avaliar a produção de gases e parâmetros de fermentação ruminal de dietas contendo feno de *C. argentea* como volumoso da dieta.

2. CAPÍTULO I - REVISÃO DE LITERATURA

2.1. *Cratylia argentea* (Desvaux) O. Kuntze - Origem, Distribuição e Taxonomia

A taxonomia do gênero *Cratylia* está em processo de definição, porém, já se tem conhecimento que pertence à família Leguminosae, subfamília Papilionoideae, tribo Phaseoleae e subtribo Diocleinae. Desse gênero são conhecidas cinco espécies diferentes, a *C. bahiensis*, *C. hypargyrea*, *C. intermedia*, *C. mollis* e *C. argentea*. Sua distribuição natural se situa principalmente no Brasil, Perú, Bolívia e nordeste da Argentina (Lascano et al., 2002). A *Cratylia argentea* é a espécie mais amplamente distribuída. (Queiroz, 1991; Lascano et al., 2002), ocorrendo no Brasil em ambientes diversos como: cerrado, floresta amazônica e caatinga (Queiroz, 1991). No Brasil é conhecida pelos nomes de: camaratuba, copada, cipó-prata (Ramos e Pizarro, 2003) e cratília.

A diferença entre as espécies foi alcançada tomando como base as características morfológicas vegetativas e sua localização geográfica, pelo fato de não existirem estudos recentes da reprodução e hibridização que permitam uma classificação de espécies. Em geral é uma planta de hábito de crescimento arbustivo que alcança entre 1,5 a 3,0 m de altura, suas folhas são trifolioladas, com estípulas, os folíolos são membranosos ou coriáceos, com os das laterais ligeiramente assimétricos, a inflorescência é um pseudo-racimo nodoso, com seis a nove flores por nodosidade. As flores variam em tamanhos de 1,5 a 3 cm, com pétalas de cor lilás e o fruto é uma vagem que contém de quatro a oito sementes, em forma lenticular, circular ou elíptica. (Queiroz e Coradín, 1995; Matrangolo et al. 2018.).

Entre as espécies algumas diferenças são observadas: a *C. mollis* e a *C. argentea* possuem crescimento similar e são consideradas espécies com um grande potencial forrageiro. Em contraste a *C. bahiensis*, *C. hypargyrea* e a *C. intermedia* não possuem tanto potencial para servir como forragem, porém podem servir com fontes valiosas de genes para adaptação em solos salinos ou tolerância a geadas. (Sobrinho e Nunes, 1995).

A *C. argentea* se ramifica na base do caule e que possui alta capacidade de rebrota, resultante do crescimento vigoroso das raízes (Lascano et al., 2002). Já nas primeiras chuvas as plantas rapidamente adquirem nova folhagem, o que amplia o acúmulo de forragem para a época seca (Argel e Lascano, 1998; Ramos e Pizarro,

2003). Outra característica importante desta leguminosa é a sua tolerância a solos ácidos com grande saturação de alumínio e de baixa fertilidade natural (Russo e Botero, 1996; Argel e Lascano, 1998).

Destaca-se boa produção de matéria seca (MS), entre 14 e 21t/ha por ano (Pizarro et al., 1996), sendo que quase 40% do rendimento de MS (folhas + hastes finas) foi registrado durante o período seco (Argel e Lascano, 1998), que pode estar relacionado ao sistema radicular profundo que atinge de 1,30 a 1,80m (Pizarro et al., 1996). Gama et al. (2009) identificaram uma produção de MS de *C. argentea* em torno de 7,2 t/ha no período seco e 17,1 t/ha, no período chuvoso. Ao considerar um teor de 3% de nitrogênio (N) na folha de *C. argentea*, temos que os valores descritos por Gama et al. (2009) representariam um aporte de 72,9 kg de N/ha/ano para o sistema solo-planta.

A produtividade dos ecossistemas pastoris depende da disponibilidade de N no solo e/ou da fixação biológica do solo (Fernandes et al., 2022). Nesse aspecto, a capacidade de fixação biológica das leguminosas merece destaque. As gramíneas tropicais (plantas C4) são mais eficientes na utilização de N no nível foliar em comparação com as leguminosas (plantas C3); no entanto, as leguminosas geralmente têm uma vantagem competitiva em ambientes com baixo teor de N devido à fixação biológica de N (Dubeux et al., 2017; Carvalho et al., 2019; Fernandes et al., 2020). Estas espécies além da fixação de N, também apresentam altos níveis de proteína, macro e microelementos importantes na nutrição animal (Paciullo et al., 2007; Paula et al., 2015; Valles de-la Mora et al., 2017).

Os sistemas silvipastoris compostos por leguminosas arbóreas e arbustivas representam uma tecnologia ainda pouco explorada na pecuária nacional. Os benefícios atrelados à inclusão dessas espécies arbóreas e/ou arbustivas vão desde fixação biológica de N, diversificação da dieta disponível para os animais, aumento da biodiversidade e uso comercial da madeira de algumas delas. Algumas leguminosas arbóreas e arbustivas tais como cratília (*Cratylia argentea*), gliricídia (*Gliricídia sepium*), sabiá (*Mimosa caesalpiniiifolia*) combinam boa produção de massa vegetal no período seco, aliados a maiores teores de proteína bruta (PB), quando comparados as gramíneas associadas na pastagem (Herrera, 2021; Navas Panadero et al., 2020; Barros et al., 2018).

2.2. Características nutricionais da *Cratylia argentea* e suas potencialidades na nutrição animal

Teores de PB inferiores a 7% (70 g/kg MS) podem limitar o consumo de MS e desempenho animal (Minson, 2012). O uso de espécies leguminosas representa um incremento ao conteúdo de PB do volumoso, exercendo efeito benéfico principalmente em misturas forrageiras (Barros-Rodriguez et al. 2012; Avilés-Nieto et al., 2013; Antwi et al., 2020).

Correa Pinzón e Niño-Mariño Mariño (2010) ao avaliarem a qualidade nutricional de plantas inteiras de *C. argentea* submetidas a diferentes métodos de conservação identificaram níveis de PB de 193 g/kg MS e 158 g/kg MS para o alimento fresco e silagem, respectivamente. Já para os métodos de conservação na forma de feno ou farinha, os autores relatam que ambos apresentaram teor 192 g/kg MS de PB. Os níveis de fibra detergente neutro (FDN) corresponderam a 674; 525; 665 e 722 g/kg MS para o alimento fresco, ensilado feno e farinha, respectivamente.

Esses resultados estão consistentes com os relatados por Gama et al., 2009, onde a *C. argentea* foi uma das leguminosa arbustivas que se destacou como espécie promissora e adaptada para a formação de bancos de proteínas em Neossolo Quatzarênico (considerado solos de baixa aptidão agrícola) em região de cerrado brasileiro. Os autores identificaram nas folhas da *C. argentea* valores de 208, 5g/kg MS de PB nas águas e 203 g/kg MS na seca. Os níveis de FDN nesse trabalho foram de 629 e 639 g/kg MS e nas águas e na seca, respectivamente.

Os valores de FDN reportado por esses trabalhos podem ser considerados relativamente altos. Contudo, Gama et al., 2009 ressaltam que a *C. argentea* apresentou 480 g/kg MS, enquanto as leguminosas *Cajanus cajan*, *Gliricidia sepium* e *Leucaena leucocephala* apresentaram 464; 490.5; 441.5 g/kg MS de digestibilidade não diferenciando estatisticamente ($p>0,05$). Isto é, a digestibilidade da *C. argentea* não apresentou diferença, apesar de seu maior teor de fibra em relação as demais leguminosas estudadas.

Valles-de la Mora et al., (2017) observaram que ao longo de dois anos de estabelecimento de *C. argentea* associada à gramínea *Brachiaria brizantha* (syn *Urochloa brizantha*) os teores de PB e MS foram muito consistentes, com média superior a 20 % de PB ao passo que o capim teve uma queda de 8,5% no teor de PB no primeiro ano de avaliação.

Diferentes arbustos e árvores leguminosas foram identificados para alimentação de ruminantes em áreas tropicais como discutido por Garcia et al. 2009; Castro-Montoya e Dickhoefer, 2020 e Wanapa et al., 2021. Em se tratando de espécies leguminosas arbóreas ou arbustivas, Dubeux Junior et al. (2017) destaca que essas alternativas são um recurso ainda pouco explorado em pastagens de clima quente e que estas não foram avaliadas na mesma medida que as leguminosas herbáceas.

A *C. argentea*, realiza simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio, sendo indicada para sistemas silvipastoris e apontada como alternativa promissora na criação de animais associada a conservação dos solos tropicais, além de conter níveis muito mais elevados de proteína do que as rações basais de má qualidade disponíveis durante a estação seca em regiões de clima tropical (Calazans et al., 2016).

Com o uso de espécies leguminosas, quando inseridas como alternativa alimentar na dieta dos ruminantes, a estacionalidade produtiva das gramíneas tendem a ser minimizadas, seja pelo incremento a dieta dos animais ou pela melhora da fertilidade do solo e como consequência a melhora produtiva da gramíneas associada no sistema integrado. Para a escolha da leguminosa a ser utilizada, deve-se observar cultivares que sejam mais adaptadas diante as condições climáticas locais e da disponibilidade de recursos (Barcellos et al., 2008).

A cratília pode manter as folhas verdes em períodos críticos de déficit hídrico, graças ao seu sistema radicular profundo e espalhado (Matrangolo et al., 2018). Na sua fase inicial de crescimento, as radículas de cratília desenvolvem um tecido externo semelhante a uma cortiça, o que ajuda a minimizar a perda de água (Matrangolo et al., 2018). Essas características permitem que a planta continue crescendo durante a estação seca, apesar de ser pastoreada ou colhida (Argel e Lascano, 1998). Os mesmos autores relataram que 30-40% da produtividade de cratília pode ocorrer na estação seca, o que constitui uma ótima matéria-prima para preencher lacunas de forragem em regiões tropicais.

2.3. Efeitos da inclusão de *C. argentea* a dieta de ruminantes.

A proteína é o principal fator limitante no desempenho dos animais durante a estação seca, nessa época há um déficit alimentar de alguns nutrientes, água e proteínas. É conveniente então que seja feita a suplementação com leguminosas forrageiras, de elevados índices proteicos, gerando economia ao produtor que pode

utilizá-la em substituição aos concentrados comerciais que são relativamente de alto custo (Santana et al., 2015). Detmann et al. (2004) afirmam que os baixos teores de compostos nitrogenados durante a estação seca nas pastagens afetam a atividade dos microrganismos ruminais, levando à diminuição da digestibilidade e do consumo da forragem, promovendo assim uma queda no desempenho dos animais nessa época do ano. Quando leguminosas são utilizadas em suplementação, eleva-se a quantidade de proteína bruta ingerida diariamente, levando assim ao maior equilíbrio na fermentação ruminal, estimulando o consumo e aumentando a digestibilidade, levando a um aumento no desempenho dos animais (Souza e Espindola, 1999).

A associação da *C. argentea* ao sistema de pastejo ou sua inclusão à dieta apresenta resultados satisfatórios na produção animal, em particular por conter níveis mais elevados de proteína do que as rações basais de má qualidade disponíveis durante a estação seca em regiões de clima tropical. Valles de-la Mora et al., (2017) comparando monocultivo de *Brachiaria brizantha* (syn *Urochloa brizantha*) com pasto associado à *C. argentea* apresentou aumento de 225g MS/animal/dia no consumo, indicando que a inclusão da leguminosa no pasto melhorou a qualidade da biomassa consumida pelos bezerros mestiços Holandês x zebu em pastagem.

A utilização de leguminosas forrageiras como fonte de nutrientes alternativas, promove um incremento nos níveis proteicos ingeridos pelo animal, na digestibilidade e no consumo de forragem disponível, levando assim ao aumento dos índices produtivos do rebanho (Dall'agnol e Scheffer-Basso, 2004). As leguminosas apresentam maior teor de proteína bruta em relação às gramíneas e menor taxa de declínio da digestibilidade e níveis proteicos com a idade (Barcellos et al., 2008). A utilização de leguminosas no sistema produtivo também tem a vantagem de, em virtude da fixação biológica do nitrogênio, podem contribuir com a recuperação de áreas degradadas e melhorar o manejo das pastagens (Freitas et al., 2010).

A forma que a *C. argentea* é oferecida aos animais foi estudada por Raaflaub e Lascano (1995). Os autores observaram que a taxa de ingestão (consumo em kg MS/ PV) de *C. argentea* foi duas vezes maior ($P < 0,05$), de 84 g de matéria seca por hora quando fornecida fresca para 157 g e 183 g de matéria seca por hora quando a forragem oferecida às ovelhas foi murcha (24 ou 48 h murcha em local sombreado) ou seca ao sol (48h) independentemente da idade dos animais avaliados.

Efeitos positivos na produção de leite em vacas da raça Creole Reyna foi relatado por Sánchez e Ledin (2006) estudando o efeito da inclusão de folhas de *C.*

argentea a dieta com silagem de sorgo. As dietas suplementadas com 2 ou 3 kg de folhas de *C. argentea* obtiveram um incremento na ingestão de matéria seca de 7,8 e 8,7kg MS/dia comparadas à ingestão de 6,6 kg MS/dia da dieta exclusiva com silagem de sorgo. Já a produção de leite foi de 3,9 a 5,1 e 5,7kg/dia apenas para silagem de sorgo e suplementação com 2kg e 3kg de *Cratylia*, respectivamente. Os autores relatam ainda que a gordura do leite, os sólidos totais e as características proteicas brutas e organolépticas (olfato, paladar e cor) não foram significativamente diferentes entre as dietas.

Um estudo realizado por Argel et al., 2000 suplementando a dieta de vacas Jersey (50 dias pós-parto) com concentrado, silagem da *C. argentea* ou *C. argentea* fresca, identificaram que a produção de leite foi de 11,1; 10,9 e 10,7 kg/vaca/dia respectivamente, não apresentando diferença significativa entre os tratamentos. Esse resultado está de acordo com Ibrahim et al. (2001). Os autores relatam que as dietas com *C. argentea* como principal fonte de proteína proporcionou níveis de produção e qualidade de leite semelhantes aos com cama de frango como suplemento proteico, com média de produção de leite de 6 kg/vaca/dia em vacas mestiças Pardo Suíça X zebu entre 60 e 80 dias em lactação.

Como a utilização das leguminosas forrageiras reduzem o aporte de insumos nitrogenados externos, há uma contribuição significativa na redução da emissão de gases de efeito estufa, levando a uma menor emissão de óxido nitroso (NO₂), assim como na redução da emissão de metano (CH₄) pelos animais, que apresentaram melhor desempenho (Macedo et al., 2014). Diversos trabalhos vêm sendo realizados utilizando a técnica *in vitro* de produção de gases. Zhou et al. (2011) avaliaram o valor nutritivo de espécies leguminosas tropicais baseado na composição química das forrageiras e na produção de gás *in vitro*. Para fazer essas determinações, arbustos de leguminosas foram coletados do centro de pesquisa de pastagens tropicais da academia chinesa de agricultura tropical. Foram analisadas as seguintes leguminosas: *Cratylia argentea*; *Leucaena leucocephala*; *Flemingia macrophylla*; *Cajanus cajan*; *Dendrolobium triangular*; *Cassia didymobotrya*; *Cassia bicapsularis* e; *Acacia farnesiana*. Os autores encontraram que a cratília apresentou o maior valor para PB (18,44%) e os menores valores para energia bruta (EB) (17,37 MJ/kg) e taninos totais (TT) (0,78%) entre as leguminosas analisadas. Em relação a produção de gases, a cratília apresentou valores intermediários entre as espécies analisadas. Os resultados encontrados nesse estudo, apontam que há uma

forte correlação positiva entre a produção de gases, energia metabolizável, digestibilidade *in vitro* da MS e digestibilidade da matéria orgânica (MO) e que as leguminosas forrageiras estudadas são potenciais alimentos de alta qualidade nutricional para cabras na província de Hainan, na China.

2.4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Antwi, C. et al. Intake, digestibility and nitrogen balance of sheep fed bambara groundnut haulm as supplement to a maize stover basal diet. *Scientific African*, v. 8, p. e00308, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2020.e00308>

Argel, P. J. et al. Silage of *Cratylia argentea* as a dry-season feeding alternative in Costa Rica. *FAO PLANT PRODUCTION AND PROTECTION PAPERS*, p. 65-68, 2000.

Argel, P.J.; Lascano, C.E. *Cratylia argentea* (Desvaux) O. Kuntze: una nueva leguminosa arbustiva para suelos ácidos en zonas subhúmedas tropicales. *Pasturas Tropicales*, v.20, p.37-43, 1998.

Ates, S. et al. Sustainable development of smallholder crop-livestock farming in developing countries. In: *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. IOP Publishing, 2018. p. 012076. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/142/1/012076>

Avilés-Nieto, J.N. et al. Digestibility of Buffel grass (*Cenchrus ciliaris*)-based diets supplemented with four levels of *Gliricidia sepium* hay in hair sheep lambs. *Trop Anim Health Prod* 45, 1357–1362 (2013). <https://doi.org/10.1007/s11250-013-0369-4>

Barbero, Rondineli P. et al. Influence of post-weaning management system during the finishing phase on grasslands or feedlot on aiming to improvement of the beef cattle production. *Agricultural Systems*, v. 153, p. 23-31, 2017.

Barros-Rodríguez, M., et al. Productive performance and urinary excretion of mimosine metabolites by hair sheep grazing in a silvopastoral system with high densities of *Leucaena leucocephala*. *Trop Anim Health Prod* 44, 1873–1878 (2012). <https://doi.org/10.1007/s11250-012-0150-0>

Bhatta, R., et al. Diet effects on methane production by goats and a comparison between measurement methodologies. *The Journal of Agricultural Science*, 146(6), (2008). 705-715. doi:10.1017/S0021859608007983

Bhatta, R., et al. Comparison of sulfur hexafluoride tracer technique, rumen simulation technique and *in vitro* gas production techniques for methane production from ruminant feeds. In *International Congress Series*. 1293. (2006). 58-61. <https://doi.org/10.1016/j.ics.2006.03.075>

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*, 8(2), 2013, 15-31.

Calazans G. M., et al. Selection of efficient rhizobial symbionts for *Cratylia argentea* in the cerrado biome. *Ciência Rural*, 46 (9): 1594 - 1600. 2016 <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20151137>

Cardoso, A.da S., et al. "Intensification: A key strategy to achieve great animal and environmental beef cattle production sustainability in Brachiaria grasslands." *Sustainability* 12.16 (2020): 6656. <https://doi.org/10.3390/su12166656>

Carmona, J. C., Bolívar, D. M., & Giraldo, L. A. (2005). El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 18(1), 49-63.

Castro-Montoya, J. M.; Dickhoefer, U. The nutritional value of tropical legume forages fed to ruminants as affected by their growth habit and fed form: A systematic review. *Animal Feed Science and Technology*, v. 269, p. 114641, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114641>

Cezar, I. M., et al. (2005). Sistemas de produção de gado de corte no Brasil: uma descrição com ênfase no regime alimentar e no abate. Embrapa Gado de Corte/Documents 151, Campo Grande, MS.

Correa Pinzón, Y. T., e Niño-Mariño Mariño, S. (2010). Evaluación de la calidad nutricional de *Cratylia argentea* sometida a diferentes métodos de conservación, en el piedemonte llanero. Retrieved from <https://ciencia.lasalle.edu.co/zootecnia/180>

Costa, B. M., et al. Avaliação de folhas de *Gliricidia sepium* (Jacq.) Walp por ovinos. *Archivos de zootecnia*, 58(221), (2009). 33-41.

Cottle, D. J., et al. Ruminant enteric methane mitigation: a review. *Animal Production Science*, 51(6), 2011. 491-514.

de Lima Santos, G. C., e Cabral, A. M. D. (2021). Uso de técnicas laboratoriais na avaliação de sistemas de produção de ruminantes em ambientes semiáridos. *Research, Society and Development*, 10(3), e44010313531-e44010313531. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i3.13531>

Detmann, E., et al. Níveis de proteína bruta em suplementos múltiplos para terminação de novilhos mestiços em pastejo durante a época seca: desempenho produtivo e características de carcaça. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 33, 2004, 169-180. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982004000100021>

Dubeux Jr., J.C.B., et al. Sustainable intensification of livestock production on pastures. *Arch. Lat. Am. Prod. Anim.* 2017, 25, 3–

FAO. 2021. The state of the world's land and water resources for food and agriculture – Systems at breaking point. Synthesis report 2021. <https://doi.org/10.4060/cb7654en>

Fernandes, G. A., et al. Influence of the time of the year on the nutritional value of forage consumed by beef cattle raised on grassland. *Scientific Electronic Archives*, 15(5) (2022). <https://doi.org/10.36560/15520221537>

Ferreira, M. de A. et al. Estratégias na suplementação de vacas leiteiras no semiárido do Brasil. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.38, supl. especial, p.322-329, 2009. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982009001300032>

Gama, T. C. et al. Composição bromatológica, digestibilidade *in vitro* e produção de biomassa de leguminosas forrageiras lenhosas cultivadas em solo arenoso. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v. 10, n. 3, p. 560-572, 2009.

Gámez, J. C. L. (2018). Árboles forrajeros, alternativas protéicas para mejorar la producción y calidad de la leche en bovinos doble propósito, departamento de Matagalpa, Nicaragua, 2009-2011. *Revista Científica Tecnológica-UNAN FAREM Matagalpa*, 1(2), 29-36. <https://revistarecientec.unan.edu.ni/index.php/recientec/article/view/10>

Garcia, D.E. et al. Integral evaluation of fodder resources for ruminants in Trujillo state, Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia*, 26, 555-582, 2009. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-72692006000400002&lng=es&nrm=iso

Gerber, P. J., et al. Tackling climate change through livestock - A global assessment of emissions and mitigation opportunities. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2013.

Getachew, G., et al. *In vitro* gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 72(3-4), 261-281. (1998). [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(97\)00189-2](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(97)00189-2)

Guerrero-Rodríguez, J. D., et al. Abundancia, producción de materia seca y valor nutricional de leguminosas arbustivas forrajeras del trópico seco. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 8(II), (2021) DOI: 10.19136/era.a8nII.2881

Guimarães, Y. L. F., et al. Comportamento ingestivo de bovinos em diferentes sistemas de produção – uma revisão sistemática de estudos científicos. *Research, Society and Development*, 9(10), e4859108705. (2020) <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i10.8705>

Hassen, A., et al. Potential use of forage-legume intercropping technologies to adapt to climate-change impacts on mixed crop-livestock systems in Africa: a review. *Regional Environmental Change*, 17(6), 1713-1724. (2017). <https://doi.org/10.1007/s10113-017-1131-7>

Herrera, A. M., et al. Potential of *Gliricidia sepium* (jacq.) Kunth ex Walp. and *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. in silvopastoral systems intercropped with signalgrass [*Urochloa decumbens* (Stapf) RD Webster]. *Agroforestry Systems*, 95(6), 1061-1072. (2021). <https://doi.org/10.1007/s10457-021-00625-7>

Herrero, M., et al. Greenhouse gas mitigation potentials in the livestock sector. *Nature Climate Change*, 6(5), 452–461. (2016). <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/nclimate2925>

- Hill, J., et al. Measuring methane production from ruminants. *Trends in Biotechnology*, 34(1), 26-35. (2016) <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2015.10.004>
- Hook, S. E., et al. Methanogens: methane producers of the rumen and mitigation strategies. *Archaea*, 2010, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2010/945785>
- Ibrahim, M., et al. Promoting intake of *Cratylia argentea* as a dry season supplement for cattle grazing *Hyparrhenia rufa* in the subhumid tropics. *Agroforestry Systems* 51, 167–175 (2001). <https://doi.org/10.1023/A:1010659405632>
- Jingura, R.M. et al. Yield and nutritive value of tropical forage legumes grown in semi-arid parts of Zimbabwe. *Tropical Grassland*, v.35, n.1, p.168-174, 2001.
- Ku-Vera, J. C., et al. Role of Secondary Plant Metabolites on Enteric Methane Mitigation in Ruminants. *Front. Vet. Sci.* 7:584. (2020) doi: 10.3389/fvets.2020.00584
- Lascano C. et al. Cultivar Veranera (*Cratylia argentea* (Desvaux) O. Kuntze) – Leguminosa arbustiva de usos múltiples para zonas com períodos prolongados de seca em Colombia. Cali: CIAT, 2002. 24 p. <https://hdl.handle.net/10568/53952>
- Ligoski, B., et al.. Silage of intercropping corn, palisade grass, and pigeon pea increases protein content and reduces *in vitro* methane production. *Agronomy*, 10(11), 1784. . (2020) <https://doi.org/10.3390/agronomy10111784>
- Louvandini, H., et al. Plantas taniníferas na nutrição de ovinos. *Veterinária e Zootecnia*, 18(4), 176-181. (2011).
- Lüscher, A., et al. Potential of legume-based grassland-livestock systems in Europe: a review. *Grass and Forage Science*, 69, 206–228. <https://doi.org/10.1111/gfs.12124>
- Luz G. A., et al. Molecular characterization of accessions of *Cratylia argentea* (Camaratuba) using ISSR markers. *Genetics and Molecular Research*, 14 (4): 15242-15248. 2015. <http://dx.doi.org/10.4238/2015.November.25.12>
- Makkar, H. P. S. (2003). Effects and fate os tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*, 49, 241-256. [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(03\)00142-1](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(03)00142-1)
- Malafaia, P., e Canella Filho, C. F. 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*, 1-16, (2019).
- Martins, A. D. S., et al. Digestibilidade aparente de dietas contendo milho ou casca de mandioca como fonte energética e farelo de algodão ou levedura como fonte protéica em novilhas. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 29, 269-277, (2000).. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982000000100035>

Mauricio, R. M., et al. A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. *Animal Feed Science and Technology*, 79(4), 321-330. (1999). [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(99\)00033-4](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(99)00033-4)

Menke, K. H., et al. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *The Journal of Agricultural Science*, 93(1), 217-222. (1979) doi:10.1017/S0021859600086305

Minson, D. Forage in ruminant nutrition. Elsevier, 2012.

Molina, I. C., et al. La inclusión de *Leucaena leucocephala* reduce la producción de metano de terneras *Lucerna* alimentadas con *Cynodon plectostachyus* y *Megathyrus maximus*. *Livestock Research for Rural Development*, 27(5), 1-8. (2015).

Monteiro, A. L. G., et al. The role of small ruminants on global climate change. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 40(e43124), 1-11 (2018). <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v40i1.43124>

Moraes, Anibal de et al. Research on Integrated Crop-Livestock Systems in Brazil. *Revista Ciência Agronômica* [online]. 2014, v. 45, n. 5spe [Accessed 26 August 2022], pp. 1024-1031. Available from: <<https://doi.org/10.1590/S1806-66902014000500018>>. Epub 28 Oct 2014. ISSN 1806-6690. <https://doi.org/10.1590/S1806-66902014000500018>.

Moran, D., e Wall, E.. Livestock production and greenhouse gas emissions: Defining the problem and specifying solutions. *Animal Frontiers*, 1(1), 19-25. (2011) <https://doi.org/10.2527/af.2011-0012>

Navas Panadero, A., et al.. Desempeño de bancos forrajeros de *Cratylia argentea* (Desv.) Kuntze, em suelos degradados en el departamento de Casanare. *Rev Med Vet.*, 39, 29-42, (2019). <https://doi.org/10.19052/mv.voll.iss39.3>

Oliveira, E. R., et al. Produção de feno orgânico como estratégia de suplementação volumosa para ruminantes produzidos nas comunidades rurais de mato grosso do sul. *Realização*, 4(8), 87-97 (2017).. <https://doi.org/10.30612/re-ufgd.v4i8.7791>

Ørskov, E. R., e McDonald, I.. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *The Journal of Agricultural Science*, 92(2), 499-503. (1979) doi:10.1017/S0021859600063048

Pereira, J. M., et al.. Production of beef cattle grazing on *Brachiaria brizantha* (Marandu grass) -*Arachis pintoi* (forage peanut cv. Belomonte) mixtures exceeded that on grass monocultures fertilized with 120 kg N/ha. *Grass and Forage Science*, 75(1), 28-36. (2020) <https://doi.org/10.1111/gfs.12463>

Pizarro, E. A.; Coradin, L.. Taller de Trabajo sobre Cratylia (1995, Brasília, DF, Brasil). Potencial del género Cratylia como leguminosa forrajera: Memorias. 1996. [http://ciat-library.ciat.cgiar.org/Articulos_CIAT/Cratylia_02\(783\).pdf](http://ciat-library.ciat.cgiar.org/Articulos_CIAT/Cratylia_02(783).pdf)

Queiroz, L. P. de. O gênero Cratylia Martius ex Bentham (LEGUMINOSAE: PAPILIONOIDEAE: PHASEOLEAE): revisão taxonômica e aspectos biológicos. Campinas: UNICAMP, 1991.129p.

Queiroz, L. P.; Coradin, L. Biogeografia de Cratylia e áreas prioritárias para coleta. En: Potencial del Género Cratylia como Leguminosa Forrajera. Pizarro, E. A. & Coradin, L. (eds.). EMBRAPA, CENARGEN, CPAC y CIAT, Memorias Taller sobre Cratylia realizado del 19 al 20 de julio de 1995 em Brasília, Brasil. p. 1-28.

Raaflaub, M.; Lascano, C. E. The effect of wilting and drying on intake rate and acceptability by sheep of the shrub legume Cratylia argentea. 1995. <https://hdl.handle.net/10568/44166>

Rodríguez, A. A., et al... Effect of the physical form of the tropical legumes Cratylia argentea (Desv.) Kuntze, Calliandra calothyrsus Meisn., and Leucaena leucocephala (Lam. de Wit) on selective consumption by lambs. The Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico, 99(2), 167-178, (2015).

Russo, R. O.; Botero, R. Nitrogen fixing trees for animal production on acid soils. Nitrogen fixing trees for acid soils: a field manual. Nitrogen Fixing Tree Association (NFTA). Morrilton, Arkansas, p. 31-39, 1996.

Rymer, C., et al. *In vitro* cumulative gas production techniques: History, methodological considerations and challenges. Animal Feed Science and Technology, 123, 9-30, (2005).. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.04.055>

Sánchez, N.R., Ledin, I. Effect of feeding different levels of foliage from Cratylia argentea to creole dairy cows on intake, digestibility, milk production and milk composition. Trop Anim Health Prod 38, 343–351 (2006). <https://doi.org/10.1007/s11250-006-4314-7>

Santana-Neto, J. A., et al. Leguminosas adaptadas como alternativa alimentar para ovinos no semiárido. Rev. Cienc. Agroveterinárias, 14(2), 191-200, (2015)

Silva, A. D., Santos, F. D. S., Barretto, V. D. M., de Freitas, R. J., & Kluthcouski, J. (2018). Recuperação de pastagem degradada pelo consórcio de milho, Urochloa brizantha cv. Marandu e guandu. Journal of Neotropical Agriculture, 5(2), 39-47.

Silva, M. E.; et al. Anthelmintic efficacy of Cratylia argentea (Desv.) Kuntze against the gastrointestinal nematodes of sheep. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 38, n. 5, p. 3105-3112, 2017. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2017v38n5p3105>

Silva, P. C. G., et al. Caracterização do semiárido brasileiro: Fatores naturais e humanos. In: Sá, I. B.; Silva, P. C. G, Semiárido brasileiro: pesquisa desenvolvimento e inovação – Petrolina: Embrapa Semiárido, 17-48, (2010).

Sobrinho, J. M.; Nunes, M. R.. Estudos desenvolvidos pela Empresa Goiana de pesquisa agropecuária com *Cratylia argentea*. 1996. <https://hdl.handle.net/10568/82021>

Souza, A. A., e G. B. Espíndola. Efeito da suplementação com feno de leucena (*Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit) durante a estação seca sobre o desenvolvimento ponderal de ovinos. *Rev. Bras. Zootec.* 28(6):1424-1429, (1999). <https://doi.org/10.1590/S1516-35981999000600034>

Storm, I. M. L. D., et al. (2012). Methods for measuring and estimating methane emission from ruminants. *Animals*, 2(2), 160–183. <https://doi.org/10.3390/ani2020160>

Valles-de la Mora, B.; et al. Live-weight gains of Holstein× Zebu heifers grazing a *Cratylia argentea*/Toledo-grass (*Brachiaria brizantha*) association in the Mexican humid tropics. *Agroforestry Systems*, v. 91, n. 6, p. 1057-1068, 2017. <https://doi.org/10.1007/s10457-016-9980-5>

Wanapat, M., et al. Sunnhemp (*Crotalaria juncea*, L.) silage can enrich rumen fermentation process, microbial protein synthesis, and nitrogen utilization efficiency in beef cattle crossbreds. *Trop Anim Health Prod* 53, 187 (2021). <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02628-z>

Williams, B. A. Cumulative gas production techniques for forage evaluation. In: Givens, D. I.; Owen, E.; Axford, R. F. E.; Omed, H. M. (Ed). (2000). *Forage evaluation in ruminant nutrition*. Wallingford: CAB International Publishing, 189-214.

Xavier, D. F. et al. Cratília: nova opção forrageira para o período seco do ano. Embrapa Gado de Leite-Comunicado Técnico (INFOTECA-E), 2003.

Yue, X.L.; Gao, Q.X. (2018). Contributions of natural systems and human activity to greenhouse gas emissions. *Advances in Climate Change Research*, 9(4), 243–252. <https://doi.org/10.1016/j.accre.2018.12.003>

Zotti, C. A., e Paulino, V. T. (2009). Metano na produção animal: Emissão e minimização de seu impacto. *PUBVET*, 3, 641.

3. CAPÍTULO II– ARTIGO I: SUBMETIDO NA PLOS ONE: Full title: Could *Cratylia argentea* replace Tifton 85 hay on finishing lamb diets in tropical areas?

Short title: *Cratylia* as a potential replacement to Tifton 85 hay on finishing lamb diets

Elaine Cristina Teixeira^{1*}, Lucas Freires Abreu², Fernando Antônio de Souza², Walter José Rodrigues Matrangolo³, Karina Toledo da Silva⁴, Luciano Soares de Lima², Hemilly Cristina Menezes de Sa², Ângela Maria Quintão Lana².

¹ Departamento de Engenharia Florestal, Universidade Federal de São João del Rei, Sete Lagoas – MG, 35701-970, Brasil

² Departamento de Zootecnia, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte - MG, 31270-901, Brasil

³ Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG 35701-970, Brasil

⁴ Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG Centro Oeste, Prudente de Moraes, MG 35715-000, Brasil

*Corresponding author: elaineteixeira@ufsj.edu.br

Author contributions: **Elaine Cristina Teixeira:** Conceptualization, Investigation, Visualization, Writing – original draft, Project administration, **Lucas Freires Abreu:** Writing – review & editing, Investigation, **Fernando Antônio de Souza:** Formal analysis, Software, Data Curation, **Walter José Rodrigues Matrangolo:** Supervision, Resources, **Karina Toledo da Silva:** Supervision, Resources, **Luciano Soares de Lima:** Conceptualization, Methodology, **Hemilly Cristina Menezes de Sá:** Conceptualization, Methodology, **Ângela Maria Quintão Lana:** Supervision, Conceptualization, Resources, Funding acquisition, Writing – review & editing. All authors have read and approved the manuscript.

3.1. Abstract

Legumes shrubs such as *Cratylia argentea* have an ability to thrive in environments with low water availability and poor soil. On the other hand, forage grasses such as Tifton 85 have a greater demand for inputs to be productive. The objective of this study was to evaluate the performance of finishing Lacaune lambs fed *Cratylia argentea* hay as an alternative to Tifton 85 (*Cynodon* spp). Twenty-four Lacaune lambs aged between five

and six months (average body weight [BW] 21.50 ± 3.38 kg) were arranged in a split-plot randomized block design. The plots consisted of different Cratylia to Tifton 85 hay proportions (0, 20%, 40%, or 100%, dry matter [DM] basis) as a roughage replacement in the total diet. The subplots represented two evaluation times, entitled “initial period” and “final period”, which consisted of the early seven days of total feces and urine collection, and the last seven days of the experiment, respectively. The lambs were blocked by weight with six replicates per treatment. The results show that the level of Tifton 85 replacement for Cratylia hay in the roughage portion of the lamb diet did not influence ($P > 0.05$) weight gain (WG), dry matter intake or dry matter digestibility; feed conversion, feed efficiency; and the evaluated nitrogen balance variables. The digestibility coefficient of neutral detergent fiber decreased linearly as Tifton 85 replacement for Cratylia level was increased, which probably happened due to the presence of highly lignified material within the Cratylia hay. However, the alternative legume maintained animal performance of Tifton 85. In conclusion, Cratylia hay can be recommended as a potential substitute for Tifton 85 hay, which requires greater inputs for the production. Cratylia may be considered a feeding strategy for livestock production, especially for smallholder livestock systems and regions with unfavorable soil and climate.

Keywords: forage conservation, legume digestibility, ruminant feeding, shrub legume, *Cratylia argentea*

3.2. Introduction

Tifton 85 (*Cynodon* spp.) is one of the major grasses used for hay production in Brazil (Fonseca and Martuscello, 2010). Nonetheless, tropical grasses such as Tifton 85 can have its feed value considerably reduced due to lower digestibility and quality over water deficit periods. Moreover, its yield and use are linked to the adoption of management practices associated with the intensification of inputs use such as chemical fertilization (Jaramillo et al., 2018) and complementary irrigation.

The increased use of chemical fertilizers is linked to greater greenhouse gas (GHG) emissions and depletion of water resources, which happens due to nitrous oxide emissions and runoff, respectively (Snyder et al., 2009), thus, decreasing the sustainability of livestock systems. In the same context, a rise in nitrogen fertilizer costs

have led nitrogen (N) fixing crops, such as legume shrubs, to become more attractive for producers, particularly of smallholder livestock systems.

Several leguminous shrubs and trees have been identified as feed alternatives for ruminants in tropical areas (Castro-Montoya and Dickhoefer, 2020; Wanapa et al., 2021). However, its use is yet to be adopted, possibly due to a lack of consensus on the most suitable species and how to incorporate them into tropical production systems (Ates et al., 2018; Castro-Montoya and Dickhoefer, 2020).

Cratylia argentea (Cratylia) is a perennial legume shrub with a feeding potential for livestock in tropical areas. The species is native to the Brazilian Savanna (*Cerrado*) but is also found in other biomes such as the *Amazonian Rainforest* and *Caatinga* (Queiroz, 1991; Queiroz and Coradin, 1996). Although its Brazilian origin, Cratylia have previously been planted for livestock feeding on other countries such as Mexico (Valles-de la Mora et al., 2017), Costa Rica (Ibrahim et al., 2001) and Colombia (Hess et al., 2004).

Cratylia is very competitive not only in terms of mass production but largely because of its ability to symbiotically associate with nitrogen-fixing bacteria as well. It has great crude protein (CP) concentration and yielding potential, a symbiotic ability to fix atmospheric N (Matrangolo et al., 2018). Cratylia can maintain green leaves in critical periods of water deficit, thanks to its deep and spread root system (Matrangolo et al., 2018). In their initial growth phase, the Cratylia rootlets develop an external tissue similar to a cork, which helps to minimize water loss (Matrangolo et al., 2018). Those features allow Cratylia to keep growing during the dry season, despite being grazed or harvested (Argel and Lascano, 1998). The same authors reported that 30-40% of Cratylia's yield may occur in the dry season, which makes a great feedstock to fill forage gaps in tropical regions. Another important characteristic of this legume is its tolerance to acidic soils with high aluminum saturation and low natural fertility (Maas, 1995; Luz et al., 2015). Dry biomass accumulation by this legume ranges from 14 to 21 t ha⁻¹ yr⁻¹, without fertilizer application or supplemental water, as reported in previous research (Pizarro et al., 1996).

Several studies have demonstrated the benefits of including legume shrubs as an alternative for diet and performance improvement on ruminants (Hess et al., 2004; Valles-de la Mora et al., 2017; Herrera et al., 2021). Those studies found that these plants constitute a path towards sustainability, whether through direct grazing or for the enrichment of diets supplied in a trough (Ates et al., 2018; Castro-Montoya and

Dickhoefer, 2020). Valles-de la Mora et al. (2017) evaluated the development of grazing heifers (F1 Holstein x Zebu) on *Brachiaria brizantha* cv. Toledo alone vs the association of *Cratylia-Brachiaria brizantha* Toledo and observed a superior weight gain on animals grazing the *Cratylia* treatment. The same study also observed CP levels of over 20% in *Cratylia*, which were very consistent throughout the experiment. Andersson et al. (2006) evaluated the nutritive value of 38 *Cratylia* accessions harvested at 8 weeks of regrowth and found a mean CP of 20,6% and 22% and *in vitro* digestible dry matter (IVDDM) of 64,1% and 64,9% for dry and rainy season, respectively. Ibrahim et al. (2001) evaluated the association of *Hyparrhenia rufa* pasture and fresh *Cratylia argentea* as a protein supplement with or without molasses (diluted in the water trough) for dual purpose cattle in the dry season of Costa Rica. The results showed an increase of IVDDM from 55.6 to 60.8% ($P < 0.01$) when *Cratylia* was associated with sprayed molasses. In addition, there was a 43% increase on intake of *Cratylia*, when treated with molasses, which also resulted in a greater intake ($>13\%$; $P < 0.05$) of *H. rufa*.

With that being said, it is assumed that *Cratylia* hay might be an alternative to hay of forage grasses in the diet of finishing lambs. The objective of this study was to evaluate the performance of finishing lambs fed diets with increasing levels of *Cratylia* hay to replace Tifton 85 hay as the roughage source.

3.3. Materials and methods

3.3.1. Study area

The study was conducted at the Brazilian Agricultural Research Corporation – Embrapa Milho e Sorgo (Sete Lagoas, Minas Gerais, Brazil; 19°28' S; 44°15'W, at 732 m altitude), where the *Cratylia* was planted for hay, and the Laboratory of Animal Metabolism and Calorimetry (LAMA/LACA) at the Veterinary School of the Federal University of Minas Gerais (EV-UFMG), Belo Horizonte, MG, where the lambs and infrastructure for the feeding experiment were located.

The unit where *Cratylia* was planted is in a region with a Cwa climate type according to the Köppen classification system, i.e., savanna climate, with dry winters and humid-rainy summers. *Cratylia* was transplanted from a growth chamber to a research site on March 28th 2013, and several trials were conducted in the area until 2019 when the current research began. *Cratylia*'s shrubs were planted in an area of 105 m², spaced at 1 m between rows and a total of 126 plants, or 12,000 plants/ha⁻¹. The area size was determined based on the number of available *Cratylia*'s sprigs found available with

research peers before planting, since commercial seeds were not available at the time. The soil test for the area where *Cratylia* was planted for hay is described in Table 3.1. The *Cratylia* hay was produced entirely without the use of chemical fertilizers based on the potentially autogamous characteristic of the legume and to maintain the low production cost (Andersson et al., 2006). Tifton 85 hay was purchased from a local dealer and presented a dry matter (DM) of 91.25%, CP 13.2% and NDF 68.98%, which was used to formulate the feed mixture. The agronomical accessions for the harvested *Cratylia* hay are presented in Table 3.2.

Table 3.1: Soil test result (0-20 cm) and planting date of *Cratylia argentea*

Planting date	pH	----- (mg kg ⁻¹) -----			OM (dag kg ⁻¹)
		NO ₃ -N	P	K	
28/03/13	5.5	18	2.18	39.26	3.44

Soil pH was measured using a 1:1 soil:water, NO₃-N was measured using a 2M KCl extract, and plant available P and K were extracted using a Mehlich-3 solution (Mehlich, 1984).

Table 3.2 Agronomical accessions for the harvested *Cratylia argentea* hay.

	DM	CP	ADF	ADIN	NDF	NDIN
	93.2	19.6	41.6	0.492	58.4	2.28
sd	1.28	3.45	5.52	0.100	5.40	1.19

DM, dry matter; CP, crude protein; ADF, acid detergent fiber; ADIN, acid detergent insoluble nitrogen, NDF, neutral detergent fiber; NDIN, neutral detergent insoluble nitrogen; sd, standard deviation. $n = 530$

3.3.2. *Cratylia* hay and feed management

To establish a uniform regrowth, all *Cratylia*'s plots were mowed in January 2019. The first harvest for data collection happened in April of the same year and was repeated every other 90 days, until April 2020 (Table 3.3), leaving a 25 cm stubble height (Pinzón and Mariño, 2010), without the selection of less lignified material. During the haymaking period, temperatures were between 17.74 and 29.24 °C, average rainfall was 885 mm, and relative humidity was 66.56% (NASA/POWER, 2022).

Table 3.3: *Cratylia argentea* harvest dates.

	2019	2020
Harvest 1	04-02	Harvest 4 01-09
Harvest 2	07-10	Harvest 5 04-14
Harvest 3	10-07	- -

To produce enough forage mass for the totality of animals, after each harvest, the produced hay was stored in raffia bags and packed in drums to avoid contamination, until the beginning of the feeding treatments at LAMA/LACA, which started in November 2020 and lasted until January 2020. All harvested material was cut through a forage chopper then spread in a 10-cm layer on a cemented area for drying in the sun and turned frequently for drying to the point of hay, which happened when the *Cratylia* reached a DM content of 85%. The interval of exposure to the sun for the material to reach the point of hay varied between 48 and 72 h, depending on the weather conditions. During the night, or in case of rain, the material was covered with canvas to prevent moisture.

The Tifton 85 and *Cratylia* hay were ground to a particle size of 5 mm, homogenized, and then mixed with the other ingredients of the experimental diets according to the replacement levels (Table 3.4), as described by Lima (2016).

Table 3.4.: Percentage and chemical composition of experimental diets.

Variable	Replacement of Tifton 85 with <i>C. argentea</i>			
	0%	20%	40%	100%
Ingredient (g/kg DM)				
<i>Cratylia argentea</i> hay	-	100.0	200.0	441.3
Tifton 85 hay	549.9	425.4	300.7	-
Ground maize	237.2	266.4	295.6	366.1
Soybean meal	175.4	170.9	166.4	155.5
Mineral for sheep ¹	15.0	15.0	15.0	15.0
Limestone	10.5	10.5	10.8	11.3
Dicalcium phosphate	7.0	6.8	6.5	5.8
Sodium bicarbonate	5.0	5.0	5.0	5.0
Chemical composition				
Dry matter (g/kg)	908.4	913.2	903.3	903.0
Organic matter (g/kg DM)	919.9	923.1	922.4	923.9
Ash (g/kg DM)	80.1	76.9	77.6	76.1
Crude protein (g/kg DM)	178.4	188.8	180.7	182.2
Ether extract (g/kg DM)	24.9	13.0	16.3	17.7
Neutral detergent fiber (g/kg DM)	433.4	426.0	390.1	352.5
Total carbohydrates (g/kg DM)	716.6	721.4	725.4	724.0

Tortuga® (DSM) Mineral for sheep (content per kg of product): zinc - 3,800 mg; sodium - 147 g; manganese - 2,000 mg; cobalt - 15 mg; copper - 590 mg; sulfur - 18 g; selenium - 20 mg; iodine - 50 mg; chromium - 20 mg; molybdenum - 300 mg; calcium - 110 g; calcium (max.) - 135 g; fluorine (max.) - 870 mg; phosphorus - 87 g. DM – dry matter, NM – natural matter

3.3.3. Feeding trial

Twenty-four Lacaune lambs aged between five and six months (21.5 ± 3.38 kg) were divided into groups according to their initial weight (Table 3.5). The lambs were housed in individual metabolic cages (1.5×0.7 m) equipped with a feeding and water trough, and a system for separate collection of feces and urine, inside a covered masonry shed with an exhaust system at LAMA/LACA laboratories.

Table 3.5.: Block distribution of lambs.

Block	Category	Mean weight (kg)	Standard deviation	Replicates per treatment
1	Light	15.9	0.580	1
2	Medium-light	20.6	0.970	2
3	Medium-heavy	23.5	0.640	2
4	Heavy	26.0	1.21	1

The total experimental period was 64 days, the first 21 of which were used as a period of adaptation to the experimental diets and cage management, followed by 43 days of intake and weight gain (WG) measurements. Digestibility trials were conducted in two periods, here entitled “initial” and “final”. The initial period consisted of 7 days of total collection of feces and urine, which began after the adaptation period (5 to 6 months, 26.8 ± 3.26 kg), and the final period began in the last 7 days of the experiment (6 to 7 months, 37.5 ± 3.26 kg).

Feed was supplied twice daily (08h00 and 14h00) for ad libitum intake (200 g/kg orts, as-fed basis). Supplied feed and orts were weighed daily on an electronic scale. Each of the diets was composed of different levels of Cratylia hay to replace Tifton 85 hay (Table 4). The diets were formulated to meet the requirements for finishing lambs with a DM intake of 4% BW and an average daily gain (ADG) of 200 g, thus, a 16% CP and

total digestible nutrients (TDN) of 75%, following the NRC (2007). All diets were supplied as a total mixture ratio and adjusted daily allowing up to 20% orts.

Live weight was measured weekly from the beginning of the experimental period, in the morning period before the feed was supplied, using a platform scale. Initial live weight (ILW) was determined immediately after the end of the adaptation period, and final live weight (FLW) at 43 days of the experiment. The ADG was determined by the following equation: $ADG = ((FLW - ILW) / (\text{Number of days in the feedlot}))$. Dry matter intake (DMI) was individually calculated as the difference between the amount of feed supplied and daily orts.

The digestibility trial involved total collection of feces and urine on two occasions: (1) in the first week and (2) in the last week of the experimental period. Samples of supplied feed, orts, and feces were analyzed for the dry matter (DM), ash, and nitrogen (N) contents according to AOAC (1990) and the neutral detergent fiber (NDF) content according to Van Soest et al. (1991). The total tract apparent digestibility coefficient (ADC) was determined as follows: $ADC = ([OF - \text{Intake} - CF] / [OF - \text{Intake}]) \times 100$, which was proposed by Maynard et al. (1984), where AD = apparent digestibility; OF = offered feed [(offered feed amount in kg DM) x (offered nutrient content in % DM)/100]; Intake = orts [(removed orts feed in kg DM) x (orts nutrient content in % DM)/100]; and CF = fecal output [(amount of collected feces in kg DM) x (collected feces content in % DM)/100].

Urine was collected in plastic containers containing a hydrochloric acid solution (6N HCl) to keep the urine pH below 2 and prevent the loss of nitrogen by volatilization. The total collected material was quantified, homogenized, and filtered through cotton gauze and a 10% sample was taken and stored at -18 °C. The nitrogen content of the sample was determined by the micro Kjeldahl method (Campos et al., 2004). Nitrogen balance was calculated according to Gentil et al. (2011).

3.3.4. Statistical analyses

The 24 lambs were allocated in a randomized block design with four blocks, where each block was randomly assigned with a dietary treatment of 0, 20, 40, and 100% Cratylia hay replacing Tifton 85 hay in the diet, and six replicates. The effect of treatments was submitted to an analysis of variance (ANOVA), with the following general model:

$$Y_{ijkl} = \mu + \tau_i + \gamma_k + \epsilon_{ikl} + \beta_j + (\tau\beta)_{ij} + \epsilon_{ijkl},$$

where Y_{ijkl} = value observed at the Tifton 85 replacement level for Cratylia hay level i , in block k , replicate l , and subplot j ; μ = mean overall effect; τ_i = effect of Tifton 85 replacement level for Cratylia hay i ; γ_k = effect of block k ; ϵ_{ikl} = error attributed to the plot Y_{ikl} ($\epsilon_{ikl} \sim N[\mu, \sigma^2]$); β_j = effect of collection period j ; $(\tau\beta)_{ij}$ = interaction between Tifton 85 replacement level for Cratylia hay i and collection period j ; and ϵ_{ijkl} = error attributed to subplot Y_{ijk} ($\epsilon_{ijkl} \sim N[\mu, \sigma^2]$).

For performance variables, the fits of polynomial regression models were tested to obtain the equation as a function of the Tifton 85 replacement levels for Cratylia hay or collection periods.

Analyses were carried out using R statistical analysis software (Core Team, 2021). For all analyses, the statistical assumptions of normality and homoscedasticity were evaluated by the Shapiro-Wilk and Bartlett tests, respectively. An effect was considered significant when the α error was less than 5%.

3.4. Results

3.4.1. Intake and digestibility of Cratylia hay

Dry matter intake did not differ ($P > 0.05$) in response to Tifton 85 replacement levels for Cratylia (Table 3.6). However, there was an increase of 12.5%, 17.64%, 18.75% and 16.67% in DMI with the respective increase in the proportions (0%, 20%, 30%, 40% and 100%) of Cratylia in the final collection period ($P < 0.05$), compared with the initial collection period.

Table 3.6: Intake and digestibility of dry matter and nutrients, feed conversion, and feed efficiency of feedlot Lacaune lambs fed diets containing different levels of *C. argentea* hay as a replacement Tifton 85 hay at two evaluation times.

Variable	0%		20%		40%		100%		SE	P-value		
	Initial	Final	Initial	Final	Initial	Final	Initial	Final		L	C	L×C
Intake (kg/day)												
Dry matter	1.4	1.6	1.4	1.7	1.3	1.6	1.5	1.8	0.17	0.548	<0.001	0.617
Digestibility (g/kg DM)												

Dry matter	693.1	690.1	690.0	702.9	680.3	694.7	663.8	679.6	0.96	0.055	0.08	0.606
Organic matter	715.1	716.2	712.2	727.2	701.6	715.6	681.7	700.1	0.89	0.017	0.030	0.678
Crude protein	743.8	722.5	750.2	745.2	724.9	729.6	710.9	713.4	0.87	0.012	0.409	0.386
NDF	606.0	604.2	571.3	609.1	512.9	538.8	404.3	454.0	1.58	<0.001	0.018	0.418
Feed conversion	5.8	6.5	5.5	7.2	5.9	6.7	6.0	7.3	0.48	0.893	<0.001	0.061
Feed efficiency	0.2	0.2	0.2	0.1	0.2	0.1	0.2	0.1	0.01	0.748	<0.001	0.141

SE = standard error; L = level of Tifton 85 replacement for *C. argentea* hay in the roughage to replace Tifton 85 hay; C = collection period; L×C = interaction.

As far as the digestibility coefficient of DM, no difference ($P > 0.05$) was observed with Tifton 85 replacement levels for Cratylia hay or collection period. The digestibility coefficients of OM showed a significant ($P < 0.05$) decrease from 715.1 to 681.7 g/kg DM, with increased proportions of Cratylia in the roughage portion of the diet to replace Tifton 85. The same trend was observed on CP, wherein greater proportions of Cratylia decreased ($P < 0.05$) the CP digestibility from 743.8 to 710.9 g/kg DM, from control to the treatment with 100% of Cratylia hay. Regarding NDF, there was also a steady decrease ($P < 0.05$) in digestibility, which ranged from 606 to 404.3 g/kg DM, with increased levels of Cratylia.

In respect to collection periods, the digestibility coefficient of OM had increased ($P < 0.05$) from 712.2 to 727.2, 701.6 to 715.6, and 681.7 to 700.1 g/kg DM at 20%, 40%, and 100% from initial to the final collection period, respectively. The same was observed for NDF, which the digestibility increased ($P < 0.05$) from 571.3 to 609.1, 512.9 to 538.8, 404.3 to 454.0 g/kg DM at 20%, 40%, and 100% from initial to the final collection period, respectively. Nevertheless, no significant differences between collection periods were observed on digestibility coefficients of DM and CP.

The feed conversion (FC) and feed efficiency (FE) did not differ ($P > 0.05$) with Tifton 85 replacement levels for Cratylia's hay. However, FC was greater in the final period ($P < 0.05$), while FE was greater in the initial period.

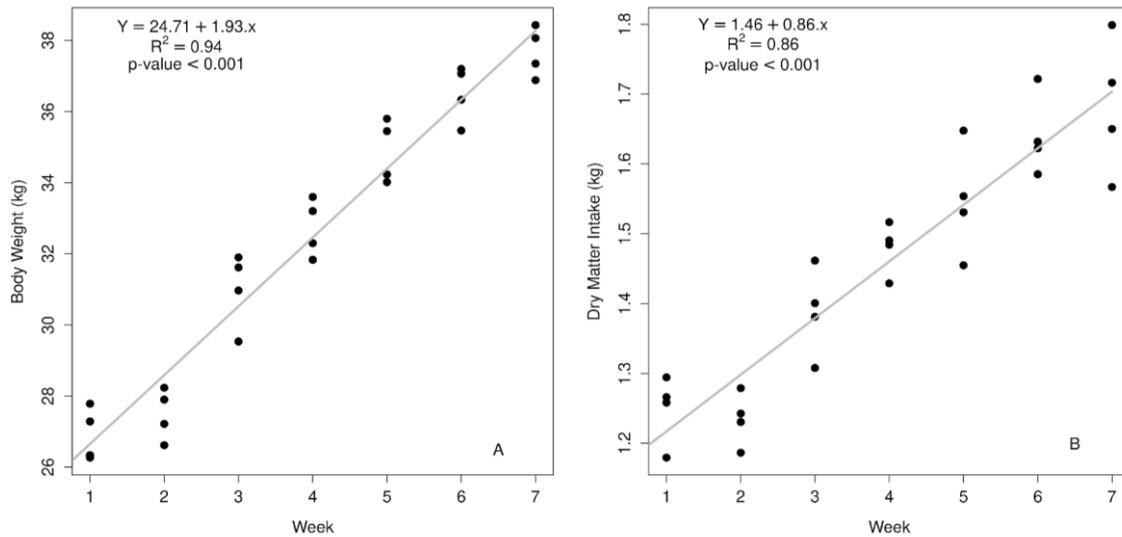


Figure 3.1: Body Weight of lambs (A) as a function of weeks of hay feeding and Dry Matter Intake of the lambs (B) as a function of weeks of hay feeding.

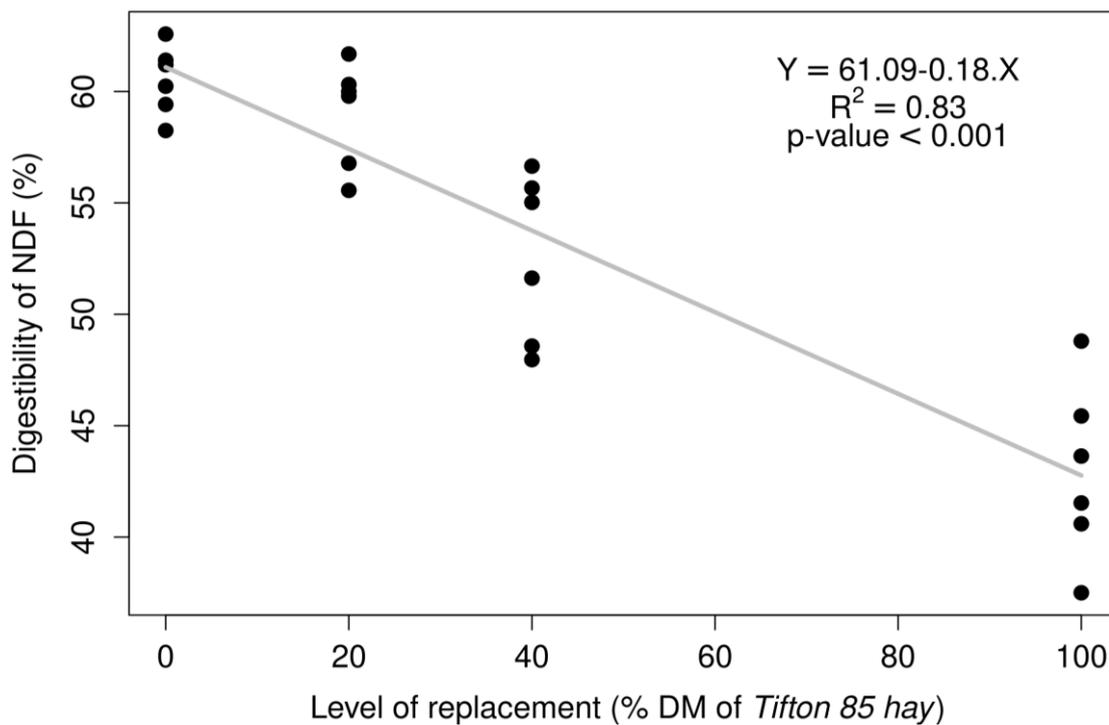


Figure 3.2: Digestibility of neutral detergent fiber as a function of *Tifton 85* hay (% DM) replacement levels in the diet.

Dry matter intake was positively ($P < 0.01$) influenced by weeks of hay feeding, whereas DMI was increased by 0.858 g per animal per week (Fig. 3.1A). As far as WG,

a similar pattern was observed, considering that WG increased 1.93 kg per animal per week ($P < 0,01$) (Fig. 3.1B).

The digestibility coefficient of NDF decreased linearly by 0.18% every week with the Tifton 85 replacement for Cratylia hay (% DM) in the diet (Fig. 3.2). Therefore, as estimated by the regression equation, the replacement levels of 20, 40, and 100% would cause a decrease on NDF digestibility by 57.42, 53.76, and 42.77%, respectively. Although, this behavior did not negatively influence lamb performance, an accentuated decrease in NDF digestibility was observed at 100% replacement of Tifton 85 with the Cratylia.

Table 3.7.: Nitrogen balance in feedlot Lacaune lambs fed diets containing different levels of *C. argentea* hay replacing Tifton 85 hay at two evaluation times.

Variable	0%		20%		40%		100%		SE	P-value		
	Initial	Final	Initial	Final	Initial	Final	Initial	Final		L	C	L×C
N intake (g/day)	40.4	45.3	43.1	52.5	41.9	48.1	43.2	52.6	4.34	0.395	< 0.001	0.537
Fecal N (g/day)	10.4	12.6	10.8	13.4	11.1	13.0	12.4	15.0	1.18	0.294	< 0.001	0.939
Absorbed N (g/day)	30.0	32.7	32.3	39.1	30.8	35.1	30.7	37.6	3.22	0.286	< 0.001	0.392
Urinary N (g/day)	9.5	14.9	9.3	13.6	8.7	13.8	7.3	12.4	1.72	0.259	< 0.001	0.953
Retained N (g/day)	20.8	18.1	23.2	25.7	23.9	23.7	23.4	25.1	2.20	0.258	0.779	0.426
Retained N/Absorbed N(%)	68.8	54.7	71.8	65.5	72.0	61.1	75.7	66.8	3.68	0.119	< 0.001	0.651
Retained N/N intake (%)	51.5	39.8	53.0	48.8	55.0	49.7	53.8	47.6	3.21	0.255	< 0.001	0.500

SE = standard error; L = level of Tifton 85 replacement levels for *C. argentea* hay in the roughage to replace Tifton 85 hay; C = collection period; L×C = interaction.

3.4.2. Effects of *Cratylia* hay on nitrogen variables

The level of Tifton 85 replacement for *Cratylia* in the roughage did not affect any of the nitrogen balance variables ($P > 0.05$) (Table 7). As far as the collection period, the N intake, fecal N, absorbed N, and urinary N were greater ($P < 0.05$) in the final collection period. On the other hand, the proportion (%) of Retained to Absorbed N and Retained N to N Intake was greater ($P < 0.05$) in the initial period. In regard to Retained N (g/day), no changes ($P > 0.05$) were observed according to collection periods.

3.5. Discussion

3.5.1. Lambs' performance on *Cratylia argentea* hay

In most of the measured parameters, the evaluated lambs performed similarly under diets with Tifton 85 replacement for *Cratylia* hay. Therefore, revealing the capability of *Cratylia* to be used as animal feed. The use of alternative feedstuff has been a common practice to decrease production cost on livestock systems (Awawdeh, 2011). Producers without the necessary inputs to grow or purchase Tifton 85 hay, may have an alternative with *Cratylia*, which is a sustainable feedstuff, since it does not require the use of

chemical N fertilizers for high yield and quality biomass production (Andersson et al., 2006).

For the variables of DMI, dry matter digestibility (DMD), FC and FE, Cratylia and Tifton 85 performed the same as well. Dry matter intake was not related to differences in digestibility between the two forage species since the dietary replacement of Tifton 85 for Cratylia did not increase DMD. The particle size uniformity of the diet supplied to the lambs did not allow them to select ingredients, which explains the absence of differences in DMI. Thornton and Minson (1973) reported that the voluntary intake of tropical legumes (when not limited by anti-nutritional factors) is generally greater than that of equally digestible grasses, which may be a consequence of a shorter retention time of legumes in the digestive tract. Likewise, feed particle size may have also influenced the response of the DM digestibility coefficient. The effectiveness of fiber was broken by the particle size of the roughage, so the intestinal passage rate could not reveal possible interactions between the roughages used (Tifton 85 or Cratylia hay). The digestibility coefficient values found in this study are similar to those described by other authors (da Trindade Silva et al., 2021), which included shrub hay and tree legume species as roughage sources in the total diet of feedlot lambs.

The greater DMI with weeks of hay feeding present in this study might be related to an increase in energy required for maintenance, compared to earlier periods of lower BW (Brody, 1945). Cabral et al. (2008) have also found increased DMI and WG in animals with increased weight when evaluating confined lambs. The increased WG supports the findings that Cratylia did not negatively affect the performance on evaluated lambs. The addition of Cratylia on animal feeds was previously reported to increase ($P < 0.05$) feed intake from 6.6 to 7.8 and 8.7 kg DM/day, when creole dairy cows were fed sorghum silage alone and supplementation with 2 and 3 kg DM of Cratylia, respectively (Sanchez and Ledin, 2006).

3.5.2. Digestibility

In the matter of OM, CP and NDF digestibility, the increased levels of Cratylia resulted in lower digestibility. Pinzón and Mariño (2010) also reported lower CP and NDF digestibility coefficients in Cratylia hay compared with whole-plant silage or meal. The greater NDF and acid detergent fiber (ADF) contents and lower digestibility of sun-dried forages are attributed to the negative effects of ultraviolet radiation, which can induce the Maillard reaction and thereby increase fiber-bound protein (Van Soest et al.,

1991; Dzwonka et al., 1995). As an example, nitrogen contents bound to the plant cell wall, which become unavailable to the rumen microbiota (Harper and McNeil, 2015). Moreover, the plants used for hay production were harvested for high DM production (90 days of regrowth) and cut as a whole, including stems and senescent leaves. Therefore, there was no selection for the less lignified material, which may have contributed to greater indigestible fiber content in the diet.

The NDF content of the plants at the time of harvest in this study was similar to the 67.54% and 65.68% found by Herrera and Arguedas (2016) in *Cratylia* plants harvested at 90 days in the rainy and dry seasons, respectively. It is important to highlight that the lignin present in shrub and tree legumes, as in the case of *Cratylia*, may be less degradable in the rumen compared with the lignin of grasses (Harper and McNeil, 2015). However, this knowledge is derived from reports of studies with temperate forages, so the differential action of lignin in tropical legumes is yet to be validated (Castro-Montoya and Dickhoefer, 2020).

3.5.3. Feed conversion and feed efficiency

The greater FC and lower FE in the final period might be attributed to the fact that lambs on the last seven days before finishing were heavier and had a lower growing factor, which limits FE. Pires et al. (2000) suggest that older lambs in the finishing phase tend to have different nutrient demands and composition of weight gain (e.g., more fat than muscle gain), thus, lower FE. Polli et al. (2019) evaluated finishing lambs in lower and higher heat conditions and found a FE decrease of 12.8% and 20.4% on feedlot lambs as the finishing period progressed, respectively. Bowen et al. (2006) implied that FC might be associated with several factors including feed intake, increased age and liveweight of the animal, which explains the findings of this research.

3.5.4. Nitrogen variables

About the increase in N variables at the final collection period (N intake, Fecal N, Absorbed N, Urinary N), it is assumed that greater N content on *Cratylia* than Tifton 85 (Table 2) justifies the finding. Hess et al. (2004) described greater urinary N excretion in lambs fed diets supplemented with dry leaves of *Cratylia*, in comparison with the group fed a basal diet with hay of *Urochloa dictyoneura* cv. Lanero. The authors relate this result to the increased urine volume and intake of available water. A similar behavior was observed in the present experiment, which N excretion was greater in the urine than in the feces, especially in the heavier lambs. The greater proportion (%) of Retained to

Absorbed N and Retained N to N Intake in the initial period possibly happened due to a greater demand of the growing lambs for proteins. Since part of the N further is synthesized into proteins by rumen microorganisms (Aquino et al., 2007), to supply the protein demand and increase muscle growth (Prado et al., 2014; Rezaei et al., 2014).

3.6. Conclusion

Overall, the replacement of Tifton 85 for Cratylia hay tested demonstrated that lamb performance can be maintained, regardless of replacement level used in the diets. Thus, might be recommended as a food intervention strategy to support livestock production at no cost of chemical fertilizers, since none was used for Cratylia hay production.

The decreased digestibility of NDF, OM and CP on Cratylia's hay may be linked to the method used to preserve the feed and harvest timing. Therefore, further research is expected to identify the parameters that influenced the chemical characteristics of this plant.

Financial Disclosure Statement: The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript. This work was supported by the National Council of Technological and Scientific Development (CNPq, Brazil #140314/2019-9), Minas Gerais State Agency for Research and Development (FAPEMIG, PPM-00639-18) and the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES, Brazil #88887.667823/2022-00).

Availability of data and material: All relevant data are within the manuscript and its Supporting Information files.

Declarations

Ethics approval: all experimental procedures were approved by the Ethics Committee on Animal Use (CEUA) at the Federal University of Minas Gerais (approval no. 192/2020).

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

3.7. Referencias

Andersson MS, Peters M, Schultze-Kraft R, FRANCO LH, Lascano CE. Phenological, agronomic and forage quality diversity among germplasm accessions of the tropical legume shrub *Cratylia argentea*. *The Journal of Agricultural Science*. 2006 Jun;144(3):237-48.

Aquino AA, Botaro BG, Ikeda FD, Rodrigues PH, Martins MD, Santos MV. Efeito de níveis crescentes de ureia na dieta de vacas em lactação sobre a produção e a composição físico-química do leite. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2007;36:881-7.

Argel PJ and Lascano CE. *Cratylia argentea* (Desvaux) O. Kuntze: una nueva leguminosa arbustiva para suelos acidos en zonas subhúmidas tropicales. *Gramineas y leguminosas tropicales...* Proyecto IP-5. Circular. Año 2. 1998.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). *Official Methods of Analysis*, 15th ed. 1990. Burlington, VA.

Ates S, Cicek H, Bell LW, Norman HC, Mayberry DE, Kassam S, Hannaway DB, Louhaichi M. Sustainable development of smallholder crop-livestock farming in developing countries. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 2018 Mar 1 (Vol. 142, No. 1, p. 012076). IOP Publishing.

Bowen MK, Ryan MP, Jordan DJ, Beretta V, Kirby RM, Stockman C, McIntyre BL, Rowe JB. Improving sheep feedlot management. *International Journal of Sheep and Wool Science*. 2006;54(2):27-34.

Brody, S. *Bioenergetics and growth: With special reference to the efficiency complex in domestic animals*. 1945. Reinhold, New York.

Cabral LD, Santos JW, Zervoudakis JT, Abreu JD, Souza AD, Rodrigues RC. Consumo e eficiência alimentar em cordeiros confinados. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*. 2008 Oct;9(4):703-14.

Campos, FP, Nussio CMB. and Nussio LG, 2004. *Métodos de análises de alimentos*. Piracicaba, São Paulo.

Castro-Montoya JM, Dickhoefer U. The nutritional value of tropical legume forages fed to ruminants as affected by their growth habit and fed form: A systematic review. *Animal Feed Science and Technology*. 2020 Nov 1;269:114641.

Correa Pinzón YT, Niño-Mariño Mariño S. Evaluación de la calidad nutricional de *Cratylia argentea* sometida a diferentes métodos de conservación, en el Piedemonte llanero. *Ciencia Unisalle*. <https://ciencia.lasalle.edu.co/zootecnia/180> (accessed 6.22.22).

da Silva ME, de Araújo JV, da Silva JA, de Carvalho LM, das Chagas E, Ribeiro RR. Anthelmintic efficacy of *Cratylia argentea* (Desv.) Kuntze against the gastrointestinal nematodes of sheep. *Semina: Ciências Agrárias*. 2017;38(5):3105-12.

da Trindade Silva MG, Geraldo Costa M, Campelo Medeiros M, dos Santos Difante G, Sérgio de Azevedo P, Gurgel AL, Emerenciano Neto JV, de Lima Veras EL, Vinhas

- Ítavo LC. Use of spineless cactus associated with legume hay in the feedlot-finishing of lambs in semi-arid regions. *Plos one*. 2021 Dec 17;16(12):e0261554.
- de Lima Nunes LR, NUNES AM. CAPIM TIFTON 85 SUBMETIDO A DIFERENTES DOSAGENS DE NITROGÊNIO E IDADES DE REBROTA. *Revista Científica Rural*. 2018 Oct 11;20(2):113-28.
- Dzowela BH, Hove L, Mafongoya PL. Effect of drying method on chemical composition and *in vitro* digestibility of multi-purpose tree and shrub fodders. *Tropical Grasslands*. 1995;29(4):263-9.
- Fonseca, D.M., Martuscello, J.A., 2010. *Plantas Forrageiras*. Viçosa, MG: Ed. UFV.
- Franco AA, de Resende AS, Campello EF. Importância das leguminosas arbóreas na recuperação de áreas degradadas e na sustentabilidade de sistemas agroflorestais. In: *Embrapa Caprinos e Ovinos-Artigo em anais de congresso (ALICE) 2011 Jul 21*. In: *Seminário Sistemas Agroflorestais E Desenvolvimento Sustentável, 2003, Campo Grande, MS. Palestras... Campo Grande: Embrapa Gado de Corte; Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Corumbá: Embrapa Pantanal, 2003. 24 f. 1 CD ROM*.
- Gentil RS, Susin I, Pires AV, Ferreira EM, Mendes CQ, Almeida OC, Queiroz MA. Metabolismo de nutrientes em ovinos alimentados com casca de soja em substituição ao feno de coastcross. *Revista brasileira de zootecnia*. 2011;40:2835-43.
- Gonçalves GD, dos Santos GT, Cecato U, Jobim CC, Damasceno JC, Branco AF, Faria KP. Produção e valor nutritivo de gramíneas do gênero *Cynodon* em diferentes idades ao corte durante o ano. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*. 2002;24:1163-74.
- Gonçalves, G.D., Santos G.T., Cecato, U. Jobim, C.C., Damasceno, J.C., Branco, A.F. and Faria, K.P., 2002. Produção e valor nutritivo de gramíneas do gênero *cynodon* em diferentes idades ao corte durante o ano. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 2008, 24,1163.
- Harper KJ, McNeill DM. The role iNDF in the regulation of feed intake and the importance of its assessment in subtropical ruminant systems (the role of iNDF in the regulation of forage intake). *Agriculture*. 2015 Sep 10;5(3):778-90.
- Herrera AM, de Mello AC, de Oliveira Apolinário VX, Dubeux Júnior JC, da Cunha MV, dos Santos MV. Potential of *Gliricidia sepium* (jacq.) Kunth ex Walp. and *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. in silvopastoral systems intercropped with signalgrass [*Urochloa decumbens* (Stapf) RD Webster]. *Agroforestry Systems*. 2021 Aug;95(6):1061-72.
- Herrera ML, Arguedas EB. Efecto de la frecuencia de corte y la precipitación en el rendimiento de *Cratylia argentea* orgánica. *Nutrición animal tropical*. 2016;10(1):24-44.
- Ibrahim M, Franco M, Pezo DA, Camero A, Araya JL. Promoting intake of *Cratylia argentea* as a dry season supplement for cattle grazing *Hyparrhenia rufa* in the subhumid tropics. *Agroforestry systems*. 2001 Jan;51(2):167-75.
- Jaramillo DM, Dubeux Jr JC, Mackowiak C, Sollenberger LE, Santos ER, Garcia L, Ruiz-Moreno M, Silva CS, DiLorenzo N. Annual and perennial peanut species as alternatives to nitrogen fertilizer in bermudagrass hay production systems. *Agronomy Journal*. 2018 Nov;110(6):2390-9.

Lima, NLL. 2016. Eficiência produtiva em cordeiros classificados pelo Consumo Alimentar Residual (CAR) e Consumo e Ganho Residual (CGR) 132 p. Doctorate thesis, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

Luz GA, Gomes SO, de ARAUJO NETO RB, Nascimento MS, LIMA PD. Molecular characterization of accessions of *Cratylia argentea* (Camaratuba) using ISSR markers.

Maass BL. 1996. Evaluación Agronómica de *Cratylia argentea* (Desvaux) O. Kuntze en Colombia. In: Pizarro, E.A., Coradin, L. (Eds.), Potencial del Género *Cratylia* como Leguminosa Forrajera. CIAT, Cali, Colombia, 62–74.

Matrangolo WJ, da Silva IH, Almeida LG, Cruz SB, Malta P, Gomes SX. Aspectos ecológicos de *Cratylia argentea* na região central de Minas Gerais. In: Embrapa Milho e Sorgo-Artigo em anais de congresso (ALICE) 2018. Cadernos de Agroecologia, v. 13, n. 1, jul. 2018.

Maynard LA, Loosli JK, Hintz HF and Warner RG. 1984. Nutrição animal. 3 ed. Rio de Janeiro: Freitas Bastos S.A.

Mehlich A. Mehlich 3 soil test extractant: A modification of Mehlich 2 extractant. Communications in soil science and plant analysis. 1984 Dec 1;15(12):1409-16.

NASA/POWER, The power project, 2022. <https://power.larc.nasa.gov/> (accessed 14 July 2022).

National Research Council (NRC). 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids and New World Camelids. Washington, DC, 468. National Academy Press. doi.org/10.17226/11654

Phelan P, Moloney AP, McGeough EJ, Humphreys J, Bertilsson J, O’Riordan EG, O’Kiely P. Forage legumes for grazing and conserving in ruminant production systems. Critical Reviews in Plant Sciences. 2015 Jun 1;34(1-3):281-326.

Pires CC, Silva LF, Schlick FE, Guerra DP, Biscaino G, Carneiro RM. Cria e terminação de cordeiros confinados. Ciência Rural. 2000;30:875-80.

Pizarro EA, Carvalho MA, Ramos AK. Introducción y evaluación de leguminosas forrajeras arbustivas en el Cerrado brasileño. En: Potencial del género *Cratylia* como leguminosa forrajera. 1996. Pizarro EA y Coradin L (eds.). Embrapa, Cenargen, CPAC y CIAT, Memorias Taller sobre *Cratylia* realizado del 19 al 20 de julio de 1995 en Brasilia, Brasil, 40-49.

Polli VA, Vaz RZ, Carvalho S, Costa PT, de Oliveira Mello R, Restle J, Nigelskii AF, Silveira ID, Pissinin D. Thermal comfort and performance of feedlot lambs finished in two climatic conditions. Small Ruminant Research. 2019 May 1;174:163-9.

Prado IN, Campo MM, Muela E, Valero MV, Catalan O, Olleta JL, Sañudo C. Effects of castration age, dietary protein level and lysine/methionine ratio on animal performance, carcass and meat quality of Friesian steers intensively reared. Animal. 2014 Sep;8(9):1561-8.

Queiroz LD. O gênero *Cratylia* Martius ex Bentham (Leguminosae: Papilionoideae: Phaseoleae): revisão taxonômica e aspectos biológicos. MSc diss., Campinas: Universidade Estadual de Campinas. 1991.

Queiroz LP, Coradin L. Biogeografia de *Cratylia* e áreas prioritárias para coleta. In: E.A. Pizarro and L. Coradin (eds), Memorias del taller Potencial del género *Cratylia* como leguminosa forrajera, EMBRAPA/Cenargen/CPAC/CIAT, 19–20, Brasília, Brasil, 1–12

R Core Team. 2021. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>

Ramos AK, PIZARRO E. Algumas informações sobre a produção e o armazenamento de sementes de *Cratylia argentea*. Embrapa Cerrados. Circular Técnica. 2003.

Rezaei J, Rouzbehan Y, Fazaeli H, Zahedifar M. Effects of substituting amaranth silage for corn silage on intake, growth performance, diet digestibility, microbial protein, nitrogen retention and ruminal fermentation in fattening lambs. *Animal Feed Science and Technology*. 2014 Jun 1;192:29-38.

Rezaei, J., Rouzbehan, Y., Fazaeli, H. and Zahedifar, M., 2014. Effects of substituting amaranth silage for corn silage on intake, growth performance, diet digestibility, microbial protein, nitrogen retention and ruminal fermentation in fattening lambs. *Animal Feed Science and Technology*, 192, 29-38.

Sánchez NR, Ledin I. Effect of feeding different levels of foliage from *Cratylia argentea* to creole dairy cows on intake, digestibility, milk production and milk composition. *Tropical Animal Health and Production*. 2006 May; 38:343-51.

Snyder CS, Bruulsema TW, Jensen TL, Fixen PE. Review of greenhouse gas emissions from crop production systems and fertilizer management effects. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 2009 Oct 1;133(3-4):247-66.

Stagnari F, Maggio A, Galieni A, Pisante M. Multiple benefits of legumes for agriculture sustainability: an overview. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. 2017 Dec;4(1):1-3.

Thornton RF, Minson DJ. The relationship between apparent retention time in the rumen, voluntary intake, and apparent digestibility of legume and grass diets in sheep. *Australian Journal of Agricultural Research*. 1973;24(6):889-98.

Valles-de la Mora B, Castillo-Gallegos E, Alonso-Díaz MÁ, Ocaña-Zavaleta E, Jarillo-Rodríguez J. Live-weight gains of Holstein× Zebu heifers grazing a *Cratylia argentea*/Toledo-grass (*Brachiaria brizantha*) association in the Mexican humid tropics. *Agroforestry Systems*. 2017 Dec;91(6):1057-68.

Van Soest PV, Robertson JB, Lewis BA. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of dairy science*. 1991 Oct 1;74(10):3583-97.

Wanapat M, Totakul P, Viennasay B, Matra M. Sunnhemp (*Crotalaria juncea*, L.) silage can enrich rumen fermentation process, microbial protein synthesis, and nitrogen utilization efficiency in beef cattle crossbreds. *Tropical Animal Health and Production*. 2021 Mar;53(1):1-7.

4. CAPÍTULO III– ARTIGO II: Ensaios *in vitro* de produção de gases para avaliação nutricional de dietas com de feno de *Cratylia argentea* em substituição ao feno de Tifton-85.

Elaine Cristina Teixeira¹, Adibe Luiz Abdalla², Fernando Antônio de Souza³, Simón Pérez Márquez², Walter José Rodrigues Matrangolo⁴, Karina Toledo da Silva⁶, Luciano Soares de Lima³, Ângela Maria Quintão Lana³.

^{1,3} Departamento de Engenharia Florestal, Universidade Federal de São João del Rei, Sete Lagoas – MG, 35701-970, Brasil

² Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Laboratório de Nutrição Animal, Universidade de São Paulo, Piracicaba, Brasil

³ Departamento de Zootecnia, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte - MG, 31270-901, Brasil

⁴ Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG 35701-970, Brasil

⁵ Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG Centro Oeste, Prudente de Moraes, MG 35715-000, Brasil

4.1. **Resumo:** Com o objetivo de conhecer o potencial forrageiro do feno de *Cratylia argentea* este estudo avaliou o efeito na produção total de gases e metano (CH₄), bem como em parâmetros de fermentação ruminal por meio de ensaio *in vitro*, onde quatro rações (0, 20, 40 e 100% na MS) de feno de *Cratylia argentea* em substituição feno de *Cynodon spp* cv. Tifton-85 como volumoso na dieta total foram incubadas em sistema semiautomático. As variáveis avaliadas consistiram na produção acumulada de gases (mL/g MS) e produção de metano (CH₄ mL/g MS), concentração de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), degradabilidade da matéria seca (DMS) e da matéria orgânica (DMO), fator de partição (FP), concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) e pH. Os níveis 40 e 100% de substituição apresentaram menor produção acumulada de gases, embora a velocidade de produção destes foi superior aos tratamentos 0 e 20% de substituição ao feno de Tifton-85. Já a produção de CH₄ diminuiu à medida que aumenta a substituição de feno de *C. argentea* na dieta. Para os parâmetros de fermentação *in vitro* em função do tempo, apenas a taxa de degradabilidade da matéria seca (DMS) e degradabilidade da matéria orgânica (DMO) diminuíram conforme o aumento no nível

de inclusão da *C. argentea* ao longo do tempo. Para os demais parâmetros: FP, pH, N-NH₃, AGCC, relação de Acetato:Propionato e isoácidos. não foi observado diferença entre o feno de *C. argentea* e o feno de Tifton-85 nas dietas avaliadas.

Palavras-chave: alimentação de ruminantes, leguminosas arbustivas, digestibilidade de leguminosas, conservação de forragem.

4.2. Introdução

Nos trópicos, a utilização de gramíneas, principalmente em sistema de pastejo direto, representa uma forma de alimentação muito importante na alimentação de ruminantes. Contudo essas espécies sofrem com a sazonalidade ambiental, onde suas características ficam comprometidas quali-quantitativamente. Para minimizar essa questão, dispõe-se da utilização de insumos externos como forte adubação química e irrigação, e ainda assim essas espécies não responderão tão positivamente em determinadas épocas do ano.

Arelado a isso, existe atualmente uma forte pressão sobre a produção de ruminantes no que se refere a emissão dos gases do efeito estufa (GEE), principalmente metano (CH₄), óxido nitroso (N₂O) e dióxido de carbono (CO₂). As emissões de GEE pela agropecuária somam aproximadamente 23% das emissões antropogênicas no planeta terra (IPCC, 2020). Em resposta a essa pressão, o uso de alternativas forrageiras, como as leguminosas, pode influenciar na emissão do CH₄ entérico. Além disso, a utilização de espécies leguminosas na produção de ruminantes traz consigo benefícios como valores mais altos de proteína bruta (PB), maiores teores de cálcio (Ca) e fósforo (P) quando comparados às gramíneas tropicais. As forragens de leguminosas podem ser usadas em pastagem direta, corte e transporte, ou armazenadas e conservadas como feno ou silagem, sendo essas uma opção interessante considerando a sazonalidade de chuvas.

Especificamente os casos alimentados com capim, podem produzir mais CH₄ do que os casos de ruminantes alimentados por leguminosas (Eckard et al., 2010); isso também representa uma perda significativa de energia dietética que poderia potencialmente ser redirecionada para a produção de leite e carne (Eckard et al., 2010). A este respeito, as buscas de leguminosas forrageiras parece uma alternativa promissora para superar as limitações das fontes de alimentação em muitas partes dos trópicos, pois

podem ser cultivadas por pequenos agricultores, contêm quantidades maiores de proteínas degradáveis e indegradáveis do que as gramíneas (Goel e Makkar, 2012).

Diferentes arbustos e árvores leguminosas foram identificados para alimentar ruminantes em áreas tropicais como discutido por Garcia et al. 2009; Castro-Montoya e Dickhoefer, 2020 e Wanapa et al., 2021. Em se tratando de espécies leguminosas arbóreas ou arbustivas, Dubeux Júnior et al. (2017) destaca que essas alternativas são um recurso ainda pouco explorado em pastagens de clima quente e que estas não foram avaliadas na mesma medida que as leguminosas herbáceas.

A *Cratylia argentea* (Desvaux) O. Kuntze é uma leguminosa arbustiva que alcança entre 1.5 e 3 m de altura, ocorrendo no Brasil em ambientes diversos como cerrado, floresta amazônica e caatinga (Queiroz, 1991, Queiroz e Coradin, 1995). Além de sua capacidade simbiótica de fixação de nitrogênio (N) atmosférico, a *C. argentea* apresenta uma alta retenção de folhas verdes em período crítico de déficit hídrico graças, dentre outros mecanismos, ao seu profundo e difuso sistema radicular. Já nas primeiras chuvas as plantas rapidamente adquirem nova folhagem, o que amplia o acúmulo de forragem para a época seca (Pizarro et al. 1995; Argel e Lascano, 1998) comparativamente às gramíneas utilizadas para a mesma finalidade. Outra característica importante desta leguminosa é a sua tolerância a solos ácidos com grande saturação de alumínio e de baixa fertilidade natural (Argel e Lascano, 1998; Mass, 1995).

A *C. argentea* vem sendo utilizada em consorciação de culturas para alimentação de bovinos de produção, principalmente em regiões tropicais, onde são utilizadas como uma opção para amenizar a falta de pastagens de qualidade na época de seca (Lascano, 1995; Luz et al., 2015). Suas características bromatológicas indicam a potencialidade de sua utilização para suplementação animal no período de déficit de alimentos ou como alternativas para redução dos custos com rações comerciais (Rodríguez et al. 2015; Silva et al. 2017; Gámez, 2018).

O ensaio de produção de gases *in vitro* consiste em um método indireto de análise de alimentos, onde por meio do uso de líquido proveniente do rúmen de animais doadores, visa reproduzir as condições favoráveis à fermentação do rúmen-retículo, simulando as condições naturais da digestão.

A referida técnica mede: gases da fermentação resultantes da ação de bactérias, protozoários e fungos ruminais. A técnica *in vitro* de produção de gases pode gerar informações relevantes sobre a cinética de fermentação e perfil de degradação dos

substratos e produtos de fermentação (AGCC, CO₂, CH₄ e biomassa microbiana), bem como algumas das dinâmicas da população microbiana.

Assim, nossa hipótese é de que o feno da leguminosa arbustiva *C. argentea* pode apresentar efeito positivo na redução de emissão de gases oriundos do processo de fermentação ruminal.

Este estudo, portanto, foi realizado com o objetivo de avaliar a produção de gases e parâmetros de fermentação ruminal de dietas contendo feno de *C. argentea* em substituição ao feno de Tifton-85 como volumoso da dieta para ovinos em crescimento.

4.3. Material e métodos

4.3.1. Organização experimental e preparo de amostras

O experimento foi realizado no Laboratório de Nutrição Animal do Centro de Energia Nuclear da Universidade de São Paulo (LANA/CENA/USP), na cidade de Piracicaba, São Paulo. Os substratos utilizados para este ensaio consistiam em feno de *C. argentea* colhida nas dependências da fazenda da EMBRAPA Milho e Sorgo em Sete Lagoas-MG e fazenda experimental de Santa Rita, pertencente à EPAMIG em Prudente de Moraes-MG, áreas contíguas, onde já existiam áreas plantadas com *C. argentea* implantadas desde dezembro de 2009. As unidades estão localizadas no clima Cwa, segundo Köppen, ou seja, clima de savana, com inverno seco e verão úmido com chuva. A Figura 4.1 mostra a precipitação, temperatura máxima e mínima no período do material para produção do feno de cratília.

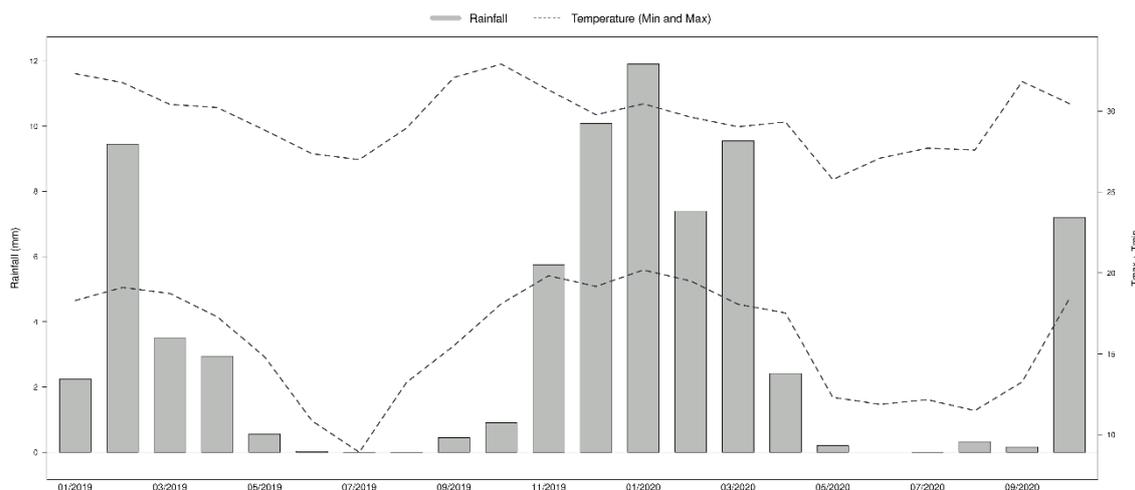


Figura 4.1: Gráfico pluviométrico e de temperatura máxima e mínima durante a coleta de *C. argentea* para produção de feno (Ano agrícola 2019 a 2020).

Para a produção do feno, realizou-se uma poda drástica de uniformização em janeiro de 2019. Em abril do mesmo ano, para a confecção do feno, as plantas foram colhidas a 25 cm do solo em rebrotas a cada 90 dias (Correa Pinzón e Niño-Mariño Mariño, 2010) sem a seleção de material menos lignificado até abril de 2020. As temperaturas durante a confecção do feno variaram entre 17.74 °C e 29.24°C e (Figura 4.1). O índice pluviométrico médio foi de 885 mm e a umidade relativa 66.56%. O material colhido foi processado em máquina forrageira e espalhado em uma camada de 10 cm sobre área cimentada para secagem ao sol e revirado frequentemente para desidratação até o ponto de feno. O intervalo de exposição ao sol para que o material atingisse o ponto de feno variou entre 48 e 72 horas conforme as condições climáticas. Durante a noite ou em caso de chuva o material era coberto com lona para evitar umidade. O feno produzido foi armazenado em sacos de rafia e acondicionado em tambores para evitar a contaminação até o início de confecção das dietas experimentais em novembro de 2020.

Os fenos de Tifton-85 e *C. argentea* foram triturados até granulometria de 5 mm, homogeneizado e, em seguida foram misturados aos outros ingredientes para compor as rações experimentais, conforme níveis de substituição descrito na Tabela 4.1. As dietas foram formuladas para atender as exigências em proteína bruta (16% de PB) e energia (75% de NDT) para cordeiros em terminação com ingestão de MS de 4% do PV e ganho médio diário de 200 g conforme NRC (2007).

Tabela 4.1: Composição percentual e química das rações experimentais

Composição química	Níveis de substituição				Feno	
	0 %	20%	40%	100 %	<i>C. argentea</i>	Tifton-85
Matéria Seca (g/kg)	894.17	885.13	892.78	886.42	911.07	903.12
Matéria orgânica (g/kg MS)	917.87	920.99	918.84	918.64	917.27	933.37
Matéria mineral (g/kg MS)	82.13	79.01	81.16	81.36	82.73	66.63
Proteína Bruta (g/kg MS)	215.97	193.53	194.06	194.39	202.39	118.81
FDN (g/kg MS)	497.21	510.49	452.51	452.64	714.66	725.08

Amostras de *C. argentea* coletadas nas áreas experimentais foram separadas em material comestível (folhas e hastes <5 mm de diâmetro) e não comestíveis (caules >5 mm de diâmetro), depois secas em temperatura ambiente e submetidas a análise para

determinação de compostos fenólicos (Tabela 4.2). A Os conteúdos de fenóis total (FT) e taninos totais (TT) foram analisados pelo método Folin-Ciocalteu e taninos condensados (proantocianidinas) pelo método butanol-HCl (Makkar, 2003), tendo as amostras de *C. argentea* moídas e peneiradas em malha com diâmetro de 0.25 mm.

Tabela 4.2: Fenol total e teores de tanino de *C. argentea* no material comestível, lenhoso e planta inteira

Composição química	Partes da planta		
	Material comestível*	Lenhoso*	Planta inteira
Fenol Total (g/kg MS)*	15.91	7.05	10.53
Tanino Total (g/kg MS)*	8.57	3.83	5.49
Tanino condensado (g/kg MS)**	1.04	1.83	1.07

*Expressado como gramas de ácido tânico por kg de matéria seca

** Expressado como gramas equivalente de leucocianidina por kilograma de matéria seca

4.3.2. Ensaio de produção de gases e degradabilidade *in vitro*

Para o ensaio de produção de gases *in vitro*, foi utilizado como inóculo conteúdo ruminal de três ovinos machos Santa Inês adultos providos de fístula ruminal (média de 65.00 ± 2.30 kg de peso corporal). Todos os procedimentos envolvendo a utilização de animais neste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - CEUA / USP (Protocolo 008-2018). Os animais foram alimentados com feno Tifton 85 -*Cynodon spp ad libitum* (891.38 g MS/kg; 876.40 g FDN/kg MS; 491.86 g FDA/kg MS; 78.31 g PB/kg MS; 62.13 g fração cinzas/ kg MS), água e sal mineral. Antes da alimentação matinal, frações líquidas e sólidas de conteúdo ruminal dos três animais foram coletadas individualmente em recipientes térmicos utilizando um tubo de silicone adaptado a uma seringa de 60 mL (Becton-Dickson Indústria Cirúrgica, Curitiba, Brasil) e um pinça cadinho, respectivamente. Adotando uma relação sólido/líquido de 50:50 (em base de volume) (Bueno et al., 2005), três inóculos foram preparados utilizando três combinações diferentes do conteúdo ruminal de cada animal.

A incubação foi realizada de acordo com metodologias descritas por Theodorou, et al. (1994) e Maurício et al. (1999), com adaptações de Bueno et al. (2005) e Longo et al. (2006). Um grama de cada dieta total foi pesado em saquinhos Ankom (Ankom F57, Macedon, NY USA) e transferido para garrafas de 160 mL juntamente com 50 mL de meio de incubação (meio tampão de Menke) (Menke e Steingass, 1988) e 25 mL de inóculo. Foram incubadas três garrafas de cada tratamento, cada uma contendo um inóculo diferente. Uma vez finalizada a incubação, as garrafas foram fechadas com tampas de borracha e colocadas em estufa de ventilação de ar forçado a 39°C.

A pressão interna das garrafas foi medida a 2, 4, 8, 10, 12, 16, 24, 36, 48, 60, 72, 84 e 96 h após a incubação, usando um sensor de pressão e um datalogger (PressData 800, LANA/CENAUSP, Piracicaba/SP). O volume total de gases produzidos foi estimado através da equação: $V = P \times 6.1432 + 0.0451$; ($n = 328$, $R^2 = 0.994$) definida para o sensor e o datalogger utilizados, onde: V = volume de gases (mL) e P = pressão medida (psi).

Para a quantificação da concentração de metano *in vitro*, posterior ao registro da pressão, uma amostra de gás de cada garrafa foi coletada e depositada em tubos de ensaio fechados a vácuo (vacutainer) para formar um pool de metano as 24, 48, 72 e 96 horas. As amostras foram analisadas por cromatografia gasosa usando as condições cromatográficas descritas por Lima et al (2018). Posterior a leitura de pressão e coleta de gás, a pressão de cada garrafa era liberada, o seu conteúdo homogeneizado por agitação e devolvidas para a estufa.

Para avaliação da degradabilidade utilizou-se três tempos de incubação, 24, 48 e 96 horas. Posterior a medição de pressão e coleta de gases, a fermentação foi interrompida para o grupo de garrafas do tempo correspondente. As garrafas foram abertas e os saquinhos foram depositados em água com gelo para interromper o processo fermentativo. Posteriormente os saquinhos foram lavados com solução de detergente neutro (1 hora a 90°C, seguido de 5 lavagens com água destilada a 90°C) e secos em estufa a 105°C por 12 horas, pesados novamente e finalmente reduzidos a cinzas em mufla (550°C por 5 horas) para determinação da degradabilidade (verdadeira) *in vitro* da matéria orgânica.

Posterior a retirada dos saquinhos das garrafas, uma alíquota do conteúdo de cada uma foi coletada em frascos de vidro de 20 mL e armazenados a -20°C para posterior determinação de AGCC (Ácidos graxos de cadeia curta) usando a metodologia descrita por Lima et al (2018), N-NH₃ (Nitrogênio Amoniacal) usando destilação a vapor micro-

Kjeldahl com solução de tetraborato de sódio a 5% de acordo com o Preston (1995), e pH utilizando um pH-metro digital (model TEC-2, Tecnal, Piracicaba, Brazil).

4.3.3. Cinética de produção de gases e produção de metano

Todas as análises foram realizadas utilizando o software de análise estatística R (R CORE TEAM, 2022). Para todas as análises os pressupostos estatísticos de normalidade e homoscedasticidade foram avaliados pelo teste de Shapiro-Wilk e Bartlett respectivamente. Nas análises considerou efeito significativo quando a taxa de erro α foi menor que 5% (nível de significância).

Para avaliação da cinética fermentativa, os modelos matemáticos utilizados são descritos a seguir no quadro abaixo.

Tabela 4.3: Modelos matemáticos para avaliação da cinética fermentativa

Modelo	Fórmula
Exponencial	$Vf \cdot (1 - \exp^{-k \cdot t})$
Logístico-Exponencial (WANG; TANG; TAN, 2011)	$Vf \cdot \frac{1 - \exp^{-kt}}{1 + \exp^{\ln(\frac{1}{d}) - kt}}$
Gompertz (TJØRVE; TJØRVE, 2017)	$Vf \cdot \exp(-\exp^{(1-k(t-lag))})$
France (FRANCE et al., 1993)	$Vf \cdot (1 - \exp^{-k \cdot (t-lag) - d \cdot (\sqrt{t} - \sqrt{lag})})$
Logístico (SCHOFIELD; PELL, 1995)	$\frac{Vf}{(1 + \exp^{2-4 \cdot k \cdot (t-lag)})}$

Os modelos foram selecionados em função de seu relacionamento entre a variável dependente (Produção de gás) e a variável independente (horas) por meio gráficos. Os modelos selecionados foram ajustados conforme metodologia de modelos não lineares generalizados (Pinheiro e Bates, 2000) para cada nível de inclusão avaliado e a significância dos seus parâmetros ($F < 0,05$) foi utilizado na decisão de utilização do modelo.

Os modelos de Gompertz, France e Logístico possuem forma sigmoidais além de apresentarem o parâmetro “lag” os quais mostraram ser incompatíveis com os dados observados. O ajuste desses modelos não foi significativo para este parâmetro, sugerindo a necessidade de uma nova reparametrização dos modelos ou a utilização de um modelo mais simples e por esse motivo foram desconsiderados.

Os modelos Exponencial e Logístico-Exponencial apresentaram bom ajuste aos dados e significância para os parâmetros e foram comparados segundo o Likelihood-ratation test, não havendo diferenças entre o melhor modelo foi selecionado baseado no critério Akaike - AIC (Akaike, 1974) e estimativa do Quadrado Médio do Erro (EQM). Análise de identidade de modelos foi realizada para avaliar se as equações estimadas para cada tratamento poderiam ser substituídas por uma única equação ou se os parâmetros individuais de cada equação diferiram entre tratamentos conforme (Pinheiro e Bates, 2000).

Para análise da produção de metano foi realizado um estudo de regressão através da metodologia de polinômios ortogonais (Kutner et al., 2005) para avaliar o efeito do tempo sobre a variável resposta para cada nível de inclusão de *C. argentea* avaliada. Somente modelos cujo teste de regressão foi significativo ($F < 0.05$) foram considerados para esse estudo.

4.3.4. Parâmetros de Degradabilidade “*In vitro*”

Os dados referentes aos parâmetros de fermentação e produção de gases *in vitro* foram analisados conforme o delineamento inteiramente casualizados em esquema fatorial 3 X 4. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), onde o modelo estatístico utilizado para as variáveis foi:

$$Y_{ijk} = \mu + a_i + b_j + (ab)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

sendo

Y_{ijk} – Observação do nível de substituição i , no período j na repetição k

μ – média geral

a_i – efeito do i -ésimo nível da variável período

b_j – efeito do j -ésimo nível do variável nível de substituição (0, 20, 40 e 100%)

$(ab)_{ij}$ – Efeito da interação

ε_{ijk} - erro aleatório da observação k que recebeu o nível de substituição j , no período i

As médias dos fatores experimentais, bem como suas interações foram comparadas por meio do teste de Tukey ($p < 0,05$).

Um estudo de regressão foi realizado para avaliar o efeito do tempo dentro de cada um dos tratamentos experimentais, por meio da metodologia de polinômios ortogonais. Somente os modelos que apresentaram ajustes significativos ($p < 0,05$) foram utilizados e discutidos.

4.4. Resultados

4.4.1. Produção de Gases

Os níveis de 40 ou 100% de substituição de feno *C. argentea* ao feno de Tifton-85 na porção volumosa na dieta, reduziu a produção acumulada de gás (Vf) em 10.4 % e 19.7%, respectivamente, mas não houve diferença ($p > 0,05$) no nível de 20% (Tabela 4.4).

Tabela 4.4: Parâmetros estimados (Erro Padrão) da cinética fermentação das dietas com níveis de 0, 20, 40 e 100 % feno de *C. argentea* em substituição ao feno de Tifton-85 como volumoso da dieta em função do tempo de incubação

Nível de inclusão (%)	k (/h)	vf (mL/gMS)	AIC	EQM
0	0.0205a (0.001)	197.3518a (5.995)	552.4583	5.7119
20	0.0234b (0.001)	200.05148a (5.621)	538.7745	6.1433
40	0.0256c (0.001)	177.87569b (2.571)	591.5603	8.1587
100	0.0291c (0.001)	159.37316c (1.506)	566.1392	6.9896

k: taxa de produção de gás; vf: produção acumulada de gás em mL por grama de matéria seca incubada no tempo; AIC: critério de seleção de modelo; EQM: Quadrado Médio do Erro

A taxa de produção de gases (k mL/h) apresentou comportamento inverso ao Vf mL por g/MS sendo maior nos tratamentos contendo 40 ou 100% do feno de *C. argentea* (Figura 4.2). Valores observados e preditos pelo modelo de Shofield et al. (1994).

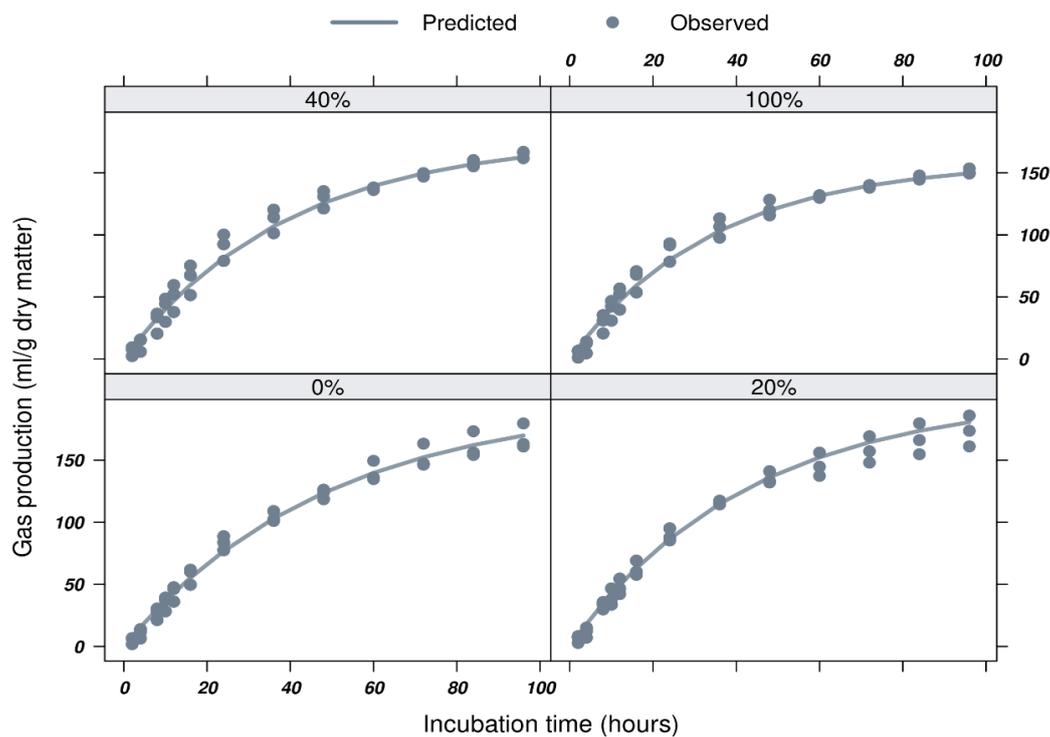


Figura 4.2: Cinética de produção de gases de dietas contendo 0, 20, 40 e 100% de feno *C. argentea* em substituição ao feno de Tifton-85. como volumoso na dieta.

A substituição ao Tifton-85 por feno de *C. argentea* não teve efeito significativo sobre os interceptos, mas foram altos valores de R² constatados indicam que os modelos representam adequadamente os dados (Tabela 4.5)

Tabela 4.5: Produção de metano em função do substrato com 0, 20, 40 e 100 % de inclusão de feno de *C. argentea* em substituição ao feno de Tifton-85 em função de tempo de incubação

Nível de inclusão (%)	Equação	p-valor	R ² (%)
0	$Y = -2.145 + 0.5484 \times T$	<0.001	95.58
20	$Y = -2.035 + 0.5265 \times T$	<0.001	91.87
40	$Y = -1.040 + 0.5452 \times T$	<0.001	93.41
100	$Y = -1.022 + 0.4392 \times T$	<0.001	93.53

p-valor- valor de probabilidade expresso de 0 a 1, R² - Coeficiente de determinação expresso em %.

À medida que se elevou os níveis de feno de *C. argentea* nas dietas houve redução na concentração de gás metano (CH₄) em relação ao volume de gás produzido em função do tempo (h) (Figura 4.3).

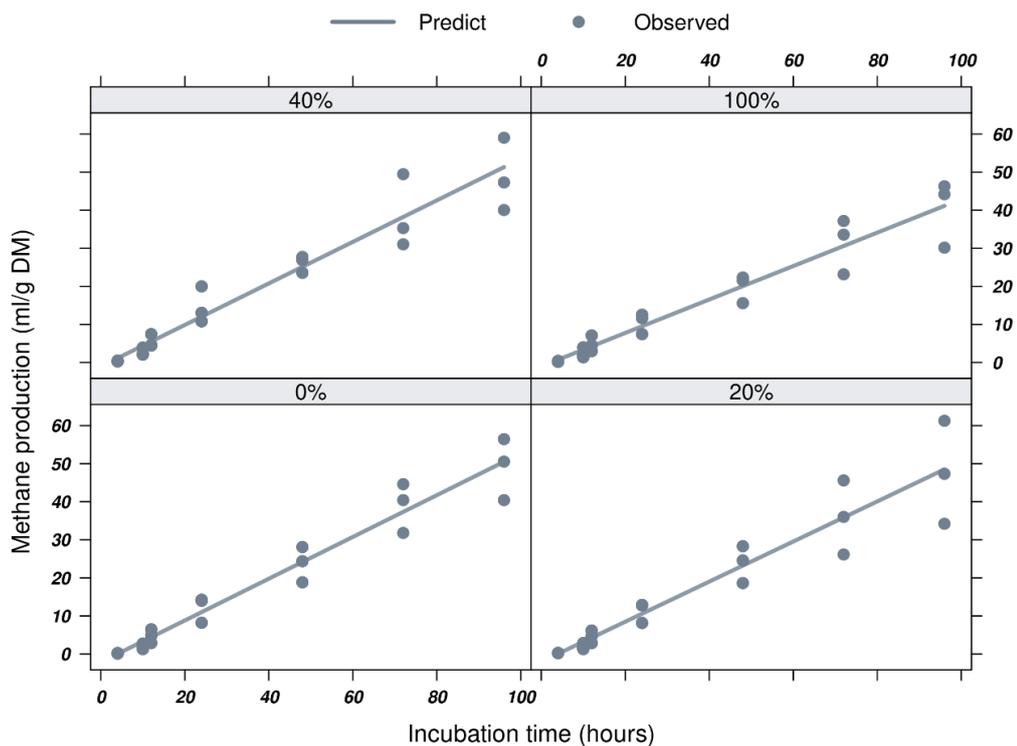


Figura 4.3: Produção de metano de dietas com inclusão de 0, 20, 40 e 100% de feno *C. argentea* em substituição ao feno de Tifton-85 em função de período de incubação

4.4.2. Parâmetros de degradação e fermentação *in vitro*

Os parâmetros de degradabilidade da matéria orgânica (DMO), a degradabilidade da matéria seca (DMS) e matéria orgânica verdadeiramente degradada (MOVD) apresentaram maiores valores com 96 horas de incubação, independentemente do nível de inclusão de *C. argentea* a dieta ($p < 0.05$). Contudo, nas dietas com 0, 20 % de inclusão de *C. argentea* nos tempos 24 e 48 horas de incubação não diferiram ($p < 0.05$) entre si (Tabela 4.6).

Tabela 4.6: Parâmetros de produção e fermentação de gás *in vitro* de dietas com níveis de inclusão de feno *C. argentea* (0, 20, 40 e 100%) em substituição ao feno de Tifton-85 e períodos de incubação (24, 48 e 96 horas)

Variáveis	0%			20%			40%			100%			P - valor			CV
	24	48	96	24	48	96	24	48	96	24	48	96	N	T	NxT	
DMO (g/kg)	623.2aA	687.10aA	825.43bA	637.87aA	712.63ab A	832.50bA	629.60aA	700.03aA	805.47bA	646.37aA	660.79aA	749.63bA	<0.01	<0.01	<0.01	3.96
DMS (g/kg)	637.79aA	687.49aA	831.58bA	646.15aA	714.57ab A	823.04bA	648.73aA	701.24aA	811.95b	659.14aA	659.39aA	753.24bA	<0.01	<0.01	<0.01	0.53
MOVD (mg)	0.51aA	0.56aA	0.68bA	0.52aA	0.58abA	0.68bA	0.52aA	0.57aA	0.66b	0.53aA	0.54aA	0.61bA	<0.01	<0.01	<0.01	3.99
FP* (ml gás/mg MOVD)	5.62aA	^{a-}	^{-a}	5.96aA	^{a-}	^{a-}	5.34aA	^{a-}	^{-a}	5.44aA	^{a-}	^{a-}	0.016	<0.01	0,084	6.37
pH	6.53aA	6.67aA	6.53aA	6.57aA	6.63aA	6.50aA	6.53aA	6.67aA	6.53aA	6.50aA	6.70aA	6.63aA	<0.01	0.010	0.974	1.89
N-NH ₃ (mg/dL)	30.33aA	36.00aA	48.33aA	23.30aA	38.33aA	52.00aA	26.66aA	39.00aA	52.00aA	27.33aA	38.66aA	46.66aA	0.016	<0.01	0.700	13.8
AGCC (mmol/L)	102.10aA	111.83aA	130.20aA	100.67aA	112.13aA	133.47aA	105.67aA	126.50aA	134.87aA	103.97aA	100.83aA	126.43aA	0.015	<0.01	0.968	12.3
Acetato:Propionato	2.13aA	1.90aA	2.03aA	2,13aA	1.86aA	1.93aA	2.10aA	2.27aA	1.97aA	1.87aA	2.97aA	1.80aA	<0.01	<0.01	<0.01	12.6
Isoácidos (mmol/L)	1.99aA	2.17bA	3.9cA	1.77aA	2.67bA	3.77cA	1.87aA	2.33aA	4.27bA	1.8aA	3.03bA	3.93cA	<0.01	<0.01	<0.01	8.61

*Fator de partição é apresentado no tempo 24 h, de acordo com Blummel, 1998.

Médias seguidas de letras minúsculas distintas comparam tempo (24, 48 e 96 horas) dentro de dieta e letras maiúsculas comparam Nível de inclusão de feno de *C. argentea* ao volumoso em substituição ao feno de Tifton-85 por contrastes ortogonais $p < 0.05$

p-valor – valores de probabilidade; *N Nível de inclusão de feno de *C. argentea* ao volumoso em substituição ao feno de Tifton-85; T Período de Incubação; NxT Interação

Não houve efeito ($p>0,05$) da interação entre o nível de inclusão da *C. argentea* e o tempo de incubação para os parâmetros fator de partição FP, pH, N-NH₃ e AGCC.

A relação de Acetato: Propionato na comparação por contrastes ortogonais dois a dois, não foi observado diferença entre os níveis de inclusão de feno de *C. argentea* nas dietas. Na produção de isoácidos, não foi observado diferença para os níveis de substituição de *C. argentea* ao Tifton-85 ($p>0,05$), no entanto os valores desse parâmetro aumentaram concomitante ao tempo de incubação, independente do tratamento.

Não houve diferença ($p>0,05$) entre os interceptos para os níveis de substituição de *C. argentea* ao Tifton-85 como volumoso da dieta (Tabela 4.7)

Tabela 4.7: Parâmetros das regressões de produção e fermentação de gás *in vitro* de dietas com níveis de inclusão de feno *C. argentea* (0, 20, 40 e 100%) como volumoso em substituição ao feno de Tifton-85 e períodos de incubação (24, 48 e 96 horas)

Modelo	Parâmetro	Nível de inclusão (%)			
		0	20	40	100
DMO (g/kg MS)	intercepto	554a	578a	577a	602a
	Inclinação	2.82a	2.67a	2.41a	1.49b
DMD (g/kg MS)	intercepto	567a	587a	594a	612a
	Inclinação	2.73a	2.59a	2.27a	1.40b
TDOM (g/kg MS)	intercepto	0.455a	0.471a	0.473a	0.490a
	Inclinação	0.002a	0.002a	0.002a	0.001b
N-NH ₃ (mg/dL)	intercepto	24.2a	17.3a	20.2a	23.3a
	Inclinação	0.25a	0.35a	0.34a	0.25a
Isoácidos (mmol/L)	intercepto	1.22a	1.22a	0.90a	1.35a
	Inclinação	0.028a	0.027a	0.034a	0.028a

Médias seguidas de letras minúsculas distintas comparam os parâmetros em função do nível de inclusão de feno de *C. argentea* ao volumoso em substituição ao feno de Tifton-85 por contrastes ortogonais $p<0.05$

Para todos os níveis de inclusão, como esperado, foi encontrada uma relação linear positiva entre a DMO, DMS e TDOM e o tempo de incubação. Entretanto, da Figura 3.4 pode se inferir que a proporcionalidade da relação diminuiu com o nível de inclusão.

Para todos os níveis de inclusão houve relação linear positiva entre a DMO, DMS e TDOM e o tempo de incubação, porém a proporcionalidade da relação diminuiu com o nível de inclusão (Figura 4.4).

As inclinações da regressão dos níveis de inclusão de 0, 20 e 40% de *C. argentea* na dieta para DMO não apresentaram diferença entre si ($p > 0,05$). Entretanto, quando 100% do feno Tifton-85 foi substituído houve decréscimo da inclinação para essa variável, correspondendo a uma taxa de degradabilidade de 1.49 g/Kg MS.

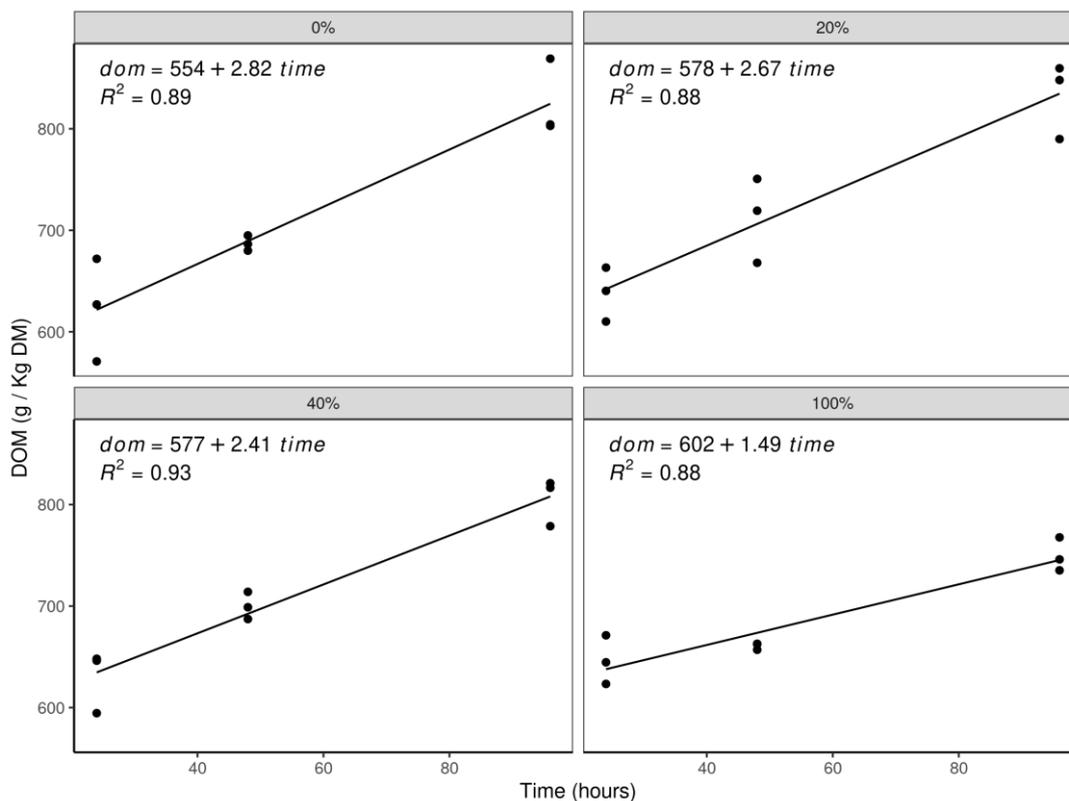


Figura 4.4: Degradabilidade da matéria orgânica de dietas com 0, 20, 40 e 100% de inclusão de feno *C. argentea* em substituição ao feno de Tifton-85 em função do tempo (horas)

Comportamento similar foi observado para DMS. Houve redução na taxa de degradabilidade da MS com o aumento do nível de feno de *C. argentea* nas dietas. Nos níveis de 0% a 40% a inclinação da reta correspondeu a taxa de 2.73 e 2.27 g/Kg MS degradada, respectivamente, sendo constatado o menor valor no nível de 100% de substituição (1.47 g/Kg MS) (Figura 4.5).

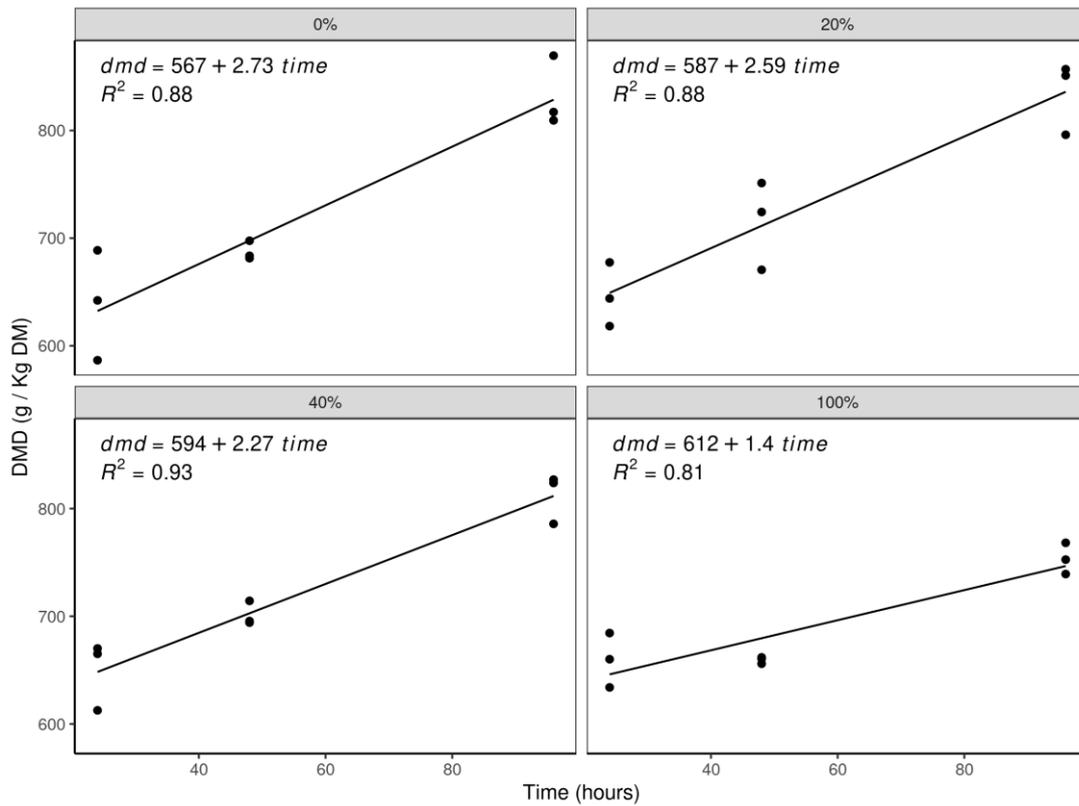


Figura 4.5: Degradabilidade da matéria seca de dietas com 0, 20, 40 e 100% de inclusão de feno *C. argentea* em substituição ao feno de Tifton-85 em função do tempo (horas)

O MOVD apresentou comportamento linear positivo em função do tempo de incubação (Figura 4.6).

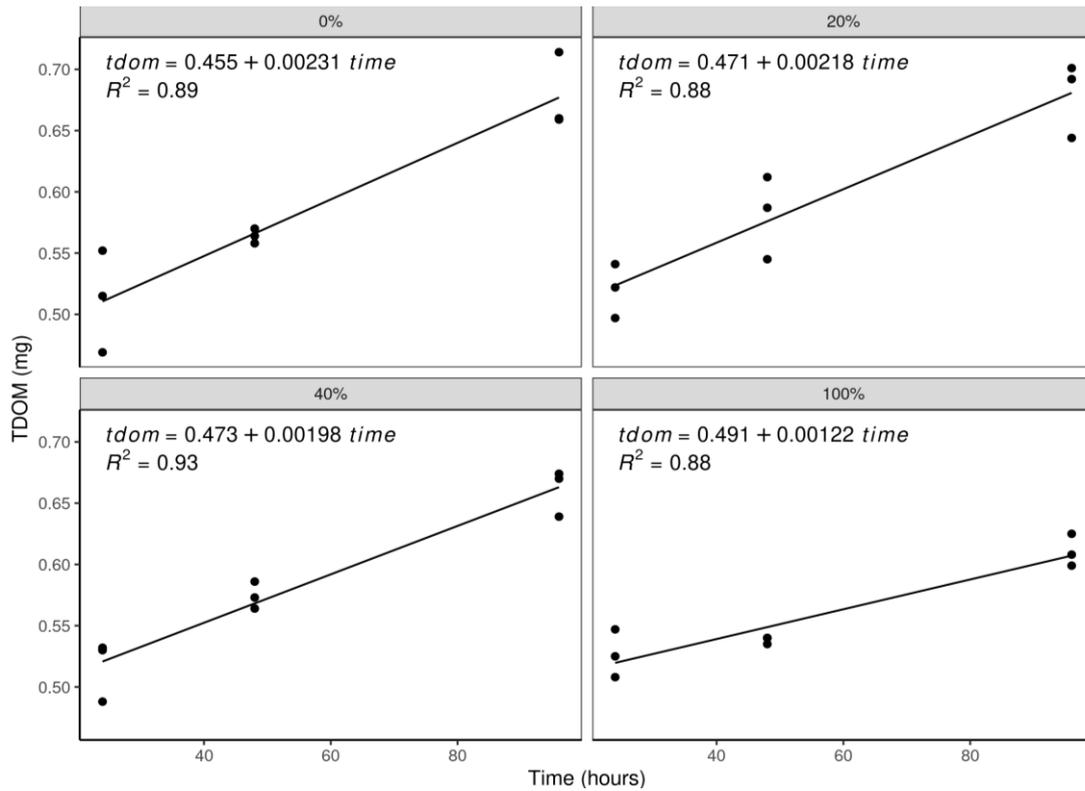


Figura 4.6.: Matéria orgânica verdadeiramente degradada em função dos níveis de inclusão de feno *C. argentea* em substituição ao feno de Tifton-85

Não foi observado diferença significativa para os parâmetros de N-NH₃ e isoácidos entre as inclinações e os níveis de substituição de *C. argentea* a dieta. Esse comportamento indica que o nível de substituição não influencia na taxa de produção destes parâmetros ao longo do tempo Figura (4.7 e 4.8).

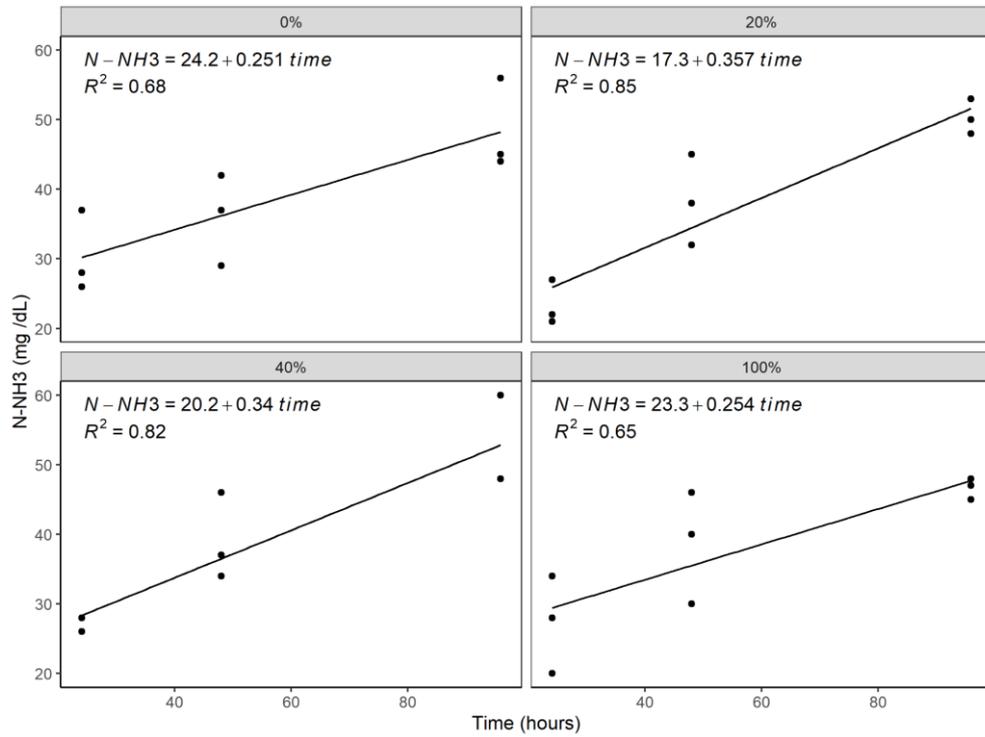


Figura 4.7: Amônia de dietas com 0, 20, 40 e 100% de inclusão de feno *C. argentea* em substituição ao feno de Tifton-85 em função do tempo (horas)

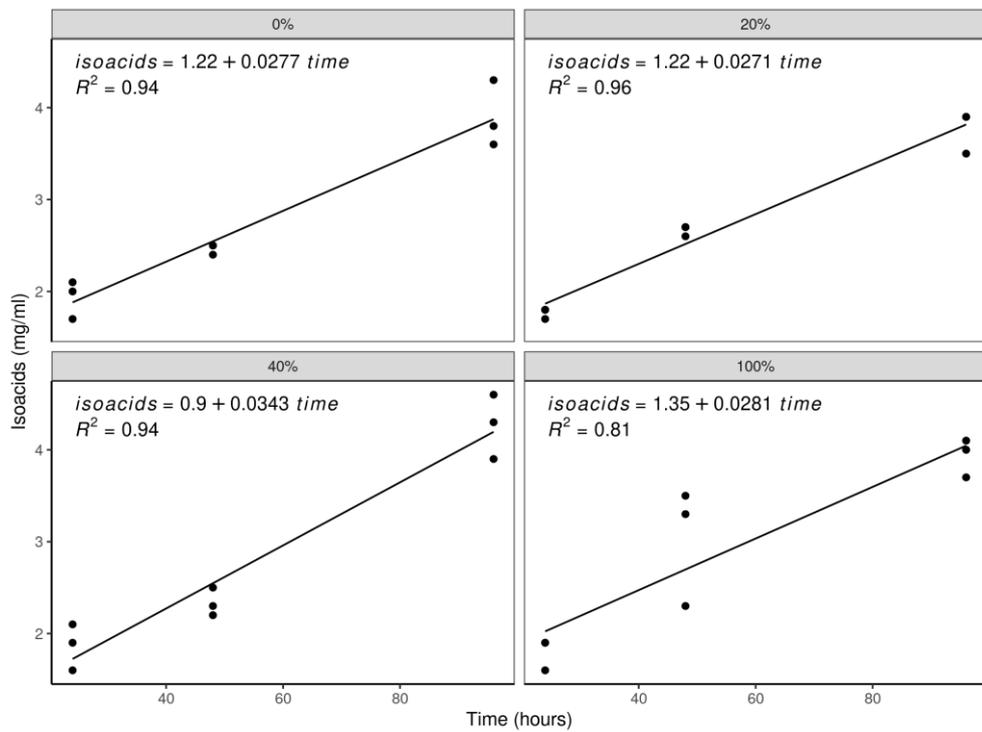


Figura 4.8: Isoácidos de dietas com 0, 20, 40 e 100% de inclusão de feno *C. argentea* em substituição ao feno de Tifton-85 em função do tempo (horas)

Para as demais variáveis (pH, AGCC e Acetato: Propionato) e tempos avaliados não houve ajustes de modelos de regressão.

4.5. Discussão

4.5.1. Produção de gases

A técnica *in vitro* de produção de gases pode gerar informações relevantes sobre a cinética de fermentação e perfil de degradação dos substratos e produtos de fermentação. Os produtos da fermentação correspondem aos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), dióxido de carbono (CO₂), metano (CH₄) e biomassa microbiana, bem como algumas das dinâmicas da população microbiana. Dessa forma, o volume de gases produzido *in vitro* está relacionado com a degradação do substrato, de forma que volumes de gases mais altos são frequentemente explicados por uma alta degradabilidade (Blümmel et al., 1997).

A degradação potencial efetiva depende das características de composição química das forragens, idade e grau de lignificação do FDN (Van Soest et al. 1991). No entanto, a produção de gases é acompanhada de um indicador de degradabilidade (Salem et al., 2005; Elghandour et al., 2014). A degradabilidade pode fornecer uma indicação de quantidade de material fermentado, e a produção de gases forneceria uma estimativa de quanto desse material fermentado foi utilizado para produzir AGCC e gases. Então, materiais altamente degradáveis, especialmente nos estádios iniciais de fermentação, poderiam ser traduzidos em melhor ingestão de matéria seca, e uma população ruminal mais eficiente pode levar mais proteína microbiana a ser enviada para o intestino e, por fim, estar disponível para o ruminante.

A velocidade de produção total de gases observados neste trabalho, pode ser explicada conforme descrito por Sallam et al., 2010. Os autores descrevem que a energia utilizada pelos microrganismos nas primeiras horas de incubação é proveniente, quase que totalmente, da fermentação dos carboidratos não-fibrosos, o que condiz com a maior velocidade de produção de gases nos tempos iniciais. Quanto maior for essa velocidade de fermentação ruminal maior será o aproveitamento e o consumo de alimento (Flachowsky e Lebzien 2012).

A menor emissão de metano observada nos níveis mais elevados de substituição de *C. argentea* poderia ser atribuída ao aumento da inclusão de milho na ração total, considerando que houve aumento da inclusão deste ingrediente, para que as dietas se mantivessem isoenergéticas, influenciando a produção de gases.

Zhou et al. (2011) avaliaram o valor nutritivo de espécies leguminosas tropicais baseado na composição química das forrageiras e na produção de gás *in vitro*. Foram analisadas

as seguintes leguminosas: *Cratylia argentea*; *Leucaena leucocephala*; *Flemingia macrophylla*; *Cajanus cajan*; *Dendrolobium triangular*; *Cassia didymobotrya*; *Cassia bicapsularis* e; *Acacia farnesiana*. Os autores encontraram que a cratília apresentou o maior valor para proteína bruta (18.44%) e os menores valores para energia bruta (17.37 MJ/kg) e taninos totais (0.78%) entre as leguminosas analisadas. Em relação à produção de gases, a cratília apresentou 31.68 mL/200 mg MS, valor intermediário entre as espécies analisadas, que variaram entre 40.07 (*Cassia bicapsularis*) e 12.29 mL/200 mg MS (*Acacia farnesiana*).

A digestão de forragens é muito dependente da proporção relativa de tipos de parede celular presentes nos tecidos vegetais e da existência de fatores que restringem o acesso microbiano às paredes celulares. A maioria dos trabalhos que abordam a utilização da *C. argentea* descreve resultados onde utilizam-se apenas as folhas e ou ramos mais tenros, contudo a separação das partes da planta para armazenamento na forma de feno ou silagem podem inviabilizar a adoção da cultura. No presente trabalho, a padronização de corte da planta inteira objetivou facilitar a operacionalização da atividade, como forma da criação de um protocolo para adoção da planta e da técnica. Essa ação elevou os níveis de FDN, o que resultou em maior produção de gás em relação aos reportados por Zhou et al. (2011), ao trabalharem somente com folhas da planta. Esse comportamento é devido ao maior teor de carboidratos fibrosos oriundos, principalmente, do caule das plantas.

Alguns trabalhos relatam o uso de leguminosas tropicais com taninos para reduzir CH₄ em ruminantes (Louvandini et al., 2011; Archimède et al., 2011, Ku-vera et al., 2020). Na maioria desses estudos, no entanto, a redução do CH₄ foi confundida por mudanças concomitantes no teor de tanino e na qualidade da forragem (leguminosas versus grama), como menor teor de FDN e teor de nitrogênio. Assim, ainda há uma incerteza considerável sobre a eficácia do teor de tanino de forragem para reduzir as emissões entéricas de CH₄ de ruminantes (Rodríguez et al., 2015).

O teor de TC no presente trabalho corresponde a 1.07 g/kg MS (Tabela 4.2.) A presença de TC em concentrações abaixo de 6 g/kg MS, tem função de proteção da proteína contra a excessiva degradação ruminal e melhor absorção de aminoácidos na porção intestinal (Guimarães-Beelen, 2002). Acima desta percentagem pode causar efeitos negativos, como redução do consumo e da digestibilidade do alimento (Getachew et al., 2000).

Pereira et al., (2018), ao avaliarem a atividade biológica de leguminosas forrageiras tropicais, observaram que a *C. argentea* apresentou níveis de taninos condensados não detectáveis em comparação a outras plantas avaliadas. Essa observação corrobora com Fagundes et al. (2020), ao avaliarem *in vitro* plantas taníferas com potencial de mitigação de

metano para o gado e as implicações para a microbiota ruminal. Os autores observaram que as folhas de *C. argentea* foram consideradas menos reativas aos parâmetros de fermentação ruminal, com parâmetros semelhantes ao Tifton-85, apresentando composição nutricional DMS e DMO semelhantes. Segundo os autores, o efeito biológico dos taninos condensados na produção proporcional de gases, ou seja, a ação sobre a microbiota ruminal, está relacionado com a menor produção proporcional de gases encontrados para as espécies *Desmodium paniculatum* e *Lespedeza procumbens*. Houve redução na população de micro-organismos metanogênicos no rúmen decorrentes da presença dos TC na dieta, porém essas espécies foram mais eficientes, na redução da emissão de metano entérico. As leguminosas *C. argentea*, *Cajanus cajan* e *Macrotyloma axillare* apresentaram efeito biológico médio dos TC na produção de gases.

4.5.2. Parâmetros de degradação e fermentação *in vitro*

Alguns trabalhos descrevem que alimentos que possuem maior produção de gás e degradabilidade *in vitro* da matéria seca tendem a ter maior produção de CH₄ por grama incubada (Durmic et al., 2010; Njidda e Nasiru, 2010; Jayanegara et al., 2011). Os parâmetros da degradabilidade observados neste trabalho indicam que ao longo do tempo, a degradabilidade aumentou, no entanto, não influenciando em outros parâmetros da fermentação

Não houve efeito negativo na inclusão da *C. argentea* nos parâmetros de fermentação avaliados. Isso indica que a *C. argentea* pode ser uma opção a ser utilizada como forragem, uma vez que sua atividade biológica em nível de rúmen seria baixa. Poucos trabalhos com *C. argentea* abordam sobre a cinética de degradação ruminal e como descrito anteriormente, geralmente tratam apenas de folhas e hastes finas, que poderiam influenciar na degradação do substrato e por fim na cinética da fermentação.

Para que microrganismos fibrolíticos possam se manter em plena atividade ruminal, o pH do meio deve estar entre 6.2 e 6.8 (Oliveira et al., 2013). Quanto ao pH não se observou diferença significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos, tempo de incubação e interação tratamento x tempo de incubação com valor médio de 6.60. Neste sentido, os valores de pH encontrados em todas as dietas utilizadas ficaram dentro do recomendado.

Dentre os parâmetros, o FP, sugerido por Blummel et al. (1997), está relacionado à eficiência de síntese microbiana. De acordo com Makkar (2004), uma dieta com um maior FP, tem mais matéria orgânica degradada e incorporada à massa microbiana por ml de gás produzido, resultando em maior eficiência na fermentação e provavelmente maior consumo de

alimentos. Para este mesmo autor, a faixa ótima de FP para leguminosas seria 3.1 a 16.1, acima do considerado ótimo para outros tipos de alimentos (2.75 a 4.41) (Blummel et al., 1997).

Soltan et al. (2012) observaram que uma dieta exclusivamente com feno Tifton (*Cynodon sp.*) apresentou menor FP do que dietas contendo leguminosas leucena (*Leucaena leucocephala*), prosopis (*Prosopis juliflora*), atriplex (*Atriplex halimus*) e acacia (*Acacia saligna*) e sugeriram que forrageiras leguminosas aumentam a eficiência de síntese microbiana, por aumentar a incorporação de MO degradada ruminalmente as células microbianas.

A proporção Acetato: Propionato é utilizada para comparar dietas e predizer um valor nutritivo relativo. Em geral, quando na dieta se aumenta os níveis de celulose e hemicelulose em relação aos níveis de carboidratos solúveis e amidos, também se aumenta a proporção Acetato:Propionato. Os isoácidos (isovalerato, isovalerato, isobutirato e 2-metilbutirato) são produto da degradação ruminal de aminoácidos ramificados. Esses elementos exercem um importante papel no crescimento bacteriano através do fornecimento de esqueletos de carbono para a biossíntese de proteína microbiana.

Diferente do observado neste trabalho, Hess et al. 2004 descrevem que a proporção de acetato diminuiu linearmente ($P < 0.001$) de 728 mmol/mol nos tratamentos de *Brachiaria dictyoneura* para 686 mmol/mol no tratamento com duas partes de *C. argentea* para uma parte capim *B. dictyoneura* na dieta. Isso foi associado a aumentos lineares ($P < 0.001$) nas proporções molares de propionato, iso-butirato, n-valerate e iso-valerate. A razão Acetato: Propionato diminuiu linearmente ($P < 0.001$) à medida que a proporção de leguminosas aumentava. Como descrito anteriormente, um dos fatores que podem estar relacionados ao resultado observado frente a relação Acetato: Propionato, e aos isoácidos, está relacionado aos níveis de FDN observados neste experimento.

O estudo realizado por Hess et al (2006) apresentou reduções em CH₄ emissões em dietas com *Calliandra calothyrsus* com alto teor de taninos em comparação com *C. argentea* pobre em taninos. E diferente do observado nesse experimento, os mesmos autores apontam que a concentração de amônia no fluido fermentador foi aumentada ($P < 0,05$) por suplementação com *C. argentea* sozinho ou em mistura com *C. calothyrsus*. A concentração total de ácido graxo volátil (AGV) aumentou ($P < 0,05$) com qualquer tipo de suplementação. Os efeitos da cratília em outras propriedades de fluido ruminal foram principalmente consistentes com os resultados de experimentos *in vitro* e *in vivo* anteriores (Hess et al., 2003; Abreu et al., 2004).

4.6. Conclusões

A inclusão de feno de *C. argentea* como volumoso na dieta em substituição ao feno de Tifton-85, proporciona maior velocidade e menor volume de produção de gases oriundos do processo de fermentação ruminal, notadamente a partir de 40%.

A medida que se eleva os níveis de feno *C. argentea* como volumoso na dieta em substituição ao feno de Tifton-85, reduz a produção de metano.

A partir do nível de 40 % de substituição de feno de *C. argentea* ao feno de Tifton-85 como volumoso na dieta, não há comprometimento da degradabilidade da matéria vegetal.

Os demais parâmetros de fermentação (pH, N-NH₃, AGCC, Acetato:Propionato e isoácidos) não são influenciados pelo nível de inclusão de feno de cratília na dieta em substituição ao feno de Tifton-85 na porção volumosa da dieta, independentemente do tempo de incubação.

4.7. Considerações

O ensaio *in vitro* de produção de gases mostrou que não há efeito negativo sobre o uso de 100% de substituição de feno de *C. argentea* em substituição ao feno de Tifton-85 como volumoso na dieta.

O feno de da leguminosa arbustiva cratília apresenta efeito positivo na redução de emissão de gases oriundos do processo de fermentação ruminal, sendo assim, uma alternativa com potencial para substituir integralmente o feno de Tifton-85 em dietas para ruminantes.

Contudo os parâmetros de fermentação ruminal não foram completamente elucidados quanto ao impacto da *C. argentea* na microbiota ruminal e cinética de fermentação. Dessa maneira novos estudos que elucidem sua utilização são necessários.

4.8. Referências bibliográficas

Abreu, A., et al. Effects of *Sapindus saponaria* fruits on ruminal fermentation and duodenal nitrogen flow of sheep fed a tropical grass diet with and without legume. *Journal of Animal Science* 82: 1392-1400. 2004. <https://doi.org/10.2527/2004.8251392x>

Akaike, Hirotugu. A new look at the statistical model identification. **IEEE transactions on automatic control**, v. 19, n. 6, p. 716-723, 1974.

Archimède, Harry et al. Comparison of methane production between C3 and C4 grasses and legumes. *Animal Feed Science and Technology*, v. 166, p. 59-64, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.04.003>

Argel, P.J.; Lascano, C.E. *Cratylia argentea* (Desvaux) O. Kuntze: una nueva leguminosa arbustiva para suelos ácidos en zonas subhúmedas tropicales. *Pasturas Tropicales*, v.20, p.37-43, 1998.

Blümmel, M., et al. *In vitro* gas production: a technique revisited. *Journal of Animal Physiology and animal nutrition*, 77(1-5), 24-34. (1997). <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.1997.tb00734.x>

Bueno, I. C. S., et al. Influence of inoculum source in a gas production method. *Animal Feed Science and Technology*, vol 123-124, 95-105. (2005). <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.05.003>

Castro-Montoya, J. M.; Dickhoefer, U. The nutritional value of tropical legume forages fed to ruminants as affected by their growth habit and fed form: A systematic review. *Animal Feed Science and Technology*, v. 269, p. 114641, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114641>

Correa Pinzón, Y. T., e Niño-Mariño Mariño, S.. Evaluación de la calidad nutricional de *Cratylia argentea* sometida a diferentes métodos de conservación, en el piedemonte llanero. (2010) <https://ciencia.lasalle.edu.co/zootecnia/180>

Dubeux Junior, J. C. B., et al. Tree legumes: an underexploited resource in warm-climate silvopastures. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 46(8), 689-703. 2017. <https://doi.org/10.1590/S1806-92902017000800010>

Durmic, Z., et al.. *In vitro* fermentative traits of Australian woody perennial plant species that may be considered as potential sources of feed for grazing ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 160(3-4), 98-109. (2010) <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.07.006>

Eckard, R. J.; et al. Options for the abatement of methane and nitrous oxide from ruminant production: A review. *Livestock science*, v. 130, n. 1-3, p. 47-56, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.02.010>

Elghandour MMY, et al. Effects of *Saccharomyces Cerevisiae* at direct addition or pre-incubation on *in vitro* gas production kinetics and degradability of four fibrous feeds. Italian Journal of Animal Science 2014 (13): 295-301 <https://doi.org/10.4081/ijas.2014.3075>

Fagundes, Gisele M. et al. Tannin-rich forage as a methane mitigation strategy for cattle and the implications for rumen microbiota. Animal Production Science, v. 61, n. 1, p. 26-37, 2020. <https://doi.org/10.1071/AN19448>

Flachowsky, G.; Lebzien, P. Effects of phytogenic substances on rumen fermentation and methane emissions: A proposal for a research process, Animal Feed Science and Technology, Volume 176, Issues 1-4, 2012, Pages 70-77, ISSN 0377-8401, <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.07.009>

France, J.; Dijkstra, J. Volatile fatty acid production. Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism, v. 2, p. 157-175. (ed. J. M. Forbes and J. France), pp. 107-121. CAB International, Oxon.

Gámez, J. C. L. (2018). Árboles forrajeros, alternativas protéicas para mejorar la producción y calidad de la leche en bovinos doble propósito, departamento de Matagalpa, Nicaragua, 2009-2011. Revista Científica Tecnológica-UNAN FAREM Matagalpa, 1(2), 29-36. <https://revistarecientec.unan.edu.ni/index.php/recientec/article/view/10>

Garcia, D.E. et al. Integral evaluation of fodder resources for ruminants in Trujillo state, Venezuela. Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia, 26, 555-582, 2009. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-72692006000400002&lng=es&nrm=iso

Getachew, G., et al. Effect of polyethylene glycol on *in vitro* degradability of nitrogen and microbial protein synthesis from tannin-rich browse and herbaceous legumes. British Journal of Nutrition, 84(1), 73-83, (2000) doi:10.1017/S0007114500001252

Goel, G.; Makkar, H. P.. Methane mitigation from ruminants using tannins and saponins. Tropical animal health and production, v. 44, n. 4, p. 729-739, 2012. <https://doi.org/10.1007/s11250-011-9966-2>

Gonçalves, G. D.; et al. Produção e valor nutritivo de gramíneas do gênero *Cynodon* em diferentes idades ao corte durante o ano. Acta Scientiarum. Animal Sciences, v. 24, p. 1163-1174, 2008. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v24i0.2582>

Guimarães-Beelen, P. M., et al. Efeito dos taninos condensados de forrageiras nativas do semi-árido nordestino sobre o crescimento e atividade celulolítica de *Ruminococcus flavefaciens* FD1. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 58, 910-917, (2006). <https://doi.org/10.1590/S0102-09352006000500029>

Hess, H. D. et al. Strategic use of tannins as means to limit methane emission from ruminant livestock. In: International Congress Series. Elsevier, 2006. p. 164-167. <https://doi.org/10.1016/j.ics.2006.01.010>

Hess, Hans-Dieter et al. Ruminal fermentation, methanogenesis and nitrogen utilization of sheep receiving tropical grass hay-concentrate diets offered with *Sapindus saponaria* fruits and *Cratylia argentea* foliage. *Animal Science*, v. 79, n. 1, p. 177-189, 2004. <https://doi.org/10.1017/S1357729800054643>

Hess, Hans-Dieter et al. Supplementation of a tropical grass diet with forage legumes and *Sapindus saponaria* fruits: effects on *in vitro* ruminal nitrogen turnover and methanogenesis. *Australian Journal of Agricultural Research*, v. 54, n. 7, p. 703-713, 2003. <https://doi.org/10.1071/AR02241>

IPCC, 2022: Climate Change 2022: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [H.-O. Pörtner, D.C. Roberts, M. Tignor, E.S. Poloczanska, K. Mintenbeck, A. Alegría, M. Craig, S. Langsdorf, S. Löschke, V. Möller, A. Okem, B. Rama (eds.)]. Cambridge University Press. Cambridge University Press, Cambridge, UK and New York, NY, USA, 3056 pp., doi:10.1017/9781009325844

Jayanegara, A., et al. Dependence of forage quality and methanogenic potential of tropical plants on their phenolic fractions as determined by principal component analysis. *Animal Feed Science and Technology* 163.2-4 (2011): 231-243. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.11.009>

Kutner, M. H. et al. *Applied Linear Statistical Models*. 4th ed. McGraw-Hill Irwin, 2005. 415 p.

Ku-Vera, J. C., et al. Role of Secondary Plant Metabolites on Enteric Methane Mitigation in Ruminants. *Front. Vet. Sci.* 7(:584), (2020). <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00584>

Lascano, C. E. Calidad nutritiva y utilización de *Cratylia argentea*. In: *Potencial del género Cratylia como leguminosa forrajera*. Proceedings of the *Cratylia* Workshop, held. 1995. p. 83-97.

Lima, P. M. T., et al. Nutritional evaluation of the legume *Macrotyloma axillare* using *in vitro* and *in vivo* bioassays in sheep. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 102(2), e669–e676, 2018. <https://doi.org/10.1111/jpn.12810>

Louvandini, H., et al. Plantas taniníferas na nutrição de ovinos. *Veterinária e Zootecnia*, 18(4), 176-181, 2011.

Luz, G. A.; et al. Molecular characterization of accessions of *Cratylia argentea* (Camaratuba) using ISSR markers. *Genetics and Molecular Research*, Ribeirão Preto, v. 14, n. 4, p. 15242-15248, 2015.

Makkar, H. P. S. Quantification of Tannins in Tree and Shrub Foliage. In *Quantification of Tannins in Tree and Shrub Foliage*. Springer Netherlands. (2003). <https://doi.org/10.1007/978-94-017-0273-7>

- Makkar, H. P. S. Recent advances in the *in vitro* gas method for evaluation of nutritional quality of feed resources. *Assessing Quality and Safety of Animal Feeds*, 55–88. (2004).
- Mass, B.L. Evaluación agronómica de *Cratylia argentea* (Desvaux) O. Kuntze em Colombia. In: *TALLER DE TRABAJO SOBRE CRATYLIA*, 1995, Brasilia. Potencial del genero *Cratylia* como leguminosa forrajera: memorias. Cali: CIAT, 1995. p.62-74.
- Maurício, R., et al. A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. *Animal Feed Science and Technology*, 79 (4), 321-330. (1999).
[https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(99\)00033-4](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(99)00033-4)
- Longo, C., et al. The influence of head-space and inoculum dilution on *in vitro* ruminal methane measurements. *International Congress Series*, 1293, (2006). 62–65.
<https://doi.org/10.1016/j.ics.2006.03.017>
- Menke, K. H., e Steingass, H. (1988). *In vitro* gas production technique description of solutions required for the gas technique analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, 6–7.
- National Research Council (NRC). *Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids and New World Camelids*. Washington, DC, National Academy Press, 2007.
<https://doi.org/10.17226/11654>
- Njidda, A. A., and A. Nasiru. "*In vitro* gas production and dry matter digestibility of tannin-containing forages of semi-arid region of north-eastern Nigeria." *Pakistan Journal of Nutrition* 9.1 (2010): 60-66.
- Pereira, T. P. et al. Caracterização e atividade biológica de taninos condensados de leguminosas forrageiras tropicais. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 53, p. 1070-1077, 2018.
<https://doi.org/10.1590/S0100-204X2018000900011>
- Pinheiro, J. C.; Bates, D. M. *Mixed-effects models in S and S-PLUS*. New York: Springer-Verlag, 2000. 528 p.
- Pizarro, E. A. et al.. Introducción y evaluación de leguminosas forrajeras arbustivas en el Cerrado brasileño. Potencial del género *Cratylia* como leguminosa forrajera. EMBRAPA, CENARGEN, CPAC y CIAT. *Memorias del Taller sobre Cratylia*, realizado el, v. 19, p. 40-49, 1995.
- Pizarro, E.A., et al. Introducción y evaluación de leguminosas forrajeras arbustivas en el Cerrado Brasileño. En: *Potencial del género Cratylia como leguminosa forrajera*. Pizarro EA y Coradin L (eds.). Embrapa, Cenargen, CPAC y CIAT, *Memorias Taller sobre Cratylia* realizado del 19 al 20 de julio de 1995 en Brasilia, Brasil, 40-49
<https://hdl.handle.net/10568/80253>

Queiroz, L. P. de. O gênero *Cratylia* Martius ex Bentham (LEGUMINOSAE: PAPILIONOIDEAE: PHASEOLEAE): revisão taxonômica e aspectos biológicos. Campinas: UNICAMP, 1991.129p.

Queiroz, L. P.; Coradin, L. Biogeografia de *Cratylia* e áreas prioritárias para coleta. En: Potencial del Género *Cratylia* como Leguminosa Forrajera. Pizarro, E. A. & Coradin, L. (eds.). EMBRAPA, CENARGEN, CPAC y CIAT, Memorias Taller sobre *Cratylia* realizado del 19 al 20 de julio de 1995 em Brasilia, Brasil. p. 1-28.

R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

Rodríguez, A. A., et al. Effect of the physical form of the tropical legumes *Cratylia argentea* (Desv.) Kuntze, *Calliandra calothyrsus* Meisn., and *Leucaena leucocephala* (Lam. de Wit) on selective consumption by lambs. *The Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico*, 99(2), 167-178, (2015)..

Salem, Abdel-Fattah ZM. Impact of season of harvest on *in vitro* gas production and dry matter degradability of *Acacia saligna* leaves with inoculum from three ruminant species. *Animal Feed Science and Technology*, v. 123, p. 67-79, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.04.042>

Sallam SMA, Bueno ICS, Nasser MEA, Abdalla AL (2010). Effect of eucalyptus (*Eucalyptus citriodora*) fresh or residue leaves on methane emission *in vitro*. *Ital. J. Anim. Sci.*, 9: 299-303. : <https://doi.org/10.4081/ijas.2010.e58>

Silva, A. D., et al. (2018). Recuperação de pastagem degradada pelo consórcio de milho, *Urochloa brizantha* cv. Marandu e guandu. *Journal of Neotropical Agriculture*, 5(2), 39-47.

Silva, M. E.; et al. Anthelmintic efficacy of *Cratylia argentea* (Desv.) Kuntze against the gastrointestinal nematodes of sheep. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, v. 38, n. 5, p. 3105-3112, 2017. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2017v38n5p3105>

Soltan, Y. A.; et al. Comparative *in vitro* evolution of forage legumes (prosopis, acácia, atriplex and leucaena) on ruminal fermentation and methanogens. *Journal Animal Feed Science*. v.21, p.759-772; 2012. <https://doi.org/10.22358/jafs/66148/2012>

Theodorou, Michael K. et al. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal feed science and technology*, v. 48, n. 3-4, p. 185-197, 1994. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(94\)90171-6](https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)90171-6)

Valles-de la Mora, B.; et al. Live-weight gains of Holstein× Zebu heifers grazing a *Cratylia argentea*/Toledo-grass (*Brachiaria brizantha*) association in the Mexican humid tropics. *Agroforestry Systems*, v. 91, n. 6, p. 1057-1068, 2017. <https://doi.org/10.1007/s10457-016-9980-5>

Van Soest, P.J.; et al. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.

Wanapat, M., et al. Sunnhemp (*Crotalaria juncea*, L.) silage can enrich rumen fermentation process, microbial protein synthesis, and nitrogen utilization efficiency in beef cattle crossbreds. *Trop Anim Health Prod* 53, 187 (2021). <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02628-z>

Zhou, H., et al. Nutritive value of several tropical legume shrubs in Hainan province of China. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10(13), 1640-1648, (2011).