

EFEITOS DO USO DE LEUCENA E LEVEDURA EM DIETAS PARA BOVINOS SOBRE A DEGRADABILIDADE RUMINAL E DIGESTIBILIDADE *IN VITRO*¹

ROSANA APARECIDA POSSENTI², RAUL FRANZOLIN³, ELIANA APARECIDA SCHAMMASS⁴, PATRÍCIA BRÁS⁵

¹Recebido para publicação em 02/12/08. Aceito para publicação em 28/06/09.

²Centro de Pesquisa e Desenvolvimento em Nutrição Animal e Pastagem (CDNAP), Instituto de Zootecnia (IZ), Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo (SAA), Rua Heitor Pentead, 56, Centro, Caixa postal 60, CEP 13460-000, Nova Odessa, SP, Brasil. E.mail: possenti@iz.sp.gov.br

³Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA), Universidade de São Paulo (USP), Campus de Pirassununga, Av. Duque de Caxias Norte, 225, CEP 13635-900, Pirassununga, SP, Brasil.

⁵Programa de Pós Graduação em Produção Animal Sustentável, IZ, APTA, SAA, Rua Heitor Pentead, 56, Centro, Caixa postal 60, CEP 13460-000, Nova Odessa, SP, Brasil.

RESUMO: O presente trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos do uso da Leucena em dietas para bovinos com ou sem adição de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) sobre o consumo, degradabilidade *in situ* e digestibilidade *in vitro* dos fenos de leucena (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit.) e coast-cross (*Cynodon dactylon* cv. coast-cross) e a taxa de passagem de líquido ruminal. Quatro bovinos machos mestiços, canulados no rúmen foram delineados em quadrado latino (4x4) com os tratamentos em arranjo fatorial (2x2) com dois níveis leucena (20% e 50% MS) e feno coast-cross sem ou com adição de 10g de levedura/animal/dia. A ingestão de MS, degradabilidade ruminal da MS, FDN e PB e taxa de passagem de líquido no rúmen não foram afetados pelos tratamentos. A leucena apresentou degradabilidade menor que o capim coast-cross. As digestibilidades *in vitro* da matéria seca de ambos os fenos foram reduzidas com nível mais elevado da leguminosa na dieta. O uso de levedura como aditivo em dietas mistas para bovinos contendo 50% de leucena promoveu efeito positivo na digestibilidade *in vitro* da matéria seca do coast-cross nas primeiras 24 horas de digestão e da leucena em 48 horas, porém reduziu a digestibilidade com a incubação em ácido clorídrico e pepsina no segundo estágio da digestão, o qual simula a digestão química em ruminantes.

Palavras chaves: leguminosa, *Leucaena leucocephala*, *Sacharomyces cerevisiae*, rúmen.

EFFECTS OF LEUCAENA AND YEAST IN DIETS TO CATTLE ON RUMEN DEGRADABILITY AND *IN VITRO* DIGESTIBILITY

ABSTRACT: The aim of the present research was to evaluate the effect of use of *Leucaena* in cattle diets with or without addition of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on dry matter intake (DMI), *in situ* degradability and *in vitro* digestibility of leucaena (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit.) and coast-cross grass hays (*Cynodon dactylon* cv. coast-cross) and rumen liquid outflow rate. Four crossbred rumen cannulated steers were assigned in a Latin square design (4x4) with the treatments in a factorial arrangement (2x2) with two levels of leucaena (20% and 50% DM) with coast-cross grass hay, with or without addition of 10g of yeast/animal/day. No differences were observed among the treatments for the DMI, rumen liquid outflow rate, ruminal degradability of DM, NDF and CP. However, leucaena overall had lower rumen degradability of DM, NDF and CP than coast-cross grass. *In vitro* DM digestibility on both hays was decreased at the higher level of dietary leucaena. The addition of yeast to the diet with 50% of leucaena produced positive effect on *in vitro* DM digestibility at 24 and 48h of digestion in the coast-cross grass and in leucaena, respectively. However, digestibility of leucaena was decreased during hydrochloric acid and pepsin incubation which simulates the chemical digestion in ruminants.

Key words: leguminous, *Leucaena leucocephala*, *Sacharomyces cerevisiae*, rumen

INTRODUÇÃO

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

A composição químico-bromatológica da leucena varia pouco ao longo do ano, quando comparada às gramíneas e outras leguminosas (GOMIDE e QUEIROZ, 1993). Variações na digestibilidade foram mensuradas ao longo do ano 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. PEREIRA *et al.* (1995), ao simularem pastejo em um campo de leucena disposto em faixa, observaram que a leucena quando utilizada em pastejo pelos animais 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, um princípio tóxico existente em todas as partes da leucena, pode interferir na atividade celulolítica das bactérias. Estudos *in vitro* demonstraram que 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 avaliação da degradação ruminal e conseqüentemente, na composição químico-bromatológica da planta. Entretanto, devido a sua perenidade, é possível encontrar na mesma planta folhas e vagens com idades diferentes. VALARINI e POSSENTI (2004) observaram menor degradação da matéria seca na fração solúvel da leucena quando comparada a outras leguminosas como *Sesbania rostrata*, *Sesbania sesban* e *Cajanus cajan*.

VALARINI e POSSENTI (2004) avaliaram caule e folhas de rebrota de *Leucaena leucocephala* e encontraram valores médios de 32,3% de proteína bruta e 60% de digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica. Neste estado de maturação a leucena possui um

bom equilíbrio entre os componentes energéticos e protéicos, embora com ligeira predominância do conteúdo protéico.

KAMATALI *et al.* (1992) observaram que a degradação ruminal do alimento é influenciada pela presença de taninos e outros polifenóis que se ligam à hemicelulose e a proteína, diminuindo sua degradação. Por isso, folhas mais velhas parecem promover maior quantidade de proteína no intestino delgado, uma vez que a proteína não degradada no rúmen poderá ser digerida no intestino delgado. Estes autores observaram ainda degradabilidade de 44,3% e 56,2%, após 24 e 48 horas de incubação em sacos de náilon no rúmen, obtendo valores de 56,3% e 48,1% de digestibilidade da proteína não degradada, respectivamente.

A proteína da leucena tem um elevado valor biológico, semelhante à alfafa, com um bom equilíbrio de aminoácidos, (PEREIRA *et al.*, 2002). 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.

Aditivos em dietas de ruminantes, tais como: leveduras, probióticos, tamponantes e outros, têm sido usados visando melhorar a relação simbiótica entre os microrganismos presentes no rúmen e seu hospedeiro, maximizando os processos fermentativos no rúmen em animais que recebem dietas ricas em amidos (FRANZOLIN *et al.* 2004). São poucos e conflitantes os trabalhos que mostram o uso de leveduras para animais mantidos em dietas exclusivamente volumosas. ROA *et al.* (1997) observaram que as leveduras podem aumentar a digestibilidade da proteína bruta e da fibra em detergente neutro quando estudaram dietas à base de feno de alfafa como fonte de fibra. GARCIA *et al.* (2000), não observaram qualquer efeito benéfico para a adição de leveduras sobre a fermentação ruminal de dietas contendo forragens de alta qualidade (50% de alfafa e concentrado).

Objetivou-se com o presente trabalho avaliar os efeitos do fornecimento de *Leucaena leucocephala* em dois níveis na dieta (20% e 50% na matéria seca) com ou sem adição de levedura (*Sacharomyces cerevisiae*) sobre o consumo de matéria seca, degradabilidade *in situ* e digestibilidade *in vitro* dos fenos de leucena e gramínea e taxa de passagem da fase líquida no rúmen.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no galpão de digestibilidade do Instituto de Zootecnia de Nova Odessa-SP, com quatro bovinos machos mestiços, fistulados no rúmen, com peso médio de 814kg durante o experimento. Os animais permaneceram em baias cobertas e individuais com cochos e bebedouros que permitiram a avaliação do consumo de alimentos.

O experimento foi desenvolvido em um delineamento em Quadrado Latino (4x4) (PIMENTEL GOMES, 1985), com os tratamentos seguindo arranjo fatorial (2x2) correspondendo a dois níveis de leucena (20% e 50% MS) na dieta e a adição (L) ou não (S) de levedura (cultivo microbiano de *Saccharomyces cerevisiae* - estirpe 1026), conforme denominados: 20S = 80% de feno de gramínea + 20% de feno de leucena sem levedura; 50S = 50% de feno de gramínea + 50% de feno de leucena sem levedura; 20L = 80% feno de gramínea + 20% de feno de leucena + 10g de levedura e 50L = 50% feno de gramínea + 50% de feno de leucena + 10g de levedura.

A alimentação foi fornecida duas vezes ao dia com a levedura adicionada diretamente no rúmen de cada animal, via fistula, antes da primeira alimentação. Os animais tiveram livre acesso a água e a mistura de sal mineral.

Cada período teve duração de 21 dias, sendo 14 dias de adaptação à dieta e sete para o período de coletas, mantendo um intervalo de sete dias entre cada período com objetivo de minimizar os efeitos remanescentes do tratamento anterior. Nesse período de "descanso", os animais permaneceram juntos, em piquete, recebendo uma dieta de manutenção composta de feno de gramínea.

A biomassa da leguminosa *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. para produção do feno foi obtida em quatro diferentes épocas de corte: agosto de 2004, novembro de 2004, fevereiro de 2005 e abril de 2005

O material foi colhido manualmente e retirada às porções finais dos galhos, com aproximadamente um centímetro de diâmetro, das árvores do bosque de introdução de plantas forrageira, de área não manejada do Instituto de Zootecnia em Nova Odessa-SP, a qual está localizada à latitude de 22 42'S, longitude 47 18'W e altitude de 550m.

A leguminosa em seguida foi picada em uma picadeira estacionária (J.F H11.F4 - corte 8) para processamento do material em partículas de aproximadamente 3cm. Logo após, o material foi espalhado ao sol em uma área de piso de concreto possibilitando atingir o ponto de feno em um dia, sendo armazenado em galpão fechado. O feno da gramínea, *Cynodon dactylon* cultivar coast-cross, foi produzido em janeiro de 2005 com 35 dias de crescimento vegetativo, em área adubada.

Amostras dos fenos de leucena e coast-cross foram colhidas semanalmente e mantidas em temperatura de (-) 20° C, para posteriores análises. As análises de fibra em detergente neutro (FDN) e de fibra em detergente ácido (FDA) das amostras e resíduos de incubação foram realizadas de acordo com GOERING e VAN SOEST (1970) e matéria seca (MS) e proteína bruta (PB) conforme metodologia descrita em A.O.A.C. (1995) no Laboratório de Bromatologia do Instituto de Zootecnia de Nova Odessa-SP. A composição bromatológica dos fenos de leucena, coast-cross e das dietas utilizadas, encontram-se no Tabela 1. Análises de fenóis totais, taninos totais e taninos condensados foram realizadas no laboratório de Nutrição Animal do CENA/USP-Piracicaba-SP, com base nas referências de PORTER *et al.* (1986), MAKKAR *et al.* (1988) e MAKKAR *et al.* (1993).

A determinação da taxa de passagem da fase líquida no rúmen foi realizada com o uso do marcador polietilenoglicol de peso molecular 4.000 (PEG) no 21º dia de cada subperíodo, sendo as determinações das concentrações do PEG realizadas de acordo com a metodologia de turbilhamento descrita por HYDEN (1956), no laboratório de Metabolismo Ruminal do Departamento de Zootecnia da FZEA-USP, Campus Pirassununga-SP.

As determinações das degradabilidades da MS, FDN e PB dos fenos da leucena e coast-cross foram realizadas pela técnica de degradação in situ realizada em sacos de náilon, conforme padronização descrita por HUNTINGTON e GIVENS (1995). As amostras foram incubadas no rúmen por 3, 6, 9, 24, 48, 72 e 96 horas de maneira reversa, sendo retirados todos ao mesmo tempo para procedimento de lavagem e secagem.

As curvas de desaparecimento foram ajustadas ao modelo proposto por ØRSKOV e McDONALD (1979):

$DP = a + b(1 - e^{-ct})$; onde DP é a degradabilidade potencial para o tempo de incubação (t); "a" é a fra-

Tabela 1. Composição química bromatológica dos fenos de leucena, *coast-cross* e das dietas nos níveis de 20% (nível 20) e 50% do feno de leucena (nível 50)

| Constituinte | Feno leucena | Feno <i>coast-cross</i> | 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 |
| Fibra em detergente ácido | 41,75 | 36,32 | 37,41 | 39,04 |
| Fibra em detergente neutro | 57,25 | 77,60 | 73,53 | 67,43 |
| NIDA % do N total | 9,54 | 3,60 | 4,79 | 6,57 |
| NIDN_ % 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 (kcal/ kg MS) | 4071 | 4200 | 4175 | 4135 |

ção solúvel, "b" é a fração potencialmente degradável no 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 for limitante.

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

A determinação da digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) dos fenos de leucena e *coast-cross* foi feita colocando-se as amostras em contato com o líquido ruminal dos respectivos tratamentos juntamente com solução tampão de McDougall, no interior de tubo de digestão apropriado 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 e QUEIROZ (2002). As determinações foram realizadas em triplicatas, sendo que no 2º estágio, foram submetidas à incubação ácida por 46 horas com ácido clorídrico a 20% e pepsina a 5% (TILLEY e TERRY, 1963).

Os dados experimentais foram analisados estatisticamente usando o procedimento GLM do pro-

grama estatístico SAS (2002). Foram considerados 5% ($P < 0,05$) como nível de significância para a probabilidade do teste F na análise de variância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dois volumosos fornecidos aos animais apresentaram boa qualidade nutricional, com teores médios de proteína bruta semelhantes, porém a leucena estava com teores mais baixos de FDN e concentrações mais elevadas de fenóis e taninos (Tabela 1).

Níveis alto e baixo de leucena na dieta foram utilizados visando avaliar a atuação de fatores antinutritivos presente na leucena, como os taninos e a minosina e suas prováveis interferências no consumo de matéria seca pelos animais e na degradação ruminal da leguminosa e gramínea. A adição de leveduras poderia minimizar os possíveis efeitos tóxicos da leucena aumentando o consumo e melhorando a digestibilidade da dieta (CABRERA *et al.* 2000; FRANZOLIN *et al.* 2004; ORTOLAN *et al.* 2005).

Os níveis de leucena com e sem levedura não afetaram a ingestão de matéria seca, e os animais permaneceram durante todo o período experimental com nível baixo de consumo de 0,9% PV, (Tabela 2). Entretanto, apesar do baixo consumo, ganharam peso e mantiveram boas condições corporais

Tabela 2. Ingestão de matéria seca (IMS) em bovinos com dois níveis de leucena (20% e 50% MS) sem (S) e com (L) adição de levedura

| IMS | Níveis (N) ¹ | | Levedura (L) ¹ | | EPM ² | Interações (NXL) ¹ | | | | |
|--------------------------|-------------------------|------|---------------------------|------|------------------|-------------------------------|------|------|------|------|
| | 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 |

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

²EPM - erro padrão da média

durante o período experimental, iniciando com peso médio de 797kg e terminando com 832kg. Provavelmente o consumo baixo tenha ocorrido devido ao elevado tamanho dos bovinos mantidos em regime fechado.

Os valores das degradabilidades ruminal da MS, FDN e PB da leucena e do coast-cross encontram-se

nas Tabelas 3 e 4, respectivamente. Não houve diferenças significativas (P>0,05) nos diferentes parâmetros da cinética de degradação entre os tratamentos para níveis de leucena na presença ou ausência de levedura e nem nos efeitos de interação (P>0,05) dos fatores, tanto para o feno de leucena como para o de coast-cross.

Tabela 3. Cinética da degradabilidade 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) com feno de coast-cross, sem (S) e com (L) adição de levedura

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

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

²EPM - erro padrão da média

³a, b e c referem-se aos parâmetros de ORSKOV E McDONALD (1979), DP= a+b, DE= degradabilidade efetiva para as taxas de passagem iguais a 0,05/hora.

Tabela 4. Cinética da degradabilidade 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) com feno de *coast-cross*, sem (S) e com (L) adição de levedura

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

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

²EPM - erro padrão da média

a, b e c referem-se aos parâmetros de Ørskov e McDonald (1979), DP= a+b, DE= degradabilidade efetiva para as taxas de passagem iguais a 0,05/hora.

Degradabilidade está associada com a solubilidade dos nutrientes no rúmen. Os valores médios encontrados no presente trabalho mostraram uma menor degradação da fração solúvel da MS (a = 19,16%) e PB (a = 7,36%) da leucena em relação a outras leguminosas observadas por KAMATALI *et al.* (1992), NOZZELA (2001) e VALARINI e POSSENTI (2004). Esses pesquisadores enfatizaram que a taxa e a extensão da degradação no rúmen é menor na presença de taninos e de outros polifenóis por formarem complexos com a hemicelulose e proteína. Assim, folhas maduras parecem permitir que chegue ao intestino delgado maior quantidade de proteína, provavelmente por apresentam maiores concentrações de taninos e polifenóis.

VELOSO *et al.* (2006) observaram valores elevados de digestibilidade da proteína bruta não degradável no rúmen de folíolos de leucena, ressaltando que a leucena possui maior potencial para suprir aminoácidos ao trato digestivo inferior em relação a soja, rami e mandioca.

A leucena apresentou valores médios de degradabilidade efetiva da MS, PB e FDN, de 46,7%, 54,5% e 21,9% que foram menores que a do feno de *coast-cross*, de 60,7%, 69,2% e 56,4%, respectivamente, assumindo a taxa de passagem de 5%/hora. Segundo PEREIRA *et al.* (2002) a menor 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 desempenho animal. 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 menor degradabilidade da proteína no rúmen, aumentando assim a sua disponibilidade no intestino. Esta premissa é alicerçada pelo fato da desaminação da proteína ocorrer mais lentamente aliada à degrada-

ção menos intensa e à taxa de passagem mais rápida, permitindo supor menor utilização do nitrogênio pela flora ruminal. No entanto, quando se verifica certa proteção à degradação no rúmen, as eventuais conseqüências benéficas dependem da sua posterior disponibilidade para a seqüência na digestão. 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, a baixa degradabilidade no rúmen e a elevada digestibilidade no duodeno permitem grande aproveitamento da proteína ingerida, traduzindo em efeitos benéficos a produção animal (LOURENÇO, 1993; MANELLA *et al.* 2002).

Os valores de taninos condensados obtidos para o feno de leucena (2,63%) (Tabela 1) foram superiores aos 0,9% observados por LONGO (2002) e inferiores aos 12,7% encontrados por VITTI *et al.* (2005). Existem poucos estudos da degradação de taninos pela microflora ruminal. Alguns dados sugerem que o ácido gálico e os oligoflavanóis podem ser degradados pelos microrganismos do rúmen. Entretanto, os taninos condensados provavelmente não sofrem ação pelos microrganismos no rúmen e sua absorção não ocorre no trato gastrointestinal (LONGO, 2002). Desta forma, os taninos podem promover a formação de complexo com a proteína, aumentando a quantidade de proteína dietética no trato gástrico inferior e beneficiando o animal hospedeiro.

As curvas de desaparecimento da MS, FDN e PB obtidas com os dois volumosos podem ser observadas nas Figuras 1, 2 e 3, respectivamente. As médias para elaboração das curvas foram obtidas pelo agrupamento dos tratamentos com e sem leveduras e níveis de leucena. Os dois volumosos apresentaram semelhantes desaparecimentos da MS até nove horas de incubação, ocorrendo logo após diferentes valores para os desaparecimentos da leucena (Figura 1). A PB apresentou menores valores de desaparecimentos do que o feno de coast-cross durante todos os tempos de incubação no rúmen (Figura 3). A curva de desaparecimento da FDN da leucena foi ligeiramente inferior até nove horas no rúmen ampliando-se esta diferença até o final do período de incubação (Figura 2). Esse tipo de curva constitui uma vantagem para o hospedeiro quando a demanda de nutriente estiver atendida para a microbiota ruminal, já que a digestão química da proteína promove melhor aproveitamento dos

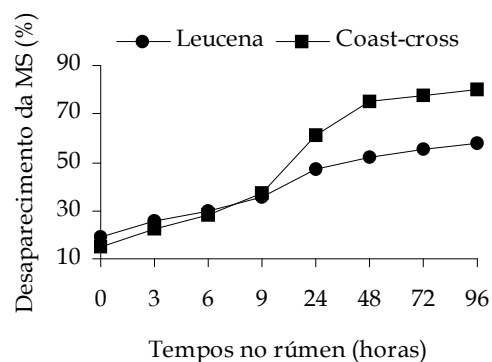


Figura 1. Desaparecimento médio da matéria seca (MS) do feno de leucena e de *coast-cross* no rúmen de bovinos em dietas de dois níveis de leucena (20% e 50% MS) sem e com adição de levedura

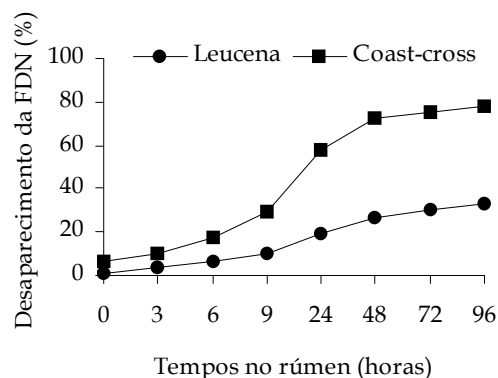


Figura 2. Desaparecimento médio da fibra em detergente neutro (FDN) do feno de leucena e de *coast-cross* no rúmen de bovinos em dietas de dois níveis de leucena (20% e 50% MS) sem e com adição de levedura

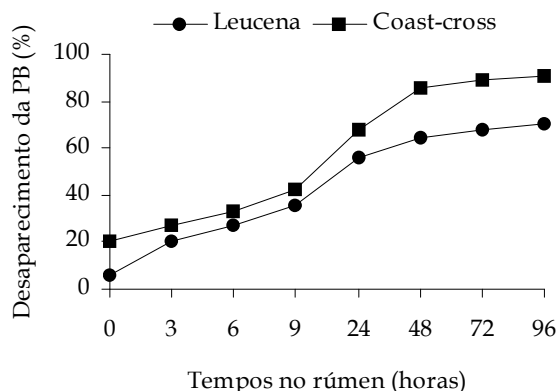


Figura 3. Desaparecimento médio da proteína bruta (PB) do feno de leucena e de *coast-cross* no rúmen de bovinos em dietas de dois níveis de leucena (20% e 50% MS) sem e com adição de levedura

aminoácidos e dos carboidratos solúveis evitando perdas de nitrogênio e energia gerada no processo fermentativo. A Figura 3 ilustra as porcentagens de desaparecimento da proteína dos fenos ao longo do período de incubação. Pode-se observar que às 24 horas as porcentagens médias foram de 68% e 56%, respectivamente para o feno da gramínea e da leguminosa. A solubilidade inicial e a degradação do feno de coast-cross foram superiores que a da leucena, corroborando com as afirmações de KAMATALI *et al.* (1992) e PEREIRA *et al.* (2002): folhas mais velhas da leguminosa tendem a apresentar maiores valores de proteína de escape, uma vez que a proteína não degradada no rúmen parece ser bem absorvida. PIRES *et al.* (2006) observaram essas mesmas características de degradação da PB da leucena em relação a alfafa, aveia e guandu.

Os valores médios da digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) do feno de coast-cross e de leucena submetidos aos diferentes tratamentos estão apresentados nas Tabelas 5 e 6, respectivamente. Os níveis de leucena na dieta e a presença de leveduras influenciaram de diferentes maneiras a digestibilidade dos fenos de coast-cross e leucena. As DIVMS de ambos os fenos foram reduzidas com

nível mais elevado da leguminosa na dieta. Para o feno de coast-cross, os efeitos foram maiores com 24 horas de incubação com significância para os níveis de leucena e de leveduras na dieta ($P < 0,05$). O desdobramento das interações verificou que o uso de levedura influenciou a digestibilidade nos dois níveis de leucena na dieta ($P < 0,05$). Quando os animais receberam 20% de leucena na dieta a DIVMS reduziu de 54,4 para 50,4% com adição de levedura, porém, a presença de levedura mostrou maior efeito com dieta contendo 50% de leucena, aumentando a digestibilidade da MS de 40,8 para 53,1%. No 2º estágio de incubação, observou-se efeito negativo da levedura no maior nível de leucena da dieta, indicando que a levedura parece ter um relevante efeito associativo com a leucena no período inicial do processo fermentativo. 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 quantia da leguminosa, passando de 31,0% (50S) para 40,7% (50L), mas atuou desfavoravelmente em menor nível de leucena na dieta, reduzindo de 40,6% (20S) para 36,3% (20S).

Tabela 5. 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 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 | |
| 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 | | | |

¹EPM - erro padrão da média

²Valores 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.

³ns - não significativo

Tabela 6. Digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) do feno de leucena nos diferentes tempos de incubação, realizada com fluido ruminal de bovinos em dietas de dois níveis de leucena (20% e 50% MS), feno de coast-cross, sem (S) e com (L) adição de levedura

| DIVMS | Níveis (N) ¹ | | Levedura(L) ¹ | | EPM ² | Interações (NXL) ¹¹ | | | | EPM ² |
|-----------------------|-----------------------------|--------------|--------------------------|--------|------------------|--------------------------------|--------|-----------------|-------|------------------|
| Feno leucena | 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 |
| 2° 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 | L/N 20 | L/N 50 | | |
| 24 horas | 0,0002 | 0,0001 | 0,0001 | 0,0359 | 0,0001 | 0,0001 | 0,0001 | ns ³ | | |
| 48 horas | 0,0144 | 0,0123 | 0,0001 | 0,0001 | 0,0060 | 0,0066 | 0,0001 | | | |
| 2° estágio | 0,0231 | 0,0020 | ns ³ | - | - | - | - | | | |

¹EPM - erro padrão da média

²Valores 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.

³ns - não significativo

Os valores da DIVMS para o 2° estágio obtidos para o feno de leucena variaram entre 38,7% e 45,6% e do feno de coast-cross entre 58,7 a 65,2% (Tabelas 5 e 6). Nesse processo de digestibilidade simula-se a digestão química que ocorre no abomaso dos ruminantes, utilizando ácido clorídrico e enzima pepsina. Tanto para o feno de coast-cross como para o de leucena, houve redução nos valores de DIVMS no 2° estágio com a adição de levedura na dieta indicando que a levedura promove efeito positivo sobre ação microbiana no rúmen, influenciando negativamente a digestão química de alguma forma. O valor médio da DIVMS (2°. Estágio) para o feno de leucena (42,5%) foi menor ao encontrado por Possenti e Brás (2005) quando estudaram o valor nutritivo de brotos de leucena (67%) e também por PEREIRA (1994) que obteve valores entre 52% e 56%, para caules e folhas da rebrota de leucena. Entretanto, a leucena utilizada no presente experimento encontrava-se em estágio avançado de maturidade vegetativa com menor teor de proteína bruta e alto teor de tanino condensado (Tabela 1).

Não houve diferenças significativas ($P>0,05$) na taxa de passagem de líquido ruminal de bovinos recebendo dietas com níveis alto (50%) e baixo (20%)

de leucena na presença ou ausência de levedura (Tabela 7).

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 utilizado para determinação desse parâmetro. 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 PEG. De maneira semelhante, o teor de tanino condensados na dieta total não parece ter influenciado a determinação da taxa de passagem do líquido ruminal com uso de PEG como marcador.

Tabela 7. Taxa de passagem do líquido ruminal em bovinos com dietas de dois níveis de leucena (20% e 50% MS), feno de *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 | 8,44 | 9,96 | 9,60 | 8,79 | 0,2 | 8,42 | 10,78 | 8,46 | 9,13 | 1,3 |

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

²EPM - erro padrão da média

CONCLUSÕES

A leucena apresenta menores degradabilidades da matéria seca, fibra em detergente neutro e proteína bruta que o *coast-cross* não sendo influenciadas pelos níveis de 20 e 50% de leucena na dieta de bovinos sem ou com adição de levedura.

Aumento de 20 para 50% de leucena em dietas mistas com feno de *coast-cross* para bovinos promove redução na digestibilidade *in vitro* da matéria seca.

O uso de levedura como aditivo em dietas mistas para bovinos contendo 50% de leucena promove efeito positivo com aumento da digestibilidade *in vitro* da matéria seca do *coast-cross* nas primeiras 24 horas de digestão e da leucena em 48 horas, porém reduz a digestibilidade no segundo estágio da digestão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A.O.A.C. **Official methods of analysis**, Washington D.C.: Association of Official Analytical Chemists, 1995. 1051 p.

BASSALA, P. et al. A comparison of *Leucaena leucocephala* and *Leucaena pulverulenta* and stem ages classes for nutritional value. **Tropical Grasslands**, v. 25, p. 313-316, 1991.

CABRERA, E.J.I. et al. *Saccharoyces cerevisiae* and nitrogenous supplementation in growing steers grazing tropical pastures. **Animal Feed Science and Technology**, v. 83, p. 49-55, 2000.

FRANZOLIN, R. et al. Avaliação do uso de aditivos em dietas de bovinos zebuínos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41. 2004, Campo Grande/MS, **Anais...**Campo Grande 2004. CD-ROM.

GARCIA, C.C.G. et al. Effect of a yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) and monensin on ruminal

fermentation and digestion in sheep. **Animal Feed Science Technology**, v. 83, p. 165-170, 2000.

GETACHEW, G. et al. Effect of polyethylene glycol on *in vitro* degradability of nitrogen and microbial protein synthesis from tannin-rich browse and herbaceous legumes. **British Journal Nutrition**, v. 84, p. 73-83, 2000.

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

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

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

HYDEN, S.A.A. turbidometric method for the determination of higher polyethyleneglycols in biological materials. **Kungliga Lantbrukshogskolans Annaler**, v. 22, p. 139, 1956.

JONES, R.J. et al. Losses of dry matter, nitrogen, minerals and fibre fractions from nylon bags containing *Leucaena leucocephala* and two *Calliandra* species in the rumen. **Animal Feed Science and Technology**, v. 37, p. 297-307, 1992.

KAMATALI, P. et al. *In situ* degradability of organic matter, crude protein and cell wall of various tree forages. **Animal Production**, v. 55, p. 29-34, 1992.

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 p. 2002. Dissertação de Mestrado - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba, São Paulo. www.teses.usp.br Acesso em: 10/06/2007.

LOURENÇO, A.J.; CARRIEL, J.M. Desempenho de bovinos em pastagens de *Brachiaria brizantha* associados a *Leucaena leucocephala*. **Boletim de Indústria Animal**, v. 55, n. 1, p. 45-50, 1998.

- LOURENÇO, J.A. Produção animal com leguminosas arbóreas/arbustivas. In: SIMPÓSIO SOBRE USOS MÚLTIPLOS DE LEGUMINOSAS ARBUSTIVAS E ARBÓREAS. **Anais...** Nova Odessa-SP: Alcântara, V.G.B, 1993, 216 p.
- MAKKAR, H.P.S. et al. Gravimetric determination of tannins and their correlation with chemical and protein precipitation methods. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 61, p. 161-165, 1993.
- MAKKAR, H.P.S. et al. Determination of both tannin and protein in a tannin-protein complex. **Journal Agriculture Food Chemical**, v. 36, p. 523-525, 1988.
- MANELLA, Q.M. et al. Recria de bovinos nelore em pastos de *Brachiaria brizantha* com suplementação protéica ou com acesso a banco de proteína de *Leucaena leucocephala*. Desempenho animal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 6, p. 2274-2282, 2002.
- NOZZELLA, E. F. **Determinação de taninos em plantas com potencial forrageiro para ruminantes**. Piracicaba/SP, Brasil. 58 p. 2001. Dissertação de Mestrado, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo. www.teses.usp.br Acesso em: 10/06/2007.
- ORSKOV, E.R.; McDONALD, I. The estimation of protein degradability of in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. **Journal of Agricultural Science**, v. 92, n. 2, p. 499-503, 1979.
- ORTOLAN, J.H. et al. 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.
- PEREIRA, A.M.F. **Avaliação da toxicidade por dihidroxipiridina através do consumo de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. em três raças de bovídeos**. 117 p., 1994. Tese de Mestrado - Medicina Veterinária e Zootecnia Tropicais, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.
- PEREIRA, A.M.F. et al. **A *Leucaena*: por fora e por dentro**. Boletim Científico, Ed. Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, SP, 2002.
- PEREIRA, A.M.F. et al. Variação da composição química de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit sujeita a diferentes intensidade de desfolha. **Boletim de Indústria Animal**, v. 52, p. 127-132, 1995.
- PIMENTEL GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. Piracicaba: ESALQ, 1985.
- PIRES, A.J.V. et al. Degradabilidade ruminal da matéria seca, da fração fibrosa e da proteína bruta de forrageiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, p. 643-648, 2006.
- PORTER, L.J. et al. The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyaniding and delphinidin. **Phytochemistry**, v. 25, p. 223-230, 1986.
- POSSENTI, R.A. e 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.
- ROA, M.L. et al. Effect of fiber source and a yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*¹⁰²⁶) on digestion and the environment in the rumen of cattle. **Animal Feed Science and Technology**, v. 64, p. 327-336, 1997
- SAS INSTITUTE INC. **SAS user's guide: statistics**. 5.ed, Cary,NC, 2002.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3 ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 235 p.
- TILLEY, J.M.A e TERRY, R.A. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. **Journal British Grasslands Society**, v. 18, p. 104-111, 1963.
- VALARINI, M.J.; POSSENTI, R.A. Stem-nodulating *Sesbania* as a potential feed supplement for ruminants. **Tropical Science**, v. 44, p. 64-69, 2004.
- VELOSO, M.V. et al. Degradabilidade ruminal da matéria seca e da proteína bruta de folhas e folíolos de forragem tropicais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, p. 613-617, 2006.
- VITTI, D.M.S.S. et al. Do all tannins have similar nutritional effects? A comparison of three Brazilian fodder legumes. **Animal Feed Science and Technology**, v. 119, p. 345-361, 2005.
- WATTIAUX, M.A. et al. Kinetics of hidratação and effect of liquid uptake on specific gravity small hay and silage particles. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 3597-3606, 1992.