

Universidade de São Paulo
Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos

ROSANA APARECIDA POSSENTI

**Efeitos de dietas com *Leucaena leucocephala* com ou sem
adição de *Sacharomyces cerevisiae* na digestão,
fermentação, protozoários e produção de metano no rúmen
em bovinos**

ROSANA APARECIDA POSSENTI

**Efeitos de dietas com *Leucaena leucocephala* com ou sem
adição de *Sacharomyces cerevisiae* na digestão,
fermentação, protozoários e produção de metano no rúmen
em bovinos**

Tese de Doutorado apresentada à
Faculdade de Zootecnia e Engenharia de
Alimentos da Universidade de São Paulo,
como parte dos requisitos para a
obtenção do Título de Doutor em
Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e
Produtividade Animal

Orientador: Prof. Dr. Raul Franzolin

Pirassununga
2006

FICHA CATALOGRÁFICA

preparada pela

Biblioteca da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo

P856e

Possenti, Rosana Aparecida

Efeitos de dietas com *Leucaena leucocephala* com ou sem adição de *Sacharomyces cerevisiae* na digestão, fermentação, protozoários e produção de metano no rúmen em bovinos / Rosana Aparecida Possenti – Pirassununga, 2006.

98 f.

Tese (Doutorado) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – Universidade de São Paulo.

Departamento de Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal.

Orientador: Prof. Dr. Raul Franzolin Neto.

Unitermos: 1. Ácidos graxos voláteis 2. Amônia ruminal 3. Fauna ruminal 4. Leucena 5. Levedura I. Título.

*“Muito deixei do vivido
Muito pedi sem ter ganho,
Mas sem chorar de sentido,
De achar injusto ou estranho,
Que o mundo não tem tamanho
Para quem dá passo escolhido.
Só vivo pruma verdade,
Da qual me orgulho sem pejo,
Nunca trocar por vaidade
O que pretendo ou desejo.”*

Mário Lago

Dedico este trabalho:

Aos meus pais, Zuleika e Antônio, em memória, por terem me ensinado a aprender e sei que estão sempre comigo.

*“Não precisa ser homem,
basta ser humano,
basta ter sentimentos,
basta ter coração.
Precisa saber falar e calar,
sobretudo saber ouvir”...*

Vinicius de Moraes

Ofereço este trabalho:

A tia Deise, pelo amor e amizade que nos une.
Aos meus filhos, João e Marina, pelo amor que sinto por vocês.
Ao Gerson, meu marido, pela companhia, amor, respeito e
cumplicidade nesses anos sem você não teria conseguido.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Raul Franzolin Neto, pelo incentivo, dedicação e orientação na execução deste trabalho.

Ao Instituto de Zootecnia, pelo apoio com o uso dos animais, instalações e laboratórios utilizados neste trabalho.

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, pela oportunidade da realização do curso de Doutorado em Zootecnia.

Ao funcionário do Instituto de Zootecnia, Nivaldo Martins pela valiosa colaboração na colheita dos dados.

Aos funcionários do Laboratório de Bromatologia do Instituto de Zootecnia, Carmen Terra, Maria Aparecida Menale, Neusa Chaves, Sergio Miente e Zenairde Palomo pela presteza e dedicação nas análises laboratoriais.

À bolsista da FUNDAP, Patrícia Brás pelo auxílio na colheita dos dados e análises laboratoriais.

A pesquisadora do Instituto de Zootecnia, Valquíria de Bem Gomes Alcântara pela valiosa colaboração na confecção do feno de leucena

A pesquisadora Eliana Schammas do Instituto de Zootecnia, pela presteza, atenção e colaboração nas análises estatísticas.

Ao pesquisador do Polo Regional da APTA, João José de A. A. Demarchi pela grande colaboração na coleta do gás metano.

À pesquisadora Maria José Valarini do Instituto de Zootecnia, pela amizade e apoio.

À Maria Conceição Roldão Mendes, secretária da pós-graduação da FZEA/USP, pela disponibilidade e paciência.

Ao chefe da Seção Técnica de Biblioteca da FZEA-USP, Marcelo Roberto Dozena, pela presteza e colaboração.

Aos Professores da pós-graduação da FZEA/USP pelos ensinamentos.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram para a realização desse trabalho os meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

POSSENTI, R. A. **Efeitos de dietas com *Leucaena leucocephala* com ou sem adição de *Sacharomyces cerevisiae* na digestão, fermentação, protozoários e produção de metano no rúmen em bovinos.** 2006. 98p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2006.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do uso de leucena (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de wit), em dietas para bovinos com ou sem adição de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) sobre a digestão (degradabilidade e digestibilidade), fermentação (produção de ácido graxos voláteis, amônia e metano) e população de protozoários no rúmen. Foram utilizados quatro bovinos machos mestiços, com peso vivo médio de 797 kg, canulados no rúmen em experimento com delineamento Quadrado Latino 4x4 em arranjo fatorial 2x2 com dois níveis leucena (20% e 50%) com feno de *Cynodon dactylon* cultivar *coast-cross* na presença ou ausência da levedura. Os tratamentos foram denominados: 20S = 20% de feno de leucena + 80% de de *coast-cross* ; 50S = 50% de feno de leucena + 50% de de *coast-cross*; 20L = 20% de feno de leucena + 80% de de *coast-cross* + 10 g de levedura; 50L = 50% de feno de leucena + 50% de de *coast-cross* + 10g de levedura. Os parâmetros ruminiais avaliados foram: produções de ácidos graxos voláteis (AGVs); concentração de amônia; pH; produção de gás metano; taxa de passagem do líquido; degradabilidade *in situ* da MS, FDN e PB dos fenos de leucena e *coast-cross*; digestibilidade *in vitro* da MS dos fenos de leucena e *coast-cross*; contagem diferencial dos gêneros de protozoários ciliados. Houve efeitos da interação entre níveis de leucena e levedura nas dietas sobre as concentrações médias dos AGVs totais ($P < 0,05$). As concentrações de ácido acético não apresentaram diferenças entre tratamentos. Mas as concentrações de ácido propiônico mostraram efeitos significativos para níveis de leucena na dieta e da interação N x L ($P < 0,05$), com os maiores valores médios obtidos para o ácido propiônico em nível mais alto de leucena com levedura (19,14 mM). O aumento do nível de leucena favoreceu uma maior produção de ácido

propiónico e esse efeito foi potencializado pela adição de levedura. Não houve diferenças na produção de ácido butírico nos níveis de leucena e de levedura ($P>0,05$) mas foram observados efeitos significativos da interação, evidenciando maiores concentrações do ácido butírico no tratamento 20L. Não foram observadas diferenças ($P>0,05$), nas concentrações de amônia no rúmen, variando de 18,71 a 21,28 mg/100 mL no líquido ruminal. Houve diferença ($P<0,05$) na emissão de gás metano pelos animais, recebendo os diferentes tratamentos, ocorreu uma redução na produção de metano na dieta com nível elevado de leucena contendo levedura. Os valores encontrados para a cinética ruminal não foram afetados pelos tratamentos ($P>0,05$). A população de protozoários ciliados no rúmen sofreu alterações conforme o tratamento aplicado, tanto na concentração como na composição final da fauna, indicando um efeito associativo que ocorreu com o aumento de leucena na dieta juntamente com a levedura ou mecanismo de ação semelhante de ambos, dependendo do nível de leucena na dieta.

Palavras chaves: ácidos graxos voláteis, amônia ruminal, fauna ruminal, levedura, leucena.

ABSTRACT

POSSENTI, R. A. **Effects of *Leucaena leucocephala* diets with or without *Sacharomyces cerevisiae* on the ruminal digestion, fermentation, protozoa and methane production in cattle.** 2006. 98p. Doctor Thesis – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2006.

The present research had as objective to evaluate the effect of the use of leucaena (*Leucaena leucocephala* (Lam.) of Wit) in diets for bovines with or without yeast addition (*Saccharomyces cerevisiae*) on the digestion (degradability and digestibility), fermentation (production of volatile fatty acids, ammonia and methane) and ciliate protozoa population in rumen. Four crossbred male cattle, with average body weight of 797 kg, with rumen cannula were utilized in a Latin Square assay design 4x4, in factorial arrangement (2 x 2) with two levels of leucaena (20% and 50% DM) with hay of *Cynodon dactylon* cv coast-cross with or without addition of yeast. The treatments had been called: 20S = 20% of leucena hay + 80% of hay of coast-cross; 50S = 50% of leucena hay + 50% of hay of coast-cross; 20L = 20% of leucena hay + 80% of hay of coast-cross + 10 g of yeast and 50L = 50% of leucena hay + 50% of hay of coast-cross + 10g yeast. The ruminal parameters evaluated were: volatile fatty acids production; ammonia concentration; pH; gas production of methane; fluid outflow; in situ degradability in situ of the DM, NDF and CP of leucena and coast-cross hays; DM in vitro digestibility of leucena and coast-cross hays and concentration and generic counting of the ciliate protozoa. It was observed effect of the interaction between leucena levels and yeast in the diets on average total concentrations of VFA. No differences were observed in the concentrations of acetic acid among the treatments. But the propionic acid concentrations had shown significant effect for levels of leucena in the diet and interaction, with higher values obtained in the high leucaena level with yeast addition (19.14 mM). The increase of the leucaena level favored a higher production of propionic acid and this effect was powered by the yeast addition. There were no differences in the butyric acid production among the treatments, but significant effect of the interaction had been observed, evidencing higher

concentrations of butyric acid in the treatment 20L. No difference had been observed in the rumen ammonia concentrations, varying from 18.71 to 21,28 mg/100 mL of ruminal liquid. A reduction in the methane production was observed in the animals receiving higher level of leucena with yeast addition. The values found for the kinetic ruminal had not been affected by the treatments. There was observed alteration in the rumen protozoa population according to treatment, as much in the concentration as mainly in the final composition of the fauna, indicating to have an associative effect that occurs with the increase of leucena in the diet together with the yeast addition or occurs a mechanism of similar action of both depending on the level of leucena in the diet.

Key words: volatile fatty acids, ruminal ammonia, ruminal fauna, ruminal metabolism, yeast

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Instalações - baia coberta	36
Figura 2	Instalações - área de cimento e chão batido	36
Figura 3	Processamento da biomassa de leucena colhida manualmente.....	40
Figura 4	Processo de produção do feno de leucena	40
Figura 5	Preparo da canga para coleta de gás metano	44
Figura 6	Animal atrelado ao aparato de coleta de gás metano.....	44
Figura 7	Concentrações médias dos AGVs totais no fluido ruminal (mM) em diferentes tempos de amostragens nos diferentes tratamentos estudados	52
Figura 8	Valores médios das proporções molares de ácido acético (% molar) no fluido ruminal em diferentes tempos de amostragens nos diferentes tratamentos estudados	53
Figura 9	Valores médios das proporções molares de ácido propiônico (% molar) no fluido ruminal em diferentes tempos de amostragens nos diferentes tratamentos estudados.....	54
Figura 10	Valores médios das proporções molares de ácido butírico (% molar) no fluido ruminal em diferentes tempos de amostragens nos diferentes tratamentos estudados.....	55
Figura 11	Valores das proporções acético:propiônico (com base na % molar) no fluido ruminal em diferentes tempos de amostragens nos diferentes tratamentos estudados	56

Figura 12	Valores das concentrações médias de amônia no fluído ruminal (mg/100 mL) em diferentes tempos de amostragens nos diferentes tratamentos estudados	58
Figura 13	Valores de pH no fluído ruminal em diferentes tempos de amostragens nos diferentes tratamentos estudados	60
Figura 14	Curva de desaparecimento da matéria seca (MS) do feno de leucena nos diferentes tratamentos estudados.....	66
Figura 15	Curva de desaparecimento da fibra em detergente neutro (FDN) do feno de leucena nos diferentes tratamentos estudados	66
Figura 16	Curva de desaparecimento da proteína bruta (PB) do feno de leucena, nos diferentes tratamentos estudados	67
Figura 17	Curva de desaparecimento da matéria seca (MS) do feno de <i>coast-cross</i> nos diferentes tratamentos estudados.....	67
Figura 18	Curva de desaparecimento da fibra em detergente neutro (FDN) do feno de <i>coast-cross</i> nos diferentes tratamentos estudados.....	68
Figura 19	Curva de desaparecimento da proteína bruta (PB) do feno de <i>coast-cross</i> nos diferentes tratamentos estudados.....	68
Figura 20	Curva de desaparecimento da matéria seca (MS) do feno de leucena e de <i>coast-cross</i> com os dados médios de todos os tratamentos	69
Figura 21	Curva de desaparecimento da fibra em detergente neutro (FDN) do feno de leucena e de <i>coast-cross</i> com os dados	

	médios de todos os tratamentos	69
Figura 22	Curva de desaparecimento da proteína bruta (PB) do feno de leucena e de <i>coast-cross</i> com os dados médios de todos os tratamentos	69
Figura 23	Reação colorimétrica de DHP com cloreto férrico (cor púrpura) em urina de bovinos nos quatro tratamentos avaliados, dois níveis de leucena (20 e 50% MS) e feno de capim <i>coast-cross</i> , sem (S) e com (L) adição de levedura - Período 1.....	74
Figura 24	Reação colorimétrica de DHP com cloreto férrico (cor púrpura) em urina de bovinos nos quatro tratamentos avaliados, dois níveis de leucena (20 e 50% MS) e feno de capim <i>coast-cross</i> , sem (S) e com (L) adição de levedura - Período 2	74
Figura 25	Reação colorimétrica de DHP com cloreto férrico (cor púrpura) em urina de bovinos nos quatro tratamentos avaliados, dois níveis de leucena (20 e 50% MS) e feno de capim <i>coast-cross</i> , sem (S) e com (L) adição de levedura - Período 3	75
Figura 26	Reação colorimétrica de DHP com cloreto férrico (cor púrpura) em urina de bovinos nos quatro tratamentos avaliados, dois níveis de leucena (20 e 50% MS) e feno de capim <i>coast-cross</i> , sem (S) e com (L) adição de levedura - Período 4	75

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Composição química de brotos de <i>Leucaena leucocephala</i>	25
TABELA 2	Teores de mimosina <i>Leucaena leucocephala</i>	28
TABELA 3	Efeitos contrastantes da alimentação exclusiva de leucena a caprinos na Austrália e no Havaí	30
TABELA 4	Esquema dos tratamentos no delineamento em Quadrado Latino 4X4.....	38
TABELA 5	Composição bromatológica dos fenos de <i>Leucaena leucocephala</i> e de <i>Cynodon dactylon</i> cv <i>coast-cross</i> e das dietas nos níveis de 20% (Nível 20) e 50% do feno de leucena (Nível 50)	41
TABELA 6	Ingestão de matéria seca (IMS) em bovinos com dieta em dois níveis de leucena (20% e 50% MS) e feno de capim <i>coast-cross</i> , sem (S) e com (L) adição de levedura	44
TABELA 7	Concentrações médias de ácidos graxos voláteis totais (AGVs) no fluído ruminal (mM) em diferentes tempos de amostragens em bovinos com dietas de dois níveis de leucena (20% e 50% MS) e feno de capim <i>coast-cross</i> , sem (S) e com (L) adição de levedura	52
TABELA 8	Porcentagens molares médias de ácido acético no fluído ruminal em diferentes tempos de amostragens em bovinos com dietas de dois níveis de leucena (20 e 50% MS) e feno de capim <i>coast-cross</i> , sem (S) e com (L) adição de levedura	53

TABELA 9	Porcentagens molares médias de ácido propiônico no fluido ruminal em diferentes tempos de amostragens em bovinos com dietas de dois níveis de leucena (20 e 50% MS) e feno de capim <i>coast-cross</i> , sem (S) e com (L) adição de levedura	54
TABELA 10	Porcentagens molares médias de ácido butírico no fluido ruminal em diferentes tempos de amostragens em bovinos com dietas de dois níveis de leucena (20 e 50% MS) e feno de capim <i>coast-cross</i> , sem (S) e com (L) adição de levedura	55
TABELA 11	Proporções de acético:propiônico (A:P) no fluido ruminal em diferentes tempos de amostragens em bovinos com dietas de dois níveis de leucena (20 e 50% MS) e feno de capim <i>coast-cross</i> , sem (S) e com (L) adição de levedura	56
TABELA 12	Concentrações médias de amônia (NH ₃) no fluido ruminal (mg/100 mL) em diferentes tempos de amostragens em bovinos com dietas de dois níveis de leucena (20 e 50% MS) e feno de capim <i>coast-cross</i> , sem (S) e com (L) adição de levedura	58
TABELA 13	pH no fluido ruminal em diferentes tempos de amostragens em bovinos com dietas de dois níveis de leucena (20 e 50% MS) e feno de capim <i>coast-cross</i> , sem (S) e com (L) adição de levedura	59
TABELA 14	Emissão de gás metano (CH ₄) em bovinos com dietas de dois níveis de leucena (20 e 50% MS) e feno de capim <i>coast-cross</i> , sem (S) e com (L) adição de	

	levedura	61
TABELA 15	Taxa de passagem do líquido ruminal em bovinos com dietas de dois níveis de leucena (20 e 50% MS) e feno de capim <i>coast-cross</i> , sem (S) e com (L) adição de levedura	62
TABELA 16	Parâmetros da degradação ruminal da matéria seca (MS), fibra em detergente neutro (FDN) e proteína bruta (PB) do feno de leucena em bovinos com dietas de dois níveis de leucena (20 e 50% MS) e feno de capim <i>coast-cross</i> , sem (S) e com (L) adição de levedura.....	63
TABELA 17	Parâmetros da degradação ruminal da matéria seca (MS), fibra em detergente neutro (FDN) e proteína bruta (PB) do feno de <i>coast cross</i> em bovinos com dietas de dois níveis de leucena (20 e 50% MS) e feno de capim <i>coast-cross</i> , sem (S) e com (L) adição de levedura.....	64
TABELA 18	Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca (<i>DIVMS</i>) do feno de <i>coast-cross</i> nos diferentes tempos de incubação, realizada com fluído ruminal de bovinos com dietas de dois níveis de leucena (20 e 50% MS) e feno de capim <i>coast-cross</i> , sem (S) e com (L) adição de levedura.....	70
TABELA 19	Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca (<i>DIVMS</i>) do feno de leucena nos diferentes tempos de incubação, realizada com fluído ruminal de bovinos em dietas de dois níveis de leucena (20 e 50% MS) e feno de capim <i>coast-cross</i> , sem (S) e com (L) adição de levedura.....	71

TABELA 20	Concentração e composição de diferentes gêneros e da subfamília Diplodininae de protozoários ciliados no rúmen de bovinos alimentados com dietas de dois níveis de leucena (20 e 50% MS) e feno de capim <i>coast-cross</i> , sem (S) e com (L) adição de levedura.....	72
-----------	---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

AGVs = ácidos graxos voláteis

CH₄ = metano

DHP = dihidroxipiridina

FDA = fibra detergente ácida

FDN = fibra detergente neutra

h = horas

mL = mililitro

mM = milimol

MS = matéria seca

NH₃ = amônia

N-FDA = Nitrogênio insolúvel em FDA como % do N total

N-FDN= Nitrogênio insolúvel em FDN como % do N total

PB = proteína bruta

PEG= polietilenoglicol

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	20
2. REVISÃO DA LITERATURA	22
2.1. Características agrônômicas da leucena.....	22
2.2. Valor nutritivo.....	23
2.3. Fatores antinutricionais.....	26
2.4. Influência da adição de levedura em dietas de volumosos.....	31
2.5. Influência de leguminosas na dieta sobre a produção de metano ruminal.....	32
3. OBJETIVOS	34
4. MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1. Animais e instalações.....	35
4.2. Delineamento, tratamentos e manejo experimental.....	37
4.3. Feno de leucena e de <i>coast-cross</i>	38
4.4. Parâmetros ruminais.....	41
4.4.1. Ácidos graxos voláteis e amônia.....	41
4.4.2 Determinação do pH.....	42
4.4.3. Gás metano.....	42
4.5. Taxa de passagem de líquidos.....	45
4.6. Degradabilidade ruminal dos fenos de leucena e de <i>coast cross</i> ..	45
4.7. Digestibilidade <i>in vitro</i> da MS.....	47
4.8. Identificação e contagem de protozoários ciliados.....	48
4.9. Presença de dihidroxipiridina na urina.....	48
4.10. Análise estatística	49
5. RESULTADOS	50
5.1. Ingestão de matéria seca.....	50
5.2. Parâmetros ruminais.....	51
5.2.1. Ácidos graxos voláteis (AGVs).....	51

5.2.2. Amônia (NH ₃) no rúmen.....	57
5.2.3. pH ruminal.....	59
5.2.4. Produção de metano (CH ₄).....	61
5.2.5 Taxa de passagem de líquidos.....	62
5.2.6. Degradabilidade ruminal do feno de leucena e de <i>coast-cross</i> ...	63
5.2.7. Digestibilidade <i>in vitro</i> da MS (<i>DIVMS</i>).....	70
5.2.8. Protozoários ciliados.....	71
5.3. Pesquisa de DHP na urina.....	73
6. DISCUSSÃO	76
6.1. Ingestão de matéria seca.....	76
6.2. Parâmetros ruminais.....	76
6.2.1. Ácidos graxos voláteis (AGVs).....	76
6.2.2. Amônia no rúmen.....	78
6.2.3. pH ruminal.....	80
6.2.4. Produção de metano (CH ₄).....	80
6.2.5 Taxa de passagem de líquidos.....	81
6.2.6. Degradabilidade ruminal dos fenos de leucena e <i>coast-cross</i>	82
6.2.7. Digestibilidade <i>in vitro</i> da MS (<i>DIVMS</i>).....	84
6.2.8. Protozoários ciliados.....	85
6.3. Pesquisa de DHP na urina.....	86
CONCLUSÃO	87
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88

1. INTRODUÇÃO

Alterações climáticas em conjunto com ações políticas menos adequadas têm conduzido à excessiva pressão sobre variados ecossistemas, levando frequentemente a situações indesejáveis como vem ocorrendo nas regiões equatoriais. O corte indiscriminado de árvores em extensas áreas de florestas para posterior formação de pastagens, têm sido considerados como atividades menos sensatas realizadas pelo homem. Esta prática implica na substituição da floresta de elevada biodiversidade por povoamentos homogêneos de gramíneas. Segundo Veiga e Serrão (1991) essas pastagens degradam-se rapidamente em consequência da instabilidade dos próprios sistemas de produção adotados, que estão sujeitos a fatores adversos predominantemente bióticos, tais como baixa adaptação das espécies forrageiras, concorrência com plantas invasoras, manejo inadequado e outros como pragas e doenças e também abióticos, como deterioração das características físico-química do solo, alteração do regime hídrico e no micro-clima.

Os efeitos globais do corte das árvores nas florestas tropicais não estão suficientemente esclarecidos; no entanto são óbvios os distúrbios na fauna e flora autóctones, conduzindo frequentemente a situações de extinção de espécies. A erosão e a lixiviação do solo aumentam consideravelmente devido a diminuição da cobertura vegetal, interrompendo a reciclagem de nutrientes e produzindo alterações na quantidade de sedimentos, que originam alterações nos fluxos e no armazenamento de água, que obviamente tenderão a dificultar a estabilidade de qualquer ecossistema (BUSCHBACHER et al., 1988).

Nas zonas tropicais, onde se verifica uma sazonalidade climática bastante acentuada, tentativas mal concebidas de intensificação das atividades agropecuárias têm conduzido, diversas vezes, a situações de excesso de pastejo, com conseqüente aumento da degradação do solo. Entretanto, o sucesso das culturas e ou produção animal está condicionado ao adequado manejo da cultura. Observa-se assim, por um lado o aumento das necessidades de produção e paradoxalmente uma diminuição da área disponível devido ao avanço da desertificação.

Para tentar inverter esta situação tem sido proposta a inclusão de povoamentos multi-específicos de espécies arbóreas e arbustivas, na tentativa de recuperação dos sistemas produtivos de acordo com as condições do solo, climáticas e sócio-econômicas. Os fundamentos agro-ecológicos dos sistemas silvipastoris estão de acordo com os processos que sustentam o equilíbrio do ecossistema local, nos quais as comunidades evoluíram sob condições edafo-climáticas favoráveis à produção, na presença de processos eficientes de reciclagem de nutrientes, só possíveis devido a quantidade e diversidade da fauna e da flora, conforme Primavesi (1998). Os sistemas silviagro-pastoris não têm como função o restabelecimento da floresta original, mas amenizar alguns problemas ambientais e portanto viabilizar uma maior produtividade útil por área (PEREIRA et al., 1995; CARMONA, 2005).

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Características agronômicas da leucena

Em clima tropical úmido, culturas multi-específicas de espécies arbóreas e arbustivas possibilitam de forma eficiente a proteção do solo contra a erosão pluvial, lixiviação, compactação e ainda a regularização dos regimes hídricos dos ecossistemas. Por outro lado, estas espécies têm demonstrado maior tolerância a fenômenos de toxicidade associados ao solo, o que lhes confere maior adaptabilidade (SHELTON et al., 1991). Também nos climas mais secos, devido a morfologia das raízes, a folhagem xerófila e a capacidade de economizar água, as espécies arbóreas e arbustivas são de suma importância quando presentes nos sistemas de produção tradicional, onde podem participar com biomassa para alimentação animal e para combustível (ROCHA, 1991). A perenidade dessas plantas e a regularidade em sua produção possibilitam maior facilidade no planejamento e na interligação dos vários componentes dos sistemas produtivos.

Particularizando, as leguminosas arbóreas e arbustivas, devido a capacidade de fixar o nitrogênio atmosférico, permitindo sua reciclagem através da queda das folhas e morte dos nódulos, tendem progressivamente a alterar a composição superficial do solo, com melhoria na bioestrutura. Ao proteger o solo das radiações solares diretas e das intempéries, provoca uma diminuição na taxa de mineralização e conseqüentemente a preservação da umidade, melhorando as condições para o desenvolvimento de várias culturas ou o desenvolvimento do substrato herbáceo para a alimentação animal (HOPKINS, 1985).

Espécies arbóreas e arbustivas do gênero *Leucaena* sp., incluem-se no grupo de plantas que, pela sua adaptabilidade e versatilidade produtiva, estão difundidas por toda a zona intertropical, ocupando vários lugares em diversos sistemas produtivos (FEBLES et al., 1987). A heterogeneidade de funções é grande, podendo ser encontradas em programas de reflorestamento, devido a sua velocidade de crescimento, como planta sombreadora para outras culturas, como quebra-vento, reduzindo a possibilidade de erosão eólica, como controladora da progressão de fogo, como fornecedora de madeira para construção e combustível (carvão), ou ainda como adorno em cerimônias tradicionais, bastante utilizada em

dietas de ruminantes, principalmente, em sistemas de baixo investimento (POTTINGER et al., 1998; PEREIRA et al., 2002).

Segundo Lourenço (1993), a *Leucaena leucocephala* é uma leguminosa forrageira que apresenta característica agrônômica favorável quando utilizada como banco de proteína, embora seu elevado teor de minosina possa causar toxidez nos animais.

Os dados de produção de biomassa usando *Leucaena leucocephala* são bastante heterogêneos, dada sua presença em condições edafo-climáticas muito diferentes. No início de seu desenvolvimento ela passa por uma fase crítica, que pode prolongar-se por mais de um ano. Seu crescimento após essa fase é em geral rápido, com abundante produção de folhagem e madeira, possibilitando que plantas com três a quatro anos proporcionem produções superiores a 200 m³ de biomassa por hectare (PEREIRA, 1994). A longevidade da leucena é considerada boa. Mesmo sujeita à intensa desfolha, ela persiste por 20 anos, em média, com elevada produção. Com manejo adequado, pode permanecer sem grandes variações de produção de matéria seca por volta de 50 anos (SHELTON, et al., 1991).

2.2. Valor nutritivo

Devido sua composição química e características agrônômicas a *Leucaena leucocephala* desempenha um papel importante como forragem, contribuindo para aumento sensível na produção do animal (LOURENÇO; CARRIEL, 1998, MANELLA et al., 2002, VALARINI; POSSENTI, 2004).

A leucena é, entre as leguminosas, uma das espécies de maior importância devido o seu potencial produtivo em termos qualitativos e quantitativos. Lourenço e Carriel (1998) observaram maior ganho de peso por área em animais mantidos em pastos de *Brachiaria brizantha* mais *Leucaena leucocephala* dispostas em faixas ou como banco de proteínas. Manella et al (2002), observaram ganho de peso satisfatório, no período das águas (741 g/dia), em bovinos em pastagens de *Brachiaria brizantha* com acesso livre à *Leucaena leucocephala*, utilizada como banco de proteína, quando comparados ao ganho de peso de animais que receberam concentrado protéico no cocho (782 g/dia). A leucena é uma

leguminosa, com capacidade para produzir elevadas quantidades de proteína a baixo custo e com boa eficiência na alimentação animal. Apresenta alta produção de matéria seca por unidade de área e aceitabilidade com participação superior a 50% do total da matéria seca ingerida pelos animais no início das “secas” (LOURENÇO et al., 1992). Porém, a presença de fatores anti-nutritivos na leucena, muitas vezes reduzem substancialmente a produção animal (FRANZOLIN NETO; VELOSO, 1987).

A aceitabilidade de leucena pelos animais é boa e seus ramos quando atingem o tamanho de 0,5 – 1,0 m possuem de 77% a 80% de folhas. Essas folhas, bem como os caules, com diâmetro inferior a 6 mm, são bastante apreciados pelos animais (FAINT et al., 1998). Nos plantios “em faixa”, onde coexistem gramíneas e leucena, ambas são consumidas de forma eqüitativa, enquanto a pastagem é jovem, sendo posteriormente a leucena consumida em maior quantidade após o decréscimo do valor nutritivo da gramínea (SHELTON et al., 1991). No primeiro contato com a leucena fresca, a aceitação é normalmente imediata para bovinos adultos, sendo que os bezerros e os ovinos necessitam de pelo menos um dia para se habituarem ao consumo não só as folhas como também dos ramos jovens. A aceitação da leucena pode estar associada tanto ao decréscimo do valor nutritivo das pastagens como a sua própria composição química. Sua adaptação à diferentes condições edafoclimáticas pode repercutir no aumento dos teores de tanino, diminuindo então sua palatabilidade (KAMATALI et al., 1992).

A composição química da leucena varia pouco ao longo do ano, quando comparada às gramíneas e outras leguminosas (GOMIDE; QUEIROZ, 1993). Ao longo do ano as variações na digestibilidade foram medidas por Bassala et al. (1991), que encontraram decréscimos de 66,8% para 60,9% e de 43,5% para 35,6% nas folhas e caules, respectivamente. Segundo Pereira et al. (1995), ao simularem pastejo em um campo de leucena disposto em faixa, observaram que a leucena “pastejada” exibia maior teor de proteína bruta e menor de fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido e lignina.

Os valores da digestibilidade da matéria orgânica da leucena, em diferentes ensaios, apresentam grandes variações devido a diferentes condições e planejamento, entretanto a mimosina interfere com a atividade celulolítica das bactérias. Em estudos *in vitro* a digestibilidade pode ser subestimada de 2% a 7%, sendo necessário por isso, que animais doadores de líquido ruminal passem por

um período de adaptação à mimosina, de cinco dias no mínimo (JONES et al., 1992),

A degradabilidade da matéria seca, avaliada pelo método de sacos de náilon, pode ser muito diferente entre experimentos devido a relação folha/caule ser fator preponderante na degradação ruminal e conseqüentemente, na composição química. Entretanto, devido a perenidade da leucena, é possível encontrar na mesma planta folhas e vagens com idades diferentes. Valarini e Possenti (2004), observaram menor degradação da matéria seca da fração solúvel (a) para a leucena quando comparada a outras leguminosas como *Sesbania rostrata*, *Sesbania sesban* e *Cajanus cajan*.

O teor de proteína nas folhas e nas vagens mais jovens é superior àquelas com mais de um ano. Na Nigéria foram encontrados teores em proteína bruta de 34% - 41%, 30,2% - 42,6% e 24,2% - 27,8% respectivamente, para folhas jovens de rebrota recente, folhas de ano e folhas com mais de um ano (PEREIRA, 1994).

Valarini e Possenti (2004), observaram valores nutritivos muito bons no caule e folhas de rebrota de *Leucaena leucocephala*, consoante Tabela 1.

Neste estado de maturação a leucena possui um bom equilíbrio entre os componentes energéticos e protéicos, embora com ligeira predominância do conteúdo protéico.

Tabela1 - Composição química de brotos de *Leucaena leucocephala**

	PB	FDN	FDA	Celulose	Lignina	DIVIMO ¹	Tf ²	TT ³	TC ⁴	Ca	P
<i>Leucena leucocephala</i>	32,3	36,7	23,9	16,0	7,9	60,0	9,5	7,4	3,8	0,6	0,2

*Fonte:Valarini e Possenti (2004)

¹.Digestibilidade in vitro da matéria orgânica

².Fenol total

³.Tanino Total

⁴.Taninos condensados

A digestibilidade da proteína da leucena varia ao longo do ano. Bassala et al. (1991), registraram variações de 29,4% para 23,9% nas folhas e 13,8% para 10,2% nos caules; constatando a presença de 1,9% a 2,5% de taninos na MS e 10,3% a

11,7% de fenóis o que pode ter sido determinante para diminuir valores da digestibilidade.

A degradabilidade ruminal está associada à solubilidade. Valarini e Possenti (2004), encontraram menor degradação (fração $a = 7\%$) para a matéria seca da leucena em relação a outras leguminosas mas observaram que, a solubilidade da fração a da proteína (50%) foi maior para leucena; valores estes diferentes dos observados por Kamatali et al. (1992). Esses autores destacam que a degradação ruminal do alimento é influenciada pela presença de taninos e outros polifenóis que se ligam à hemicelulose e proteína, diminuindo a degradação. Por isso, folhas mais velhas parecem promover maior quantidade de proteína no intestino delgado, uma vez que a proteína não degradada no rúmen é digestível no intestino delgado. Kamatali et al. (1992) observaram ainda degradabilidade de 44,3% e 56,2%, após 24 e 48 horas de incubação em sacos de náilon, respectivamente, obtendo valores de 56,3% e 48,1% de digestibilidade da proteína não degradada.

Segundo Pereira et al. (2002) a presença de taninos pode determinar uma baixa degradabilidade da proteína no rúmen, aumentando o suprimento desta no intestino, funcionando como proteína protegida. Segundo os autores a proteína da leucena tem um elevado valor biológico, semelhante a alfafa, com um bom equilíbrio de aminoácidos. O elevado valor biológico de sua proteína associada à baixa degradabilidade no rúmen e à elevada digestibilidade no duodeno permitem ótimo aproveitamento da proteína ingerida pelo animal.

2.3. Fatores antinutricionais

Na leucena estão presentes vários compostos antinutritivos que causam algum efeito negativo e conseqüentemente diminuem seu valor nutritivo. A presença de taninos ocorre em toda planta sob várias formas. Os taninos em geral são classificados em dois grupos: 1) taninos hidrolisáveis, que após hidrólise produzem carboidratos e ácidos fenólicos; e 2) taninos condensados ou não hidrolisáveis, resistentes à hidrólise e oligômeros dos grupos flavan-3-ols ou flavan 3,4-diols (D'MELLO, 1989).

Os taninos hidrolisáveis são encontrados em abundância nas folhas, frutos, vagens da dicotiledônea mas não foram detectados em monocotiledôneas. Taninos

condensados estão presentes em maiores quantidades nos alimentos; possuem estrutura complexa e são resistentes à hidrólise, podendo ser solúveis em solventes orgânicos.

Muitos trabalhos citados na literatura mostram que quantidades moderadas de taninos condensados (10 a 40 g/kg de MS) podem prevenir o timpanismo, aumentar a taxa de proteína não degradada no rúmen para o intestino delgado e melhorar a utilização de aminoácidos essenciais da dieta, além de uma ação anti-helmíntica (BRANDES; FEITAS, 1992; LONGO, 2002). O complexo tanino-proteína é formado a partir do processo de mastigação de plantas contendo taninos. Este complexo é estável às variações de pH entre 3,5 –7,0, permitindo desta maneira que a proteína fique protegida da hidrólise microbiana no rúmen, aumentando assim a proporção de proteína do alimento disponível para digestão e absorção pós-rúmen.

Existem poucos estudos sobre degradação de taninos relativos a microflora ruminal. Alguns dados apontam que os ácidos gálicos e oligoflavanóis são degradados pelos microrganismos do rúmen. Outros dados sugerem que oligoflavanóis podem inibir as atividades de bactérias proteolíticas, ureolíticas e celulolíticas do rúmen (DESCHAMPS; LEBEAULT, 1985, citados por NOZELLA, 2001). Dentre os efeitos adversos dos taninos podemos incluir redução do consumo, baixa digestibilidade, inibição de enzimas digestivas, perda de proteínas endógenas e efeitos sistêmicos como resultado de produtos degradados dos taninos hidrolisáveis no trato digestivo (GETACHEW et al., 2000).

Os taninos condensados aparentemente não são degradados pelos microrganismos do rúmen (MAKKAR et al., 1995) e sua absorção não ocorre no trato gastrointestinal. A toxicidade dos taninos sobre os microrganismos do rúmen foi descrita para várias espécies de bactérias, como *Streptococcus bovis*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminobacter amylophilus* (CANNAS, 2006).

Na leucena, devido a grande quantidade de proteína bruta, os taninos presentes em até 1,5% na matéria seca, parecem não mostrar efeitos negativos, verificando-se pelo contrário, que devido à grande quantidade de proteína bruta presente, a complexação desta promove aumento de sua passagem pelo rúmen, trazendo benefício ao animal hospedeiro (PEREIRA et al., 2002).

O princípio tóxico de maior relevância presente na leucena é a mimosina, um aminoácido não protéico – (N-(3-hidroxi-4-oxipiridil))- α -aminopropiônico encontrado

em maiores quantidades nas folhas, de 8% a 12% do peso seco e 3% a 5% nas sementes. Quimicamente a mimosina é análoga da 3,4-dihidroxifenilalanina (FRANZOLIN NETO; VELLOSO, 1987). A Tabela 2 mostra os teores médios de mimosina em diferentes partes vegetativas de *Leucaena leucocephala*.

Tabela 2-Teores de mimosina *Leucaena leucocephala* *

Parte vegetativa	% de mimosina na MS
Ponta do broto	10,0
Folhas jovens	4,0
Folhas maduras	2,0
Flores	4,0
Vagens jovens	4,5
Caules	1,0
Raízes	0,5
Sementes	12,1

*Fonte: Franzolin Neto e Velloso (1987)

A mimosina, devido sua semelhança com a L-tirosina, parece atuar de forma análoga a esta. Possui a capacidade de inibir competitivamente a tirosina-descarboxilase e a tirosinase. Por outro lado retarda o crescimento celular e a frequência mitótica. É também um potente inibidor da incorporação da timidina triada no DNA e inibe a catecol-O-metil-transferase, uma das enzimas responsáveis pela inativação da adrenalina e noradrenalina, potencializando assim a ação destas aminas (PEREIRA et al., 1995). Ao agir como antagonista da tirosina, inibe a biossíntese protéica no fígado, aumentando os teores de transaminases e de glutamato desidrogenases e desta forma, a suscetibilidade à toxicidade

A mimosina possui algumas propriedades farmacológicas interessantes. De acordo com Vestena et al. (2001): inibe a fibrose cardíaca, pode prevenir a morte de neurônios, atua como agente antimicrobiano, etc. Para ruminantes a mimosina parece não constituir por si mesma o maior problema e sim os produtos resultantes de sua degradação, pelos microrganismos ruminais. Segundo Reis et al. (1999) os

metabólitos da degradação da mimosina é que são excretados na urina, sendo eles: 3-hidroxi-4-(1H)-piridina (3,4-DHP); um isômero a 2-hidroxi-3-(1H)-piridina (2,3-DHP) e mimosinamida (mimosina descarboxilada).

A autólise da mimosina pode ocorrer pela ação de fitoenzimas e segundo Lowry et al. (1983), pode aumentar de acordo com o processamento da leucena e intervalo de tempo da ingestão. A degradação da mimosina no rúmen é realizada por protozoários e bactérias mas a velocidade de degradação é maior nas bactérias que, em 20 horas, degradam 70% da mimosina (TANGENDAJA et al., 1983). Com relação aos protozoários do rúmen, Franzolin Neto et al. (1988), observaram redução no número total de protozoários ciliados no líquido ruminal de carneiros alimentados com feno de leucena, mas não observaram qualquer efeito quando o feno de leucena foi associado a uma gramínea.

Ovinos parecem ser menos tolerantes à mimosina, pois sua população ruminal não é capaz de degradar eficientemente este composto, o DHP. Por esta razão, os ovinos apresentam as mesmas sintomatologias de animais monogástricos, principalmente a alopecia (PEREIRA et al., 2002). Em geral, a adaptação da fauna e flora ruminal à mimosina é mais fácil e esta praticamente deixa de aparecer nas fezes e na urina após 3 a 4 dias de consumo da leucena (HEGARTY et al., 1976). Após o período de adaptação, os animais que ingerem leucena não apresentam níveis séricos de mimosina e sim de 3,4 DHP. Nas fezes e na urina são encontrados principalmente 3,4 DHP e 2,3 DHP e dependendo do tipo de dieta, pode ocorrer uma variação na quantidade de mimosina nas fezes, devido o maior ou menor “turnover” ruminal (GUPTA; SINGH, 1989).

Jones e Megarrity (1981) relataram resultados de experimentos conduzidos na Austrália e Havaí, onde caprinos foram alimentados com folhas de leucena fresca, como dieta única, sendo as análises de mimosina e DHP apresentadas na Tabela 3 mostrando os resultados contrastantes entre os animais, não sendo observados sintomas de toxicidade nos caprinos do Havaí.

Essas observações permitiram formular a hipótese de que existem animais resistentes à toxicidade, não manifestando os efeitos da DHP, sendo essas diferenças associadas à característica da população ruminal com capacidade de degradar a DHP.

Tabela 3 - Efeitos contrastantes da alimentação exclusiva de leucena em caprinos da Austrália e do Havai*

	Austrália	Havai
Ingestão de mimosina (g/dia)	15,9	16,3
Concentração de DHP na urina (%)	1,10	0,08
Excreção de DHP(g/dia)	13,8	0,45
Tiroxina no soro (T4)(n mol/l)	13,5	77,5
Tamanho da tireóide (g)	10,5	1,7
Lesões no esôfago	presente	ausente

*Fonte: Jones e Megarrrity (1981)

Tangendjaja et al. (1985), utilizaram animais não sensíveis à toxicidade, verificando não só a existência de degradação da DHP mas também que enzimas responsáveis por essa degradação seriam intrínsecas e não excretadas pelas bactérias porque a porção sobrenadante do líquido ruminal não foi capaz de degradar a DHP, ocorrendo um aumento na taxa de degradação da DHP após defaunação e subsequente alimentação com leucena. Foi proposto pelos autores que as bactérias livres da predação dos protozoários seriam as responsáveis pela degradação.

De acordo com Pereira et al. (2002) a distribuição mundial dessas bactérias revela-se descontínua, sendo ausentes na Austrália, Nova Guiné, Ilhas Fidji, Japão, China, Estados Unidos e presentes na Indonésia, Tailândia, Malásia, Ilhas Seychelles e Maurícias e no México. No entanto, permanecem algumas situações ambíguas no continente africano e no Brasil, onde existem ambas situações. No Brasil, em uma mesma região foram obtidos resultados diferentes. Franzolin Neto e Velloso (1986), encontraram quantidades variáveis de DHP na urina de ovinos e sintomas de ligeira toxicidade. Os autores sugeriram, em razão das diferenças na excreção da DHP, a possibilidade desta ter sido parcialmente metabolizada. No entanto, ocorrem situações onde não aparece sintomatologia como descrito por Lopes et al. (1989) e autores que observaram baixos níveis dos hormônios da tireóide (T3 e T4) com evidentes sintomas de toxicidade (CARVALHO; LANGUIDAY, 1992).

2.4. Influência da adição de levedura em dietas de volumosos

Os meios para aumentar a conversão de material fibroso em produtos de origem animal através de métodos de manipulação ruminal são importantes recursos tecnológicos que permitem a produção de proteína animal para alimentação humana, sendo que, três são os fatores básicos que enfatizam a importância da produção deste alimento: 1) seu alto valor nutricional, 2) ser produzido a partir de material fibroso, inaproveitável diretamente pelo homem e 3) grande demanda de mercado (RUMSEY, 1984).

Segundo Bergen e Bates (1984), constitui-se antigo desafio de nutricionistas de ruminantes melhorar a eficiência da fermentação ruminal, seja pelo aumento da produção de ácido propiônico, ou pela diminuição da proteólise e deaminação de proteínas no rúmen. Durante muito tempo estes objetivos foram perseguidos através da manipulação da dieta, porém, nas duas últimas décadas, diversos compostos químicos e biológicos foram testados com os mesmos fins. O uso de aditivos na dieta de ruminantes, tais como, leveduras, probióticos, tamponantes e outros, têm como objetivo melhorar a relação simbiótica entre os microrganismos presentes no rúmen e seu hospedeiro e a maximização do processo fermentativo no rúmen para animais que recebem dietas ricas em amidos (FRANZOLIN et al., 2004).

Segundo Ørskov e Ryle (1990) e Merten e Ely (1982), as degradabilidades da matéria seca e fibra em detergente neutro aumentam quando o pH ruminal é maior que 6,2 e segundo esses autores, a levedura promove um aumento no pH melhorando a degradabilidade da matéria seca no rúmen. A literatura também enfatiza melhoria nas atividades bacterianas do rúmen com aumentos na digestibilidade das dietas quando leveduras são adicionadas. Produtos com *Saccharomyces cerevisiae* são usados para melhorar a digestibilidade da fibra e os efeitos destes compostos microbianos estão associados ao aumento das bactérias celulolíticas (CABRERA et al., 2000). São poucos e conflitantes os trabalhos que mostram o uso de leveduras para animais mantidos em dietas exclusivamente volumosas. Segundo Roa et al. (1997) as leveduras podem aumentar a digestibilidade da proteína bruta e da fibra em detergente neutro, efeito observado

pelos autores quando utilizaram o feno de alfafa como fonte de fibra na dieta; Gomez et al. (1987), encontraram aumento na degradação *in situ*, da fibra de baixa qualidade, quando utilizaram leveduras como aditivo alimentar. Garcia et al. (2000), não observaram efeitos no pH e na fermentação ruminal em dietas contendo forragens de alta qualidade (50% de alfafa e concentrado) e Knorr et al. (2004), também não observaram efeitos nos valores de amônia ruminal quando os animais receberam sal proteinado contendo levedura, como suplemento de dieta com feno de baixa qualidade.

As leveduras também são citadas na literatura como capazes de reduzir a emissão de gás metano *in vitro* pelo aumento da competição entre bactérias acetogênicas e metanogênicas (CHAUCHEYRAS et al., 1995). A produção de metano no rúmen é resultante da digestão de alimentos pelos ruminantes e o processo de fermentação ocorre durante a degradação dos carboidratos ingeridos, através de um processo anaeróbio efetuado pela população microbiana que, converte carboidratos, como a celulose em ácido graxos de cadeia curta, principalmente, acético propiônico e butírico. Nesse processo digestivo parte do carbono é transformada em gás carbônico, concomitantemente, sendo que a emissão de metano varia entre 4% e 9% da energia bruta do alimento ingerido (PRIMAVESI et al., 2004).

Vários aditivos alimentares têm se mostrado capazes de reduzir a emissão de metano *in vitro*, incluindo-se ácidos orgânicos como o fumárico (ASANUMA et al., 1999), enzimas (COLOMBATTO et al., 2003) e a levedura *Sacharomices cerevisiae* (MUTSVANGWO et al., 1992, CHAUCHEYRAS et al., 1995), porém poucos trabalhos *in vivo*, foram conduzidos para demonstrar a eficiência desses produtos (Mc GIN et al., 2004).

2.5. Efeito das leguminosas na dieta sobre a produção de metano ruminal

Taninos condensados são apontados em recentes trabalhos como capazes de reduzir a emissão de gás metano em ruminantes consumindo forragens contendo baixo ou moderados teores de taninos condensados, segundo Puchala et al. (2005). Os autores destacam que este efeito é dependente de fatores tais como: tipo de tanino condensado, espécie animal e da planta. Efeito acentuado na

redução da emissão do gás metano foi observado em caprinos consumindo leguminosas contendo 17% de tanino condensado na MS.

De acordo com Vitti et al. (2005) é interessante notar diferenças na resposta animal quando estes são suplementados com diferentes espécies de leguminosas com valores de taninos semelhantes. Os autores observaram que quando leucena foi adicionada à dieta, houve aumento no consumo de matéria seca enquanto que com a sesbânia e o cajanus o consumo diminuiu significativamente. Kaitho et al. (1998) sugerem que os taninos influenciam a digestibilidade e retenção de nitrogênio, não pelo teor em si e sim por suas diferenças químicas e bioquímicas, variações do peso molecular e natureza das ligações.

3. OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do fornecimento de *Leucaena leucocephala* em dois níveis na dieta (20% e 50 % na matéria seca) associada ao feno de capim *Cynodon dactylon* cv. *coast-cross* sobre os seguintes parâmetros:

- ingestão de matéria seca;
- produções de ácidos graxos voláteis (acético, propiônico e butírico) no líquido ruminal;
- concentração de amônia no líquido ruminal;
- pH do líquido ruminal;
- produção de gás metano no rúmen;
- taxa de passagem do líquido ruminal;
- degradabilidade *in situ* da matéria seca, fibra em detergente neutro e proteína bruta dos fenos de leucena e *coast-cross*;
- digestibilidade *in vitro* da matéria seca dos fenos de leucena e *coast-cross*;
- contagem diferencial dos gêneros de protozoários ciliados no rúmen.

4.MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais e instalações

O experimento foi conduzido no galpão de digestibilidade do Instituto de Zootecnia de Nova Odessa/SP. Para a realização deste estudo foram utilizados quatro bovinos mestiços, com cânulas no rúmen, machos castrados, com peso inicial médio de 797 kg e ao final dos quatro períodos de 832 kg. Os animais foram pesados a cada início e término de período experimental, em balança da marca Filizola, com capacidade de 1.500 kg e sensibilidade de 500 g.

Previamente ao período experimental os animais foram desverminados e realizado o controle de ectoparasitos. Os animais permaneceram em baias cobertas e individuais, com cochos e bebedouros, que permitiram a avaliação do consumo de alimentos, conforme mostra a Figura 1. O piso próximo ao cocho era de cimento e cada animal teve livre acesso a uma área de chão batido de 35 m² (Figura 2).



Figura 1. Instalações- baia coberta



Figura 2. Instalações - área de cimento e chão batido

4.2. Delineamento, tratamentos e manejo experimental

Foi utilizado o delineamento experimental em Quadrado Latino 4 x 4, de acordo com o esquema apresentado na Tabela 4 (PIMENTEL GOMES, 1985), em arranjo fatorial de tratamentos do tipo 2X2 correspondendo a dois níveis de leucena (20% e 50% MS) na dieta e a adição (L) ou não (S) de levedura, conforme assim denominados:

- **20S** = 80% de feno de gramínea + 20% de feno de leucena + zero de levedura;
- **50S** = 50% de feno de gramínea + 50% de feno de leucena + zero de levedura;
- **20L** = 80% feno de gramínea + 20% de feno de leucena + 10 g de levedura;
- **50L** = 50% feno de gramínea + 50% de feno de leucena + 10 g de levedura.

A alimentação foi fornecida duas vezes ao dia, às 7 horas e às 16 horas e 10g de levedura (cultivo microbiano de *Saccharomyces cerevisiae* – estirpe 1026, registrada como YEA-SACC¹⁰²⁶ na União Européia, cedida pela Empresa Alltech) foram colocados diretamente no rúmen do animal, via cânula ruminal, no momento da primeira alimentação. Os animais tiveram livre acesso a uma mistura de sal mineral, disponível no cocho.

Durante os períodos experimentais os animais permaneceram em baias individuais por 21 dias, sendo que os primeiros sete dias foram para adaptação às dietas, ao manejo e ajuste do consumo, permitindo sobras no máximo de 10% do total oferecido. Do 8° ao 21° dia de cada subperíodo, foi avaliada a ingestão de matéria seca (IMS) com pesagens dos alimentos oferecidos e das sobras da manhã do dia seguinte.

Entre os períodos experimentais houve um intervalo de sete dias, para minimizar os efeitos remanescentes do tratamento anterior. Nesse período de “descanso”, os animais permaneceram juntos, em piquete de um hectare,

recebendo uma dieta de manutenção composta de feno de gramínea, silagem de milho e farelo de soja.

Tabela 4 – Esquema dos tratamentos no delineamento em Quadrado Latino 4X4

PERÍODOS	ANIMAL			
	(422)	(113)	(128)	(88)
I	20S	50S	20L	50L
II	50S	20L	50L	20S
III	50L	20S	50S	20L
IV	20L	50L	20S	50S

4.3. Feno de leucena e de *coast-cross*

A biomassa da leguminosa *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. para produção do feno, foi obtida em quatro diferentes épocas de corte: agosto/ 2004, novembro/2004, fevereiro/2005 e abril/2005. Foram retiradas as porções finais dos galhos, com aproximadamente um cm de diâmetro, das árvores do bosque de introdução de plantas forrageiras, de área não manejada do Instituto de Zootecnia, em Nova Odessa-SP, o qual está localizado à latitude de 22 42' S, longitude 47 18' W e altitude de 550 m.

O material foi colhido manualmente (cortado com podão), sendo em seguida utilizada uma picadeira estacionária (J.F H11.F4 – corte 8) acoplada ao trator, para processamento do material, em partículas de aproximadamente 3 cm (Figura 3). Logo após o material foi espalhado ao sol em uma área de chão concreto (Figura 4) possibilitando assim que a biomassa colhida chegasse no ponto de feno em um dia, sendo armazenado em galpão fechado. Ao final de quatro períodos de cortes todo material foi misturado para diminuir as diferenças que ocorreram entre eles e mantidos armazenados em sacos de rafia.

O feno da gramínea, *Cynodon dactylon* cultivar *coast-cross*, foi adquirido em uma propriedade na região de Nova Odessa-SP, produzido em janeiro de 2005 com 35 dias, em área adubada.

Amostras dos fenos de leucena e de *coast-cross* foram colhidas semanalmente e mantidas em temperatura de (-) 20°. C, para posterior análise química-bromatológicas.

Para avaliar a qualidade nutricional do material amostrado e ensaio de degradação *in situ* foram feitas análises químicas no Laboratório de Bromatologia do Instituto de Zootecnia de Nova Odessa/SP

As análises de FDN e FDA das amostras dos fenos fornecidos aos animais e do incubado foram realizadas segundo Goering & Van Soest (1970); MS e PB pelo método descrito pela Association of Official Analytical Chemists (A.O.A.C., 1995), sendo as análises realizadas em triplicatas para as amostras dos fenos fornecidos.

As análises de fenóis totais, taninos totais e taninos condensados foram realizadas pelo laboratório de Nutrição Animal do CENA/USP/Piracicaba/SP, com base nos trabalhos de Porter et al (1986); Makkar et al (1988), Makkar et al (1993).

As análises bromatológicas dos fenos de leucena, *coast-cross* e a composição das dietas utilizadas no presente experimento encontram-se na Tabela 5.



Figura 3 – Processamento da biomassa de leucena colhida manualmente



Figura 4- Processo de produção do feno de leucena

Tabela 5 - Composição bromatológica dos fenos de *Leucaena leucocephala* e de *Cynodon dactylon cv coast-cross* e das dietas nos níveis de 20% (Nível 20) e 50% do feno de leucena (Nível 50)

Constituintes	Feno leucena	Feno coast-cross	Dieta Nível 20	Dieta Nível 50
	%MS			
Matéria seca	92,68	92,97	92,50	92,80
Proteína bruta	16,81	17,04	16,99	16,93
Extrato etéreo	1,22	1,64	1,56	1,43
Matéria mineral	5,82	7,15	6,88	6,49
FDA	41,75	36,32	37,41	39,04
FDN	57,25	77,60	73,53	67,43
N-FDA % do N total	9,54	3,60	4,79	6,57
N-FDN % do N total	24,02	29,51	28,41	26,77
Celulose	26,14	30,90	29,95	28,52
Lignina	9,73	3,62	4,84	6,68
Fenóis totais	5,86	0,6	1,65	3,23
Taninos totais	4,72	0,3	1,18	2,51
Taninos condensados	2,63	0,01	0,53	1,32
Cálcio	0,83	0,35	0,45	0,59
Fósforo	0,15	0,28	0,25	0,22
Energia bruta calorías/g	4071	4200	4175	4135

4.4. Parâmetros ruminiais

4.4.1. Ácido Graxos Voláteis e amônia

O fluido ruminal foi colhido em béquer de plástico, que permaneceu envolto em gelo durante o tempo de amostragem dos quatro animais, sendo centrifugado imediatamente após e preparado de acordo com sua utilização. Para a determinação de AGV foram adicionados 0,2 mL de ácido fórmico/mL de líquido ruminal.

As determinações dos AGV foram realizadas em cromatografia gasosa, segundo método preconizado por Erwin et al. (1961), nos laboratórios da Faculdade de Medicina Veterinária/USP/Campus Pirassununga.

Amostras do fluído ruminal foram colhidas para determinações de ácidos graxos voláteis e amônia no 20º dia de cada subperíodo, sendo as amostragens realizadas nos seguintes tempos: zero hora (antes da alimentação matinal), duas, quatro e oito horas após a primeira alimentação. A determinação da concentração de amônia (NH_3) no líquido ruminal foi realizada segundo procedimentos descritos por Fenner (1965). Após a centrifugação do líquido ruminal foram retiradas amostras de cinco mL, adicionados 0,5 mL de ácido sulfúrico concentrado, congeladas, em seguida, para posterior análise.

Após descongelamento das amostras para análise, foi utilizado um mL de cada uma delas, às quais foram adicionados 15 mL de hidróxido de sódio (18N), sendo o tubo imediatamente acoplado ao aparelho de destilação de micro kjedhal. O ácido bórico (2%) foi utilizado como solução receptora e ácido sulfúrico (0,05 N) para a titulação.

4.4.2. Determinação do pH

O pH foi mensurado imediatamente após a colheita de aproximadamente 100 mL de fluído ruminal, nos mesmos tempos de amostragens descritos para AGVs e amônia. Os valores foram obtidos de um peagâmetro digital instalado próximo às baias dos animais, calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0.

4.4.3. Gás metano (CH_4)

Para determinação da emissão de gás metano no rúmen, os animais foram adaptados ao aparato de amostragem (canga), durante 14 dias antes do início dos períodos experimentais e permaneceram com as cangas durante todos os períodos (Figuras 5 e 6). Este critério foi adotado para minimizar o estresse dos animais quando na colocação da canga. As colheitas dos gases ruminais foram realizadas durante seis dias consecutivos, a intervalos de 24 horas, iniciando-se no 12º dia experimental. A metodologia empregada para a mensuração de metano foi feita com a técnica do traçador interno hexafluoreto de enxofre (SF_6), descrita por Johnson & Johnson (1995) e adaptada por Primavesi et al (2004). Para tanto,

utilizou-se uma canga coletora-armazenadora, em tubo PVC de 60 mm e classe 20, com pressão interna próxima a zero atmosfera. A canga foi acoplada a um tubo capilar de engate rápido. As concentrações de metano e hexafluoreto de enxofre determinadas por cromatografia gasosa HP 6890, equipado com detector de ionização de chama e coluna megabore (0,53 μm , 30 m) Plot HP- Al/M para metano e detector de captura de elétron (μ -ECD) e coluna megabore HP-MolSiv para hexafluoreto de enxofre. As curvas de calibração foram estabelecidas com padrões de gases certificados pela White Martins. As análises foram realizadas nos laboratórios da EMBRAPA Meio Ambiente em Jaguariúna/SP.

O fluxo de metano liberado pelo animal foi calculado em relação ao fluxo de hexafluoreto de enxofre, correlacionando os resultados à taxa conhecida de liberação do gás traçador interno no rúmen.



Figura 5- Preparo da canga para coleta do gás metano



Figura 6- Animal atrelado ao aparato de coleta do gás metano

4.5. Taxa de passagem da fase líquida

A determinação da taxa de passagem da fase líquida foi realizada através do marcador Polietilenoglicol de peso molecular 4.000 (PEG), no 21º dia de cada sub-período de acordo com o seguinte esquema:

- O líquido ruminal foi colhido antes da alimentação, em seguida introduzido em cada animal, via cânula de rúmen, 300g de PEG dissolvidos em um litro de água.
- Após uma hora da introdução do PEG foi realizada amostragem, retirando-se as amostras de líquido ruminal em três diferentes pontos do rúmen.
- Os animais foram alimentados.
- 24 horas após a adição do PEG foi feita outra colheita da amostra.
- As amostras foram congeladas imediatamente após as colheitas para posterior análise.

As determinações das concentrações PEG foram feitas de acordo com a metodologia de turbilhonamento descrita por Hyden (1956), no laboratório de Metabolismo Ruminal da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - USP/Campus Pirassununga/SP.

4.6. Degradabilidade ruminal dos fenos de leucena e de *coast cross*

As determinações das degradabilidades da matéria seca (MS), fibra em detergente neutro (FDN) e proteína bruta (PB) dos fenos da leucena e de *coast-cross* foram realizadas pela técnica de sacos de náilon *in situ*, conforme padronização descrita por Huntington & Givens (1995).

Os sacos utilizados para incubação do alimento no rúmen eram de 10 x 18 cm, com porosidade de 50 x 70 micrômetros. Os fenos da gramínea e da leguminosa foram moídos em peneira de 2 mm e amostras de 7 g colocadas nos sacos de náilon. Os tempos de incubação no rúmen foram de: 3, 6, 9, 24, 48, 72 e 96 horas e efetuados de maneira reversa.

Após a retirada, os sacos incubados no rúmen foram lavados em água corrente até que o líquido da lavagem se apresentasse límpido, sendo em seguida colocados em estufa de circulação forçada a 65 °C por 72 horas.

Após retirados da estufa, os sacos foram pesados, para que fosse determinada a quantidade de resíduos obtidos e então foram moídos em micro-moinho (partículas de 1mm) e mantidos no laboratório até a realização das análises bromatológicas.

Os cálculos das variáveis foram obtidos da seguinte maneira:

a) Porcentagem de desaparecimento da matéria seca (%DMS) do feno incubado no rúmen.

$$PSA - PS = PA$$

$$PSI - PS = PAI$$

$$\% \text{ DMS} = \frac{PA - PAI}{PA} \times 100$$

PSA = peso saco com amostra

PS = peso saco vazio

PA = peso amostra

PSI = peso saco incubado

PAI = peso da amostra pós-incubação

b) Porcentagem de desaparecimento da FDN e PB dos fenos incubados no rúmen

$$\frac{PA \times \% \text{ FDN amostra}}{100} = \text{FDNA}$$

$$\frac{PA \times \% \text{ FDN amostra pós-incubação}}{100} = \text{FDNAI}$$

$$\% \text{ DFDN} = \frac{\text{FDNA} - \text{FDNAI}}{\text{FDNA}} \times 100$$

FDNA = g de FDN amostra

FDNAI = g de FDN amostra pós-incubação

A porção do nutriente que saiu do interior do saco durante a incubação foi considerada como nutriente desaparecido no rúmen.

Para a degradabilidade de zero hora (branco), os sacos com as amostras foram submersos em recipiente com água aquecida a 39 °C, por 10 minutos. Após a retirada do excesso de água foram levados à estufa, a 65 °C, por 72 horas, conforme recomendação técnica de Cummins et al. (1983).

As curvas de desaparecimento foram ajustadas para o modelo proposto por Ørskov & McDonald (1979), conforme a seguinte equação :

$p = a + b (1 - e^{-ct})$; onde "p" é a degradabilidade potencial para o tempo de incubação (t), "a" é a fração solúvel, "b" é a fração potencialmente degradável no interior do rúmen e "c" a taxa de degradação por hora.

O valor "a + b", representa o potencial máximo de degradabilidade ou a fração que poderá ser degradada no rúmen quando o tempo não é limitante.

A degradabilidade efetiva foi obtida conforme equação definida pelos mesmos pesquisadores, considerando-se a taxa de passagem do conteúdo ruminal de $k=0,05/\text{hora}$: $p = a + bc/c+k$.

4.7. Digestibilidade *in vitro* da matéria seca

A avaliação da digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) dos fenos de leucena e *coast-cross*, consistiu em deixar as amostras de feno em contato com o conteúdo do líquido ruminal de cada tratamento, mais solução tampão de McDougall, no interior de um tubo de vidro (com rolha de borracha e válvula tipo Bunsen para escape de gás); durante 24 horas e ou 48 horas em banho-maria a 39° C, de acordo com a metodologia descrita por Silva (1998), com base nos trabalhos de Tilley et al. (1960), Baumgardt et al. (1962). As amostras foram feitas em triplicata e no 2° estágio foram submetidas a incubação ácida, por 46 horas, com ácido clorídrico a 20% e com pepsina a 5% de acordo com metodologia descrita por Tilley e Terry (1963).

4.8. Identificação e contagem de protozoários ciliados

Para contagem diferencial dos gêneros de protozoários ciliados no rúmen foi tomada uma alíquota de líquido ruminal de 10 mL, em cubeta de 5 cm de diâmetro e adicionados 10 mL de formaldeído, diluídos em água à 1:2, utilizando o seguinte esquema: 17º dia experimental=1ª colheita; 19º=2ª colheita e 21º= 3ª colheita. As amostras foram colhidas antes da primeira alimentação.

A identificação e contagem em microscopia ótica dos gêneros de protozoários ciliados, *Entodinium*, *Epidinium*, *isotrichia*, *Dasytrichia* e ciliados pertencentes a subfamília *Diplodiniinae* foram realizadas de acordo com a técnica de Dehority (1993), no Laboratório de Metabolismo Ruminal da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos/USP/Campus Pirassununga/SP.

4.9. Presença de dihidroxipiridina na urina

A coleta de urina, para detectar a presença de dihidroxipiridina (DHP), metabólito resultante da degradação da mimosina no rúmen, foi feita pela manhã, após três horas da primeira alimentação, durante cinco dias consecutivos, a partir do 17º dia experimental e sua análise realizada como descrita na metodologia empregada por Megarritty (1978). Este método colorimétrico identifica a presença de 3,4 DHP com uma cor púrpura e a coloração é mais ou menos intensa de acordo com a maior ou menor quantia de DHP. Quando não se verifica a presença deste composto, observa-se cor amarelada.

Para o teste adicionou-se 0,25 mL de urina, previamente filtrada em 5 mL de solução composta por um grama de cloreto de férrico com três mL de ácido clorídrico diluídos em um litro de água destilada. Após agitação, em cerca de 10 minutos, observou-se a coloração, que se manteve estável por vários dias.

4.10. Análise estatística

O experimento foi conduzido num delineamento experimental, em Quadrado Latino 4X4, adotando-se para a análise estatística o procedimento GLM do programa estatístico SAS (2002), sendo a verificação das fontes de variação feita através da análise de variância.

As variáveis pH, AGVs e amônia foram analisadas estatisticamente, como parcelas subdivididas no tempo e analisadas pelo PROC MIXED, que define as variáveis fixas e aleatórias para execução da análise. Os efeitos de tratamento, o animal e o período foram testados em relação as parcelas. A interação horário de coleta X tratamento foi testada em relação as subparcelas. Foram considerados 5% ($P < 0,05$) como nível de significância para a probabilidade do teste F na análise de variância. Para as variáveis que obtiveram respostas significativas, utilizou-se o comando LSMEANS para as parcelas e subparcelas.

5. RESULTADOS

5.1. Ingestão de matéria seca

Os dois volumosos fornecidos aos animais apresentaram boa qualidade nutricional, com teores médios de proteína bruta semelhantes, porém a leucena apresentou teores menores de fibra em detergente neutro, concentrações mais elevadas de fenóis e taninos (Tabela 5).

Os resultados médios da avaliação de ingestão de matéria seca podem ser observados na Tabela 6. Não houve diferenças na ingestão entre os tratamentos, nas unidades avaliadas. As interações foram não significativas ($P > 0,05$), quando estudados os níveis de leucena na presença ou ausência de levedura.

Tabela 6 – Ingestão de matéria seca (IMS) em bovinos com dieta em dois níveis de leucena (20% e 50% MS) e feno de capim *coast-cross*, sem (S) e com (L) adição de levedura

IMS	Níveis (N) ¹		Levedura(L) ¹		EPM ²	Interações (NXL) ¹				EPM ²
	20	50	(S)	(L)		20S	50S	20L	50L	
kg/dia	7,4	7,4	7,3	7,5	0,27	7,3	7,3	7,4	7,6	0,39
% do Peso Vivo	0,9	0,9	0,9	0,9	0,31	0,9	0,9	0,9	0,9	0,44
g /Kg PV ^{0,75}	48,3	48,6	47,7	49,2	1,63	47,8	47,5	48,7	49,6	2,30

1. As diferenças foram não significativas ($P > 0,05$) pelo teste F, para os efeitos de Níveis (N), levedura (L) e da interação (NXL)

2. EPM – erro padrão da média

5.2. Parâmetros ruminais

5.2.1. Ácidos graxos voláteis (AGVs)

Os valores totais de ácidos graxos voláteis (mM) e as proporções em porcentagem molar dos ácidos acético, propiônico, butírico e proporções acético:propiônico encontram-se nas Tabelas 7, 8, 9, 10 e 11 e nas Figuras 7, 8, 9, 10 e 11, respectivamente. Não foi constatado efeito da interação entre tempo, níveis de leucena e levedura ($P > 0,05$), quando a análise foi realizada dentro de cada tempo, nos diferentes ácidos avaliados no presente estudo.

Foram observados efeitos da interação entre níveis de leucena e levedura nas dietas sobre as concentrações médias dos AGVs totais ($P < 0,05$), quando a interação foi desdobrada houve efeito significativo ($P < 0,05$) para o nível de 20% de leucena na dieta em presença de levedura.

As concentrações de ácido acético não apresentaram diferenças ($P > 0,05$) entre tratamentos (Tabela 8 e Figura 8), entretanto as concentrações de ácido propiônico (Tabela 9 e Figura 9) mostraram efeitos significativos para níveis de leucena na dieta ($P < 0,05$), ocorrendo a interação entre níveis de leucena e levedura ($P < 0,05$). O menor valor médio obtido da porcentagem molar do ácido propiônico (17,56 mM) foi observado em animais consumindo baixo nível de leucena com adição de levedura. Com aumento de leucena na dieta de 20% para 50%, houve maior produção de ácido propiônico (19,14 mM) demonstrando que o efeito da leucena em nível elevado foi potencializado pela adição de levedura.

Nas concentrações médias de ácido butírico (Tabela 10 e Figura 10), não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) entre níveis de leucena e levedura porém, foram detectados efeitos significativos ($P < 0,05$) da interação entre níveis e levedura, evidenciando que as maiores proporções do ácido butírico no tratamento 20L diferiram ($P < 0,05$) dos demais tratamentos.

Nas proporções acético:propiônico (Tabela 11, Figura 11), foram observados efeitos significativos ($P < 0,05$) para níveis de leucena, sendo que os mais altos níveis da leguminosa na dieta favoreceram esta relação.

Tabela 7 – Concentrações médias de ácidos graxos voláteis totais (AGVs) no fluido ruminal (mM), em diferentes tempos de amostragens em bovinos com dietas de dois níveis de leucena (20% e 50% MS), feno de capim *coast-cross*, sem (S) e com (L) adição de levedura

AGVs totais	Níveis (N)		Levedura (L)		EPM ¹	Interações (NXL)				EPM ¹
	20	50	(S)	(L)		20S	50S	20L	50L	
Tempo (horas)										
Zero	89,12	81,09	83,14	87,08	3,32	84,42	81,85	93,82	80,34	4,70
2	99,18	89,23	93,49	94,91	3,84	95,98	91,01	102,37	87,45	5,44
4	83,25	80,89	80,39	83,74	0,67	78,29	82,49	88,20	79,28	0,96
8	75,98	73,57	68,86	80,69	3,79	65,79	71,94	86,18	75,20	5,37
Média	86,88	81,19	81,47	86,61	2,09	81,12	81,82	92,64	80,59	2,96
Probabilidades ²										
Níveis (N)	Levedura (L)	N x L	Tempo ³ (T)	N/S	N/L	L/N 20	L/N 50			
ns ⁴	ns ⁴	0,0344	0,0010	ns ⁴	0,0279	0,0332	ns ⁴			

1. EPM – erro padrão da média

2. Valores de *P* para o efeito de Níveis (N), efeito de levedura (L) e efeito da interação (NXL) e desdobramento das interações N/(S), N/(L), L/N20 e L/N50.

3. Efeito de tempo quadrático ($P < 0,01$). As interações NxT, LxT e NxLxT foram não significativas ($P > 0,05$)

4. ns – não significativo

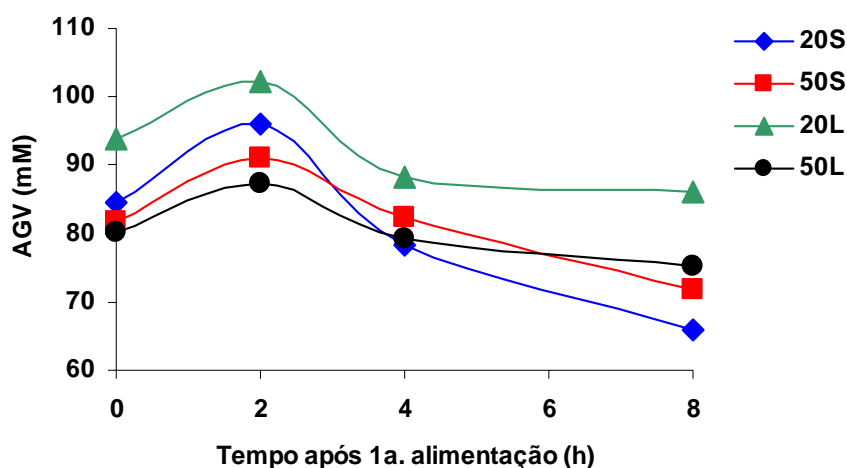


Figura 7- Concentrações médias dos AGVs totais no fluido ruminal (mM) em diferentes tempos de amostragens nos diferentes tratamentos estudados

Tabela 8 – Porcentagens molares médias de ácido acético no fluido ruminal em diferentes tempos de amostragens em bovinos com dietas de dois níveis de leucena (20% e 50% MS), feno de capim *coast-cross*, sem (S) e com (L) adição de levedura

Ac. acético	Níveis (N)		Levedura (L)		EPM ¹	Interações (NXL)				EPM ¹
	20	50	(S)	(L)		20S	50S	20L	50L	
Tempo (horas)										
Zero	73,85	73,16	73,27	73,74	0,36	73,66	72,88	74,05	73,43	0,51
2	75,11	74,54	74,55	75,07	0,36	75,20	73,98	75,03	75,11	0,51
4	75,31	74,26	74,70	74,88	0,36	75,47	73,92	75,16	74,60	0,51
8	74,29	73,55	74,38	73,46	0,36	75,08	73,69	73,50	73,42	0,51
Média	74,64	73,88	74,23	74,29	0,29	74,86	73,62	74,44	74,14	0,40
Probabilidades ²										
	Níveis (N)		Levedura (L)			N x L		Tempo ³ (T)		
	ns ⁴		ns ⁴			ns ⁴		0,0010		

1. EPM – erro padrão da média

2. Valores de *P* para o efeito de Níveis (N), efeito de levedura (L) e efeito da interação (NXL)

3. Efeito de tempo quadrático ($P < 0,01$). As interações NxT, LxT e NxLxT foram não significativas ($P > 0,05$).

4. ns – não significativo

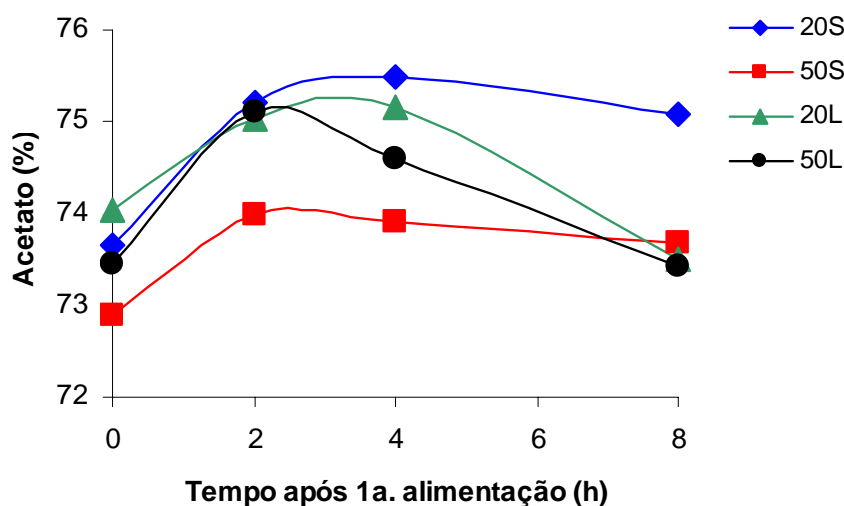


Figura 8 - Valores médios das proporções molares de ácido acético (% molar) no fluido ruminal em diferentes tempos de amostragens nos diferentes tratamentos estudados

Tabela 9 – Porcentagens molares médias de ácido propiônico no fluido ruminal em diferentes tempos de amostragens em bovinos com dietas de dois níveis de leucena (20% e 50% MS), feno de capim *coast-cross*, sem (S) e com (L) adição de levedura

Ac.propiônico	Níveis (N)		Levedura (L)		EPM ¹	Interações (NXL)				EPM ¹
	20	50	(S)	(L)		20S	50S	20L	50L	
Tempo (horas)										
Zero	18,37	19,09	18,99	18,46	0,22	19,11	18,87	17,63	19,30	0,32
2	18,17	18,90	18,81	18,26	0,22	18,71	18,91	17,64	18,89	0,32
4	17,59	18,82	18,35	18,05	0,22	17,98	18,73	17,20	18,91	0,32
8	18,06	19,09	18,56	18,59	0,22	18,37	18,74	17,75	19,43	0,32
Média	18,05	18,97	18,68	18,35	0,17	18,55	18,81	17,56	19,14	0,25

Probabilidades ²							
Níveis (N)	Levedura (L)	N x L	Tempo ³ (T)	N/S	N/L	L/N 20	L/N 50
0,0093	ns ⁴	0,0377	0,0200	ns ⁴	0,0039	0,0290	ns ⁴

1. EPM – erro padrão da média

2. Valores de *P* para o efeito de Níveis (N), efeito de levedura (L) e efeito da interação (NXL) e desdobramento da interações N(S), N(L), L/N20 e L/N50.

3. Efeito de tempo quadrático ($P < 0,02$). As interações NxT, LxT e NxLxT foram não significativas ($P > 0,05$)

4. ns – não significativo

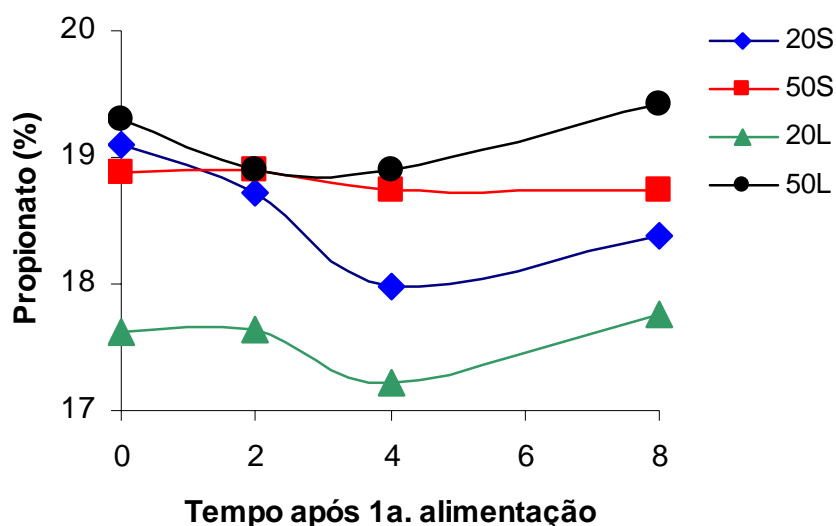


Figura 9 - Valores médios das proporções molares de ácido propiônico (% molar) no fluido ruminal em diferentes tempos de amostragens nos diferentes tratamentos estudados

Tabela 10 – Porcentagens molares médias de ácido butírico no fluido ruminal em diferentes tempos de amostragens em bovinos com dietas de dois níveis de leucena (20% e 50% MS), feno de capim *coast-cross*, sem (S) e com (L) adição de levedura

Ac.butírico	Níveis (N)		Levedura (L)		EPM ¹	Interações (NXL)				EPM ¹
	20	50	(S)	(L)		20S	50S	20L	50L	
Tempo (horas)										
Zero	7,77	7,75	7,73	7,78	0,32	7,22	8,25	8,32	7,25	0,45
2	6,70	6,55	6,59	6,66	0,32	6,08	7,10	7,32	6,00	0,45
4	7,08	6,91	6,93	7,05	0,32	6,54	7,33	7,63	6,48	0,45
8	7,64	7,35	7,05	7,94	0,32	6,54	7,56	8,74	7,14	0,45
Média	7,30	7,14	7,08	7,36	0,27	6,59	7,56	8,00	6,72	0,38

Probabilidades ²							
Níveis (N)	Levedura (L)	N x L	Tempo ³ (T)	N/S	N/L	L/N 20	L/N 50
ns ⁴	ns ⁴	0,0270	0,0001	ns ⁴	0,0572	0,0421	ns ⁴

1. EPM – erro padrão da média

2. Valores de *P* para o efeito de Níveis (N), efeito de levedura (L) e efeito da interação (NXL) e desdobramento das interações N/(S), N/(L), L/N20 e L/N50.

3. Efeito de tempo quadrático ($P < 0,01$). As interações NxT, LxT e NxLxT foram não significativas ($P > 0,05$)

4. ns – não significativo

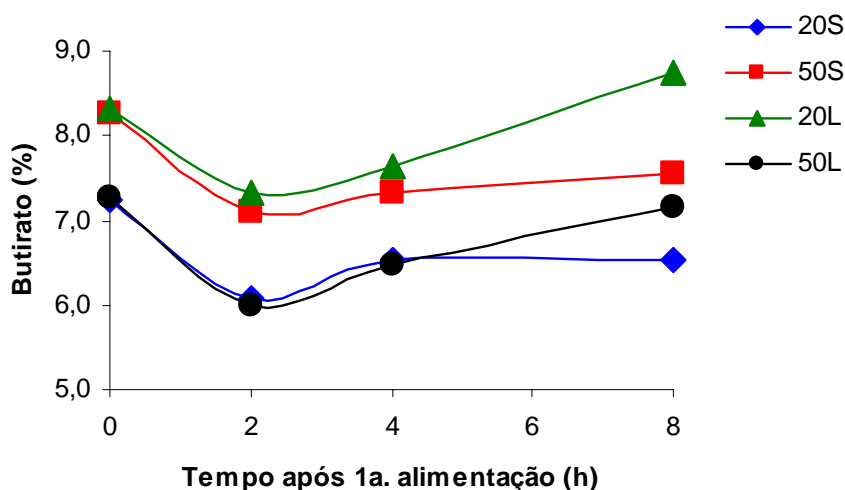


Figura 10- Valores médios das proporções molares de ácido butírico (% molar) no fluido ruminal em diferentes tempos de amostragens nos diferentes tratamentos estudados

Tabela 11 – Proporções de acético:propiónico (A:P) no fluido ruminal em diferentes tempos de amostragens em bovinos com dietas de dois níveis de leucena (20% e 50% MS), feno de capim *coast-cross*, sem (S) e com (L) adição de levedura

Relação A:P	Níveis (N)		Levedura (L)		EPM ¹	Interações (NXL)				EPM ¹
	20	50	(S)	(L)		20S	50S	20L	50L	
Tempo (horas)										
Zero	4,04	3,84	3,86	4,02	0,06	3,85	3,86	4,23	3,82	0,08
2	4,14	3,95	3,97	4,12	0,06	4,04	3,92	4,26	3,98	0,08
4	4,29	3,95	4,08	4,17	0,06	4,21	3,95	4,38	3,96	0,08
8	4,12	3,86	4,01	3,96	0,06	4,09	3,94	4,15	3,78	0,08
Média	4,15	3,90	3,98	4,07	0,04	4,04	3,92	4,25	3,88	0,06
Probabilidades ²										
Níveis (N)		Levedura (L)		N x L		Tempo ³ (T)				
0,0039		ns ⁴		ns ⁴		0,0010				

1. EPM – erro padrão da média

2. Valores de *P* para o efeito de Níveis (N), efeito de levedura (L) e efeito da interação (NXL)

3. Efeito de tempo quadrático ($P < 0,01$). As interações NxT, LxT e NxLxT foram não significativas ($P > 0,05$)

4. ns – não significativo

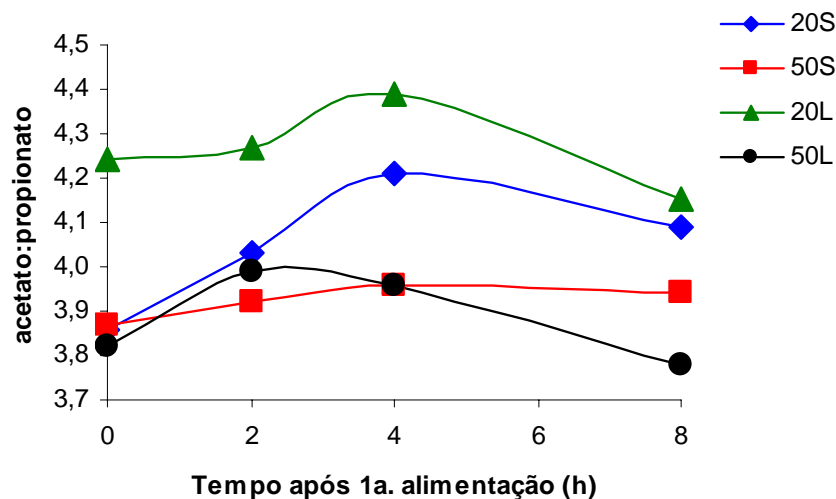


Figura 11 - Valores das proporções acético:propiónico (com base na % molar) no fluido ruminal em diferentes tempos de amostragens nos diferentes tratamentos estudados

5.2.2. Amônia (NH₃) no rúmen

Na Tabela 12, encontram-se os valores médios das concentrações ruminais de amônia, expressos em mg/100 mL, nos diferentes tempos de amostragens e nos tratamentos avaliados. Não foram observadas diferenças significativas ($P>0,05$) entre níveis de leucena na presença ou ausência de levedura na dieta.

O efeito de tempo para as concentrações de amônia foi quadrático ($P<0,0001$), sendo esta variabilidade comum em ruminantes alimentados da maneira que foi adotada no presente estudo (MEHREZ; ØRSKOV, 1977). Entretanto, outros fatores também influenciam este parâmetro tais como local de amostragem e principalmente tipo de dieta.

Conforme se pode observar na Figura 12, houve aumento das concentrações de amônia até duas horas após a primeira alimentação, seguido de ligeiro declínio até quatro horas, com diminuição mais acentuada em oito horas, retornando à valores próximos ao tempo zero. Este comportamento semelhante observado em todos os tratamentos ocorrendo provavelmente em consequência do alto conteúdo protéico das dietas.

Tabela 12 – Concentrações médias de amônia (NH₃) no fluido ruminal (mg/100 mL) em diferentes tempos de amostragens em bovinos com dietas de dois níveis de leucena (20% e 50% MS), feno de capim *coast-cross*, sem (S) e com (L) adição de levedura

NH ₃	Níveis (N)		Levedura (L)		EPM ¹	Interações (NXL)				EPM ¹
	20	50	(S)	(L)		20S	50S	20L	50L	
Tempo (horas)										
Zero	16,45	12,94	13,57	15,81	0,68	15,53	11,63	17,37	14,25	0,96
2	26,37	20,31	25,00	26,88	1,06	26,12	23,87	26,62	27,12	1,50
4	22,87	24,21	23,21	23,87	1,49	21,87	24,55	23,87	23,87	2,11
8	17,18	15,40	15,95	16,63	1,25	17,12	14,77	17,25	16,02	1,76
Média	20,72	19,51	19,43	20,80	0,62	20,16	18,71	21,28	20,32	0,88
Probabilidades ²										
Níveis (N)		Levedura (L)		N x L		Tempo ³ (T)				
ns ⁴		ns ⁴		ns ⁴		0,0001				

1. EPM – erro padrão da média

2. Valores de *P* para o efeito de Níveis (N), efeito de levedura e efeito da interação (NXL).

3. Efeito de tempo quadrático ($P < 0,01$). As interações NxT, LxT e NxLxT foram não significativas ($P > 0,05$)

4. ns – não significativo

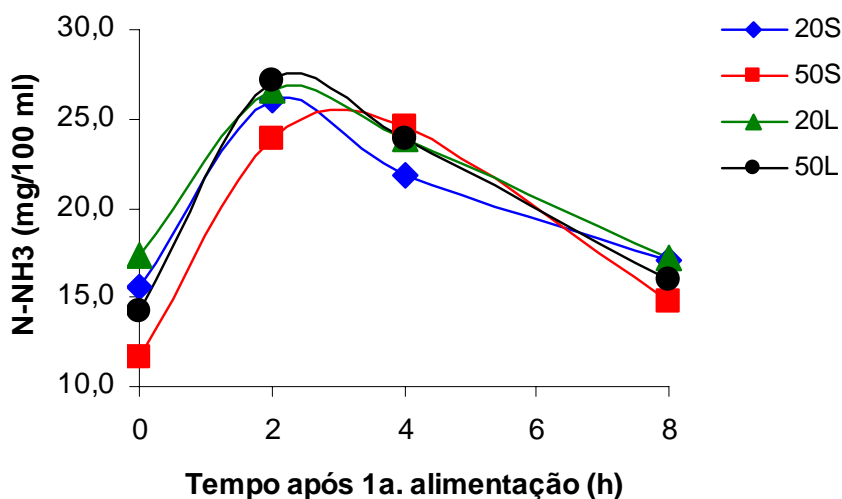


Figura 12- Valores das concentrações médias de amônia no fluido ruminal (mg/100 mL) em diferentes tempos de amostragens nos diferentes tratamentos estudados

5.2.3. pH ruminal

Os valores médios do pH do fluido ruminal encontram-se na Tabela 13, os quais variaram entre 6,62 e 6,97, sendo valores típicos de dietas volumosas. Houve efeito de níveis de leucena ($P < 0,05$), interação entre níveis e levedura ($P < 0,05$). Os maiores e mais estáveis valores de pH foram observados no tratamento 50S.

Na Figura 13 podemos observar as curvas do pH nos diversos tempos de amostragem nos tratamentos aplicados.

Tabela 13 – pH no fluido ruminal em diferentes tempos de amostragens em bovinos com dietas de dois níveis de leucena (20% e 50% MS), feno de capim *coast-cross*, sem (S) e com (L) adição de levedura

pH	Níveis (N)		Levedura (L)		EPM ¹	Interações (NXL)				EPM ¹
	20	50	(S)	(L)		20S	50S	20L	50L	
Tempo (horas)										
Zero	6,68	6,83	6,78	6,73	0,04	6,62	6,95	6,75	6,72	0,06
2	6,83	6,88	6,88	6,83	0,05	6,80	6,97	6,87	6,80	0,07
4	6,78	6,87	6,85	6,81	0,03	6,75	6,95	6,82	6,80	0,04
8	6,76	6,88	6,83	6,81	0,02	6,72	6,95	6,80	6,82	0,03
Média ¹	6,76	6,87	6,84	6,80	0,03	6,72	6,96	6,81	6,78	0,61
Probabilidades ²										
Níveis (N)	Levedura (L)	N x L	Tempo ³ (T)	N/S	N/L	L/N 20	L/N 50			
0,0429	ns ⁴	0,0191	0,0100	0,0067	ns ⁴	ns ⁴	0,0250			

1. EPM – erro padrão da média

2. Valores de P para o efeito de Níveis (N), efeito de levedura (L) e efeito da interação (NXL) e desdobramento das interações N/(S), N/(L), L/N20 e L/N50.

3. Efeito de tempo quadrático ($P < 0,01$). As interações NxT, LxT e NxLxT foram não significativas ($P > 0,05$)

4. ns – não significativo

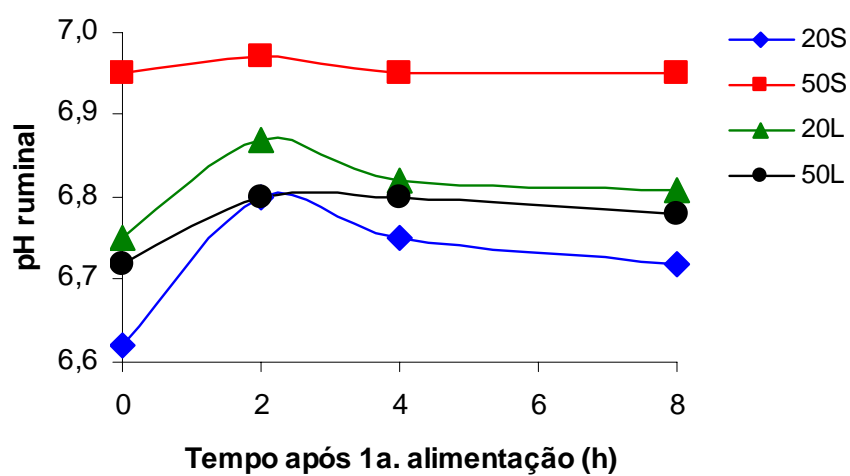


Figura 13- Valores de pH no fluido ruminal em diferentes tempos de amostragens nos diferentes tratamentos estudados

5.2.4. Produção de metano

Os valores médios da produção de metano ruminal encontram-se na Tabela 14, e apresentaram diferenças ($P < 0,05$) quando expressos em g/hora, g/dia e kg/ano para níveis de leucena e houve efeito da interação com levedura na dieta. Na produção do metano ruminal quando expressa em grama/kg de MS ingerida observou-se o efeito da interação entre níveis de leucena e levedura ($P < 0,05$). As maiores proporções de leucena na dieta reduziram a emissão do gás e este efeito foi potencializado pela adição da levedura a dieta.

Tabela 14 – Emissão de gás metano (CH₄) em bovinos com dietas de dois níveis de leucena (20% e 50% MS), feno de capim *coast-cross*, sem (S) e com (L) adição de levedura

Metano	Níveis (N)		Levedura(L)		EPM ¹	Interações (NXL)				EPM ¹
	20	50	(S)	(L)		20S	50S	20L	50L	
g/h	6,15	5,37	5,62	5,90	0,33	5,79	5,44	6,51	5,30	0,47
g/dia	147,54	128,92	134,73	141,73	8,01	138,90	130,56	156,18	127,28	11,4
kg/ano	53,86	47,04	49,17	51,72	2,94	50,69	47,65	57,03	46,42	4,16
g/kg de MSI ⁴	19,69	18,08	19,07	18,69	1,11	18,89	19,26	20,49	16,90	1,57
Probabilidades ²										
	Níveis (N)	Levedura (L)	N x L	N/S	N/L	L/N 20	L/N 50			
g/h	0,0470	ns ³	0,0500	ns	0,0106	ns	ns			
g/dia	0,0470	ns	0,0500	ns	0,0106	ns	ns			
kg/ano	0,0470	ns	0,0500	ns	0,0106	ns	ns			
g/kg de MSI	ns	ns	0,0500	ns	0,0031	0,0438	ns			

1. EPM – erro padrão da média

2. Valores de *P* para o efeito de Níveis (N), efeito de levedura (L) e efeito da interação (NXL), e desdobramento das interações N/S, N/L, L/N20 e L/N50

3. ns – não significativo

4. MSI – matéria seca ingerida

5.2.5 Taxa de passagem de líquidos

Os resultados obtidos para as taxas de passagem (%/h) nos níveis alto e baixo de leucena na presença ou ausência de levedura não mostraram diferenças ($P>0,05$), como pode ser observado na Tabela 15.

Tabela 15 – Taxa de passagem do líquido ruminal em bovinos com dietas de dois níveis de leucena (20% e 50% MS), feno de capim *coast-cross*, sem (S) e com (L) adição de levedura

	Níveis (N) ¹		Levedura(L) ¹		EPM ²	Interações (NXL) ¹				EPM ²
	20	50	(S)	(L)		20S	50S	20L	50L	
Taxa de passagem (%/hora)	8,44	9,96	9,60	8,79	0,2	8,42	10,78	8,46	9,13	1,3

1. As diferenças foram não significativas ($P>0,05$) pelo teste F, para os efeitos de Níveis (N), levedura (L) e da interação (NXL)

2. EPM – erro padrão da média

5.2.6. Degradabilidade ruminal dos fenos de leucena e de *coast cross*

Os valores da degradação ruminal da MS, FDN e PB dos fenos de leucena e *coast-cross* encontram-se na Tabela 16 e 17 respectivamente e não apresentaram diferenças ($P>0,05$) nos parâmetros de degradação ruminal para níveis de leucena na presença ou ausência de levedura e não houve efeito de interação ($P>0,05$) dos fatores, tanto para o feno de leucena como o de *coast-cross*.

Tabela 16 – Parâmetros da degradação ruminal da matéria seca (MS), fibra em detergente neutro (FDN) e proteína bruta (PB) do feno de leucena em bovinos com dietas de dois níveis de leucena (20% e 50% MS), feno de capim *coast-cross*, sem (S) e com (L) adição de levedura

Feno Leucena	Níveis (N) ¹		Levedura(L) ¹		EPM ²	Interações (NXL) ¹				EPM ²
	MS									
Parâmetros ³	20	50	(S)	(L)		20S	50S	20L	50L	
<i>a</i>	19,41	18,92	19,35	18,98	0,19	19,26	19,44	19,56	18,39	0,27
<i>b</i>	37,76	36,69	37,57	36,88	0,38	37,38	37,75	38,13	35,63	0,54
<i>c</i>	0,060	0,059	0,060	0,060	0,001	0,063	0,055	0,057	0,062	0,002
<i>dp</i>	57,16	55,60	55,85	55,85	0,47	56,64	57,18	57,68	54,02	0,67
<i>De</i>	47,38	45,91	47,08	46,21	0,49	47,48	46,67	47,27	45,14	0,70
	FDN									
<i>a</i>	0,40	0,48	0,46	0,42	0,08	0,39	0,52	0,41	0,43	0,126
<i>b</i>	33,57	33,06	33,66	32,96	0,59	33,04	34,28	34,09	31,83	0,84
<i>c</i>	0,038	0,042	0,042	0,038	0,001	0,042	0,041	0,033	0,042	0,001
<i>dp</i>	33,96	33,53	34,11	33,38	0,54	33,43	34,79	34,49	32,26	0,76
<i>De</i>	22,03	21,79	22,50	21,31		22,44	22,56	21,61	21,01	0,39
	PB									
<i>a</i>	7,33	7,39	7,65	7,07	0,16	7,67	7,63	6,98	7,15	0,22
<i>b</i>	61,73	61,24	61,13	61,84	0,34	60,86	61,39	62,59	61,09	0,49
<i>c</i>	0,070	0,065	0,067	0,068	0,001	0,070	0,063	0,070	0,066	0,002
<i>dp</i>	69,05	68,64	68,78	68,91	0,36	68,52	69,03	69,57	68,24	0,50
<i>De</i>	55,03	54,00	54,30	54,74	0,36	54,38	54,21	55,68	53,79	0,51

1.As diferenças foram não significativas ($P>0,05$) pelo teste F, para os efeitos de Níveis (N), levedura (L) e da interação (NXL)

2 EPM – erro padrão da média

3.a, b e c referem-se aos parâmetros de Orskov e McDonald (1979), dp= degradabilidade potencial, De= degradabilidade efetiva para as taxas de passagem iguais a 0,02/hora

Tabela 17 – Parâmetros da degradação ruminal da matéria seca (MS), fibra em detergente neutro (FDN) e proteína bruta (PB) do feno de *coast cross* em bovinos com dietas de dois níveis de leucena (20% e 50% MS), feno de capim *coast-cross*, sem (S) e com (L) adição de levedura

Feno <i>Coast-cross</i>	Níveis (N) ¹		Levedura(L) ¹		EPM ²	Interações (NXL) ¹				EPM ²
	MS									
Parâmetros ³	20	50	(S)	(L)		20S	50S	20L	50L	
<i>a</i>	13,08	13,24	13,34	12,98	0,22	12,66	14,02	13,50	12,47	0,31
<i>b</i>	68,32	66,89	66,99	68,22	0,34	68,03	65,95	68,60	67,83	0,48
<i>c</i>	0,048	0,051	0,049	0,049	0,01	0,048	0,050	0,047	0,051	0,01
<i>dp</i>	81,39	84,64	80,33	85,69	0,16	80,68	79,97	82,09	89,30	0,23
<i>De</i>	60,38	61,04	60,23	61,19	0,47	59,44	61,01	61,31	61,07	0,67
	FDN									
<i>a</i>	2,23	1,79	2,12	1,90	0,13	2,06	2,18	2,40	1,40	0,19
<i>b</i>	77,66	76,87	76,78	77,75	0,28	77,42	76,13	77,89	77,60	0,40
<i>c</i>	0,048	0,049	0,048	0,049	0,01	0,048	0,048	0,048	0,050	0,01
<i>dp</i>	79,89	78,96	79,20	79,65	0,19	79,48	78,91	80,29	79,00	0,27
<i>De</i>	56,56	56,22	56,00	56,78	0,41	55,92	56,08	57,20	56,36	0,59
	PB									
<i>a</i>	17,94	17,84	17,86	17,92	0,34	17,02	18,70	18,86	16,98	0,49
<i>b</i>	75,50	74,99	75,56	74,94	0,28	76,51	74,60	74,49	75,38	0,41
<i>c</i>	0,045	0,045	0,044	0,046	0,01	0,043	0,044	0,046	0,045	0,01
<i>dp</i>	93,44	92,83	93,42	92,85	0,31	93,53	93,30	93,35	92,35	0,44
<i>De</i>	69,50	68,72	69,11	69,33	0,01	68,89	69,33	70,11	68,55	0,62

1.As diferenças foram não significativas ($P>0,05$) pelo teste F, para os efeitos de Níveis (N), levedura (L) e da interação (NXL)

2 EPM – erro padrão da média

3.a, b e c referem-se aos parâmetros de Orskov e McDonald (1979), dp= degradabilidade potencial, De= degradabilidade efetiva para as taxas de passagem iguais a 0,02/hora

As curvas de desaparecimento da MS, FDN e PB do feno de leucena, podem ser observadas nas Figuras 14, 15 e 16, respectivamente. As mesmas curvas obtidas para o feno de *coast-cross* são apresentadas nas Figuras 17, 18 e 19, respectivamente. As curvas de desaparecimento dos respectivos nutrientes foram semelhantes entre os tratamentos dentro de cada feno estudado.

Nas Figuras 20, 21 e 22 encontram-se as curvas de desaparecimento da MS, FDN e PB, respectivamente. Com os dados obtidos dos dois fenos, de leucena e *coast-cross* observam-se facilmente as diferenças nas curvas de desaparecimento das diferentes frações.

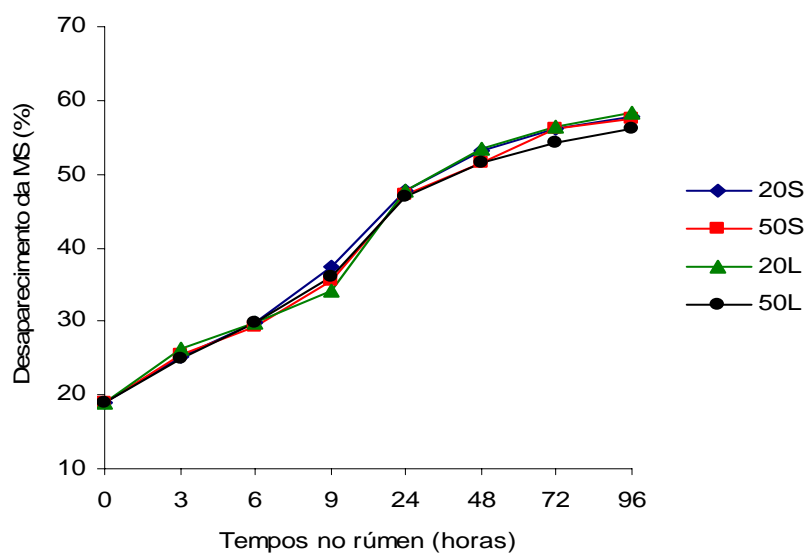


Figura 14 – Curva de desaparecimento da matéria seca (MS) do feno de leucena nos diferentes tratamentos estudados

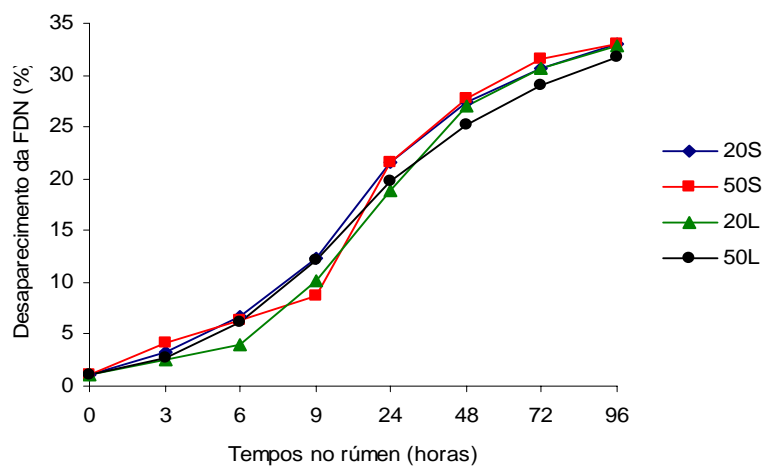


Figura 15 – Curva de desaparecimento da fibra em detergente neutro (FDN) do feno de leucena nos diferentes tratamentos estudados

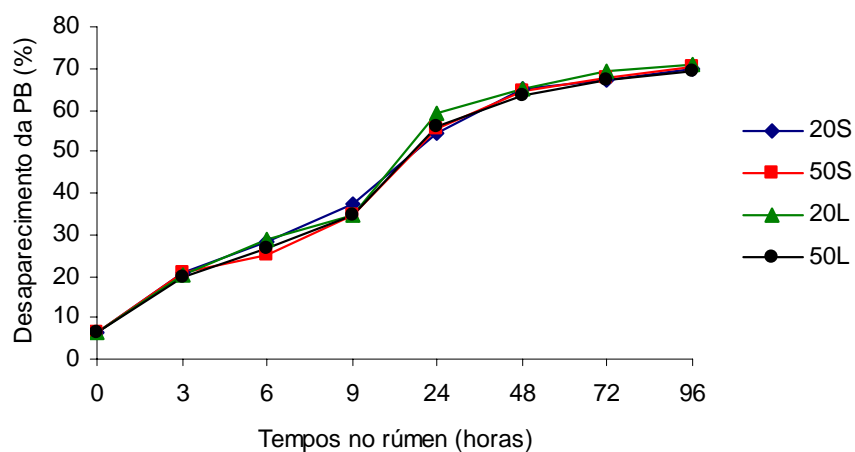


Figura 16 – Curva de desaparecimento da proteína bruta (PB) do feno de leucena, nos diferentes tratamentos estudados

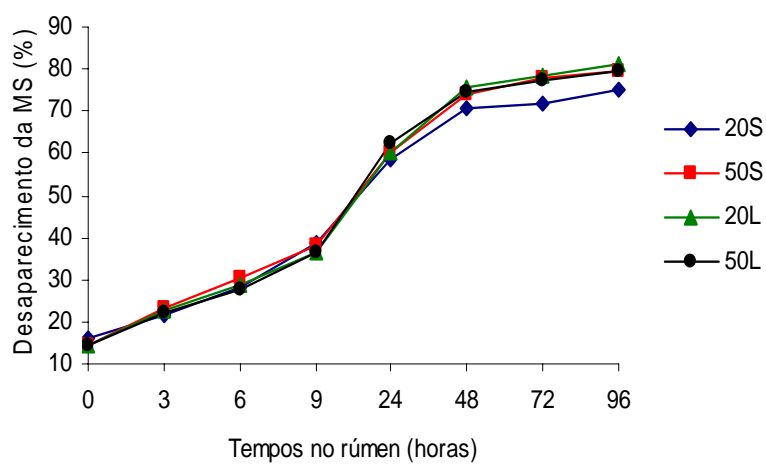


Figura 17 – Curva de desaparecimento da matéria seca (MS) do feno de *coast-cross* nos diferentes tratamentos estudados

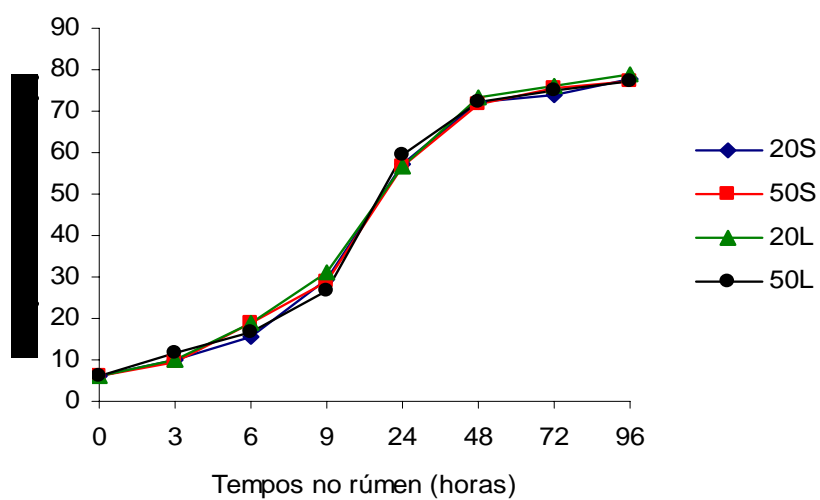


Figura 18 – Curva de desaparecimento da fibra em detergente neutro (FDN) do feno de *coast-cross* nos diferentes tratamentos estudados

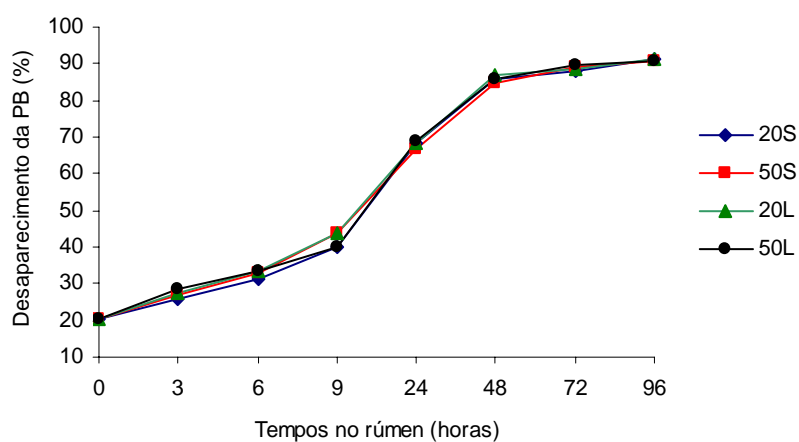


Figura 19 – Curva de desaparecimento da proteína bruta (PB) do feno de *coast-cross* nos diferentes tratamentos estudados

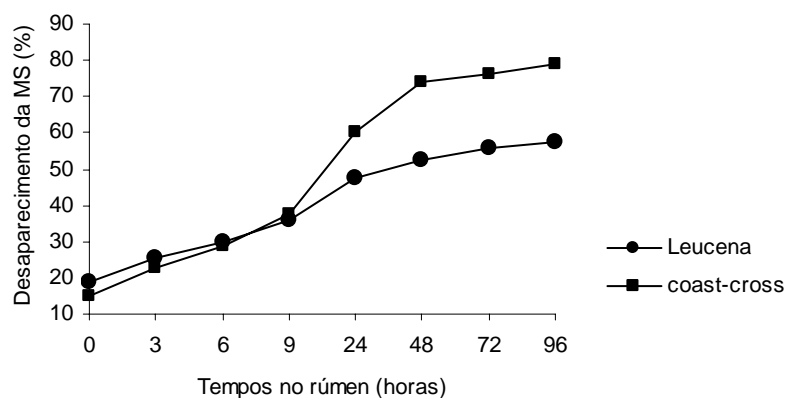


Figura 20 - Curva de desaparecimento da matéria seca (MS) do feno de leucena e de *coast-cross* com os dados médios de todos os tratamentos

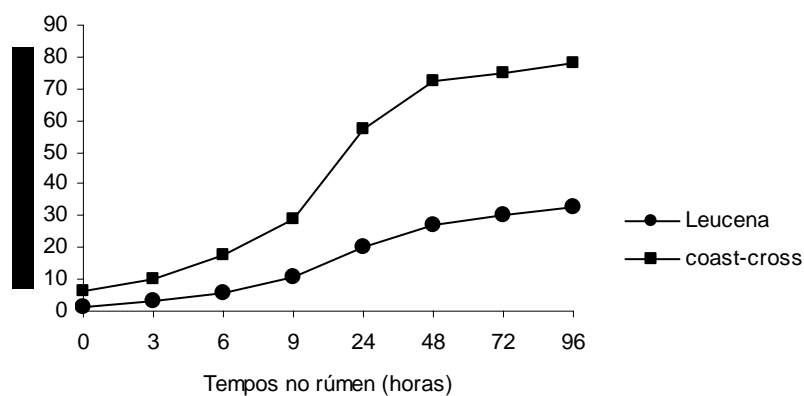


Figura 21 - Curva de desaparecimento da fibra em detergente neutro (FDN) do feno de leucena e de *coast-cross* com os dados médios de todos os tratamentos

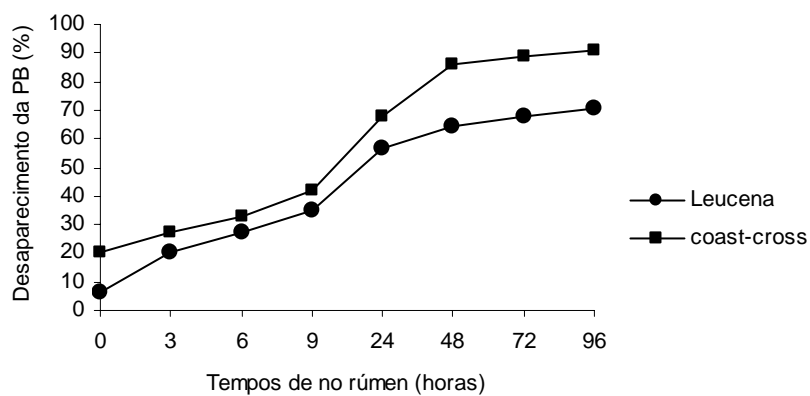


Figura 22 - Curva de desaparecimento da proteína bruta (PB) do feno de leucena e de *coast-cross* com os dados médios de todos os tratamentos

5.2.7. Digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS)

Os valores médios da *DIVMS* do feno de *coast-cross* e de leucena submetidos aos diferentes tratamentos são apresentados nas Tabelas 18 e 19, respectivamente.

Para o feno de *coast-cross*, no tempo de 24 horas, os efeitos dos níveis de leucena e de leveduras na dieta foram significativos ($P < 0,05$) e no desdobramento das interações verificou-se que os níveis de leucena diferiram ($P < 0,05$) no tempo de 48 horas. Houve efeito significativo para levedura ($P < 0,05$), que afetou negativamente a digestibilidade do feno neste tempo de incubação. No 2º estágio de incubação observou-se, entretanto um efeito positivo da levedura no menor nível de leucena da dieta (tratamento 20L).

Houve diferença significativa na *DIVMS* do feno de leucena nos dois tempos de incubação, 24 e 48 horas para os dois níveis de leucena, de levedura e interação entre eles. A levedura melhorou a digestibilidade do feno de leucena no tempo de 48 horas de incubação no tratamento onde havia uma maior quantidade da leguminosa, mas atuou desfavoravelmente em 24 horas de incubação.

Tabela 18 - Digestibilidade *in vitro* da matéria seca (*DIVMS*) do feno de *coast-cross* (CC), nos diferentes tempos de incubação, realizada com fluido ruminal de bovinos com dietas de dois níveis de leucena (20% e 50% MS), feno de capim *coast-cross*, sem (S) e com (L) adição de levedura

Feno CC	Níveis (N)		Levedura (L)		EPM ¹	Interações (NXL)				EPM ¹
	20	50	(S)	(L)		20S	50S	20L	50L	
24 horas de incubação	52,40	46,99	47,63	51,75	0,86	54,43	40,82	50,35	53,15	1,22
48 horas de incubação	62,92	63,24	65,15	61,01	1,38	64,00	66,29	61,83	60,19	1,95
2º estágio	64,83	61,59	64,62	61,79	0,43	64,44	64,80	65,22	58,37	0,60
Probabilidades ²										
	Níveis (N)	Levedura (L)	N x L	N/S	N/L	L/N 20	L/N 50			
24 horas	0,0023	0,0099	0,0002	0,0001	ns	0,0466	0,0001			
48 horas	ns ³	0,0475	ns	-	-	-	-			
2º estágio	0,0007	0,0016	0,0003	ns	0,0001	ns	0,0001			

1. EPM – erro padrão da média

2. Valores de *P* para o efeito de Níveis (N), efeito de levedura (L) e efeito da interação (NXL), e desdobramento das interações N/(S), N/(L), L/N20 e L/N50, interações não significativas não foram desdobradas.

3. ns – não significativo

Tabela 19 - Digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) do feno de leucena nos diferentes tempos de incubação, realizada com fluído ruminal de bovinos em dietas de dois níveis de leucena (20% e 50% MS), feno de capim *coast-cross*, sem (S) e com (L) adição de levedura

Feno leucena	Níveis (N)		Levedura(L)		EPM ¹	Interações (NXL)				EPM ¹
	20	50	(S)	(L)		20S	50S	20L	50L	
24 horas de incubação	29,86	30,71	31,07	29,50	0,09	31,30	30,84	28,41	30,58	0,12
48 horas de incubação	38,47	35,88	35,84	38,51	0,59	40,61	31,06	36,33	40,69	0,83
2º estágio	43,85	41,21	44,66	40,40	0,43	45,60	43,72	42,10	38,70	0,61

	Probabilidades ²						
	Níveis (N)	Levedura (L)	N x L	N/S	N/L	L/N 20	L/N 50
24 horas	0,0002	0,0001	0,0001	0,0359	0,0001	0,0001	ns ³
48 horas	0,0144	0,0123	0,0001	0,0001	0,0060	0,0066	0,0001
2º estágio	0,0231	0,0020	ns ³	-	-	-	-

1. EPM – erro padrão da média

2. Valores de *P* para o efeito de Níveis (N), efeito de levedura (L) e efeito da interação (NXL), e desdobramento das interações N/(S), N/(L), L/N20 e L/N50, interações não significativas não foram desdobradas

3. ns – não significativo

5.2.8. Protozoários ciliados

Na Tabela 20 são apresentados os valores médios da concentração e da composição da população de protozoários ciliados no rúmen dos bovinos, com os dados dos quatro tratamentos agrupados em comparação ao uso de levedura com os níveis de leucena e presença ou ausência de levedura na dieta para melhor visualização dos efeitos entre tratamentos.

Houve diferenças significativas entre os níveis de leucena na dieta ($P < 0,05$) para os aumentos da concentração de Diplodiniinae, *Epidinium* e *Dasytricha*, na ausência de leveduras, e no número total de ciliados em animais alimentados com nível mais alto de leucena (50%) na ausência de levedura.

Tabela 20 – Concentração e composição de diferentes gêneros e da subfamília Diplodiniinae de protozoários ciliados no rúmen de bovinos alimentados com dietas de dois níveis de leucena (20% e 50% MS), feno de capim *coast-cross*, sem (S) e com (L) adição de levedura

Protozoários	Níveis (N)		Levedura(L)		Interações (NXL)			
	20	50	(S)	(L)	20S	50S	20L	50L
Concentração ($\times 10^5$ / mL de conteúdo ruminal)								
<i>Entodinium</i>	12,67	11,65	13,15	11,18	14,07	12,22	11,27	11,08
Diplodiniinae	4,19	3,68	4,12	3,76	2,59 ^b	5,64 ^a	5,79 ^a	1,72 ^b
<i>Epidinium</i>	0,09	0,20	0,20	0,09	0,00 ^b	0,39 ^a	0,18 ^{ba}	0,00 ^b
<i>Isotricha</i>	0,42	0,27	0,44	0,25	0,50	0,37	0,33	0,16
<i>Dasytricha</i>	1,50	2,21	2,09	1,62	1,33 ^b	2,85 ^a	1,67 ^b	1,57 ^b
<i>Charonina</i>	1,50	1,12	1,10	1,52	1,33 ^{ba}	0,86 ^b	1,67 ^a	1,37 ^{ba}
Total	20,37	19,12	21,10	18,42	19,82 ^{ba}	22,33 ^a	20,92 ^a	15,91 ^b
Composição (%)								
<i>Entodinium</i>	62,45	62,21	62,86	61,80	70,99	54,72	53,90	69,69
Diplodiniinae	20,38	18,03	19,17	19,25	13,07	25,26	27,69	10,80
<i>Epidinium</i>	0,43	0,88	0,88	0,43	0,00	1,75	0,86	0,0
<i>Isotricha</i>	2,05	1,34	2,09	1,30	2,52	1,66	1,58	1,01
<i>Dasytricha</i>	7,35	11,32	9,74	8,93	6,71	12,76	7,99	9,87
<i>Charonina</i>	7,35	6,24	5,28	8,31	6,71	3,85	7,99	8,62
Entod:Diplod	3,02	3,17	3,19	2,97	5,43	2,17	1,95	6,44

Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem ($P < 0,05$) pelo teste LSD (Least Significance Difference)

5.3. Presença de dihidroxi piridina (DHP) na urina

Os testes qualitativos da presença ou não de DHP na urina, podem ser observados nas Figuras 23, 24, 25 e 26 realizados durante os quatro sub-períodos experimentais, respectivamente.

Estes testes foram desenvolvidos pela aplicação do método colorimétrico, usando-se cloreto férrico, que promove a reação colorimétrica (cor púrpura) com o DHP presente na urina. Isto permitiu a possibilidade de inferir alguma tendência (maior ou menor quantidade de DHP na urina), através da constatação de coloração púrpura, tanto mais intensa quanto maior a quantidade de DHP presente. Como pode ser observado nas figuras citadas, onde os tratamentos 50S e 50L em todos os períodos apresentaram intensa coloração, evidenciando maior excreção do DHP urinário em relação aos tratamentos 20S e 20L, que mostraram uma coloração menos intensa.

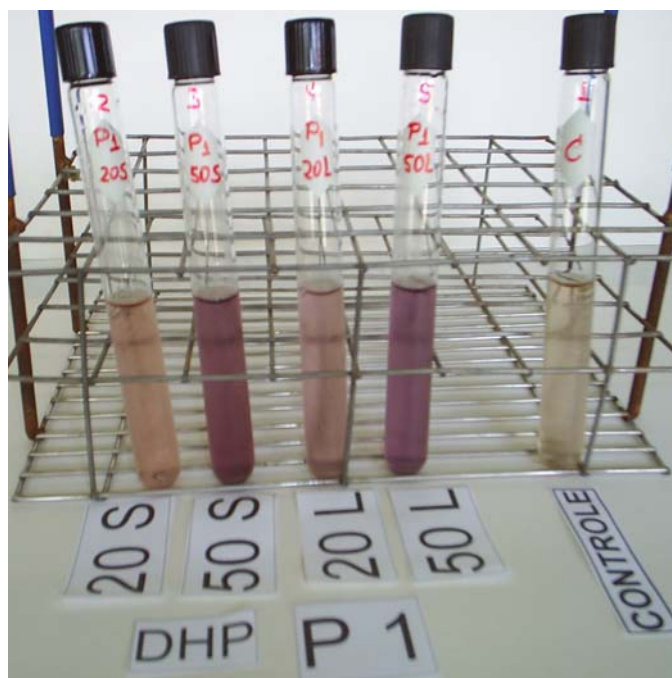


Figura 23- Reação colorimétrica de DHP com cloreto férrico (cor púrpura) em urina de bovinos nos quatro tratamentos avaliados, dois níveis de leucena (20% e 50% MS), feno de capim *coast-cross*, sem (S) e com (L) adição de levedura - Período 1

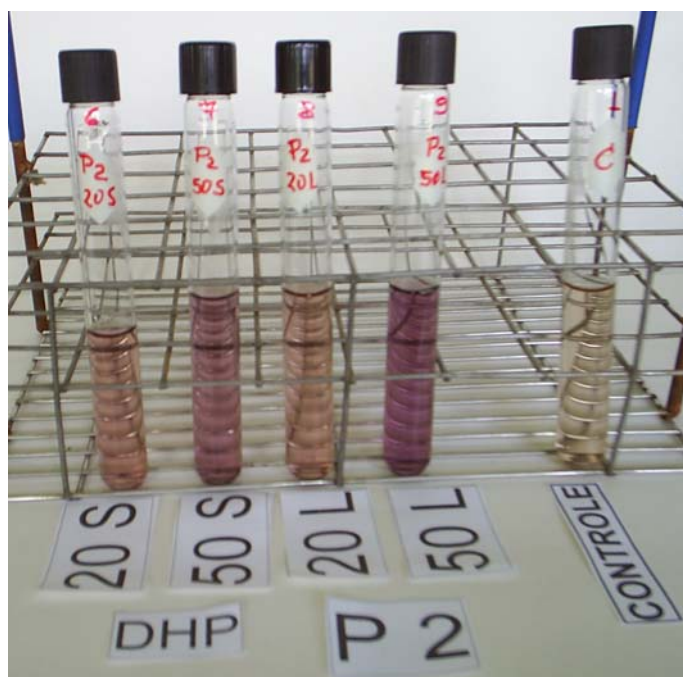


Figura 24 – Reação colorimétrica de DHP com cloreto férrico (cor púrpura) em urina de bovinos nos quatro tratamentos avaliados, dois níveis de leucena (20% e 50% MS), feno de capim *coast-cross*, sem (S) e com (L) adição de levedura - Período 2

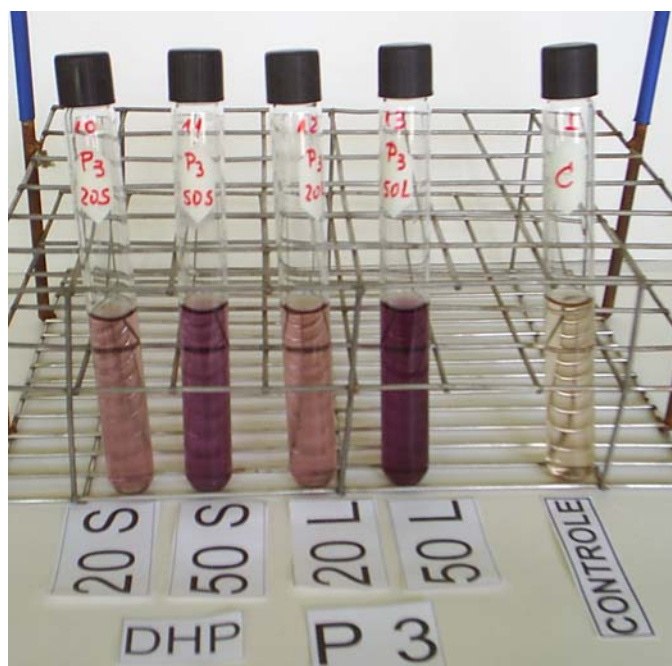


Figura 25 – Reação colorimétrica de DHP com cloreto férrico (cor púrpura) em urina de bovinos nos quatro tratamentos avaliados, dois níveis de leucena (20% e 50% MS), feno de capim *coast-cross*, sem (S) e com (L) adição de levedura - Período 3

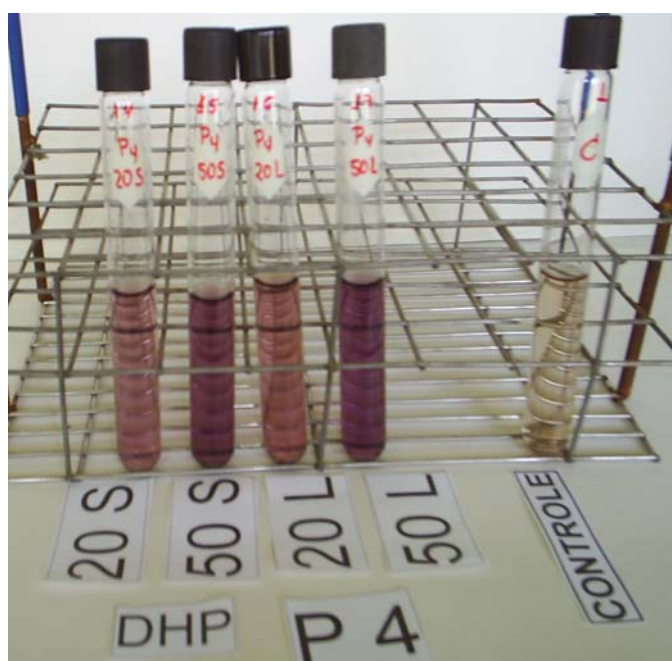


Figura 26 – Reação colorimétrica de DHP com cloreto férrico (cor púrpura) em urina de bovinos nos quatro tratamentos avaliados, dois níveis de leucena (20% e 50% MS), feno de capim *coast-cross*, sem (S) e com (L) adição de levedura - Período 4

6. DISCUSSÃO

6.1. Ingestão de matéria seca (IMS)

Não houve diferenças na IMS entre tratamentos (Tabela 6). A ingestão média de MS pelos animais ficou abaixo dos valores encontrados na literatura para animais recebendo dietas volumosas, contendo até 50% de leucena (PEREIRA, 1994, LOURENÇO; CARRIEL, 1998), a adição de leveduras (CABRERA et al., 2000), também não modificou o consumo que foi próximo a 1% do PV. Vitti et al. (2005), ao adicionarem leucena à dieta, observaram aumento na ingestão de matéria seca.

Independentemente do tratamento, os animais ganharam peso e mantiveram boas condições corporais do início ao término de todos os períodos experimentais, iniciando com peso médio de 797 kg, e terminando com peso médio de 832 kg.

6.2. Parâmetros ruminais

6.2.1. Ácidos graxos voláteis (AGV)

Os ácidos graxos voláteis (AGV), predominantemente nas formas acético, propiônico e butírico, fornecem a maior parte da energia absorvida pelos ruminantes, estimada em 50-70% da energia digestível total (SUTTON, 1980), sendo importante para o entendimento do processo fermentativo no rúmen em diferentes sistemas de alimentação.

No presente trabalho, os níveis de AGVs totais não foram favorecidos pelo maior nível de leucena na dieta, entretanto a adição de levedura na dieta aumentou a concentração média deste “pool” de ácidos no tratamento com menor nível de leucena (20 L).

Os valores médios obtidos para os AGVs totais nos tratamentos testados (80,59 a 92,64 mM) estão acima dos observados por Roa et al. (1997) para bovinos recebendo dieta a base de feno de alfafa e levedura (74,3 mM). Manella et al. (2003) trabalhando com animais mantidos em pastagens de *Brachiaria* e

recebendo leucena como suplementação observaram valores médios entre 63 a 74 mM durante o período de um ano.

De acordo com Giger-Reverdin et al. (1996), a adição de levedura à dieta aumenta a quantidade dos AGV totais, tanto *in vitro* como *in vivo*, devido a produção de aminoácidos, nucleotídeos e vitaminas que estimulam o crescimento e atividade bacteriana e leveduras vivas são eficientes na produção desses cofatores. Mc Gin et al. (2004) não encontraram diferenças na produção de AGVs totais quando adicionaram levedura numa dieta de silagem com 36% de FDN na MS.

O ácido acético é sempre produzido em maiores quantidades que os outros, ácidos graxos voláteis do rúmen, não apresentando grandes variações com a espécie vegetal. Os diferentes níveis da leucena na dieta não afetaram a concentração deste ácido entre os tratamentos, provavelmente, por tratar-se de uma dieta exclusivamente volumosa, não tendo a levedura, exercido qualquer influência sobre essa concentração. Segundo Pereira (1994) a produção de ácido propiônico tende a decrescer com o avanço da maturidade das plantas, exibindo uma relação inversa com o ácido acético. Em dietas com elevada participação de leguminosas, embora não existindo grandes diferenças nas concentrações de ácido acético, a do ácido propiônico é menor, ocorrendo o contrário com o ácido butírico, podendo aumentar sua concentração média. Neste experimento, observou-se maior proporção molar de ácido propiônico na dieta com os maiores níveis de leucena, contrariando as informações de Pereira (1994) e com relação ao ácido butírico, os valores observados devem-se a interação com a presença de levedura na dieta, o tratamento 20 L mostrou as maiores proporções molares desse AGV (Tabela 10).

As concentrações e as proporções entre os ácidos acético, propiônico, butírico dependem muito da natureza da dieta e do valor nutritivo das mesmas. No presente trabalho constatou-se heterogeneidade nas concentrações desses ácidos (acético, propiônico e butírico) em relação aos níveis de leucena. As diferenças não parecem ter uma correspondência com o valor nutritivo mas sim com a proporção da leguminosa na dieta e com a adição da levedura influenciando as concentrações dos ácidos propiônico e butírico e a produção total dos AGVs. Ngwa et al. (2003), trabalhando com diferentes espécies de leguminosas observaram que a dieta contendo leucena aumentou a concentração dos isoácidos e segundo os

autores, a fermentação da matéria orgânica da leucena parece seguir uma via de fermentação um pouco diferente das outras leguminosas estudadas.

Manella et al. (2003), observaram aumento na concentração média do ácido butírico em animais recebendo leucena na dieta, na forma de banco de proteínas; para os outros ácidos não foram detectados aumentos significativos.

A adição de leveduras na alimentação de ruminantes, muitas vezes tem mostrado diferentes efeitos na concentração dos AGVs do rumem. Pesquisas conduzidas sob diferentes condições de dietas mostraram aumento na concentração do ácido acético, ácido propiônico e butírico (ROA et al. 1997; GARCIA et al. 2000, LILA et al. 2004; GIGER-REVERDIN et al., 2004). Entretanto, outros autores não detectaram diferenças na produção dos AGVs do rúmen (OLSON et al, 1994; McGINN et al.,2004; KNORR et al. 2004). Neste estudo a adição de levedura parece ter favorecido um aumento na proporção molar do ácido propiônico quando altos níveis da leguminosa estavam presentes na dieta.

Outro ponto de destaque na metanogênese ruminal é a relação A:P. Se esta relação chegar a 0,5, a perda de energia pode ser nula, porém, se todos os carboidratos fossem fermentados a ácido acético e não produzisse nenhum ácido propiônico as perdas energéticas poderiam chegar a 33%. A relação A:P pode variar entre 0,9 a 4,0 e, portanto, as perdas por metano podem variar amplamente (JOHNSON;JOHNSON, 1995). As menores relações A:P observadas foram com animais consumindo os mais altos níveis da leguminosa na dieta, concordando com as afirmações de Carmona (2005), que defendeu a inclusão de leguminosas arbóreas e arbustivas aos sistemas produtivos de gado, com o intuito de minimizar a emissão do gás metano e diminuir o impacto ambiental e produtivo.

6.2.2. Amônia (NH₃) no rúmen

Segundo Van Soest (1994), o metabolismo da proteína dietética no rúmen é resultado da hidrólise de peptídeos a aminoácidos, que podem ser usados para síntese de proteína microbiana ou para formar pequenos peptídeos. Aminoácidos em excesso para os microrganismos são oxidados e deaminados a amônia e ácido carboxílico. A disponibilidade de carboidratos promove a utilização da amônia para síntese de aminoácidos e crescimento microbiano. O

nível de amônia ruminal ótimo é em torno de 10 mg/100 mL. Entretanto, esse valor médio sofre variação já que as bactérias capazes de sintetizar proteína e captar amônia dependem da taxa de fermentação dos carboidratos. Mehrez e Ørskov (1977) sugerem valores em torno de 24 mg/mL, para o máximo desaparecimento do substrato. No presente trabalho (Tabela 12 e Figura 12), duas horas após a alimentação, foram observados valores em níveis acima dos citados pelos autores nos diferentes tratamentos, sendo explicado pela alta concentração de proteína bruta da dieta e provavelmente devido a maior solubilidade da proteína do feno de *coast-cross*, como pode ser observado na Tabela 16 e Figura 19. Veloso et al. (2000) também observaram valor médio de amônia de 26 mg/100mL no rúmen de três tempos de amostragens (3, 6 e 12 horas). Quando utilizaram na dieta feno de gramíneas tropicais de boa qualidade, a concentração média observada variou de 18,71 a 21,28 mg/100 mL, ficando dentro dos níveis recomendados para se obter o maior desaparecimento de matéria seca (MEHREZ; ORSKOV, 1977). Manella et al. (2003), trabalhando com animais em regime de pasto e recebendo leucena como suplementação protéica, obtiveram valores muito abaixo aos observados no presente trabalho (1,3 a 3,1 mg/100 mL).

No presente estudo, cada volumoso apresentou nos tratamentos o mesmo perfil de desaparecimento do nitrogênio dietético, conforme pode ser observado nas Figuras 16, 19, a adição de levedura não afetou esse desaparecimento. Entretanto, Roa et al. (1997), observaram aumentos significativos nas concentrações médias de amônia, de 27,7 para 36,3 mg/100 mL, quando adicionaram levedura a uma dieta contendo feno de alfafa. Franzolin et al. (2004), não detectaram diferenças significativas nos valores médios da concentração de amônia ruminal (15,25 mg/100 mL) com a adição de leveduras a uma dieta com 75% de feno de gramínea.

Os níveis da leguminosa na dieta não influenciaram as concentrações de amônia no líquido ruminal. Esta ocorrência pode ser explicada pelo fato de que em ambos tratamentos, os animais receberam o mesmo teor de proteína dietética, o feno de *coast-cross* apresentou teor de PB (Tabela 5), similar ao feno de leucena em média de 17% de PB.

6.2.3. pH ruminal

O pH é considerado fator importante quando se relaciona à produção de metano ao metabolismo ruminal. Bovinos que recebem dieta exclusiva de forragens, o pH permanece relativamente constante (6,6 a 6,9), mas quando recebem concentrado na dieta o pH diminui para valores abaixo de 5,45, segundo Van Kessel; Russell (1996) e Lana et al. (2000). Bactérias provenientes de dietas exclusivas de forragens convertem CO_2 e H_2 em metano, enquanto em pH ruminal de dietas ricas em concentrados ou de forrageiras de muito boa qualidade, a produção de metano cai drasticamente para pH menores que 6,0. Em nossos estudos, as forragens ofertadas aos animais foram de excelente qualidade (Tabela 5), entretanto, o pH ruminal não apresentou valores abaixo de 6,5 (Tabela 13) e a produção de metano foi relativamente baixa, mas não foi diferente das observadas por outros autores com animais recebendo dieta de volumosos (PEDREIRA et al., 2004; PRIMAVESI, et al. 2004).

Outro ponto que deve ser observado é que a adição de leveduras não modificou o pH ruminal. A levedura é citada como capaz de manter o pH ruminal estável (MERTEN; ELY, 1982; ORSKOV; RYLE, 1990), por estimular o crescimento de bactérias celulolíticas, em dietas ricas em amido, entretanto em dietas exclusivamente volumosas, seus efeitos são as vezes contraditórios. No presente trabalho, o pH ruminal foi mais estável na ausência da levedura, concordando com outros autores que também observaram esse efeito contraditório da presença de levedura na dieta (GARCIA et al., 2000; Mc GIN et al., 2004).

6.2.4. Produção de gás metano (CH_4)

Os resultados obtidos mostraram valores médios da emissão de gás metano menores (127 a 156 g/dia - Tabela 14) que os relatados por Johnson e Johnson (1995), como estimativa para gado de corte (164 a 194 g/dia) e gado de leite (298 a 345 g/dia). Pedreira et al. (2004) estudando a emissão do gás metano em bovinos machos mestiços, consumindo dieta exclusiva de silagem de sorgo e com 30 e 60% de concentrado, obtiveram valores próximos aos observados em nosso experimento de 125, 149 e 140 g/dia de metano, respectivamente. Primavesi et al.

(2004a), avaliando a produção de metano no rúmen de gado leiteiro em pastagens de *Panicum maximum*, observaram valores da emissão do gás de 198 a 222 g/dia em novilhas, 403 g/dia em vacas em lactação e 278 g/dia em vacas secas. Os autores enfatizam que dados obtidos com animais em lactação, estão muito acima dos valores médios observados na América Norte. A técnica empregada pelos autores para captura e determinação de metano foi a mesma utilizada no presente estudo.

Segundo Carmona (2005), a opção para a redução das emissões de metano consiste na substituição de tecnologias convencionais por alternativas que associem produção com mínimos efeitos ambientais. A implementação de práticas de manejo em pastos que visem melhoria de qualidade, em geral, tem efeitos significativos na redução da emissão do gás metano. De acordo com o autor é evidente o efeito positivo que as leguminosas de espécies arbóreas e arbustivas têm nas dietas e nos sistemas silvipastoris para animais em pastejo de gramíneas tropicais de baixa qualidade. Além do ganho nutricional, outros aspectos como os que resultam em melhoras edáficas e bem estar animal, ficam bastante evidentes nestes sistemas.

Puchala et al. (2005) sugeriram que forragens contendo teores de baixo à moderado de taninos condensados (2% a 17%) são capazes de diminuir a emissão de metano em ruminantes. Os autores conseguiram diminuição na produção de metano no rúmen de 50% (6,9 vs 16,2 g/kg de MS ingerida) quando forneceram aos animais uma leguminosa com 17% de tanino condensado, em comparação a uma gramínea contendo apenas 0,5% deste composto.

6.2.5. Taxa de passagem de líquidos

Segundo Wattiaux, et al. (1992), a cinética ruminal pode ser influenciada diretamente pelo consumo, constituição física da dieta, diferenças individuais entre animais para sua atividade de ruminação e também pelo indicador (polietilenoglicol) utilizado para determinação desse parâmetro. O valor médio obtido de 9,19 %/h (Tabela 15) para a taxa de passagem de líquido ruminal foi próximo aos observados por Ortolan (2005), que trabalhou com animais recebendo alto nível de concentrado.

Os valores de taxa de passagem podem não refletir o exato perfil da passagem de líquidos no rúmen em animais recebendo dietas contendo leguminosas. O polietilenoglicol (PEG), com massa molecular de 4.000, é um detergente não iônico capaz de formar complexos com taninos hidrolisáveis e condensados e tem sido usado para prevenir a ligação entre taninos e proteínas (GETACHEW, et al. 2000). Entretanto, Vitti et al. (2005), observaram que o tanino da leucena teve uma resposta muito pequena para o teste da produção de gás quando foi utilizado o PEG. Os autores não encontraram explicação para o fato do tanino da leucena não produzir a mesma resposta que as outras leguminosas estudadas com adição do marcador polietilenoglicol.

6.2.6. Degradabilidade ruminal dos fenos de leucena e de coast cross

A degradabilidade ruminal da MS, FDN e PB dos fenos foram avaliadas com o objetivo de estudar os efeitos de diferentes níveis da leucena e a presença de levedura na degradação ruminal destas frações. Não houve diferenças significativas nas degradabilidades estudadas entre os tratamentos com as curvas de degradação, sendo semelhantes nos diferentes tratamentos (Tabela 16 e 17)

A degradabilidade ruminal está associada com a solubilidade. Os valores encontrados no presente trabalho indicam uma menor degradação da fração solúvel da matéria seca e proteína bruta (fração $a = 19\%$) para a MS e da proteína (fração $a = 7\%$), da leucena em relação a outras leguminosas citadas na literatura Kamatali et al. (1992); Nozzela (2001); Valarini e Possenti (2004). Esses pesquisadores enfatizaram que a taxa e a extensão da degradação é menor na presença de taninos e de outros polifenóis que formam complexos com a hemicelulose e proteína. Assim, as folhas mais velhas parecem manter maior quantidade de proteína no intestino delgado, uma vez que esta não é degradada no rúmeme e digerida no intestino delgado.

Segundo Pereira et al. (2002) o atraso da degradação da proteína é de particular importância, uma vez que as leguminosas em geral permanecem menos tempo no rúmen que as gramíneas, podendo refletir em uma maior quantidade de proteína disponível e absorvida no intestino delgado, repercutindo em

maior proveito ao animal. Na Figura 16, que representa os tempos de desaparecimento da proteína do feno de leucena e na Figura 19, os do feno de *coast-cross*, pode-se observar que a solubilidade média do feno da gramínea foi de 15% vs. 6,3% para a leguminosa e no período de 24 horas (Figura 22) as porcentagens médias foram de 68% vs. 56%, respectivamente. A solubilidade inicial e a degradação do feno de *coast-cross* foram superiores as da leucena, concordando com os dados de Kamatali et al. (1992) e Pereira et al. (2002), quando afirmaram que folhas mais velhas da leguminosa tendem a apresentar maiores valores de proteína “by pass”, uma vez que a proteína não degradada no rúmen parece ser bem absorvida. Em folhas e pequenos caules de leucena, Kamatali et al. (1992) registraram, após 24 e 48 horas de incubação ruminal em sacos de náilon, degradabilidade da PB de 44,3% e 56,2% respectivamente, obtendo posteriormente valores de 56,3% e 48,1% de digestibilidade da proteína não degradada.

A presença de taninos pode acarretar uma menor degradabilidade da proteína no rúmen, aumentando assim a sua disponibilidade no intestino. Esta idéia é alicerçada pelo fato da deaminação da proteína ocorrer mais lentamente aliada a degradação menos intensa e a taxa de passagem mais rápida, permitindo supor menor utilização do nitrogênio pela flora ruminal. No entanto, quando se verifica uma certa proteção à degradação no rúmen, as eventuais conseqüências benéficas dependem da sua posterior disponibilidade para a seqüência na digestão. Em muitas situações, segundo Pereira et al. (2002), dietas ricas em concentrados protéicos altamente protegidos, podem levar à redução da digestibilidade total da proteína, devido à diminuição da degradabilidade ruminal que não é compensada no nível intestinal. Mas a proteína da leucena possui elevado valor biológico semelhante ao da alfafa, com bom equilíbrio em aminoácidos, portanto a sua maior velocidade de passagem aliada ao seu elevado valor biológico, associada à uma baixa degradabilidade no rúmen e à elevada digestibilidade no duodeno permitem o aproveitamento integral da proteína ingerida, que se traduz em efeitos benéficos aos animais, que foram observados em trabalhos de produtividade animal envolvendo a utilização da leucena como fonte protéica (LOURENÇO, 1993; MANELLA et al. 2002).

Os valores de taninos condensados obtidos (Tabela 5) para o feno de leucena (2,63%) utilizado em nosso estudo foram maiores aos observados por Longo (2002) e menores aos encontrados por Vitti et al. (2005), de 0,9% e 12,7%, respectivamente. Segundo Pereira et al. (2002) a presença de taninos pode determinar a baixa degradabilidade da proteína no rúmen, aumentando assim o suprimento desta para o intestino. Existem poucos estudos da degradação de taninos pela microflora ruminal. Alguns dados sugerem que o ácido gálico e oligoflavanóis podem ser degradados pelos microrganismos do rúmen, entretanto os taninos condensados provavelmente não são degradados pelos microrganismos do rúmen e sua absorção não ocorre no trato gastrointestinal (LONGO,2002). Desta forma, os taninos podem promover uma complexação da proteína, ocorrendo com isto aumento na taxa de passagem do rúmen para o trato gástrico inferior e beneficiando o animal hospedeiro. Na Figura 22 pode-se observar a curva de desaparecimento da PB do feno de *coast-cross* e da leucena. A leguminosa apresentou menores valores médios de desaparecimento da PB, ocorrendo o mesmo com as outras frações estudadas e ilustradas nas Figuras 20 e 21, onde são apresentadas as curvas de desaparecimento da MS e da FDN, respectivamente.

6.2.7. Digestibilidade *in vitro* da MS (DIVMS)

Os níveis de leucena na dieta e presença de leveduras parecem ter atuado de diferentes maneiras na digestibilidade dos fenos de *coast-cross* e leucena Tabelas 18 e 19. Os valores da DIVMS para o 2º estágio obtidos para o feno de leucena variaram entre 38,7% e 45,6%, essa diferença parece ser devida a influência dos níveis de leucena na dieta com levedura, minimizando o efeito negativo no maior nível de leguminosa na dieta; o mesmo ocorreu para o feno de *coast-cross*, que também foi afetado pela presença da levedura na dieta. Os valores da DIVMS (2º. Estágio) para o feno de leucena ficaram abaixo dos encontrados por Possenti e Brás (2005) quando estudaram o valor nutritivo de brotos de leucena (67%) e também de Pereira (1994) que obteve valores entre 52% e 56%, para caules e folhas da rebrota de leucena.

6.3. Protozoários ciliados

As concentrações de Diplodiniinae, *Epidinium* e *Dasytricha* e número total de ciliados aumentaram nos animais alimentados com o nível mais alto de leucena (50%) na ausência de levedura (Tabela 20), concordando parcialmente com as observações de Galindo et al. (2003). Entretanto, ocorreu efeito inverso na concentração de Diplodiniinae com adição de levedura. Quando analisado o efeito da levedura dentro dos dois níveis de leucena na dieta, a levedura promoveu aumento no número de Diplodiniinae em dieta com 20% de leucena e quando a dieta continha 50% de leucena houve redução significativa de Diplodiniinae, *Epidinium*, *Daystricha* e número total de ciliados com a adição da levedura. Arakaki et al. (2000) e Ortolon et al. (2005) observaram efeito contrário com aumento na concentração de protozoários no rúmen de bovinos com adição de leveduras, mas em dietas ricas em concentrado .

Houve uma notória alteração na composição da fauna (Tabela 20) com efeitos significativos, tanto de níveis de leucena na dieta, como do uso de levedura ($P < 0,05$), conforme também verificado por Franzolin Neto et al. (1988) com ovinos recebendo leucena. Em dietas com baixo nível de leucena, a levedura promoveu redução na porcentagem de *Entodinium* e aumento na de Diplodiniinae, ocorrendo o mesmo processo quando o nível de leucena passou para 50% sem o uso de levedura. Em dietas com alto nível de leucena com adição de levedura ocorreu o inverso. Nas espécies de *Dasytricha* foram favorecidas na composição da fauna total pelo aumento da leucena na dieta, não sofrendo influência da adição de levedura.

Os dados permitem levantar a hipótese da existência de um efeito associativo, ocorrido com o aumento de leucena na dieta juntamente com a adição de levedura sobre a concentração e principalmente na composição final da fauna no rúmen ou tenha ocorrido um mecanismo de ação semelhante de ambos, dependendo do nível de leucena na dieta. Em nível alto de leucena na dieta com adição de levedura, a porcentagem de composição da fauna permanece semelhante àquela proporcionada com nível baixo sem o uso de levedura. Da mesma forma ocorre quando os animais consomem dietas com nível baixo de leucena com adição de levedura, mantendo a fauna semelhante a de uma dieta com nível alto de leucena sem levedura.

6.4. Presença de dihidroxipiridina (DHP) na urina

Considerando-se que a mimosina ingerida é degradada principalmente no rúmen e que a DHP resultante desta degradação é absorvida ao longo do trato digestivo, supõe-se que a DHP eliminada na urina corresponde àquela efetivamente presente na circulação sanguínea. Segundo Megarrity (1981), a DHP urinária pode ser considerada como um bom indicativo na avaliação da toxicidade.

Apesar da presença de DHP na urina, observada neste estudo (Figuras 23, 24, 25, e 26), não foi detectado qualquer efeito tóxico da leucena nos animais, inclusive nas dietas com 50% de leucena em que os mesmos apresentaram uma cor púrpura mais intensa na urina.

7. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos no presente trabalho pode-se concluir que:

O nível mais alto de leucena na presença de levedura promoveu melhor padrão de fermentação, com aumento na produção de ácido propiônico e redução na emissão de metano.

A digestibilidade *in vitro* da matéria seca do feno de gramínea, tanto quanto a da leucena foi reduzida com nível mais elevado da leguminosa na dieta, enquanto a degradabilidade ruminal não foi afetada pelos tratamentos avaliados.

O uso de 50% de leucena na dieta com adição de levedura promoveu alteração na população de protozoários ciliados no rúmen, principalmente na redução da concentração total por mL do conteúdo ruminal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A.O.A.C. OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS, Washington D.C.: Association of Official Analytical Chemists, 1995. p.1051.

ARAKAKI, L.C.; STAHRINGIER, R. C.; GARRET, J. E.; DEHORITY, B. A. The effects of feeding monensin and yeast culture, alone or in combination, on the concentration and generic composition of rumen protozoa in steers fed on low-quality pasture supplemented with increasing levels of concentrate. **Anim. F. Sci. Tech.**, v. 84, p. 121-127, 2000.

ASANUMA, N.; IWAMOTO, M., HINO, T. Effect of the addition of fumarate on methane production by ruminal microorganism in vitro. **J. Dairy Sci.**, v. 82, p. 780-787, 1999.

BASSALA, P.; FELKER, P.; SWKON, D.H.D. A comparison of *Leucaena leucocephala* and *Leucaena pulverulenta* and stem ages classes for nutritional value. **Trop. Grassl.**, v. 25, p. 313-316, 1991.

BAUMGARDT, B.R.; TAYLOR, M.W.; CASON, J.L. Evaluation of forages in the laboratory. II Simplified rumen procedure for obtaining repeatable estimates of forage nutritive values. **J. Dairy Sci.**, v. 45, p. 62-68, 1962.

BERGEN, W.G.; BATES, D.B. Ionophores: Their effect on production efficiency and mode of action. **J. Anim. Sc.**, v. 58, p. 1465-1483, 1984.

BRANDES, D.; FEITAS, E.A.G. Taninos condensados - uma ferramenta para melhorar o desempenho de ruminante. **Agrop. Catarin.**, v. 5, p. 44-48, 1992.

BUSCHBACHER, R.; ULH.; SERRÃO, E. A.S. Abandoned pastures in eastern Amazonia. II. Nutrients stocks in the soil and vegetation. **J. of Ecology**, v. 76, p. 682-699, 1988.

CABRERA, E.J.I.; MENDONZA, M.G.D.; ARANDA, I.E.; GARCIA-BOJALIL, C.; BARCENA, G.R.; RAMOS, J.J.A. *Saccharoyces cerevisiae* and nitrogenous

supplementation in growing steers grazing tropical pastures. **Anim. F. Sci. Tech.**, v. 83, p. 49-55, 2000.

CANNAS, A. **Fascinating but sometimes dangreous molecules**. Disponível em: <<http://www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/tannin/tannin.html>>. Acesso em 15/02/2006.

CARMONA, J.C. El gás metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y produtivo. **Rev. Colombiana de Ciências Pec.**, v. 18, p.49-63, 2005.

CARVALHO, O.M.; LANDGUIDEY, P.H. Toxidez de *Leucaena leucocephala* em ovinos Sta. Inês. **Rev. Soc. Bras. Zoot.**, v. 21, n. 1, p. 1-9, 1992.

CHAUCHEYRAS, F.; FONTY, G.; BERTIN, G.;GOUET, P. In vitri H₂ utilization by a ruminal acetogenic bacterium cultivated alone or in association with an archaea methanogen is stimulated by a probiotic strain of *Saccharomyces cereviae*. **Appl. Env. Microb.**, p. 3466-3467, 1995.

COLOMBATTO, D.; HERVÁS, D.; YANG, W. Z.; BEAUCHEMIN, K. A. Effects of enzyme supplementation of a total mixed ration on microbial fermentation in continuous culture, maintained at high and low pH. **J. Anim. Sci.** v. 81, p. 2617-2627, 2003.

CUMMINS, K.A; NOCEK, J.E.; POLAN, C.E.; HERBEIN, J.H. Nitrogen degradability and microbial protein syntesis in calves fed diets of varying degradability defined the bag technique. **J. Dairy Sci.**, v. 66, p. 2356-2364, 1983.

D'MELLO, J.P.P ; ACAMOVIC, T. *Leucaena leucocephala* in poultry nutrition: a review. **Anim. Feed Sci. Tech.**, v. 26, p. 1-28, 1989.

DEHORITY, B. A. **Laboratory manual for classification and morphology of rumen ciliate protozoa**. Florida: CRC, 1993. 96p.

ERWIN, E.S.; MARCO, G.J.; EMERY, E.M. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatograpy. **J. Dairy Sci.**, v. 44, p. 1768-1771, 1961.

FAINT, M.A.; McNEILL, D.M.; STEWART, J. I.; CASTILHO, A.C.; ACASIO, R.N.; LYNCH, J.J. Leucaena: adaptation, quality and farming systems. IN: PROCEEDINGS OF A WORKSHOP HELD IN HANOI, Vietnam, 1998. Brisbane, Australia, Ed. Australian Centre International Agricultural Research, , 1998. p.215.

FEBLES, G.; MONZOTE, M.; RUIZ, T. E. **Leucaena una opción para la alimentación bovina en el trópico y subtropico**. Havana, Cuba: Instituto de Ciência Animal, 1987. p.199.

FENNER, H. Method for determining total volatile bases in rumen fluid by steam distillation. **J. Dairy Sci.**, p. 249-251, 1965.

FRANZOLIN NETO, R.; VELLOSO, L. Aspectos tóxicos da Leucaena Leucocephala (LAM.) de WIT. **Comum. Cient. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo**, v. 11, p. 37-47, 1987.

FRANZOLIN NETO, R. ; VELLOSO, L. Leucaena Leucocephala (LAM.) de WIT. em rações para ovinos. 2. toxicidade. **Rev. Soc. Brás. Zoot.**, v. 15, p. 415-424, 1986.

FRANZOLIN NETO, R.; FRANZOLIN, M. H. T.; VELLOSO, L.; LIMA, G.C. Efeitos da Leucaena Leucocephala (LAM.) de WIT sobre a concentração de protozoários ciliados no rúmen de ovinos. **Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo**, v. 25, p. 267-273, 1988.

FRANZOLIN, R.; COSTA, F.A.A.; FERNANDES, L.B.; SOARES, W.V.B. Avaliação do uso de aditivos em dietas de bovinos zebuínos. In. REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande/MS, **Anais...**, 2004. CD-ROM.

GALINDO , J.; MARRERO, Y.; GONZALES, N. ALDAMA, A.L. Effect of foliage of two tropical trees (*Brosimum allicastrum* and *Leucaena leucocephala*) on the ruminal microbial population in *in vitro* conditions. **Cuban J. Agric. Sci.**, v. 37, p. 389-395, 2003.

GARCIA, C.C.G.; MENDONZA, M.G.D; GONZÁLES, M.S.; COBOS, P.M.; ORTEGA, C.M.E.; RAMIREZ, L.R. Effect of a yeast culture (*Saccharomyces*

cerevisae) and monensin on ruminal fermentation and digestion in sheep. **Anim. Feed Sci. Tech.**, v. 83, p. 165-170, 2000.

GETACHEW, G. MAKKAR, H.P.S; BECKER, K. Effect of polyethylene glycol on in vitro degradability of nitrogen and microbial protein synthesis from tannin-rich browse and herbaceous legumes. **British J. Nut.**, v. 84, p. 73-83, 2000.

GIGER-REVERDIN, S.; BEZAULT, N.; SAUVANT, D.; BERTIN, G. Effects of a probiotic yeast in lactating ruminants: interaction with dietary nitrogen level. **Anim. Feed Sci. Tech.**, v. 63, p. 149-162, 1996.

GOERING, H.K.; VAN SOEST, P.J. Forage fiber analysis. **Agric. Handb.**, v. 379, 1970.

GOMEZ, R.; DUDAS, D.; HUBBER, J.T. Effect of *Aspergillus oryzae* and yeast culture on feed utilization by hostein cows. **J. Dairy Sci.**, v. 70, p. 218-225, 1987.

GOMIDE, J.A.;QUEIROZ, D.S. Valor nutritivo de leguminosas arbóreas e arbustivas. In: SIMPÓSIO SOBRE USOS MÚLTIPLOS DE LEGUMINOSAS ARBUSTIVAS E ARBÓREAS. Nova Odessa/SP: Alcantara, V.G.B, 1993.

GUPTA, B.K.; SINGH, A. Effect of feeding dried subabul as a replacement of concentrate mixture in buffalo calves. **Indian J. Anim. Sci.**, v. 59, p. 590-596, 1989.

HEGARTY, M.P.; COURT, R.D., CHRISTIE, G.S. Mimosine in *Leucaena leucocephala* is metabolized to a goitrogen in ruminant. **Aust. Vet. J.**, v. 52, p.490-495, 1976.

HOPKINS, N.C.G. Arboles forrageros. **Rev. Mund. Zoot.**, v. 56, p. 18-23, 1985.

HUNTINGTON, J. A.; GIVENS, D. I. The in situ technique for studying the rumen degradation of feeds: a review of the procedure. **Nutr. Abstr. Rev.** (serie B) v. 65, p. 64-93, 1995.

HYDEN, S. A. A turbidometric method for the determination of higher polyethyleneglycols in biological materials. **K. Lantbr. Hogsk. Arbb.**, v.22,p.139, 1959.

JONES, R. J. LE FEUVRE, R.P.; PLAYNE, M.J. Losses of dry matter, nitrogen, minerals and fibre fractions from nylon bags containing *Leucaena leucocephala* and two *Calliandra* species in the rumen. **Anim. Feed Sci. Tech.**, v. 37, p. 297-307, 1992.

JONES, R.J.; MEGARRITY, R.G. Contrasting responses of goats fed *Leucaena* in Australia and Hawaii. **Leucaena Res. Rep.**, v. 2, p. 15, 1981.

JOHNSON, k.A., JOHNSON, D.E. Methane emissions from cattle. **J. Anim. Sci.** v. 73, p. 2483-2492, 1995.

KAITHO, R. J.; UMUNNA, N.N.; NS AHLAI, I.V.; TAMMINGA, S.; VAN BRUCHEM, J. Utilization of browse supplements with varying tannin levels by Ethiopian Menz sheep. 1. Intake, digestibility and live weight changes. **Agroforestry Syst.**, v. 39, p. 145-159, 1998.

KAMATALI P;TELLER E ;VANBELLE M ;COLLIGNON G; FOULON M *In situ* degradability of organic matter, crude protein and cell wall of various tree forages. **Anim.Prod.**, v. 55, p. 29-34, 1992.

KNORR, M. PATINO, H.O.;MEDEIROS, F.S.; SILVEIRAS, A.L.F.; BRACCINI, J.N.; BECK, C.A.C.;WILBERT, C.A. Efeito de diferentes de nitrogenio não proteico em sais proteinados no pH e na concentração de amonia ruminal de bovinos alimentados com feno de baixa qualidade. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41, 2004, Campo Grande/MS, **Anais...** SBZ, 2004. CD-ROM.

LANA, P.R.; RUSSELL, J.B.; Van AMBURGH, M.E. The role o pH in regulating ruminal methane and ammonia production. **J. Anim.Sci.** v. 76, p. 2190-2196, 1998.

LILA, Z.A.; MOHAMMED, N.; YASUI, T.;KUROKAVA, Y.; KANDA,S.; ITABASHI, H. Effects of a twin strain of *Saccharomyces cerevisiae* live cells on mixed ruminal microorganism fermentation *in vitro*. **J.Anim.Sci.**, v. 82, p. 1847-1854, 2004.

LONGO, C. Avaliação do uso de *Leucaena leucocephala* em dietas de ovinos da raça santa Inês sobre o consumo, a digestibilidade e a retenção de nitrogênio. 49 f.

2002. Dissertação de Mestrado – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba, São Paulo.

LOPES, H.O.S.; FRANÇA, D.M.S.; PEREIRA, E.A.; ABDALLA, A.; FELIPE, S.S. Teores plasmáticos de T3 e T4 e consumo de mimosina de bovinos arraçados integralmente ou parcialmente com leucena. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 26., 1989, Porto Alegre/RS, **Anais...**, 1989.

LOURENÇO, A.J.; CARRIEL, J. M. Desempenho de bovinos em pastagens de Brachiaria Brizantha associados a Leucaena Leucocephala. **Bol. Ind. Anim.**, v. 55, n. 1, p. 45-50, 1998.

LOURENÇO, A.J.; MATSUI, E.; DELISTOIANOV, J.; BOIN, C.; BORTOLETO, O. Composição botânica da forragem disponível e da selecionada por bovinos em pastos de colônia + soja preta, com acesso aos bancos de proteína nas secas. **Rev. Soc. Bras. Zoot.**, v. 21, p.703-717, 1992.

LOURENÇO, J. A. Produção animal com leguminosas arbóreas/arbustivas. In: SIMPÓSIO SOBRE USOS MÚLTIPLOS DE LEGUMINOSAS ARBUSTIVAS E ARBÓREAS. Nova Odessa/SP: Alcantara, V.G.B, 1993, 216 p.

LOWRY, J.B.; TANGENDJAJA, M.; TANGENDJAJA, B. Autolysis of mimosine to 3-hydroxy-4-(1H)-pyridone in green tissues of Leucaena leucocephala. **J. Sci. Food Agric.**, v. 34, p. 529-533, 1983.

MAKKAR, H.P.S; BLUMMEL, M.; BECKER, K. Formation of complexes between polyvinyl pyrrolidones or polyethylene glycols and tannins, and their implication in gas production and true digestibility in in vitro techniques. **British J. Nutr.**, v. 73, p. 897-913, 1995.

MAKKAR, H.P.S; BLUMMEL, M.; BECKER, K. Gravimetric determination of tannins and their correlation with chemical and protein precipitation methods. **J.Sci. Food Agric.**, v. 61, p. 161-165, 1993.

MAKKAR, H.P.S; DAWRA, R.K.; SINGH, B. Determination of both tannin and protein in a tannin-protein complex. **J. Agric. Food Chem.**, v. 36, p. 523-525, 1988.

MANELLA, Q. M.; LOURENÇO, J. A.; LEME, P.R. Recria de bovinos nelore em pastos de *Brachiaria brizantha* com suplementação protéica ou com acesso a banco de proteína de *Leucaena leucocephala*. Desempenho animal. **Rev. Bras. Zoot.**, v. 31, n. 6, p. 2274-2282, 2002.

MANELLA, Q. M.; LOURENÇO, J. A.; LEME, P.R. Recria de bovinos nelore em pastos de *Brachiaria brizantha* com suplementação protéica ou com acesso a banco de proteína de *Leucaena leucocephala*. Características de fermentação ruminal. **Rev. Bras. Zoot.**, v. 32, n. 4, p. 1002-1012, 2003.

McGINN, S.N.; BEAUCHEMIN, K.A.; COATES, T.; COLOMBATTO, D. Methane emissions from beef cattle: Effects of monesin, sunflower oil, enzymes, yeast, and fumaric acid. **J. Anim. Sci.**, v. 82, p. 3346-3356, 2004.

MEGARRITY, R.G. An automated colorimetric method for mimosine in *Leucaena* leaves. **J. Sci. Food Agric.**, v. 29, p. 182-186, 1978.

MEGARRITY, R.G. Rapid estimation of DHP in urine. **Leucaena Research Reports**, v. 2, p.16, 1981.

MEHREZ, A.Z.; ORSKOV, E.R. A study of the artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. **J. Agric. Sci.**, v. 88, p. 645-650, 1977.

MERTEN, D. R.; ELY, L.O. Relation ship of rate and extent of digestión to forage utilization, a dynamic model evaluation. **J. Anim. Sci.**, v.54, p. 895-905, 1982.

MUTSVANGWO, T.; EDWARDS, I.E.; TOPPS, J.H.; PATERSON, G.F.M. The effect of dietary inclusion of yeast culture (Yea-Sacc) on patterns of rumen fermentation, food intake and growth of intensively fed bulls. **Anim. Prod.** v. 55, p. 35-40, 1992.

NGWA, A. T.; NSAHLAI, I.V.; IJI, P.A. Effect of feeding legume pods or alfalfa in combinationwith poor quality grass straw on microbial enzyme activity and production of VFA in the rumen os South African Merino sheep. **Small Rumin. Res.**, v. 48, p. 83-94, 2003.

NOZZELLA, E. F. **Determinação de taninos em plantas com potencial forrageiro para ruminantes**. Piracicaba/SP, Brasil. 58 f. 2001. Dissertação de Mestrado, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo.

OLSON, K.C.; CATON, J.S.; KIRBY, D.R.; NORTON, P.L. Influence of yeast culture supplementation and advancing season on steers grazing mixed-grass prairie in the northern Great Plain: II ruminal fermentation, site of digestion, and microbial efficiency. **J. Anim.Sci.**, v. 72, p. 2158-2170, 1994.

ORSKOV, E.R.; McDONALD, I. The estimation of protein degradability of in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. **J. Agric. Sci.**, v. 92, n. 2, p. 499-503, 1979.

ORSKOV, E.R.; RYLE, M. **Energy nutrition in ruminants**. London: Elsevier, 1990. 149 p.

ORTOLAN, J.H., NOGUEIRA FILHO, J.C.; CASTRO, A.L.; LEME, P.R.; ROMBOLA, L.G. Efeito da adição de aditivos sobre a fauna ruminal em novilhos nelore alimentados com dieta de terminação. **BIOTAM Nueva Serie**, Edición Especial, p. 92-94, 2005.

PEDREIRA, M.S.; BERCHIELLI, T.T.; OLIVEIRA, S.G. ; PRIMAVESI, O.; LIMA, M.A.; FRIGHETTO, R. Produção de metano e concentração de ácidos graxos voláteis ruminal em bovinos alimentados com diferentes relações de volumoso:concentrado. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande/MS, **Anais...**, 2004. CD-ROM.

PEREIRA, A.M.F. Avaliação da toxicidade por dihidroxipiridina através do consumo de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. em três raças de bovídeos. 117 f., 1994. Tese de Mestrado - Medicina Veterinária e Zootecnia Tropicais, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa,

PEREIRA, A.M.F.; ALCÂNTARA, P.B.; ALCÂNTARA, V.B.G. A *Leucaena*: por fora e por dentro. **Bol. Cient. Ed. Instit. Zoot.**, Nova Odessa, SP, 2002.

PEREIRA, A.M.F.; ALCÂNTARA, P.B.; BRAUN, G.; CAMPOS, B.E.S. Variação da composição química de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit sujeita a diferentes intensidade de desfolha. **Bol. Ind. Anim.**, v. 52, p. 127-132, 1995.

PIMENTEL GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. Piracicaba: ESALQ, 1985.

PORTER, L.J.; HRSTICH, L.N.; CHAN, B. G. The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyaniding and delphinidin. **Phytochemistry**, v. 25, p. 223-230, 1986.

POSSENTI, R.A. BRÁS, P. Composição química e degradabilidade ruminal *in situ* de *leucaena leucocephala*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42., 2005, Goiana/GO, **Anais...**, 2005. CD-ROM.

POTTINGER, A. J.; GOURLAY, I.D.; GABUNADA, F.G.; MULLEN, B.F. Wood density and yield in the Genus *Leucaena*. In: *Leucaena – Adaptation, Quality and Farming Systems*. In: PROCEEDINGS OF A WORKSHOP HELD IN HANOI, Vietnam, 1998. Brisbane, Austrália: Australian Centre International Agricultural Research, 1998. p.96.

PRIMAVESI, A. **Manejo ecológico de pastagens**. São Paulo: Nobel, 1998. p.184.

PRIMAVESI, O., FRIGHETO, R.T.S., PEDREIRA, M.S et al. **Técnica do gás traçador SF6 para medição de campo do metano ruminal em bovinos: adaptações para o Brasil**. São Carlos, SP: Embrapa Pecuária Sudeste, 2004. (Documento n. 39) p.74.

PRIMAVESI, O.; TRIGHETTO, R.T.S.; PEDEDREIRA, M.S. et al. Metano entérico de bovinos leiteiros em condições tropicais brasileiras. **Pesq. Agropec.Bras.**, v. 39, p. 277-283, 2004a.

PUCHALA, R.; MIN, R.B.; GOETSCH, A.L.; SAHLU, T. The effect of a condensed tannin-containing forage on methane emission by goats. **J. Anim. Sci.**, v. 83, p. 182-186, 2005.

REIS, P.J.; PUCHALA, R. ; SAHLU, T.; GOETSCH, A.A. Effects of mimosine and 2,3-dihydroxypyridine on fiber shedding in Angora goats. **J. Anim. Sci.**, v. 77, p. 1224-1229, 1999.

ROA, M.L.;BARCENA-GAMA, J.R.; GONZÁLES, S.M.; MENDONZA, G.M.; ORTEGA, M.E.C.; GÁRCIA, C.B. Effect of fiber source and a yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*¹⁰²⁶) on digestion and the environment in the rumen of cattle. **Anim. Feed Sci. Tech.**, v. 64, p. 327-336, 1997.

ROCHA, G.L. Ecosistemas de pastagens: aspectos dinâmicos. Piracicaba, SP: FEALQ, 1991. p.391.

RUMSEY, T.S. Monsensin in cattle: introduction. **J. Anim. Sci.**, v. 58, p. 1461-1464, 1984.

SAS INSTITUTE INC. **SAS user's guide**: statistics. 5.ed Cary,NC, 2002.

SHELTON, H.M.; LOWRY, J.B.; GUTTERIDGE, R.A.; BRAY, R.A.; WILDIN, J.H. Sustaining productive pastures in the tropics. 7.Tree and shrub legumes in improved pastures. **Trop. Grassl.**, v. 25, p. 119-128, 1991.

SILVA, D.J. **Análise de Alimentos**: métodos químicos e biológicos. Viçosa: UFV, 1998.

SUTTON, J.D. Digestion and end product formation in the rumen from production rations. In: Digestive physiology and metabolism in ruminants. S.I.: MTP Press Ltd., 1980. p. 271-290.

TANGENDJAJA, B.; HOGAN, J.P; WILLS, R.B.H. Degradacion of mimosina by rumen contents: Effects of feed composition and *Leucaena* substractes. **Austr. J. Agric. Res.**, v. 34, p. 289-293, 1983.

TANGENDJAJA, B.; LOWRY, J.B; WILLS, R.B.H. Degradacion de mimosina y 3-hidroxi-4(1H)-piridone (DHP) por cabras de Indonesia. **Prod. Anim. Trop.**, v. 10, p. 41-45, 1985.

TILLEY, J.M.A, AND TERRY, R.A. A two-stage technique for the in vitro digestión of forage crops. **J. Brit. Grassl. Soc.**, v. 18, p. 104-111, 1963.

TILLEY, J.M.A; DERIAZ, R.E; FERRY, R.A. The in vitro measurement of herbage digestibility and assessment of nutritive value. In: **Proc Eighth Int. Grassl. Congress**, 1960.

VALARINI, M.J. and POSSENTI, R.A. Stem-nodulating *Sesbania* as a potential feed supplement for ruminants. **Trop. Sci.**, v. 44, p. 64-69, 2004.

VAN KESSEL, J.A.S.; RUSSEL, J. B. The effect of pH on ruminal methanogenesis. **FEMS Microb. Ecol.**, v. 20, p. 205-210, 1996.

VEIGA, J. B.; SERRÃO, E. A.S. Sistemas silvopastoris e produção animal nos trópicos úmidos: a experiência da Amazônia brasileira. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 27., 1990, Campinas, SP. **Anais...**, 1990.

VELOSO, C.M; RPDRIGUESZ, M.N.; SAMPAIO, M.B.I.; GONÇALVES, L.C.; MOURÃO,G.B. pH e amônia ruminais, relação folhas:hastes e degradabilidade ruminal da fibra de forrageiras tropicais. **Rev.Bras. Zoot.**, v. 29, p. 871-879, 2000.

VESTENA, S; FETT-NETO, A.G; DUARTE, R.C.; FERREIRA, A. G. Regulation of mimosine accumulation in *Leucaena leucocephala* seedlings. **Plant. Sci.**, v. 161, p. 597-604, 2001.

VITTI, D.M.S.S.; ABDALLA, A.L.; BUENO, I.C.S.; SILVA FILHO, J.C.; COSTA, C.; BUENO, M.S.; NOZELLA, E.F.; LONGO, C.; VIEIRA, E.Q; CABRAL FILHO, S.L.S; GODOY, P.B.; MUELLER-HARVEY, I. Do all tannins have similar nutritional effects? A comparison of three Brazilian fodder legumes. **Anim. Feed Sci Tech.**, v. 119, p. 345-361, 2005.

WATTIAUX, M.A.; MERTENS, D.R.; SATTER, L.D. Kinetics of hidratation and effect of liquid uptake on specific gravity os small hay and silage particles. **J. Anim. Sci.**, v.70, p.3597-3606, 1992.