



MATEUS FAGUNDES LOPES

**AVALIAÇÃO IN VITRO DE DIETAS COM NÍVEIS
CRESCENTES DE AMENDOIM FORRAGEIRO EM
SUBSTITUIÇÃO AO CAPIM BRAQUIÁRIA**

LAVRAS – MG

2025

MATEUS FAGUNDES LOPES

**AVALIAÇÃO IN VITRO DE DIETAS COM NÍVEIS CRESCENTES DE AMENDOIM
FORRAGEIRO EM SUBSTITUIÇÃO AO CAPIM BRAQUIÁRIA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição e Produção de Ruminantes, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Daniel Rume Casagrande

Orientador

Dr. Luiz Gustavo Ribeiro Pereira

Coorientador

Dr. (a) Fernanda Samarini Machado

Coorientador

LAVRAS – MG

2025

**Ficha Catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração
de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com
dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Fagundes Lopes, Mateus .

Avaliação in vitro de dietas com níveis crescentes de amendoim forrageiro em substituição ao capim braquiária / Mateus Fagundes Lopes. - 2025.

63 p. : il.

Orientador: Daniel Rume Casagrande

Coorientador: Luiz Gustavo Ribeiro Pereira

Coorientadora: Fernanda Samarini Machado

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2025.

Bibliografia.

1. Nutrição e Produção de Ruminantes. 2. Leguminosas. 3. Produção de Gases in vitro. 4. Taninos condensados. 5. Gases de efeito estufa. I. Rume Casagrande, Daniel . II. Ribeiro Pereira, Luiz Gustavo. III. Samarini Machado, Fernanda . IV. Universidade Federal de Lavras. V. Título.

MATEUS FAGUNDES LOPES

**AVALIAÇÃO IN VITRO DE DIETAS COM NÍVEIS CRESCENTES DE AMENDOIM
FORRAGEIRO EM SUBSTITUIÇÃO AO CAPIM BRAQUIÁRIA**

**IN VITRO EVALUATION OF DIETS WITH INCREASING LEVELS OF FORAGE
PEANUT AS A REPLACEMENT FOR BRACHIARIA GRASS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição e Produção de Ruminantes, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 18 de fevereiro de 2025

Dr. Daniel Rume Casagrande – Universidade Federal de Lavras

Dr. Thierry Ribeiro Tomich – EMBRAPA Gado de Leite

Dra. Flávia Fernanda Simili – Instituto Zootecnia de São Paulo

Prof. Dr. Daniel Rume Casagrande
Orientador

Dr. Luiz Gustavo Ribeiro Pereira
Coorientador

Dr. (a) Fernanda Samarini Machado
Coorientador

**LAVRAS – MG
2025**

À Deus, pela força e sabedoria concedidas ao longo desta caminhada.

Aos meus pais, Rosana e José Vicente, por todo o amor, apoio incondicional e pelos valores que me transmitiram, fundamentais para minha trajetória acadêmica e pessoal.

À minha companheira, Elisa, por sua paciência, incentivo e compreensão nos momentos de desafios e conquistas.

Aos meus amigos e colegas de pesquisa, pelo apoio, pelas discussões enriquecedoras e pela parceria ao longo desta jornada.

A todos os professores e orientadores que, com dedicação e conhecimento, me guiaram e contribuíram para a realização deste trabalho.

Aos que acreditaram em mim e fizeram parte desta trajetória, meu sincero agradecimento.

Dedico

Agradecimentos

Agradeço aos meus pais pelos ensinamentos, e por todo apoio e compreensão para a realização desse mestrado, muito obrigado!

Aos meus familiares por todo apoio, carinho e por serem pessoas que me inspiraram a seguir esse caminho.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) pelos grandes momentos nela vividos durante a pós-graduação. E por poder me desenvolver profissionalmente e me apresentar pessoas que levarei pra vida toda.

Ao meu orientador, professor Dr. Daniel Rume Casagrande, por todo conhecimento transmitido e compreensão dentro desses dois anos. Defenderei a onde eu for, o que aprendi sobre o uso de leguminosas em pastagens!

À Embrapa Gado de Leite, pela possibilidade de utilização de suas estruturas e laboratórios para o desenvolvimento do experimento. Agradecimento especial aos pesquisadores Thierry Ribeiro Tomich e Luiz Gustavo Ribeiro Pereira, por terem acreditado em mim, antes de iniciar o mestrado e pelos aprendizados durante o período de bolsista. Também agradeço, à Fernanda Samarini Machado e Deise Ferreira Xavier, pelo projeto proposto e todo apoio.

À todas as pessoas que de algum modo me ajudaram

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

Aos amigos, por estarem perto nos bons e nos maus momentos, em especial Elisa, minha noiva, por ser meu ponto de equilíbrio e estar comigo em todos os momentos.

Para Finalizar, agradeço a Deus, por toda a saúde, motivação e pela resiliência para alcançar esse objetivo e superar os obstáculos que apareceram.

Resumo

Este estudo objetivou determinar *in vitro* o potencial de redução de metano (CH₄) pela inclusão de níveis crescentes de amendoim forrageiro em dieta à base de capim marandu, avaliando parâmetros fermentativos, nutricionais e de produção microbiana. As amostras de forragem de capim marandu consorciado com amendoim forrageiro foram colhidas nas estações de águas e seca. Secas, moídas (1 mm) e combinada em níveis de 0%, 25%, 50% e 100% de inclusão de amendoim forrageiro. Amostras de 0,5 g foram incubadas em frascos de 50 mL com fluido ruminal de bovinos fistulados alimentados com dieta 90:10 (volumoso:concentrado) a 39 °C, em delineamento de blocos casualizados 4×2. Produção de gases foi medida por deslocamento de coluna d'água em tempos pré-definidos até 96 h, com coleta de CH₄ aos 24 h para análise em cromatógrafo gasoso. Após as coletas de gás, determinou-se ácidos graxos voláteis, N-NH₃, fibras (FDN, FDA, lignina), proteína bruta, extrato etéreo, cinzas, taninos condensados e degradação *in vitro* da matéria seca (96 h). O aumento da proporção de amendoim forrageiro elevou linearmente a degradação da matéria seca em 24 h (P<0,001), a produção total de gases e a porcentagem de metano (P<0,001) em ambas as estações. A qualidade nutricional melhorou com coeficientes angulares positivos para proteína bruta (0,105 e 0,064) e carboidratos não fibrosos (0,094 e 0,1077), enquanto a FDN reduziu-se linearmente (-0,204 e -0,1716). Taninos condensados e produção de proteína microbiana aumentaram (P<0,001) conforme crescia o teor de amendoim forrageiro nas dietas. O maior rendimento de metano está associado à maior degradação de fibra, que favorece a via acetogênica à custa da produção de propionato. Contudo, a inclusão de amendoim forrageiro ofereceu substrato proteico e energético adicional, potencializando a atividade microbiana e a síntese de proteína, o que sugere possibilidade de reduzir a intensidade de emissão de CH₄ por unidade de produto gerado. Embora o rendimento de metano tenha sido maior com a participação do amendoim forrageiro, o aumento da disponibilidade proteica e energética indica que a intensidade de emissão por unidade de produto pode ser reduzida. Esses achados ressaltam a necessidade de estudos *in vivo* em animais de produção para confirmar os efeitos sobre desempenho animal e emissões de CH₄.

Palavras-chave: Taninos condensados; degradação; gases de efeito estufa; leguminosas; técnica de produção de gases.

Abstract

This study aimed to determine *in vitro* the potential for methane (CH₄) reduction by including increasing levels of forage peanut in a Marandu grass-based diet, evaluating fermentative, nutritional and microbial protein production parameters. Forage samples of Marandu grass intercropped with forage peanut were harvested in the rainy and dry seasons, dried, ground (1 mm) and combined to achieve 0, 25, 50 and 100 % forage peanut inclusion. Samples (0.5 g) were incubated in 50 mL flasks containing ruminal fluid from fistulated cattle fed a 90:10 forage-to-concentrate diet at 39 °C, in a randomized block design (4 × 2 factorial). Gas production was measured by water-column displacement at predefined intervals up to 96 h, with CH₄ sampled at 24 h for gas-chromatographic analysis. After gas collection, volatile fatty acids, ammonia-N, fiber fractions (NDF, ADF, lignin), crude protein, ether extract, ash, condensed tannins and 96 h *in vitro* dry matter degradability were determined. Increasing forage peanut proportion linearly enhanced 24 h dry matter degradability ($P < 0.001$), total gas production and CH₄ percentage ($P < 0.001$) in both seasons. Nutritional quality improved, with positive slopes for crude protein (0.105 and 0.064) and non-fiber carbohydrates (0.094 and 0.1077), while NDF declined linearly (−0.204 and −0.1716). Condensed tannins and microbial protein synthesis rose ($P < 0.001$) as forage peanut content increased. Higher methane yield was linked to enhanced fiber degradation favoring the acetogenic pathway over propionate formation. However, additional protein and energy substrates from forage peanut boosted microbial activity and protein synthesis, suggesting a possible reduction in CH₄ intensity per unit of product. Although methane yield increased with forage peanut inclusion, the greater protein and energy availability indicate that CH₄ intensity per unit of output could be lowered. These findings highlight the need for *in vivo* studies in production animals to confirm effects on performance and methane emissions.

Keywords: Condensed tannins; degradation; greenhouse gases; legumes; gas production technique.

Indicadores de Impacto

O trabalho avaliou *in vitro* o impacto da inclusão de níveis crescentes de amendoim forrageiro (*Arachis pintoi*) em substituição ao capim marandu (*Urochloa brizantha*) em dietas para ruminantes, com foco na qualidade nutricional, produção de gases e potenciais efeitos na mitigação de metano entérico, tema central para a sustentabilidade da pecuária brasileira. Os resultados demonstraram que a substituição parcial ou total do capim marandu pelo amendoim forrageiro elevou linearmente o teor de proteína bruta (aumento de até 242% nas águas e 203% na seca), os carboidratos não fibrosos e a produção de proteína microbiana (acréscimo de até 39%), além de reduzir a fração fibrosa da dieta em até 30%, promovendo melhor digestibilidade e maior degradação da matéria seca (até 9% superior na seca). Apesar das melhorias nutricionais, observou-se aumento absoluto na produção de metano (até 23,7% nas águas e 12% na seca), atribuído à maior degradação da fibra e à elevação da relação acetato:propionato, que favorece vias fermentativas metanogênicas. Entretanto, a maior disponibilidade proteica e energética sugere potencial redução da intensidade de emissão de metano por unidade de produto animal, alinhando-se ao conceito de pecuária de baixo carbono, fundamental para o cumprimento das metas brasileiras na Agenda 2030 da ONU, especialmente o ODS 13 (Ação Contra a Mudança Global do Clima) e ODS 2 (Fome Zero e Agricultura Sustentável). O território impactado abrange sistemas de produção a pasto em regiões tropicais, com potencial extensão para mais de 152 milhões de hectares de pastagens no Brasil, onde predominam áreas degradadas e baixo uso de insumos industriais, beneficiando produtores rurais, pesquisadores, técnicos e, indiretamente, a sociedade por meio da redução da pegada de carbono da carne e leite. O caráter extensionista do estudo é evidenciado pela participação de instituições como UFLA e Embrapa Gado de Leite, com envolvimento de docentes, estudantes e técnicos, promovendo transferência de conhecimento para sistemas produtivos reais. Os impactos se enquadram nas áreas temáticas de meio ambiente, tecnologia e produção, trabalho e educação, conforme a Política Nacional de Extensão, ao promover práticas inovadoras de manejo de pastagens, contribuir para a formação de profissionais e fomentar o desenvolvimento sustentável da agropecuária. Embora os impactos diretos sobre a redução do metano não tenham sido observados *in vitro*, o trabalho aponta para efeitos positivos em potencial na intensificação sustentável da produção animal, recomendando estudos *in vivo* para confirmação dos benefícios ambientais e produtivos, o que pode consolidar a estratégia como ferramenta relevante para a mitigação dos gases de efeito estufa no setor agropecuário brasileiro.

impact indicators

This study evaluated *in vitro* the impact of including increasing levels of forage peanut (*Arachis pintoi*) as a replacement for marandu grass (*Urochloa brizantha*) in ruminant diets, focusing on nutritional quality, gas production, and potential effects on enteric methane mitigation, a central theme for the sustainability of Brazilian livestock farming. The results demonstrated that partial or total replacement of marandu grass with forage peanut linearly increased crude protein content (increases of up to 242% in wet season and 203% in dry season), non-fiber carbohydrates, and microbial protein production (increases of up to 39%), while reducing dietary fiber fraction by up to 30%, promoting better digestibility and greater dry matter degradation (up to 9% higher in dry season). Despite nutritional improvements, an absolute increase in methane production was observed (up to 23.7% in wet season and 12% in dry season), attributed to greater fiber degradation and elevated acetate:propionate ratio, which favors methanogenic fermentative pathways. However, the greater protein and energy availability suggests potential reduction in methane emission intensity per unit of animal product, aligning with the concept of low-carbon livestock production, fundamental for meeting Brazil's targets in the UN's 2030 Agenda, particularly SDG 13 (Climate Action) and SDG 2 (Zero Hunger and Sustainable Agriculture). The impacted territory encompasses pasture-based production systems in tropical regions, with potential extension to more than 152 million hectares of pasturelands in Brazil, where degraded areas and low industrial input use predominate, benefiting rural producers, researchers, technicians, and indirectly, society through reduced carbon footprint of meat and milk. The study's extensionist character is evidenced by the participation of institutions such as UFLA and Embrapa Dairy Cattle, involving faculty, students, and technicians, promoting knowledge transfer to real production systems. The impacts fall within the thematic areas of environment, technology and production, work, and education, according to the National Extension Policy, by promoting innovative pasture management practices, contributing to professional training, and fostering sustainable agricultural development. Although direct impacts on methane reduction were not observed *in vitro*, the work points to potential positive effects on sustainable intensification of animal production, recommending *in vivo* studies to confirm environmental and productive benefits, which could consolidate the strategy as a relevant tool for greenhouse gas mitigation in the Brazilian agricultural sector.

Lista de equações

Equação 1 - Reação da fotossíntese.....	18
Equação 2 - Modelo logístico bicompartimental, descrito por (PELL; SCHOFIELD, 1993).....	30
Equação 3 - Rendimento de metano em função da matéria seca incubada e em função da matéria seca degradada	31
Equação 4 - Modelo de France (1993) para o cálculo da degradabilidade da matéria seca.	31
Equação 5 – Predição da produção de proteína microbiana	32
Equação 6 - Modelo estatístico para análise bromatológica	33
Equação 7 - Modelo estatístico para análise de cinética ruminal in vitro	33

Lista de figuras

Figura 1 - Produção cumulativa de gás (mL g ⁻¹ de Matéria seca) das dietas a base de <i>Urochloa brizantha</i> cv. marandu com diferentes níveis de <i>Arachis pintoi</i> (0, 25, 50, 100) durante as estações de Águas (A) e Seca (B).....	38
Figura 2 - Degradação da matéria seca (A), produção de gás em função da matéria seca incubada (B), produção de gás em função da matéria seca degradada (C), porcentagem de metano na amostra de gás (D), rendimento de metano pela quantidade de matéria seca incubada (F) e rendimento de metano em função da matéria seca degradada (F) das dietas a base de <i>Urochloa brizantha</i> cv. marandu com diferentes níveis de <i>Arachis pintoi</i> (0, 25, 50, 100) durante as estações de Águas e Seca.	41
Figura 3 - Concentrações de nitrogênio amoniacal 24h (A), nitrogênio amoniacal 96h (B), propionato 24h (C), acetato 96 h (D), butirato 24h (E), butirato 96h (F), relação acetato:propionato 24h (G) e relação acetato:propionato 96h (H) das dietas a base de <i>Urochloa brizantha</i> cv. marandu com diferentes níveis de <i>Arachis pintoi</i> (0, 25, 50, 100) durante as estações de Águas e Seca.	Erro! Indicador não definido.
Figura 4 - Correlações de todas as variáveis das dietas a base de <i>Urochloa brizantha</i> cv. marandu com diferentes níveis de <i>Arachis pintoi</i> (0, 25, 50, 100) durante as estações de Águas e Seca. Continuação na próxima página.....	60
Figura 5 - Correlações de todas as variáveis das dietas a base de <i>Urochloa brizantha</i> cv. marandu com diferentes níveis de <i>Arachis pintoi</i> (0, 25, 50, 100) durante as estações de Águas e Seca. Continuação na próxima página.....	61
Figura 6 - Correlações de todas as variáveis das dietas a base de <i>Urochloa brizantha</i> cv. marandu com diferentes níveis de <i>Arachis pintoi</i> (0, 25, 50, 100) durante as estações de Águas e Seca. Continuação na próxima página.....	62
Figura 7 - Correlações de todas as variáveis das dietas a base de <i>Urochloa brizantha</i> cv. marandu com diferentes níveis de <i>Arachis pintoi</i> (0, 25, 50, 100) durante as estações de Águas e Seca. Continuação na próxima página.....	63
Figura 8 - Correlações de todas as variáveis das dietas a base de <i>Urochloa brizantha</i> cv. marandu com diferentes níveis de <i>Arachis pintoi</i> (0, 25, 50, 100) durante as estações de Águas e Seca. Continuação na próxima página.....	64

Lista de tabelas

Tabela 1 - Valor nutritivo do amendoim forrageiro (<i>Arachis pintoi</i> Krapov. & W.C. Greg)	20
Tabela 2 - Valor nutritivo das dietas experimentais a base de <i>Urochloa brizantha</i> cv. marandu com diferentes níveis de inclusão de <i>Arachis pintoi</i> (0%, 25%, 50% e 100%) nas estações de águas e seca.....	36
Tabela 3 - Volumes máximos de gases provenientes de carboidratos não fibrosos (Vf1-NFC) e frações de carboidratos fibrosos (Vf2-FC), taxas de fermentação de carboidratos não fibrosos (C1-NFC) e de carboidratos fibrosos (C2-FC), e lag time (L) da fermentação in vitro das dietas a base de <i>Urochloa brizantha</i> cv. marandu com diferentes níveis de <i>Arachis pintoi</i> (0, 25, 50, 100) durante as estações de Águas e Seca.....	46
Tabela 4 - Estimativas de degradação ruminal in vitro da matéria seca de diferentes níveis de inclusão de <i>Arachis pintoi</i> (0%, 25%, 50% e 100%) nas dietas, com taxas de passagens crescentes, avaliados nas estações de águas e seca.	47

SUMÁRIO

1.	Introdução.....	15
2.	Revisão de literatura	17
2.1.	Panorama da produção pecuária e emissões de gases de efeito estufa	17
2.2.	Diferenças fisiológicas entre gramíneas tropicais e leguminosas tropicais.....	18
2.2.1.	Leguminosas	18
2.2.1.1.	Compostos secundários.....	20
2.2.2.	Gramíneas tropicais	22
2.3.	Pastagens Consorciadas	23
2.4.	Metano entérico	24
2.5.	Mitigação de metano	26
3.	Materiais e Métodos	29
4.	Resultados	34
4.1.	Valor nutritivo das dietas.....	34
4.2.	Produção de gases.....	37
4.5.	Degradabilidade efetiva da matéria seca	44
5.	Discussão	48
6.	Conclusão.....	51
	REFERÊNCIAS.....	51
7.	Mateial complementar	60

1. Introdução

Frente ao desafio global de evitar mudanças climáticas mais acentuadas, as Nações Unidas têm se balizado nos resultados de pesquisas internacionais para avaliar os esforços que devem ser envidados para conter o processo, que está diretamente ligado às emissões de gases de efeito estufa (GEE) produzidos pela atividade humana no planeta. É uma iniciativa que contempla a Meta 13 dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável das Nações Unidas, para que o mundo avance para economia de baixo carbono, tendo o ano de 2030 como meta temporal. Além disso, o Brasil assumiu em 2024, na COP29, por meio da Contribuição Nacionalmente Determinada (NDC), o compromisso de reduzir as emissões líquidas de gases do efeito estufa em 59 a 67% abaixo dos níveis de 2005 até o ano de 2035.

No ano de 2023, o as emissões brutas de GEE do Brasil foram de 2,3 bilhões de toneladas de CO₂ equivalentes. O setor agropecuário foi responsável por 631,2 milhões de toneladas de CO₂ equivalentes, que equivale a 27% do total das emissões brutas. Dentro desse valor, as emissões entéricas correspondem a 64,2%, cerca de 405,1 milhões de toneladas de CO₂ equivalente (SEEG, 2023). Dados da União Europeia de 2024, indicam que o Brasil é o sexto maior emissor de gases de efeito estufa do mundo, com 2,5% das emissões de CO₂ equivalentes, e desses, 49% é oriunda do metano (CRIPPA, M., 2024).

As grandes emissões brasileiras estão associadas ao rebanho de mais 238 milhões de cabeças (IBGE, 2024), Entretanto, com a evolução dos sistemas de criação e as exigências para exportação, a idade ao abate tem reduzido para menos de 36 meses (SKIDMORE et al., 2022). Dessa forma, auxilia nas reduções de emissões de metano, porque, quanto maior o tempo de permanência dos animais nas pastagens, menores são as emissões entéricas de metano e de óxido nitroso das fezes e urina depositadas no solo associadas à produção de carne. Por isso, a mitigação de emissões de GEE no Brasil passa prioritariamente pela melhoria da produtividade das pastagens, visando aumentar a produtividade e encurtar o tempo para que o animal atinja o peso de abate a partir de uma dieta de melhor qualidade (BERNDT; TOMKINS, 2013).

O Brasil tem no total cerca de 152 milhões de hectares de pastagens, com 62,8% das áreas degradadas (MAPBIOMAS, 2022), que implica de forma significativa para a sustentabilidade da produção pecuária, influenciando tanto a emissão de metano quanto a dinâmica do carbono do solo (DIAS-FILHO, 2014). Pastagens degradadas são caracterizadas por uma redução na qualidade nutricional, resultando em menor consumo de matéria seca pelos ruminantes, aumento do tempo de fermentação de fibras pela menor taxa de passagem e, conseqüentemente, maior rendimento de metano por unidade de matéria seca ingerida

(BEAUCHEMIN *et al.*, 2008). Além disso, a degradação compromete a capacidade do solo de armazenar carbono, devido à menor cobertura vegetal e à erosão, o que não apenas agrava as emissões de CO₂, mas também reduz a resiliência do ecossistema ao estresse climático (LAL, 2004). Estratégias como adubação, controle da lotação animal e a introdução de leguminosas nas pastagens, podem reverter esses efeitos, promovendo a recuperação da capacidade de sequestro de carbono do solo e a redução das emissões de metano, contribuindo para a mitigação das mudanças climáticas (CONANT *et al.*, 2017).

As emissões entéricas de metano tem sido estudadas no Brasil, mas em sua maioria, com pouca informação para dietas somente à pasto (BERNDT; TOMKINS, 2013), com poucos trabalhos relacionados a pastagens consorciadas com leguminosas forrageiras tropicais. Estudos com consórcios entre leguminosas e gramíneas demonstram melhorias na qualidade nutricional das dietas (GOMES *et al.*, 2024). Não obstante, o estudo de FAGUNDES *et al.*, (2021), indicou potencial mitigador da produção de metano entérico por ação de taninos, comuns nas leguminosas. Os taninos condensados agem diretamente sobre os microrganismos do rúmen, ou mesmo indiretamente sobre a produção de hidrogênio, reduzindo a produção de metano. Além disso, a complexação de proteínas no rúmen com taninos condensados evita a degradação proteica no ambiente ruminal, (NAUMANN *et al.*, 2018). Dessa forma, há redução da emissão de óxido nitroso, pela menor formação de amônia no rúmen e excreção urinária de N (HOMEM *et al.*, 2024). É uma possibilidade adicional à mitigação de GEE esperada com o uso da leguminosa em consórcio.

Neste sentido, projetos que visam produção de bovinos com baixa emissão de carbono têm como objetivo diminuir o impacto das emissões de gases de efeito estufa de animais criados a pasto. Desse modo, a utilização de pastagens consorciadas com leguminosas forrageiras se torna uma opção sustentável e econômica para pecuária. Hipotetizou-se que a adição de amendoim forrageiro (*Arachis pintoi*) irá reduzir o rendimento da emissão de metano entérico por melhorar o valor nutritivo de dieta baseada em capim marandu (*Urochloa brizantha*, *syn.* *Brachiaria brizantha*) e ainda pela presença de compostos secundários, como taninos condensados. Objetivou-se com este projeto determinar *in vitro* o potencial de redução da emissão de CH₄ por meio da inclusão de níveis crescentes de amendoim forrageiro em dieta à base de capim marandu.

2. Revisão de literatura

2.1. Panorama da produção pecuária e emissões de gases de efeito estufa

No Brasil, a pecuária é umas das principais atividades econômicas desenvolvidas, a qual caracteriza-se por ter a maior parte do rebanho criado à pasto. Essa característica deve-se, principalmente, pelas condições climáticas e extensão territorial do País, logo, o custo de produção é menor quando comparado à países onde os sistemas confinados são a base produtiva (DIAS-FILHO, 2014). Por conta disso, o Brasil possui o maior rebanho comercial do mundo com cerca de 235 milhões de cabeças, segundo dados do IBGE de 2022 (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). Os setores que mais emitiram foram de mudanças do Uso da Terra e Floresta (46%) e agropecuária (28%), respondendo por 74% das emissões totais. No ano de 2023 foram emitidos cerca de 631,2 milhões de toneladas de CO₂ equivalentes referentes ao setor agropecuário, um aumento de 2,2% em relação a 2022. Dentro desse total, as emissões vinculadas a produção de bovinos, que possuem fermentação entérica, correspondem a 64,2% do total, um aumento de 1,5% em relação ao ano anterior. Sendo a principal causa da elevação das emissões o aumento do rebanho bovino nacional no ano de 2023 (SEEG, 2024).

No entanto, a alta demanda mundial por proteína animal levará a um aumento das emissões de gases de efeito estufa, em especial o metano, por conta do processo digestivo dos bovinos. No processo de digestão de carboidratos no rúmen, diversas vias metabólicas produzem ácidos graxos voláteis, que são os principais substratos energéticos dos ruminantes. Entretanto, em alguns processos metabólicos, hidrogênio metabólico (H₂) é produzido e, posteriormente, convertido em metano por *Archeas* metanogênicas para ser liberado do rúmen pela eructação. E a produção de metano, além de ser danosa para o meio ambiente, é uma significativa perda de energia para o animal (OLIVEIRA *et al.*, 2018).

Diversas estratégias para mitigação de metano estão sendo desenvolvidas e aplicadas para produção de bovinos, como bem descrito revisões sistemáticas (ARNDT *et al.*, 2022; BEAUCHEMIN *et al.*, 2022b; CONGIO *et al.*, 2021). Dentre elas, o uso de leguminosas vem sendo descrito como promissor, pois possuem melhor valor nutritivo que as gramíneas, e, assim, melhoram a digestibilidade das dietas (CASTRO-MONTOYA; DICKHOEFER, 2020; GOMES *et al.*, 2024). Além disso, algumas leguminosas podem ser ricas em compostos secundários, que agem na metanogênese, de forma direta na microbiota envolvida ou alterando a disponibilidade de substrato para ser degradado (OLIVEIRA *et al.*, 2018).

Portanto, essa revisão de literatura tem como objetivo verificar as principais diferenças fisiológicas entre leguminosas e gramíneas tropicais e como elas afetam seu valor nutritivo,

além de discutir sobre metanogênese e as principais formas de mitigação de metano entérico em ruminantes.

2.2. Diferenças fisiológicas entre gramíneas tropicais e leguminosas tropicais

A luz solar é a principal fonte de energia que sustenta a vida na Terra e a fotossíntese é o processo biológico responsável por aproveitá-la para ser transformada em carboidratos. Por meio deste processo, organismos fotossintéticos sintetizam compostos orgânicos a partir de matéria-prima inorgânica, pela quebra da molécula de água e CO₂ numa série de reações físico-químicas. Todo processo ocorre nos cloroplastos das plantas e resulta na captura de CO₂, bem como na liberação de O₂ para atmosfera. (EHLERINGER, JAMES R. AND CERLING, 2002).



Equação 1 - Reação da fotossíntese

As plantas forrageiras podem ser classificadas de acordo com a via fotossintética que utilizam. Neste sentido, tem-se as leguminosas e as gramíneas tropicais, que se diferenciam pelas vias C₃ e C₄, respectivamente.

2.2.1. Leguminosas

Leguminosas são classificadas como plantas que possuem o metabolismo fotossintético C₃, pois o produto formado possui três carbonos em sua estrutura (3-PGA). Todo o processo de produção de compostos carbônicos ocorre nas células do mesófilo, onde o CO₂ é incorporado a uma molécula de RuBP pela função de carboxilação da RubisCO, que ocorre em condições ideais de temperatura e concentração de CO₂. Entretanto, em condições ambientais adversas, a função de oxigenase da RubisCO entra em operação, pois, diferentemente das plantas C₄, as leguminosas não possuem mecanismos que controlam os efeitos negativos da fotorrespiração, o que pode inibir a formação de biomassa em até 50% (EHLERINGER, JAMES R. AND CERLING, 2002).

A RubisCO é utilizada por todos os organismos fotossintéticos dentro do ciclo de Calvin-Benson (ciclo redutor de fixação de carbono C₃), onde realiza a reação de carboxilação da ribulose 1,5-bifosfato (RuBP) com a molécula de CO₂ para produzir 3-fosfoglicerato (3-PGA), que é substrato para outras moléculas de carboidratos. Por sua vez, a RubisCO possui também outra função, que é de oxigenação, na qual uma molécula de O₂ reage com a ribulose 1,5-bifosfato e gera duas moléculas distintas, a 3-PGA e 2-fosfoglicolato (2-PG). O último é

altamente tóxico para o metabolismo foliar, pois inibe diversas enzimas importantes, mas pode ser convertido em 3-PGA, a partir da utilização de fotoassimilados no processo de fotorrespiração, e ser utilizado no ciclo de Calvin (MAURINO, 2019).

As forrageiras C₃ são nutricionalmente superiores às gramíneas C₄, o que impacta diretamente o comportamento de herbivoria e crescimento (HECKATHORN; MCNAUGHTON; COLEMAN, 1999). De forma qualitativa, leguminosas apresentam melhor potencial em sua estrutura morfológica, anatômica e fisiológica, tais como: menor alongamento de colmo, lâminas com menor função estrutural na planta, maior proporção de tecidos não lignificáveis e maior concentração de enzimas fotossintéticas nas células. Isso confere a essas plantas menor proporção de colmos e bainhas, menores teores de fibra em detergente neutro e maior concentração proteica nas folhas (CASTRO-MONTOYA; DICKHOEFER, 2020).

No entanto, as leguminosas são menos eficientes no uso da água, quando comparadas às gramíneas, por serem mais exigentes e experimentarem uma maior perda pelos estômatos, o que explica a menor produção de biomassa das plantas C₃. Assim, para controlar a transpiração, ocorre o fechamento dos estômatos, e, conseqüentemente, é reduzida a entrada de CO₂, levando à utilização de fotoassimilados como fonte de energia (WAY *et al.*, 2014).

Uma característica peculiar das leguminosas é a capacidade de fixar nitrogênio (N) atmosférico no solo por meio da fixação biológica de N (FBN), o que as torna uma alternativa sustentável ao uso de fertilizantes industriais. Mesmo sendo essencial para produtividade das pastagens, há um grande questionamento relacionado ao custo de aquisição destes fertilizantes, além das emissões de gases de efeito estufa e amônia associados à produção e ao uso dos fertilizantes nitrogenados (CARVALHO *et al.*, 2019).

Na FBN, o nitrogênio atmosférico é convertido por meio de reações enzimáticas em formas mais simples para serem usados pela planta, como nitrato e amônio. Todo processo se dá nos nódulos radiculares, que se desenvolvem nas raízes, onde ocorre a simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio, em especial do gênero *Rhizobium*. Nesses locais, ocorre a troca de nutrientes entre a bactéria e a planta, bem como a conversão, pela bactéria, do nitrogênio atmosférico em amônia, que é facilmente assimilado pela planta. Em contrapartida, a planta fornece nutrientes específicos para as bactérias. Os compostos nitrogenados são utilizados pela planta para formação de aminoácidos e proteínas, essenciais para o crescimento e desenvolvimento da leguminosa (VITOUSEK *et al.*, 2013).

Uma meta-análise comparou o consumo de ração e a produção de leite em vacas alimentadas com diferentes espécies de gramíneas e leguminosas. Observou-se que os resultados de consumo de matéria seca e produção de leite foram maiores para vacas

alimentadas com leguminosas, comparados de forma geral com as gramíneas. Leguminosas possuem maior digestibilidade ruminal que gramíneas, pois o conteúdo fibroso é menor, mas a fibra é mais lignificada. No entanto, a lignina das leguminosas se limita apenas às células do xilema e da traqueia, enquanto, nas gramíneas, ocorre a lignificação em várias partes da planta, o que reduz a degradação da fibra pelos microrganismos ruminais. Além disso, as leguminosas possuem uma taxa de passagem maior, pois possuem menor tempo de retenção no rúmen, em razão do que o consumo de matéria seca aumenta (JOHANSEN; LUND; WEISBJERG, 2018).

O amendoim forrageiro (*Arachis pintoi* Krapov. & W.C. Greg) é uma espécie de leguminosa forrageira perene, pertencente à família das Fabaceae do gênero *Arachis*, amplamente distribuído em regiões tropicais e subtropicais, e com grande potencial para utilização em pastagens (KRAPOVICKAS; GREGORY, 1994). Esta espécie apresenta folhas compostas por quatro folíolos, deposita suas sementes dentro do solo e possui hábito de crescimento estolonífero e rasteiro. Além disso, o amendoim forrageiro consegue fazer o enraizamento dos estolões, nos quais se propaga por crescimento clonal, o que torna cada ramificação independente. Portanto, se o eixo principal da planta for morto, o estolão consegue se perpetuar na pastagem e gerar novas ramificações. Outras características são: alta tolerância à sombra e a solos de baixa fertilidade, capacidade de FBN e alta compatibilidade de consorciação com gramíneas tropicais (ZHANG *et al.*, 2021). As informações de valor nutritivo do amendoim forrageiro são descritas na tabela 1.

Tabela 1 - Valor nutritivo do amendoim forrageiro (*Arachis pintoi* Krapov. & W.C. Greg)

	(dal pizzol <i>et al.</i> , 2017)	(ANDRADE <i>ET AL.</i> , 2016A)	(FERNANDES <i>ET AL.</i> , 2013)	(GOMES <i>ET AL.</i> , 2024)
MS (g/kg)	94,5	-	88,7	-
MO (g/kg)	92,3	92	-	92,5
PB (g/kg)	202	218	209	152
FDN (g/kg)	39,7	-	44,7	40,8
FDA (g/kg)	16,4	21,2	34,9	17,9
TC (g/kg)	11,6	18,7	-	25,6

MS, matéria seca; MO, matéria orgânica; PB, proteína bruta; FDN, fibra em detergente neutro; FDA, fibra em detergente ácido; TC, taninos condensados. Adaptado de ANDRADE *et al.*, (2016); DAL PIZZOL *et al.*, (2017); FERNANDES *et al.*, (2013); (GOMES *et al.*, 2024).

2.2.1.1. Compostos secundários

Leguminosas forrageiras são ricas em compostos secundários, que são conhecidos como fatores antinutricionais e atuam como mecanismo de defesa, tolerância a estresses abióticos/bióticos e interação com insetos polinizadores, micróbios associados a raízes e

herbívoros. Dessa forma, tais compostos estão associados com a diminuição da palatabilidade, inibição da alimentação, dificuldade de digestão e formação de produtos tóxicos no trato digestivo. São exemplos de compostos secundários: taninos, saponinas, flavanóides, carotenóides, polifenóis e óleos essenciais (CHUNG *et al.*, 2020). Ainda, os compostos secundários podem ser caracterizados como modificadores bioativos e inibidores da metanogênese no rúmen, pois possuem a capacidade de modular as populações microbianas por alterações na fermentação ruminal, digestão de nutrientes e biohidrogenação de ácidos graxos (SODER; ROCA-FERNANDEZ; DILLARD, 2019).

Dentre esses compostos, os taninos são compostos polifenólicos, com peso molecular variado, e vistos como promissores para nutrição de ruminantes. Encontrados de forma natural, nos caules, folhas, flores e sementes das plantas, como mecanismo de proteção, são capazes de controlar a herbivoria, tanto por insetos quanto por herbívoros. Ainda, são produzidos por uma organela vegetal chamada tanossoma, armazenados em vacúolos das células das plantas e classificados de duas formas: condensados e hidrolisáveis (BESHARATI *et al.*, 2022). Os taninos hidrolisáveis possuem um grupo fenol no seu centro ligados com grupos hidroxilas esterificadas com carboidratos, geralmente uma molécula de D-glicose, e sofrem hidrólise enzimática ou por aquecimento com ácido-fraco (KELLN *et al.*, 2021).

Os taninos condensados (TC) são moléculas de alto peso molecular, também denominados de proantocianidinas, constituem-se de polímeros de subunidades flavan-3-ol com diferentes configurações *cis* e *trans*, polimerização e esterificação de suas ligações (NAUMANN *et al.*, 2018). Segundo a revisão de MUELLER-HARVEY *et al.* (2019), os taninos condensados conferem melhorias nutricionais para a produção pecuária, como, por exemplo, melhor crescimento, produção de leite, fertilidade e tolerância a parasitas intestinais, pois possuem a capacidade de se ligarem à proteína, o que impede sua degradação em amônia no ambiente ruminal e, por consequência, aumenta a proteína para ser degradada no pós-rúmen. Isso ocorre porque os taninos condensados ligam, de forma reversível dependente do pH, com proteínas da forragem, o que impede a degradação feita pelos microrganismos. Além desses efeitos, a prevenção de tipanismo e a redução da produção entérica de metano têm sido observadas nos estudos de plantas que contém esse tipo de tanino (RAMÍREZ-RESTREPO; BARRY, 2005). No entanto, os efeitos benéficos são dependentes do nível de inclusão na dieta e concentração dos taninos condensados na planta, pois pode ocorrer redução da ingestão de matéria seca quando houver altos níveis de TC, porque há formação de complexos entre proteínas salivares e TC, que promove sabor adstringente, e, assim, reduz o consumo. (JAYANEGARA; LEIBER; KREUZER, 2012; NAUMANN *et al.*, 2013; SHELTON;

WAGHORN, 1997). Doses teto de taninos condensados de 2 a 3% da matéria seca são consideradas para que não haja efeitos depressores de consumo e de desempenho dos animais (MIN; SOLAIMAN, 2018).

No trabalho de SODER; ROCA-FERNANDEZ; DILLARD (2019), foram utilizados quatro tipos de leguminosas diferentes, Alfafa (*Medicago sativa L.*), trevo pé de pássaro (*Lotus corniculatus L.*), ervilhaca coroa (*Securigera varia (L.) Lassen*) e sericea lespedeza (*Lespedeza cuneata (Dum. Cours.) G. Don*), com níveis crescentes de taninos condensados de 0,23%, 3,83%, 7,24% e 14,77%, respectivamente. A digestibilidade aparente e verdadeira dos nutrientes, como matéria seca, matéria orgânica, FDN e FDA, foram menores e com efeito significativo, para os ensaios que continham altos níveis de taninos condensados. É discutido no artigo que a alta concentração de taninos em sericea lespedeza tem efeitos antimicrobianos no rúmen, que reduz a fermentação e digestão ruminal dos alimentos.

2.2.2. Gramíneas tropicais

As gramíneas tropicais (C₄) evoluíram das suas ancestrais C₃, devido à redução das concentrações de CO₂ atmosférico, que reduziu a taxa de absorção de carbono em muitas plantas, principalmente em regiões de altas temperaturas e baixos recursos hídricos. Portanto, estas plantas ainda possuem o metabolismo C₃ em sua fisiologia, mas possuem uma estrutura foliar especializada, denominada anatomia Kranz, que é constituída por células do mesófilo e da bainha do feixe vascular arranjadas em torno das veias, abundante em cloroplastos (CHEN *et al.*, 2022).

Devido a esta estrutura, um mecanismo inicial concentra o carbono em uma molécula de quatro carbonos (oxalacetato, malato e aspartato) nas células do mesófilo. Esta molécula é transportada para as células da bainha do feixe vascular, onde ocorre a descarboxilação e há a enzima ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (RubisCO), o que reduz a reação de oxigenação dessa enzima, conhecida como fotorrespiração (ALVAREZ; MAURINO, 2023).

Do total de espécies C₄, 60% são classificadas como gramíneas, que estão relacionadas às pastagens (EDWARDS *et al.*, 2010). As gramíneas tropicais são altamente produtivas, por conta do mecanismo que suprime a função oxigenase da RubisCO. Com esta supressão, a fotorrespiração deixa de ser utilizada, logo, há menos perdas energéticas. Além disso, as gramíneas são mais adaptadas a climas quentes e secos (WAY *et al.*, 2014). Neste sentido, a pecuária nacional é fortemente baseada em pastagens de gramíneas tropicais, compostas principalmente pelo gênero *Urochloa (Brachiaria)*, que representa cerca de 90 milhões de

hectares das áreas de pastejo e, assim, destaca-se como uma fonte econômica para alimentação de ruminantes (JANK *et al.*, 2014; RAMOS *et al.*, 2022).

De maneira geral, gramíneas tropicais possuem alta taxa fotossintética, alta taxa de crescimento, baixa taxa de fotorrespiração, baixa perda de água e estrutura foliar especializada. O principal problema dessas plantas é o colmo, que pode apresentar alta qualidade no início do estado vegetativo da planta, mas, com o aumento da maturidade, ocorre o seu alongamento, que é necessário para suportar a alta produção de biomassa. Dessa forma, há aumento na proporção de tecidos lignificáveis e espessamento da parede celular, e, portanto, redução da qualidade nutricional da forrageira (HECKATHORN; MCNAUGHTON; COLEMAN, 1999). Isso determina baixas concentrações de proteína bruta e altas concentrações de carboidratos estruturais (celulose e hemicelulose) em gramíneas de origem africana, o que aumenta o tempo de retenção ruminal e, conseqüentemente, eleva a produção de metano entérico (ALI *et al.*, 2019; GOOPY *et al.*, 2020).

2.3. Pastagens Consorciadas

O consórcio entre gramíneas e leguminosas é uma estratégia que visa proporcionar maior diversidade dentro da pastagem, otimizar o uso do solo, melhorar a produção de forragem e promover benefícios agrônômicos e ambientais, de forma que se torna uma opção sustentável para a produção de ruminantes a pasto.

No estudo de CARMONA-FLORES *et al.* (2020), onde investigou o consumo de ração, produção e composição do leite de vacas em pastagens simples e consorciadas, observou-se que vacas que pastejavam pastagens consorciadas tiveram tendência a ter maior produção de leite corrigido para = 4% de gordura e sólidos não gordurosos. No entanto, as vacas do bloco com diversidade de pastagem tiveram resultados significativos para sólidos e proteína do leite, com produções de 228 g/d e 105 g/d, respectivamente, a mais que as pastagens simples. ANDRADE *et al.*, (2016b) avaliou dois tratamentos, o primeiro somente com capim elefante anão e o segundo com capim elefante anão consorciado com amendoim forrageiro. Os animais que pastejaram no consórcio apresentaram maior ingestão de matéria seca e maior ganho de peso diário.

Em pastagem consorciada com amendoim forrageiro, GOMES *et al.* (2024) comparou as características digestivas de carboidratos e proteínas com pastagens de Marandu (*Urochloa brizantha* [Syn, *Brachiaria Brizantha*) fertilizadas com nitrogênio. Os animais que ingeriram amendoim forrageiro apresentaram maior ingestão de matéria seca, matéria orgânica, proteína

bruta e taninos condensados, comparado com pastagens fertilizadas com N. Além disso, pastagens consorciadas apresentaram características ruminais superiores a pastagens de monocultura de Marandu, como pH, produção total de ácidos graxos voláteis, relação acetato:propionato, maior eficiência de síntese de proteína microbiana e taxa de passagem ruminal de nitrogênio. Portanto, é válido afirmar que o consócio de gramíneas com leguminosas é capaz de proporcionar melhores características à dieta de animais a pasto.

2.4. Metano entérico

O rúmen é um ecossistema complexo, composto por uma ampla variedade de espécies de microrganismos, tais como bactérias anaeróbicas, fungos, protozoários ciliados e *Archeas* metanogênicas. Essas últimas compreendem cerca de três a quatro por cento da população microbiana ruminal e são responsáveis pela produção de metano entérico. Segundo o IPCC (2014), o metano corresponde a 18% dos gases de efeito estufa emitidos e seu poder de aquecimento é cerca de 27,2 vezes mais forte que o CO₂. Porém, esse gás permanece na atmosfera em média 10 anos. O metano é formado a partir do H₂ e dióxido de carbono, liberado aproximadamente 97% pela eructação e 3% pelas fezes. Além disso, ele prejudica a produtividade animal, devido à perda de energia digestível, em torno de 12%, que poderia ser utilizada pelo animal para produção de leite e carne (CAMERON *et al.*, 2018).

No ambiente ruminal, ocorre uma interação de mutualismo entre os microrganismos e simbiótica com o hospedeiro, o que permite ao ruminante digerir carboidratos fibrosos que não são utilizados para alimentação humana e produzir alimentos altamente nutritivos, como carne e leite. No entanto, uma condição anaeróbica do rúmen precisa ser formada, para que os microrganismos possam se desenvolver e desempenhar seu metabolismo, que, por meio da fermentação anaeróbica, produz ácidos graxos voláteis, proteína microbiana e gases como produtos da degradação dos alimentos. Além disso, os microrganismos interagem entre si, onde trocam produtos metabólicos, como hidrogênio metabólico (H₂) e outros intermediários, para benefício mútuo e para o funcionamento adequado do ambiente ruminal (PITTA *et al.*, 2022).

A metanogênese é a via responsável por retirar o excesso de H₂ do rúmen, formado pelo processo oxidativo da fermentação, na primeira etapa da produção de acetato e butirato, onde ocorre a descarboxilação oxidativa do piruvato em acetil-CoA (UNGERFELD, 2020), o qual gera cofatores reduzidos (NADH, NADPH, e FADH). Porém, esses cofatores precisam ser re-oxidados (NAD⁺, NADP⁺ e FAD⁺) para que não haja paralisação da fermentação ruminal, em razão do que reações de desidrogenação liberam hidrogênio para o rúmen. Portanto, a

metanogênese desempenha o papel de manter o ambiente ruminal em equilíbrio, pois, se H₂ acumular no rúmen, pode haver inibição da atividade desidrogenase envolvida na oxidação dos cofatores reduzidos (MCALLISTER; NEWBOLD, 2008).

As *Archeas* metanogênicas são pertencentes do filo *Euryarcheota* e habitam ambientes anóxicos, responsável pela produção de metano entérico. Possuem alta diversidade ecológica e metabolismo energético distinto, no qual utilizam CO₂, formato, metanol, metilaminas, entre outros compostos para formação do metano. Os metanógenos encontram-se distribuídos no líquido ruminal ou aderidos às fibras, onde sobrevivem como ectossimbiontes ou endossimbiontes de outros microrganismos ruminais, o que permite a troca de H₂ entre espécies. Embora tenham o produto final em comum, há uma divisão entre os tipos de metanógenos, relacionada a diferenças fisiológicas e metabólicas para a sobrevivência, utilização de substrato, limiar de H₂, pressão de H₂ e diferenças enzimáticas (PITTA *et al.*, 2022).

Essas diferenças evitam a competição por substratos e aumentam a sobrevivência das *Archeas*, pois algumas utilizam CO₂ e formato para seu metabolismo, chamada de via hidrogenotrófica, onde ocorre uma série de reações entre compostos de carbono antes da formação do metano. Na via metilotrófica, os membros utilizam metanol e metilamina como fonte de grupo metil, oriundos principalmente de substratos como pectina e hemicelulose, usados diretamente na metil-coenzima M redutase (MCR) (HUWS *et al.*, 2018; TAPIO *et al.*, 2017). A MCR é uma enzima presente em ambos os grupos de metanógenos, está relacionada com a redução do metil-CoM (CH₃-S-CoM, 2-(metiltio)etanossulfonato) com coenzima B (CoB ; CoB-SH, 7-tio-heptanoil-treoninafosfato) a metano e heterodissulfeto de CoM (CoM-SH, 2-tioetano sulfonato) (PITTA *et al.*, 2022).

Métricas de definição da produção de metano entérico em sistemas de produção de ruminantes são descritas para o melhor entendimento das emissões desse composto. Dessa forma, três métricas de avaliação são propostos, produção absoluta (g/d), rendimento (g/kg de matéria seca ingerida) e intensidade (g/kg de produto animal produzido). A produção absoluta é utilizada para mensurar as emissões totais de uma operação. O rendimento de metano reflete a eficiência do processo digestivo, que é influenciado pela composição da dieta e estratégias de mitigação. Já a intensidade de metano avalia a eficiência ambiental do sistema, onde se dilui as emissões pela unidade de produto produzido e é reduzido com práticas de intensificação, como melhor manejo alimentar e saúde animal, que aumentam a produtividade individual enquanto mantêm ou reduzem as emissões totais (ARNDT *et al.*, 2022; BEAUCHEMIN *et al.*, 2022b; CONGIO *et al.*, 2021).

2.5. Mitigação de metano

Como dito no tópico anterior, os ruminantes são uma fonte direta de emissão de metano por meio da fermentação entérica, o que contribui de forma significativa com o aquecimento global. Isso gera efeitos na pecuária e na produção de alimentos, tais como aumento de temperatura, a qual repercute diretamente na termorregulação dos animais, consumo de alimentos e redução de taxas reprodutivas e sanitárias, logo, diminuição da produção animal. Além disso, pode ter efeitos negativos indiretos, como na produção de alimentos, disponibilidade de água e aumento das pragas e doenças que afetam os rebanhos e humanos (CHENG; MCCARL; FEI, 2022).

Ao se olhar o sistema como um todo, as pastagens atuam como uma fonte de mitigação de gases de efeito estufa, por meio do sequestro do carbono para fotossíntese e crescimento de raízes. Segundo a FAO, (2009), as áreas de pastagens ocupam 30% da superfície da terra, cerca de 3,4 bilhões de hectares. Portanto, os sistemas de pastejos quando bem manejados possuem grande capacidade de sequestro de carbono, em torno de 30% de carbono do solo no mundo, que é significativo em virtude da grande extensão em área que as pastagens ocupam.

Por conta disso, algumas estratégias de mitigação de metano entérico vêm sendo estudadas e implementadas na produção de ruminantes, as quais visam reduzir os impactos ambientais, além de buscar diminuir as perdas energéticas que os animais têm com a metanogênese. Diversos trabalhos exemplificam as principais estratégias de redução da produção entérica de metano. Dentre elas, os moduladores de fermentação, inibidores de metano, formulação e processamento dos alimentos e uso de leguminosas são recursos que podem contribuir para menor emissão de gases de efeito estufa pela pecuária (ARNDT *et al.*, 2022; BEAUCHEMIN *et al.*, 2022b).

O aumento de produtividade animal vem acompanhado por uma redução da intensidade de emissão de CO₂ equivalente por quilo de produto produzido, ou pegada de carbono. Com isso, países com produções mais intensificadas, onde a produtividade por animal é maior, a pegada de carbono é menor (MAZZETTO; FALCONER; LEDGARD, 2022). Para isso, formulação de dietas e processamento de alimentos são algumas das formas de aumentar a produtividade por animal e reduzir a produção ruminal de metano. Por meio delas, ocorre o fornecimento de alimentos concentrados, que são fontes de carboidratos não fibrosos. Além disso, com o processamento dos grãos, há redução do tamanho de partícula e aumento da área de contato das bactérias com o alimento (FERRARETTO; SHAVER; LUCK, 2018). Dessa

forma, com maior concentração de amido e açúcares simples, ocorre elevação da produção de propionato no rúmen, que é uma fonte consumidora de H₂.

Bactérias do gênero *Prevotella spp* sequestram o H₂ livre pelas vias do succinato e acrilato, rotas da formação do ácido propiônico (BETANCUR-MURILLO; AGUILAR-MARÍN; JOVEL, 2023). No entanto, o fornecimento de maiores níveis de concentrado na dieta deve ser monitorado com grande cuidado, pois efeitos negativos, como acidose metabólica, ocorrem quando não é feito um balanceamento correto das concentrações de fibra fisicamente efetiva (ZHAO *et al.*, 2018). Portanto, se feita a formulação de maneira correta, essa estratégia traz consigo tanto ganho em produtividade animal em leite e carne, quanto em reduções das produções de metano entérico (CAPPER; CADY, 2020).

Óleos e gorduras também atuam como redutores da produção de metano entérico, que assim como o propionato, consomem o H₂ disponível no rúmen para a biohidrogenação dos ácidos graxos insaturados, e também pelo efeito de substituição de carboidratos na dieta. Além disso, eles podem ter efeitos tóxicos para alguns microrganismos ruminais, metanogênicos e protozoários, e reduzir a digestibilidade da fibra no rúmen, no qual reduz a produção de substratos da metanogênese, como acetato, formato e H₂ (ALVAREZ-HESS *et al.*, 2019).

Moduladores de fermentação e inibidores da metanogênese em sua grande maioria são aditivos que são incorporados nas dietas. Atuam diretamente nos microrganismos do rúmen, pela sua eliminação ou ação em pontos chaves da metanogênese. Os moduladores da fermentação são representados principalmente pelos ionóforos, que agem em bactérias gram-positivas, na qual alteram o balanço iônico, dessa forma, aumenta a permeabilidade de íons das membranas celulares (MARUMO; LAPIERRE; VAN AMBURGH, 2023). Sua ação em mitigar metano está relacionado pela inibição de bactérias fibrinolíticas (gram-positivas), e por consequência, reduz a produção de acetato, uma das principais rotas formadoras de H₂. Além disso, há aumento da proporção molar de propionato no rúmen, que está relacionado ao consumo de hidrogênio metabólico, portanto, reduz a proporção de substratos para produção de metano (REZAEI AHVANOUEI *et al.*, 2023). Os inibidores da metanogênese atuam diretamente nas *Archeas* metanogênicas, no entanto, não causam sua morte, mas catalizam a última etapa de formação do metano no rúmen, a metil-coenzima M redutase. Dentro desse grupo, o 3-nitroxipropanol (3-NOP) e as microalgas são descritas como potenciais mecanismos para redução das emissões de metano entérico. O 3-NOP, é um inibidor químico análogo da metil-coenzima M (KIM *et al.*, 2020) e trabalhos reportam redução na produção de metano em torno de 30% (HRISTOV *et al.*, 2015; MELGAR *et al.*, 2021). Entretanto, o uso desse composto tem demonstrado quase nenhum efeito em parâmetros produtivos, como aumento da produção

de leite e carne, além disso, há um acúmulo de H₂ no rúmen pela não formação do metano (MELGAR *et al.*, 2020). As microalgas, ou algas vermelhas, são representadas pelas espécies *Asparagopsis taxiformis* e *Asparagopsis armata*. Essas algas acumulam compostos halogenados, que reagem com vitamina B12 reduzida, dessa forma, reduz a etapa de metil transferase dependente de cobamida, que bloqueiam o sítio ativo da metil-coenzima M redutase na *Archeas*. Além disso, alguns haloalcanos são análogos do MCR, com ação semelhante ao 3-NOP (MACHADO *et al.*, 2016).

Dentre as diversas estratégias de mitigação de metano, o uso de leguminosas torna-se a mais viável para utilização em pastagens, pelo consórcio com gramíneas (ARNDT *et al.*, 2022). Como já dito no tópico sobre leguminosas, essas plantas possuem melhores características nutricionais que as gramíneas e, conseqüentemente, melhoram a capacidade de digestão ruminal. Com isso, maior ingestão de matéria seca e taxa de passagem podem ser encontradas com a inclusão de leguminosas na dieta, o que leva à menor produção de metano pela menor digestibilidade e, por conseqüência, tem-se maior produtividade animal (BEAUCHEMIN *et al.*, 2022a). Além disso, algumas leguminosas podem ser ricas em compostos secundários, moléculas que possuem a capacidade de reduzir a produção de metano no rúmen. A literatura já descreve os taninos condensados como substâncias capazes de mitigar gases de efeito estufa, sendo seus efeitos dependentes do peso molecular e da capacidade de ligação a outras moléculas (NAUMANN *et al.*, 2013; PATRA; SAXENA, 2011). Possuem ação em protozoários e *Archeas* metanogênicas, pois modifica composição microbiana do rúmen, de forma que há redução da produção de H₂ e de microrganismos que sintetizam o metano. Também podem diminuir a digestibilidade da fibra no rúmen (NAWAB *et al.*, 2020).

Em trabalho *in vitro*, utilizou-se quatro tipos de leguminosas, Alfafa (*Medicago sativa* L.), trevo pé de pássaro (*Lotus corniculatus* L.), ervilhaca coroa (*Securigera varia* (L.) Lassen) e sericea lespedeza (*Lespedeza cuneata* (Dum. Cours.) G. Don), com níveis crescentes de taninos condensados de 0,23%, 3,83%, 7,24% e 14,77%, respectivamente. A redução da produção de metano *in vitro* foi dose dependente com o aumento da concentração de taninos condensados na dieta, logo, a leguminosa sericea lespedeza apresentou melhores resultados. Por sua vez, no trabalho de DAL PIZZOL *et al.* (2017), utilizou-se três tipos de leguminosas, *Arachis pintoi*, *Medicago sativa* e *Onobrychis viciifolia*, que de acordo com as análises possuem 11,6, 0,9 e 30,1 g/kg de taninos condensados, respectivamente. No teste *in vitro*, essas plantas foram misturadas com gramíneas tropicais (*Axonopus catharinenses*) e temperadas (*Festuca arundinacea*), nas proporções de 0%, 25%, 50%, 75% e 100% de leguminosas. A produção de metano aumentou quadraticamente quando a proporção das três leguminosas aumentaram na

mistura com axonopus. E na análise com festuca, não houve alteração da produção de metano entérico com aumento da proporção de leguminosas.

Utilizando-se a técnica do SF₆ (JOHNSON *et al.*, 1994), com carneiros da raça Santa Inês, os animais foram divididos em quatro tratamentos experimentais: controle (farelo de soja e milho moído); LEU (farelo de soja, milho moído e feno de *Leucena leucocephala*); STA (farelo de soja, milho moído e feno de *Stylobium aterrimum*); MIM (farelo de soja, milho moído e *Mimosa caesalpiniaefolia*). Os suplementos, com exceção do CON, foram oferecidos em quantidade para fornecer 40 g/kg de taninos condensados. Os animais do grupo LEU apresentaram menor consumo de matéria seca e conseqüentemente menor emissão de metano. O grupo STA apresentou tendência em produzir menos metano quando comparado ao grupo controle (MOREIRA *et al.*, 2013). Pastagens de capim elefante anão consorciadas com amendoim forrageiro tiveram maior produção metano (g/dia) (ANDRADE *et al.*, 2016b).

3. Materiais e Métodos

Os procedimentos experimentais dos projetos passaram por avaliação da Comissão de Ética no Uso de Animais da Embrapa Gado de Leite, sendo aprovados no protocolo número 20.19.03.074.00.02.004.

O experimento *in vitro* foi conduzido no Laboratório Multiusuário de Bioeficiência e Sustentabilidade da Pecuária da Embrapa Gado de Leite, em Coronel Pacheco, Minas Gerais, Brasil, especificamente no Setor de Produção de Gases e Digestibilidade *in vitro*.

As amostras de amendoim forrageiro (*Arachis pintoi* Krapov. & W.C. Greg. Cv. *Mandobi*) e de capim marandu [*Urochloa brizantha* (syn. *Brachiaria brizantha*) Stapf. A. Rich. Cv. *Marandu*] foram oriundas da Universidade Federal de Lavras em Lavras, Minas Gerais, Brasil (21°14'S, 45°00'W; 928 m altitude), onde o consórcio entre a leguminosa e a gramínea está estabelecido desde de 2015. As forrageiras foram colhidas por pastejo simulado (Johnson, 1978) por dois anos consecutivos (de dezembro 2016 a janeiro de 2019), oriundas de quatro piquetes diferentes, como parte do experimento conduzido por HOMEM *et al.*, (2021, 2024). As amostras foram secas em estufa 55°C por 72 horas até peso constante. As amostras de forragem foram moídas em moinho Cyclotec (Tecator, Herndon, VA) para passarem por uma peneira de 1 mm.

As amostras das forrageiras foram enviados para a unidade da Embrapa Gado de Leite, onde foram feitas a misturas entre a gramínea e a leguminosa, nas proporções de 0%, 25%, 50% e 100% de amendoim forrageiro em dieta em substituição a capim marandu. Além disso, foram

avaliadas as amostras colhidas em duas épocas do ano - águas e secas, períodos onde, segundo resultados de HOMEM *et al.*, (2021b), há diferenças no acúmulo de forragem e concentração de taninos condensados das leguminosas.

O procedimento de incubação foi baseado na técnica semi-automática de produção de gases *in vitro*, descrita por MAURICIO *et al.* (1999), a qual é utilizada para avaliação da degradação, cinética de fermentação e produção de gases dos alimentos. Foram utilizados filtros F57 (Ankom Technology, Macedon, NY, USA), conforme descrito por AMARAL *et al.*, (2014). Foram utilizados 0,5 g de amostras das dietas estudadas, o peso foi quantificado com uso de balança analítica. Após a pesagem, os filtros com as amostras foram alocados em frascos de 50 mL, divididos em três categorias: Cinética de produção de gases, produção de metano e “Tempo Zero” (avaliação da fração solúvel). Ao todo, foram 300 frascos, divididos em 100 para cada categoria.

Para coleta de inóculo ruminal foram utilizadas três vacas da raça Holandês, adultas, fistuladas no rúmen, com peso médio de 550 kg de peso corporal. O uso desses animais neste experimento foi restrito a um único período de coleta de aproximadamente três litros de líquido ruminal por animal. Os bovinos foram mantidos em baias individuais de aproximadamente 16 m² durante o período de adaptação à dieta, sendo essa formulada para atender os seus requisitos de manutenção, composta por silagem de milho (*Zea mays* L.) e ração concentrada à base de farelo de soja, fubá de milho e suplemento mineral para gado de leite, com aproximadamente 18% de proteína bruta, na proporção de volumoso e concentrado de 90:10, respectivamente.

A produção de gases nos frascos foi determinada por deslocamento de coluna d’água, nos tempos de 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 17, 20, 24, 28, 34, 48, 72 e 96 horas de incubação, bem como foram utilizados os mesmos frascos para avaliação da cinética ruminal em todos os tempos de coleta.

Os parâmetros de cinética de fermentação foram estimados pelo modelo logístico bicompartimental proposto por (PELL; SCHOFIELD, 1993).

$$V(t) = \frac{Vf1}{1 + e^{[2-4k1(t-\gamma)]}} + \frac{Vf2}{1 + e^{[2-4k1(t-\gamma)]}} + \varepsilon$$

Equação 2 - Modelo logístico bicompartimental, descrito por (PELL; SCHOFIELD, 1993).

Onde, V(t), volume acumulado (mL) no tempo t; Vf₁, volume de gases produzidos pela degradação da fração A+B₁ do sistema de Cornell (Cornell Net Carbohydrate and Protein

System – CNCPS, ou a fração de carboidratos não fibrosos (CNF) (FOX *et al.*, 1992; RUSSELL *et al.*, 1992; SNIFFEN *et al.*, 1992); Vf2 volume de gases produzidos pela degradação da fração B₂ do sistema de Cornell (fração de carboidratos fibrosos - CF); k₁, taxa específica de produção de gases degradação da fração A+B₁ (CNF); k₂, taxa específica de produção de gases pela degradação da fração B₂ (CF); t, tempo de fermentação; λ, fase de latência; ε, erro experimental associado a cada observação.

As degradabilidades da matéria seca (DMS) dos consórcios de amendoim forrageiro e da gramínea simulando as dietas foram analisadas nos tempos de 24 e 96 horas de incubação, pelo método gravimétrico. Os resultados foram submetidos para análise de regressão.

O rendimento de metano em função da matéria seca incubada e da matéria seca degradada foram calculadas de acordo com MORAIS MOURA *et al.*, (2021):

$$\frac{(ml \text{ de gases } 24hrs \times CH_4 \text{ (ml/ml)}) - (ml \text{ de gases } 24hrs \text{ do branco} \times ml \text{ de } CH_4 \text{ (ml/ml)})}{g \text{ de MS (incubada ou degradada)}}$$

Equação 3 - Rendimento de metano em função da matéria seca incubada e em função da matéria seca degradada

Onde, CH₄ é a quantidade de metano produzido no tempo de 24, da categoria de frascos “produção de metano”.

Os parâmetros de degradabilidade efetiva da matéria seca *in vitro* (DMED) foram estimados utilizando o modelo de (FRANCE *et al.*, 1993):

$$DMED = S_0 e^{-kt} (1 - k_1) / (S_0 + U_0)$$

Equação 4 - Modelo de France (1993) para o cálculo da degradabilidade da matéria seca.

Onde k é a taxa de passagem; S₀ e U₀ são valores no tempo zero das frações degradáveis e não degradáveis, respectivamente;

Utilizando os frascos da categoria “Produção de Metano”, 24 horas após a incubação foram feitas: 1º) a determinação da quantidade de gases produzida em cada frasco; e 2º) a coleta de amostras para avaliação da emissão de metano. foram coletadas amostras de 10 mL de gases que foram acondicionadas em frascos Exetainer® (Labco Limited, Lampeter, United Kingdom), 1 mL dessas amostras foi usado para análise em cromatografia gasosa (7820A - Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) para determinação das concentrações de metano e gás carbônico. Durante essa análise, a temperatura do forno é mantida a 55°C por 4,5 minutos tempo necessário para a eluição dos constituintes desejados.

Nos tempos de 24 e 96 horas após a incubação, foi medido pH dos resíduos da fase líquida de incubação e realizada a separação de amostras para análise de ácidos graxos voláteis (AGV) e nitrogênio amoniacal (N-NH₃). Para determinação das concentrações de ácidos AGVs, 5 mL de resíduo líquido da incubação foram estocados e adicionados em frascos contendo 1 mL de ácido metafosfórico 25% e então congelados a -18°C. As amostras, posteriormente, foram centrifugadas a 14.000 rpm por 10 minutos em uma Heracus Megafuge 16R refrigerated centrifuge (Thermo Electron Led GMBH, Osterode, Germany). Após a passagem pela centrífuga, o sobrenadante foi filtrado com auxílio do filtro de membrana hidrofílica Millex PVDF (Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha) com 25 mm de diâmetro e 0,45 µm de porosidade, compatível com o Millipore HVLP02500 Durapore, e posteriormente transferido para frascos.

A cromatografia líquida de alta eficiência foi feita pelo cromatógrafo líquido Alliance e2695 e o detector Photodiode Array 2998 (Waters Corporation, Milford, MA, EUA). O sistema de separação consistiu na coluna de fase reversa ODS-80A (150 mm x 4,6 mm x 5 µm).

Para avaliação de N-NH₃, 10 ml de resíduo de fermentação foram colocados em frascos com 8 gotas de ácido sulfúrico, congeladas a -18°C e analisadas por destilação em micro Kjeldahl, conforme metodologia descrita por GALVANI; GAERTNER (2006).

A predição da produção de proteína microbiana foi calculada de acordo com BLUMMEL *et al.* (1997). Nele a quantificação da biomassa microbiana é inferida pela combinação das medições de volume de gás e a degradabilidade do substrato. Dessa forma, é utilizado um fator estequiométrico de 2,20 para substratos ricos em acetato.

$$PPmic (mg/g de MS) = mg MSD - (mL gás \times 2,20 mg/mL)$$

Equação 5 – Predição da produção de proteína microbiana

Onde MSD é matéria seca degradada em 24 horas; mL gás é a produção de gases total no tempo de 24 horas.

Os consórcios foram analisados quanto aos teores de fibra em detergente neutro – FDN, fibra em detergente ácido – FDA e lignina (SILVA; QUEIROZ, 2006), proteína bruta (GALVANI; GAERTNER, 2006), extrato etéreo (AOCS, 2005), cinzas (SILVA; QUEIROZ, 2006) e avaliadas quanto à degradação ruminal *in vitro* da matéria seca (DMS) após 96h de incubação no laboratório de análise de alimentos da Embrapa Gado de Leite em Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil.

A determinação da concentração de taninos condensados seguiu o método de PORTER; HRSTICH; CHAN, (1985). Onde 0,20 g de amostra foram acondicionadas em tubos de 25 mL,

e posteriormente adicionado 10 mL de acetona 70%. Os tubos foram submetidos 20 minutos em banho de ultrassom a 4°C, seguido de centrifugação a 3000 rpm por 10 minutos a 4°C. Em seguida, 0,5 mL do sobrenadante foi transferido para um segundo tubo e adicionado 3 mL de butanol-HCL e 0,1 mL de ácido férrico. Essa solução foi levada a banho maria de 70 a 100°C por 40 minutos. A leitura da absorbância foi em uma onda de 550 nm. A análise de taninos foi feita no laboratório de ciência animal da Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brasil.

A análise dos dados gerados na análise bromatológica considerou os efeitos fixos de dieta, proporção de amendoim forrageiro, época de colheita, interação entre proporção de amendoim forrageiro com época de colheita e o efeito aleatório de repetição de campo, conforme o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{jcpk} = \mu + D_j + E_c + (D \times E)_{jc} + R_p + e_{jcp}$$

Equação 6 - Modelo estatístico para análise bromatológica

Onde Y_{jk} é o valor referente à observação μ , da dieta j , da época de colheita das forrageiras c , interação entre j e c , do piquete p ; μ é a média geral; D_j é o efeito da dieta j ($j = 1, 2, 3$ e 4); E_c é a época de colheita das forrageiras ($c = \text{águas e seca}$); $(D \times E)_{jc}$ é a interação entre proporção de amendoim forrageiro e a época de colheita; R_p é o efeito aleatório do piquete de coleta ($p = 1, 2, 3$ e 4); e_{jcp} é o erro aleatório associado à observação.

A análise dos dados gerados na cinética ruminal *in vitro* (pela produção de gases) foi conduzida em modelo misto, considerando os efeitos fixos de dieta (proporção de amendoim forrageiro e época de colheita), interação entre proporção de amendoim forrageiro com época de colheita, tempo de incubação *in vitro* e efeito aleatório de repetição de campo, conforme o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{jkcp} = \mu + D_j + E_c + (D \times E)_{jc} + T_k + R_p + e_{jkcp}$$

Equação 7 - Modelo estatístico para análise de cinética ruminal *in vitro*

Onde Y_{jkcp} é o valor referente à observação μ , da dieta j , da época de colheita das forrageiras c , interação entre j e c , no tempo de incubação k , do piquete p ; μ é a média geral; D_j é o efeito da dieta j ($j = 1, 2, 3$ e 4); E_c é a época de colheita das forrageiras ($c = \text{águas e seca}$); $(D \times E)_{jc}$ é a interação entre proporção de amendoim forrageiro e a época de colheita; T_k é o efeito do tempo de incubação k ($k=2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 18, 21, 24, 30, 36, 48, 72$ e 96); R_p é o efeito aleatório do piquete de coleta ($p = 1, 2, 3$ e 4); e_{jkcp} é o erro aleatório associado à observação. O emprego deste delineamento no planejamento e para análise dos dados do experimento de cinética de fermentação *in vitro* segue a recomendação de abordagem estatística para este tipo

de experimento descrita no editorial do periódico “Animal Feed Science and Technology” – v.171, p.1-5, (2012) – uma das publicações científicas de referência para estudos empregando a técnica *in vitro* de produção de gases (UDÉN *et al.*, 2012).

Os dados foram submetidos à análise de variância e à regressão linear e polinomial utilizando o software SAEG, versão 9.1 (SAEG, 2007)

e as médias foram comparadas pelo teste F, a 5% de probabilidade.. Foram considerando os efeitos fixos de estação do ano (águas e seca), o nível de inclusão de amendoim forrageio (0%, 25%, 50% e 100%) e a interação entre esses fatores e o efeito aleatório do piquete de coleta. A significância estatística foi considerada quando $P < 0,05$ e, quando houve significância para efeito da inclusão de amendoim forrageiro, foi feito estudo de regressão em função do nível de inclusão. Com relação aos parâmetros gerados pelo modelo de PELL & SCHOFIELD (1993), nas análises, foram considerados os efeitos fixos de dieta, de estação do ano e da interação entre esses fatores e o efeito aleatório de repetição de campo. Foi considerado nível de $P < 0,05$ como significativo e, nesses casos, as médias foram comparadas por regressão ($P < 0,05$).

4. Resultados

4.1. Valor nutritivo das dietas

Os valores de fibra em detergente neutro reduziram linearmente ($P < 0,001$) com aumento da proporção de amendoim forrageiro (tabela 2). Nas águas, a FDN diminuiu de 679 g/kg, na amostra de capim marandu, para 477 g/kg, na amostra com amendoim forrageiro, o que representou uma redução de 30%. Na seca, por sua vez, a FDN passou de 693 g/kg, na amostra de capim marandu, para 521 g/kg, na amostra com amendoim forrageiro, correspondendo a uma redução de 25%. A fibra em detergente ácido não apresentou alteração com o aumento da proporção de amendoim forrageiro nas dietas ($P = 0,371$). No entanto, houve diferença nas concentrações de FDA entre as estações ($P < 0,001$) e interação entre estação e a proporção de amendoim forrageiro ($P = 0,013$). Na estação das águas, os valores de FDA diminuíram com o aumento da proporção de amendoim forrageiro, variando de 319 g/kg na amostra de capim marandu para 276 g/kg na de amendoim forrageiro, representando uma redução de 15%. Na seca, os valores aumentaram de 336 g/kg, na amostra de capim marandu, para 350 g/kg, na amostra de amendoim forrageira, o que equivale a um acréscimo de 4%. A matéria orgânica não apresentou efeito em relação à proporção de amendoim forrageiro nas dietas ($P = 0,197$). No entanto, os maiores valores de MO foram observados na estação das águas ($P < 0,001$). A concentração lignina elevou linearmente ($P < 0,001$) com o aumento da proporção de amendoim

forageiro. Nas águas, a variação foi de 28,7 g/kg e 90,7 g/kg para concentrações 0% e 100% de amendoim forrageiro, respectivamente, resultando em uma diferença de 32%. Enquanto na seca, os valores aumentaram de 40,4 g/kg para 110,3 g/kg, nos mesmos percentuais de concentração indicados anteriormente, correspondendo a um aumento de 37% da lignina entre as proporções.

A proteína bruta aumentou de forma linear ($P < 0,001$) com o aumento da proporção de amendoim forrageiro (tabela 2). Nas águas, a PB aumentou de 73,2 g/kg na amostra de capim marandu para 177 g/kg na de amendoim forrageiro, o que significa um aumento de 242%. Já na seca, os valores variaram de 62,0 g/kg para 126 g/kg, na mesma comparação de amostras, resultando em um acréscimo de 203%. Os carboidratos não fibrosos aumentaram com a proporção de amendoim forrageiro na dieta ($P < 0,001$). No entanto, não houve efeito de estação ($P = 0,172$). Nas águas, os valores de CNF variaram de 145 g/kg na amostra capim marandu para 238 g/kg na amostra de amendoim forrageiro. Na estação da seca, o aumento foi de 148 g/kg para 256 g/kg, quando comparadas as amostras de capim marandu e amendoim forrageiro, respectivamente.

Os taninos condensados aumentaram com a inclusão de diferentes proporções de amendoim forrageiro ($P < 0,001$). Ainda, houve interação entre estação e proporção de amendoim forrageiro também nesta variável ($P < 0,001$). As maiores concentrações de TC foram obtidas na estação das águas ($P < 0,001$), quando os valores de TC aumentaram de 0,893 g/kg na amostra de capim marandu para 21,2 g/kg na de amendoim forrageiro, representando um aumento de 23,7 vezes. Na seca, por outro lado, os valores de TC variaram de 0,714 g/kg na amostra de capim marandu, para 11,9 g/kg na amostra de amendoim forrageiro, sendo este um aumento de 16,8 vezes. A degradação da matéria seca em 96 horas elevou linearmente ($P = 0,002$) com o aumento da proporção de amendoim forrageiro. A estação das águas apresentou maiores valores de degradação da matéria seca 96 horas ($P < 0,001$), de forma que as médias desta variável aumentaram de 58,5 mg/g, na amostra com capim marandu, para 64,0 mg/g, na de amendoim forrageiro, o que equivale a aproximadamente 8% de aumento. Na seca, o aumento da degradação da matéria seca 96 horas foi de 53,1 mg/g para 58,6 mg/g, nas amostras de capim marandu e amendoim forrageiro, respectivamente, resultando em um acréscimo de 9%.

Tabela 2 - Valor nutritivo das dietas experimentais a base de *Urochloa brizantha* cv. *marandu* com diferentes níveis de inclusão de *Arachis pintoi* (0%, 25%, 50% e 100%) nas estações de águas e seca.

Variável	Águas				Seca				EPM	P-valor				Equação	R ²
	0%	25%	50%	100%	0%	25%	50%	100%		E	PA	E*PA	Linear		
FDN (g/kg de MS)	679	630	567	477	693	649	606	521	1,44	<0,001	<0,001	0,326	<0,001	$\hat{Y}_{\text{Águas}} = -0,204x + 67,738$ $\hat{Y}_{\text{Seca}} = -0,1716x + 69,245$	0,967 0,922
FDA (g/kg de MS)	319	306	289	276	336	339	345	350	0,837	<0,001	0,371	0,013			
LIG (g/kg de MS)	28,7	42,7	53,4	90,7	40,4	56,6	72,9	110,3	0,317	<0,001	<0,001	>0,05	<0,001	$\hat{Y}_{\text{Águas}} = 0,0618x + 2,685$ $\hat{Y}_{\text{Seca}} = 0,07x + 3,939$	0,961 0,919
PB (g/kg de MS)	73,2	97,2	127,8	177,2	62,0	76,6	91,7	126,0	0,266	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	$\hat{Y}_{\text{Águas}} = 0,105x + 7,29$ $\hat{Y}_{\text{Seca}} = 0,0643x + 6,097$	0,974 0,974
CNF (g/kg de MS)	145	169	201	238	148	176	207	256	0,861	0,172	<0,001	>0,05	<0,001	$\hat{Y}_{\text{Águas}} = 0,094x + 14,7$ $\hat{Y}_{\text{Seca}} = 0,1077x + 14,964$	0,923 0,791
TC (g/kg de MS)	0,893	6,53	13,1	21,2	0,714	3,20	5,39	12,0	0,343	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	$\hat{Y}_{\text{Águas}} = 0,002x + 0,0152$ $\hat{Y}_{\text{Seca}} = 0,0011x + 0,004$	0,959 0,905
DMS96 (mg/g)	58,5	62,5	64,1	63,5	53,1	57,2	56,5	58,6	2,01	<0,001	0,002	>0,05	0,015	$\hat{Y}_{\text{Águas}} = 0,0449x + 60,181$ $\hat{Y}_{\text{Seca}} = 0,0467x + 54,302$	0,357 0,440

FDN (Fibra em detergente neutro); FDA (Fibra em detergente ácido); LIG (Lignina); PB (Proteína Bruta); CNF (Carboidrato não-fibroso); TC (Taninos condensados); DMS 96 (Degradação da matéria seca em 96 horas de incubação). E (Estação); PA (Proporção de *Arachis pintoi*); E*PA (Interação entre estação e Proporção de *Arachis pintoi*) Itens sublinhados indicam estação da seca.

4.2. Produção de gases

A degradação da matéria seca em 24 horas aumentou linearmente ($P < 0,001$) com o aumento da proporção de amendoim forrageiro (Figura 4). A degradação da matéria seca em 24 horas apresentou maiores médias na estação das águas, com valores de 37,5 mg/g na amostra com capim marandu e 50,5 mg/g na amostra de amendoim forrageiro, enquanto na seca, tais amostras apresentaram os valores de 35,0 mg/g e 48,0 mg/g, respectivamente. A produção de gás em função da matéria seca incubada aumentou de forma linear ($P < 0,001$) com o incremento da proporção de amendoim forrageiro nas dietas. Além disso, houve maior produção de gases na estação das águas ($P = 0,006$), quando a produção de MS foi de 71,5 ml/g, na amostra de capim marandu, para 95,6 ml/g, na amostra de amendoim forrageiro, enquanto na seca, houve aumento de 66,3 ml/g de MS para 94,7 ml/g de MS, na mesma comparação de amostras. A produção de gás em função da matéria seca degradada não variou com o incremento de diferentes proporções de amendoim forrageiro nas dietas ($P > 0,05$) e estação do ano ($P > 0,05$).

A porcentagem de metano na amostra de gás aumentou linearmente ($P < 0,001$) com o incremento da proporção de amendoim forrageiro, sendo que a estação da seca apresentou as maiores médias observadas ($P < 0,001$). Dessa forma, na estação das águas, o aumento da porcentagem de metano na amostra de gás foi de 5,70%, na amostra de capim marandu, para 7,48%, na amostra de amendoim forrageiro, enquanto na seca o aumento foi de 6,64% para 7,49% (aumento de 23,7% e 11,3%). O rendimento de metano pela quantidade de matéria seca incubada aumentou de forma linear ($P < 0,001$) com maiores proporções de amendoim forrageiro nas dietas. Na estação das águas, foram observados valores de 4,09 ml/g de MS na amostra de capim marandu e 7,17 ml/g de MS na amostra de amendoim forrageiro. Já na seca, os valores foram de 4,49 ml/g de MS para 7,07 ml/g de MS, nas amostras de capim marandu e amendoim forrageiro, respectivamente.

O rendimento de metano em função da matéria seca degradada aumentou linearmente ($P < 0,001$) com o acréscimo de amendoim forrageiro nas dietas, com maiores produções de metano observadas na estação da seca ($P < 0,001$). Na estação das águas, tal rendimento foi de 10,9 ml/g de DMS, na amostra de capim marandu, para 14,2 ml/g de DMS, na amostra de amendoim forrageiro, enquanto na seca os valores foram de 13,0 ml/g de DMS para 14,8 ml/g de DMS, o que representa acréscimos de 23,0% e 12%, respectivamente.

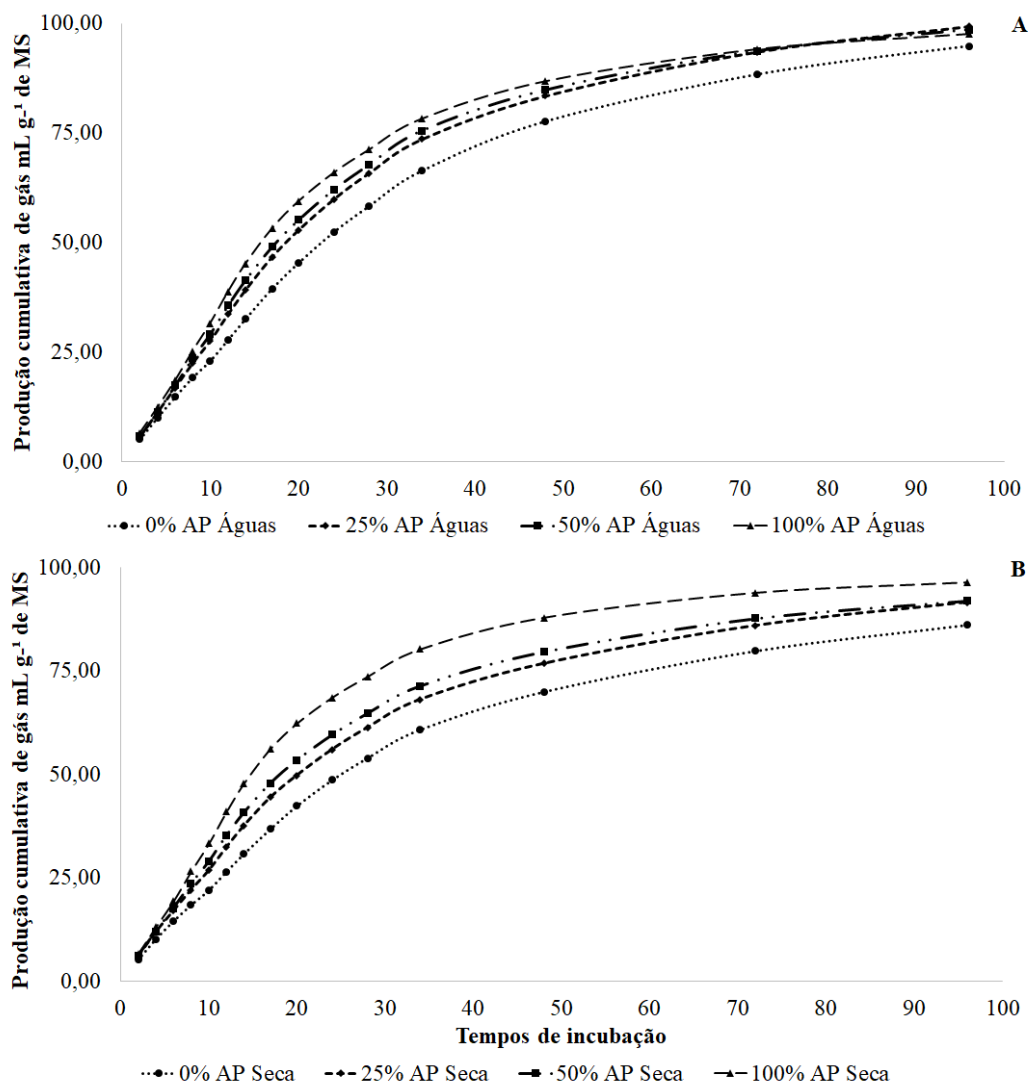


Figura 1 - Produção cumulativa de gás (mL g⁻¹ de Matéria seca) das dietas a base de *Urochloa brizantha* cv. marandu com diferentes níveis de *Arachis pintoi* (0, 25, 50, 100) durante as estações de Águas (A) e Seca (B).

4.3. Perfil de fermentação

A concentração de nitrogênio amoniacal em 24 horas aumentou linearmente ($P < 0,001$) com o aumento da proporção de amendoim forrageiro (figura 5). Houve interação entre estação e proporção de amendoim nos resultados referentes a esta variável ($P < 0,001$). Na estação das águas, a concentração de nitrogênio amoniacal em 24 horas foi de 13,7 % na amostra de capim marandu para 21,6% na amostra de amendoim forrageiro, representando um ganho de 36%, enquanto na seca, a concentração em questão passou de 13,0% para 17,6%, equivalendo a um acréscimo de 21,2%. A concentração de nitrogênio amoniacal em 96 horas aumentou de forma linear ($P < 0,001$) com o aumento da proporção de amendoim forrageiro e também houve interação entre estação e proporção de amendoim nesta variável ($P < 0,001$). Na estação das águas, a concentração de nitrogênio amoniacal em 96 horas foi de 19,2 % em capim marandu para 47,5% em amendoim forrageiro, resultando em um acréscimo de 59%, enquanto na seca, tal variável passou de 21,5% para 40,3%, correspondendo a um aumento de 46,7%.

As concentrações de acetato 24 horas não variaram com o aumento da proporção de amendoim forrageiro ($P > 0,05$). As concentrações de propionato 24 horas reduziram de forma linear com o aumento da proporção de amendoim forrageiro na dieta ($P < 0,001$). A estação das águas apresentou as maiores médias destas concentrações em relação à seca ($P = 0,024$). Assim, nas águas, as concentrações de propionato 24 horas diminuíram de 29,5 $\mu\text{Mol/L}$ na amostra de capim marandu para 22,0 $\mu\text{Mol/L}$ na dieta exclusiva de amendoim forrageiro, enquanto na seca a redução foi de 25,4 $\mu\text{Mol/L}$ para 22,3 $\mu\text{Mol/L}$, sendo as diferenças equivalentes a 25% e 12%, respectivamente.

As concentrações de butirato 24 horas aumentaram linearmente com o aumento da proporção de amendoim forrageiro ($P = 0,047$). Nos resultados desta variável, houve interação entre estação e proporção de amendoim nas dietas ($P < 0,001$), com maiores média observadas na estação das águas. Nesta estação, as concentrações de butirato 24 horas aumentaram de 8,53 $\mu\text{Mol/L}$ para 10,4 $\mu\text{Mol/L}$, nas amostras de capim marandu e amendoim forrageiro, respectivamente, configurando um ganho de 18%. Na seca, o aumento das concentrações foi de 7,70 $\mu\text{Mol/L}$ para 9,94 $\mu\text{Mol/L}$, evidenciando uma elevação de 22,6%. As concentrações de acetato 96 horas aumentaram linearmente ($P < 0,001$) com o aumento da proporção de amendoim forrageiro e diferiram em ambas as estações ($P = 0,017$). Dessa forma, na estação das águas, as médias de concentrações de acetato 96 horas aumentaram de 26,5 $\mu\text{Mol/L}$ na amostra de capim

marandu para 33,8 $\mu\text{Mol/L}$ na de amendoim forrageiro (aumento de 21,4%), ao passo que na seca o aumento foi de 24,2 $\mu\text{Mol/L}$ para 32,3 $\mu\text{Mol/L}$, representando um ganho de 25,3%.

As concentrações de propionato 96 horas não variaram com o aumento da proporção de amendoim ($P>0,05$). No entanto, houve efeito de estação ($P=0,006$), de forma que as maiores concentrações de propionato foram observadas na estação das águas. As concentrações de butirato 96 horas aumentaram linearmente ($P<0,001$) com o aumento da proporção de amendoim nas dietas, mas não houve efeito das estações ($P=0,119$) e interação ($P>0,05$). Nas águas, as médias de concentrações de butirato 96 horas aumentaram de 5,72 $\mu\text{Mol/L}$ para 7,71 $\mu\text{Mol/L}$ (aumento de 25,8%), enquanto na seca o aumento destas concentrações foi de 5,02 $\mu\text{Mol/L}$ para 8,07 $\mu\text{Mol/L}$, correspondendo a um acréscimo de 37,9%. A produção de ácidos graxos voláteis totais 24 horas não variou com o aumento da proporção de amendoim forrageiro ($P>0,05$).

Já a produção de ácidos graxos voláteis totais 96 horas aumentou linearmente ($P<0,001$) com o aumento da proporção de amendoim forrageiro nas dietas. Nas águas, foram observados maiores valores para esta variável em comparação com a seca ($P=0,005$). Nas águas, as médias de produção de ácidos graxos voláteis totais 96 horas aumentaram de 48,2 $\mu\text{Mol/L}$ para 56,9 $\mu\text{Mol/L}$ (acrécimo de 18%), enquanto na seca o aumento desta produção foi de 43,2 $\mu\text{Mol/L}$ para 55,1 $\mu\text{Mol/L}$, nas amostras de capim marandu e amendoim forrageiro respectivamente, resultando em um aumento de 27%.

A produção de proteína microbiana aumentou de forma linear ($P<0,001$) com o acréscimo de amendoim forrageiro nas dietas (Figura 6), com a estação das águas apresentando os maiores valores de PPMic ($P=0,008$). Também nas águas, as médias aumentaram de 98,5 mg/g de MS para 136,9 mg/g de MS (acrécimo de 39%); já na estação da seca, tais médias foram de 92,1 mg/g de MS para 120,8 mg/g de MS, o que equivale a um aumento de 31%.

A relação acetato:propionato 24 horas (A:P 24h) aumentou de forma linear ($P<0,001$) com o aumento da proporção de amendoim nas dietas (figura 6). Nas águas, as médias desta variável aumentaram de 1,67 na amostra de capim marandu para 2,20 na de amendoim forrageiro, correspondendo a um aumento de 23,8%. Na seca, estas médias foram de 1,80 para 2,11, representando um acréscimo de 15%. A relação acetato:propionato 96 horas (A:P 96h) aumentou linearmente ($P<0,001$) com o aumento da proporção de amendoim nas dietas. Nas águas, as médias desta relação aumentaram de 1,66 para 2,21 (aumento de 25%), enquanto na

seca, os valores foram de 1,73 para 2,20 (acréscimo de 21%). O pH apresentou maiores valores para a estação da seca (P=0,026).

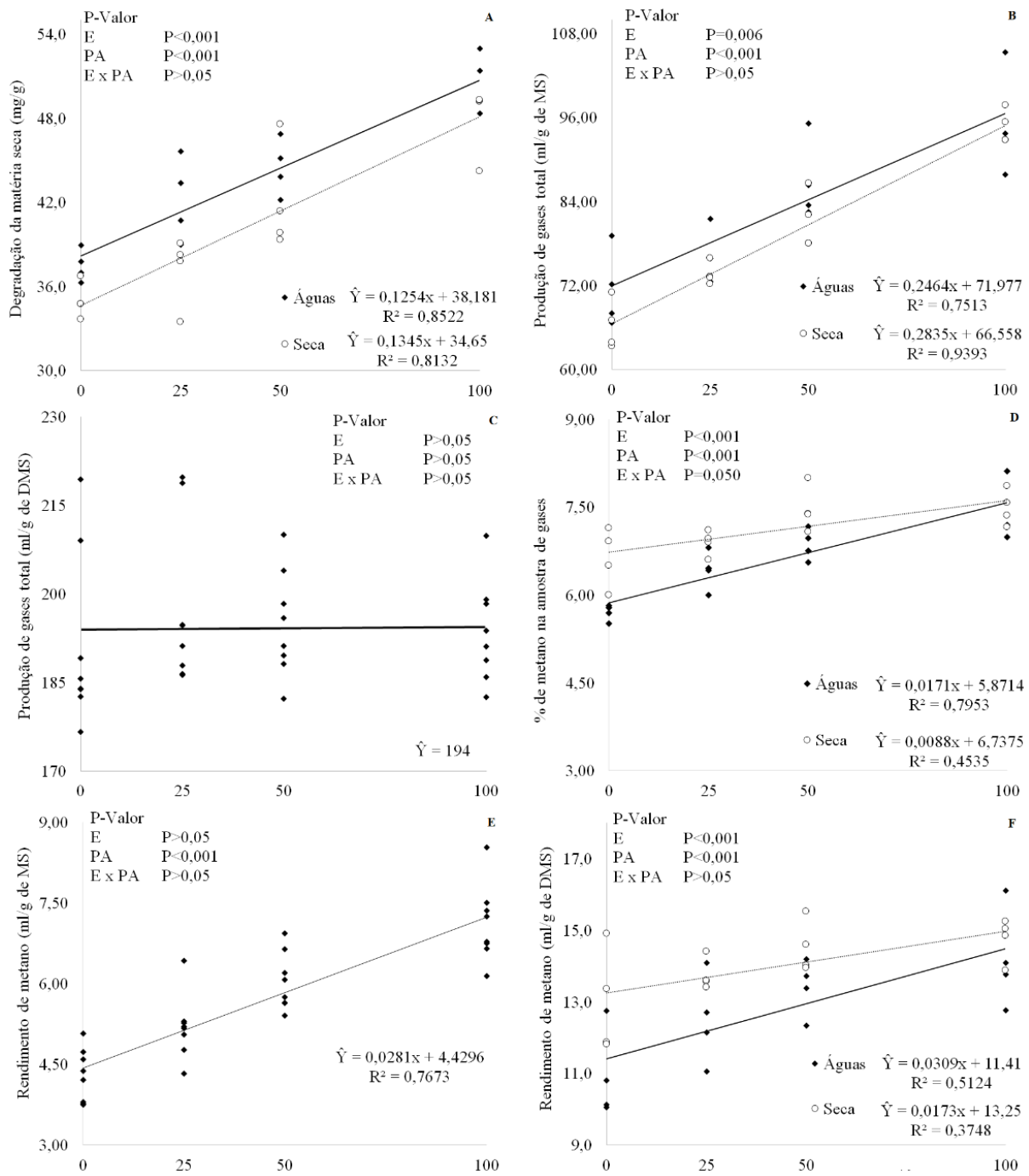


Figura 18 - Degradação da matéria seca (A), produção de gás em função da matéria seca incubada (B), produção de gás em função da matéria seca degradada (C), porcentagem de metano na amostra de gás (D), rendimento de metano pela quantidade de matéria seca incubada (E) e rendimento de metano em função da matéria seca degradada (F) das dietas a base de *Urochloa brizantha* cv. *marandu* com diferentes níveis de *Arachis pinto* (0, 25, 50, 100) durante as estações de Água e Seca.

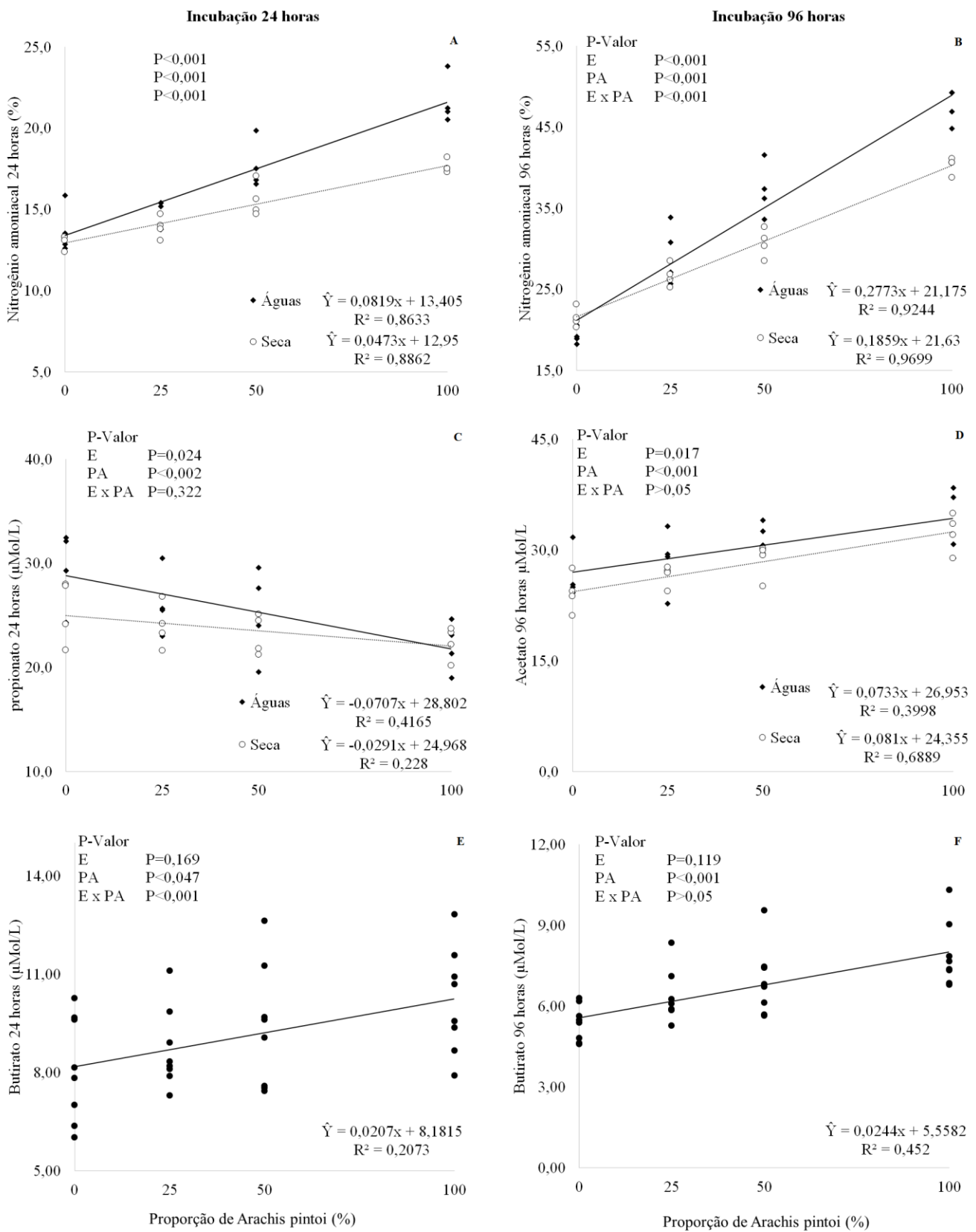


Figura 19 - Concentrações de nitrogênio amoniacal 24h (A), nitrogênio amoniacal 96h (B), propionato 24h (C), acetato 96 h (D), butirato 24h (E), butirato 96h (F) das dietas a base de *Urochloa brizantha* cv. *marandu* com diferentes níveis de *Arachis pintoi* (0, 25, 50, 100) durante as estações de Águas e Seca.

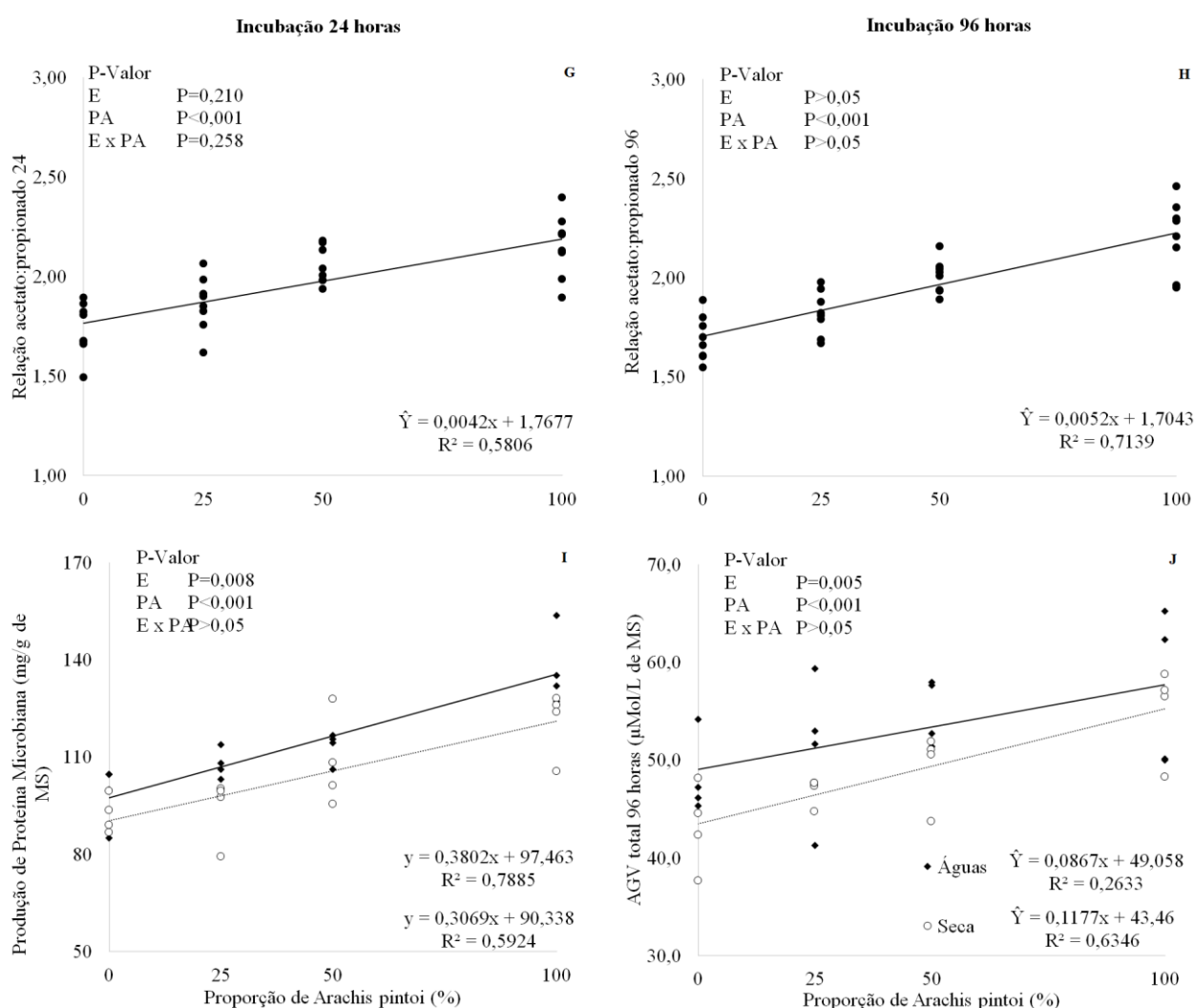


Figura 21 - Concentrações relação acetato:propionato 24h (G), relação acetato:propionato 96h (H), Produção de proteína microbiana (I) e ácidos graxos totais 96 horas (J) das dietas a base de *Urochloa brizantha* cv. *marandu* com diferentes níveis de *Arachis pintoi* (0, 25, 50, 100) durante as estações de Águas e Seca.

4.4. Cinética de produção de gases

A produção de gases da fração CF reduziu com o aumento da proporção de amendoim forrageiro nas dietas ($P=0,020$). Na estação das águas, observou-se maiores médias desta produção em comparação com a seca ($P<0,001$). Nas águas, os valores variaram de 61,4 ml na amostra com capim marandu até 54,7 ml na de amendoim forrageiro. Na seca, a variação foi de 51,8 ml a 51 ml, com valores intermediários oscilando para cima. A taxa de degradação da fração CF (C1S) aumentou de forma linear com o aumento da proporção de amendoim forrageiro ($P<0,001$), com uma tendência de aumento na estação das águas ($P=0,086$). Além disso, houve efeito de interação entre estação e proporção de amendoim forrageiro nos

resultados desta variável ($P=0,006$). O *lagtime* (LS) reduziu com o aumento da proporção de amendoim forrageiro ($P=0,007$). Para estação das águas, o tempo reduziu de 239 para 197 minutos, enquanto na seca, foi de 198 para 181 minutos ($P<0,001$). Dessa forma, a redução seguiu uma tendência linear ($P=0,051$). A produção de gases da fração CNF (V2S) aumentou de forma linear ($P<0,001$) com o aumento da proporção de amendoim forrageiro. Porém, não houve efeito para estação ($P=0,225$). A taxa de degradação da fração CNF (C2S) aumentou linearmente com o aumento da proporção de amendoim forrageiro ($P<0,001$). Na estação das águas, esta taxa variou de 0,058 para 0,072 ml/h/total ml, enquanto na estação seca a variação foi de 0,053 para 0,072 ml/h/total ml (tabela 3).

4.5. Degradabilidade efetiva da matéria seca

Nas degradabilidades efetivas da matéria seca às taxas de passagem de 2%, 3% e 5% (DE2, DE3 e DE5), observou-se efeito quadrático com a elevação da proporção de amendoim forrageiro na dieta. ($P<0,001$). Nas águas, os maiores valores de degradabilidade foram observados com 50% de inclusão de amendoim forrageiro para todas as taxas de passagem ($P<0,001$). Por outro lado, na seca, os maiores valores de degradabilidade efetiva foram registrados com 100% de inclusão de amendoim forrageiro para todas as taxas de passagem. Além disso, os valores de degradabilidade reduziram conforme o aumento da taxa de passagem (tabela 4).

Tabela 3 - Volumes máximos de gases provenientes de carboidratos fibrosos (Vf1-CF) e frações de carboidratos não fibrosos (Vf2-CNF), taxas de fermentação de carboidratos fibrosos (C1-CF) e de carboidratos não fibrosos (C2-CNF), e lag time (L) da fermentação in vitro das dietas a base de *Urochloa brizantha* cv. *marandu* com diferentes níveis de *Arachis pintoi* (0, 25, 50, 100) durante as estações de Águas e Seca.

Variável	Águas				Seca				EPM	E	PA	E*PA	Linear	P-valor	
	0%	25%	50%	100%	0%	25%	50%	100%						Equação	R ²
V1 - CF (ml)	61,4	59,5	59,9	54,7	51,8	52,7	53,5	51,0	2,4	<0,001	0,020	0,189	0,103	$\hat{Y}_{\text{Águas}} = -0,064x + 61,666$	0,468
C1 - CF (mL/h/total ml)	0,017	0,020	0,018	0,021	0,015	0,019	0,017	0,022	0,001	0,086	<0,001	0,006	<0,001	$\hat{Y}_{\text{Seca}} = -0,0097x + 52,661$	0,014
LS (minuto)	239	213	216	197	198	178	175	181	0,227	<0,001	0,007	0,352	0,051	$\hat{Y}_{\text{Águas}} = 3^{-05x} + 0,0174$	0,514
V2 - CNF (ml)	37,8	42,6	43,3	46,6	39,6	43,1	42,4	49,3	2,3	0,200	<0,001	>0,05	<0,001	$\hat{Y}_{\text{Seca}} = 6^{-05x} + 0,0158$	0,696
C2 - CNF (mL/h/total ml)	0,058	0,071	0,064	0,072	0,053	0,067	0,061	0,072	0,004	0,015	<0,001	0,298	<0,001	$\hat{Y}_{\text{Águas}} = -0,0062x + 3,8742$	0,406
														$\hat{Y}_{\text{Seca}} = -0,0022x + 3,1466$	0,057
														$\hat{Y}_{\text{Águas}} = 0,0808x + 39,054$	0,487
														$\hat{Y}_{\text{Seca}} = 0,0914x + 39,588$	0,547
														$\hat{Y}_{\text{Águas}} = 0,0001x + 0,0616$	0,377
														$\hat{Y}_{\text{Seca}} = 0,0002x + 0,0564$	0,571

E (Estação); PA (Proporção de *Arachis pintoi*); E*PA (Interação entre estação e Proporção de *Arachis pintoi*). Itens sublinhados indicam estação da seca.

Tabela 4 - Estimativas de degradação ruminal in vitro da matéria seca de diferentes níveis de inclusão de *Arachis pintoi* (0%, 25%, 50% e 100%) nas dietas, com taxas de passagens crescentes, avaliados nas estações de águas e seca.

Variável	Verão				Inverno				EPM	E	PA	E*PA	Quadrático	P-valor	
	0%	25%	50%	100%	0%	25%	50%	100%						Equação	R ²
DE2	56,5	60,9	62,5	61,8	51,7	55,9	55,1	56,9	1,964	<0,001	0,001	>0,05	0,010	$\hat{Y} = -0,0014x^2 + 0,1933x + 56,605$	0,9891
														$\hat{Y} = -0,0006x^2 + 0,1101x + 52,207$	<u>0,8003</u>
DE3	55,5	60,2	61,7	61,0	51,0	55,3	54,4	56,1	1,945	0,001	<0,001	>0,05	0,008	$\hat{Y} = -0,0015x^2 + 0,1999x + 55,645$	0,9866
														$\hat{Y} = -0,0007x^2 + 0,1113x + 51,533$	<u>0,7864</u>
DE5	53,6	58,6	60,1	59,4	49,7	54,0	53,0	54,5	1,915	<0,001	0,001	>0,05	0,006	$\hat{Y} = -0,0016x^2 + 0,2124x + 53,758$	0,9814
														$\hat{Y} = -0,0007x^2 + 0,1134x + 50,198$	<u>0,7585</u>

DE – Degradabilidade efetiva da matéria seca; K, taxa de passagem estimada de 2%, 3% e 5% por hora. E (Estação); PA (Proporção de *Arachis pintoi*); E*PA (Interação entre estação e Proporção de *Arachis pintoi*)

5. Discussão

A produção de metano no rúmen é um processo natural que protege a fermentação, mas sua mitigação é essencial para tornar a pecuária mais sustentável (MCALLISTER; NEWBOLD, 2008). Estratégias como o uso de leguminosas com taninos condensados têm mostrado eficácia na redução de metano entérico. O consórcio entre gramíneas e leguminosas surge como uma solução sustentável, promovendo diversidade na pastagem, otimização do uso do solo, maior produção de forragem e benefícios ambientais.

No presente trabalho, a produção de gases oriundos de carboidratos fibrosos teve redução com efeito quadrático, mais acentuada para estação das águas. Com maior produção de gases na proporção de 50% de amendoim forrageiro. Conforme a análise bromatológica, o teor desse nutriente reduziu com a inclusão de amendoim forrageiro. A inclusão do amendoim forrageiro reduziu o teor de FDA, mesmo com o aumento da concentração de lignina, pois a lignina se concentra em locais específicos na planta, diferentemente das gramíneas, que se encontram de forma dispersa por toda a planta (JOHANSEN; LUND; WEISBJERG, 2018). Além disso, Sabe-se que os taninos condensados possuem a capacidade de se ligarem a proteínas e a carboidratos fibrosos, o que pode reduzir a digestibilidade desses nutrientes (JAYANEGARA; LEIBER; KREUZER, 2012). Portanto, a inclusão de amendoim forrageiro nas dietas aumentou o potencial de degradação dos compostos fibrosos da dieta.

Em contrapartida, a produção de gases oriundas da degradação de carboidratos não fibrosos elevou com aumento da proporção de amendoim forrageiro. Isso se deve ao fato de que amendoim forrageiro possui maior teor de carboidratos não fibrosos (CASTRO-MONTOYA; DICKHOEFER, 2020) que o capim marandu. A fração CNF consiste de monossacarídeos (glicose e frutose), dissacarídeos (sacarose e maltose) e polissacarídeos (amido), que são rapidamente fermentados no rúmen (HALL; HEREJK, 2001).

O tempo de colonização (Lagtime) reduziu com o aumento da proporção de amendoim forrageiro. Esse parâmetro indicou o início da produção de gases (SCHOFIELD; PITT; PELL, 1994), de forma que o menor tempo de colonização esteve diretamente ligado a substratos que foram rapidamente degradados pelos microrganismos ruminais. Dessa forma, menor Lagtime favorece o aproveitamento da dieta por animais de mais elevada produção, com maior consumo e conseqüentemente, maior taxa de passagem.

Em ambas as estações, a degradabilidade efetiva da matéria seca aumentou conforme a proporção de amendoim forrageiro foi incrementada. Por outro lado, houve redução da degradabilidade com o aumento da taxa de passagem. Já quando combinado o aumento da taxa de passagem com o aumento da proporção de amendoim forrageiro, a degradabilidade efetiva da matéria seca também apresentou crescimento, mas em patamares inferiores se comparado com o crescimento verificado nos casos de incremento apenas do amendoim forrageiro, sem elevação da taxa de passagem. Portanto, o consórcio entre gramíneas e leguminosas aumentou a degradação da fibra da dieta. O que pode promover melhoria do consumo voluntário dos animais devido ao aumento da taxa de passagem, e conseqüentemente, aumenta a resposta em produtividade (DETMANN *et al.*, 2024). Então, à medida que se aumenta a taxa de passagem, reduz-se o tempo disponível para a colonização e para a degradação de alimentos no rúmen.

Foi observado elevação dos teores de N-NH₃ com aumento da proporção de amendoim forrageiro nas dietas nas duas estações. Sabe-se que a produção de gases é um preditor da degradação de proteínas e carboidratos (BLUMMEL, 1997) e N-NH₃ é um indicador de proteólise no rúmen (NIDERKORN; BAUMONT, 2009). Logo, a maior proporção desses compostos associa-se a maior atividade e crescimento de bactérias fibrolíticas, como consequência da maior disponibilidade energética de carboidratos rapidamente fermentados através do CNF (HALL; HEREJK, 2001). Isso pode ser visto pelo aumento da produção de proteína microbiana à medida em que se aumentou o amendoim forrageiro nas dietas.

Independentemente da estação do ano estudada, houve o acréscimo da produção de metano, produção de ácidos graxos totais e gases totais, à medida que se aumentava a proporção de amendoim forrageiro. Que se deve ao maior teor de PB e CNF, além da menor concentração de FDN e FDA. O baixo teor de PB da forragem pode limitar o crescimento de microrganismos do rúmen, e conseqüentemente, limitar o fluxo proteico e a digestibilidade da fibra (VAN SOEST, 1987). Dessa forma, o maior aporte de nitrogênio e energia pelo amendoim forrageiro forneceu o substrato preferencial para o crescimento microbiano no rúmen.

A relação acetato:propionato aumentou com a inclusão de amendoim forrageiro, devido à redução linear da concentração de propionato e à estabilidade dos teores de acetato na dieta. Reduções na produção de propionato foram verificadas em dietas contendo amendoim forrageiro (GOMES *et al.*, 2024; FERNANDES *et al.*, 2013). Com isso, aumenta-se a concentração de H₂ no rúmen, porque o propionato é uma via consumidora desse metabólito (BETANCUR-MURILLO; AGUILAR-MARÍN; JOVEL, 2023). Dessa forma, o aumento de

H₂, aumenta a produção de metano pela *Archeas* metanogênicas, o que explica, em parte, o aumento da produção de metano.

A avaliação *in vitro* do presente trabalho apresentou resultados de metano condizentes com o perfil de fermentação, porque houve aumento da produção de acetato e redução de propionato com o aumento da proporção de amendoim forrageiro nas dietas. O aumento na degradação da matéria seca pode ter favorecido a fermentação acetogênica (PITTA *et al.*, 2022). Portanto, contribuiu para a elevação da produção de metano, pela maior disponibilidade de substratos metanogênicos. Além disso, destaca-se a necessidade de estudos em animais de produção para avaliar em que medida a intensidade das emissões pode ser reduzida, pois o maior teor proteico e o melhor aproveitamento da dieta conferidos pelo amendoim podem favorecer o desempenho animal e diminuir as emissões por unidade de produto gerado.

A inclusão do amendoim forrageiro aumentou a concentração de taninos condensados das dietas em ambas as estações do ano, no entanto, não foi observado seus efeitos em reduzir a produção de metano. Reduções dose-dependentes de metano são observadas com o aumento de CT em leguminosas (SODER; ROCA-FERNANDEZ; DILLARD, 2019). Os resultados corroboram com os de PIZZOL *et al.*, (2017), onde não foi observado redução da produção de metano em dietas com gramíneas tropicais e temperadas com diferentes proporções de amendoim forrageiro. O que pode ser explicado pela baixa concentração de CT no amendoim forrageiro que foi de 21,2 g/kg e 12,0 g/kg, para águas e seca, respectivamente.

Uma possível explicação para o aumento da produção de metano seria o longo período de armazenamento das amostras, coletadas em 2018 para os experimentos de HOMEM *et al.* (2024), no qual, mitigou a produção de metano em 14%. Após isso, estas mesmas amostras foram submetidas à análise *in vitro* no ano de 2023. A literatura indica que o armazenamento prolongado pode reduzir a funcionalidade dos taninos condensados devido a reações químicas como oxidação e interações com outros compostos (MUELLER-HARVEY *et al.*, 2019). Dessa forma, é possível que o período de armazenamento de cinco anos tenha ocasionado perdas nas características e composição de taninos condensados das amostras, e consequentemente, redução da sua efetividade.

Outra possibilidade para o aumento da produção de metano seria a não adaptação dos animais doadores de inóculo ruminal ao material utilizado, pois a adaptação prévia do líquido ruminal às condições experimentais reduzem as variações que podem interferir nos resultados (TILLEY; TERRY, 1963). Em ambas as estações, a diferença de teores de taninos condensados

nas amostras com 100% de amendoim forrageiro, em comparação com aquelas com 100% de capim marandu, era de 23 vezes e 16 vezes, para águas e seca, respectivamente.

Portanto, os resultados de aumento de degradação da matéria seca, produção de ácidos graxos voláteis e produção de proteína microbiana direcionam ao aumento de ganho de peso e produção pelos animais quando em pastagens consorciadas entre gramíneas e leguminosas (HOMEM *et al.*, 2024). Dessa forma, há redução da intensidade das emissões de metano (BEAUCHEMIN *et al.*, 2022), que está ligado a produção de CH₄ por quilo de produto animal produzido.

6. Conclusão

A inclusão de amendoim forrageiro em dietas à base de capim marandu melhorou significativamente a qualidade nutricional, elevando linearmente o teor de proteína bruta e de carboidratos não-fibrosos e reduzindo a fração fibrosa, o que se traduziu em maior produção de proteína microbiana e de ácidos graxos voláteis. Apesar dessas melhorias fermentativas, não se observou redução na produção absoluta de metano, possivelmente em razão do aumento da degradação da matéria seca e da relação acetato:propionato, que favorece as Archaea metanogênicas. Além disso, os taninos condensados não exerceram efeito antimetanogênico aparente, talvez pela baixa concentração inicial ou pela degradação durante o armazenamento das amostras.

Diante desses achados, torna-se imprescindível aprofundar o conhecimento sobre os mecanismos de interação entre a composição química do amendoim forrageiro e as vias fermentativas ruminais, bem como testar a estabilidade dos taninos ao longo do processamento. Mais importante ainda, estudos *in vivo* em ruminantes de produção são essenciais para avaliar não apenas a emissão absoluta de CH₄, mas sobretudo sua intensidade por unidade de produto, além de confirmar os impactos sobre o desempenho animal e a viabilidade prática da inclusão de amendoim forrageiro na dieta.

REFERÊNCIAS

- ALI, A. I. M. *et al.* Digesta passage and nutrient digestibility in Boran steers at low feed intake levels. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 103, n. 5, p. 1325–1337, 2019.
- ALVAREZ-HESS, P. S. *et al.* Effect of dietary fat supplementation on methane emissions from dairy cows fed wheat or corn. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 3, p. 2714–2723, 1

mar. 2019.

ALVAREZ, C. E.; MAURINO, V. G. Adaptive diversity in structure and function of C4 photosynthetic components. **Biochemical Society Transactions**, v. 51, n. 3, p. 1157–1168, 18 maio 2023.

AMARAL, A. P. S. F. et al. Use of F57 bags by the semi-automatic in vitro technique of gas production. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, v. 66, n. 6, p. 1936–1940, 2014.

AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. American Oil Chemists' Society. **Official Methods and Recommended Practices of the AOCS American Oil Chemists' Society**, 2005.

ANDRADE, E. A. et al. Herbage intake, methane emissions and animal performance of steers grazing dwarf elephant grass v. dwarf elephant grass and peanut pastures. **Animal**, v. 10, n. 10, p. 1684–1688, 2016a.

ANDRADE, E. A. et al. Short communication : Herbage intake , methane emissions and animal performance of steers grazing dwarf elephant grass v . dwarf elephant grass and peanut pastures. **Animal, The International Journal of Animal Biosciences**, v. 10, n. 10, p. 1684–1688, 2016b.

ARNDT, C. et al. Full adoption of the most effective strategies to mitigate methane emissions by ruminants can help meet the 1.5 °C target by 2030 but not 2050. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 119, n. 20, p. 1–10, 2022.

BEAUCHEMIN, K. A. et al. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. **AUSTRALIAN JOURNAL OF EXPERIMENTAL AGRICULTURE**, v. 48, n. Conference on Greenhouse Gases and Animal Agriculture, p. 21–27, 2008.

BEAUCHEMIN, K. A. et al. Invited review: Current enteric methane mitigation options. **Journal of Dairy Science**, v. 105, n. 12, p. 9297–9326, 2022a.

BEAUCHEMIN, K. A. et al. Invited review: Current enteric methane mitigation options. **Journal of Dairy Science**, v. 105, n. 12, p. 9297–9326, dez. 2022b.

BERNDT, A.; TOMKINS, N. W. Measurement and mitigation of methane emissions from beef cattle in tropical grazing systems: a perspective from Australia and Brazil. **Animal : an international journal of animal bioscience**, v. 7 Suppl 2, n. 2013, p. 363–372, 2013.

BESHARATI, M. et al. Tannin in Ruminant Nutrition: Review. **Molecules**, v. 27, n. 23, 2022.

BETANCUR-MURILLO, C. L.; AGUILAR-MARÍN, S. B.; JOVEL, J. Prevotella: A Key Player in Ruminal Metabolism. **Microorganisms**, v. 11, n. 1, p. 1–18, 2023.

BLUMMEL, B. M. In vitro gas production : a technique revisited. v. 77, p. 24–34, 1997.

CAMERON, L. et al. A comparison of milk yields and methane production from three

contrasting high-yielding dairy cattle feeding regimes: Cut-and-carry, partial grazing and total mixed ration. **Grass and Forage Science**, v. 73, n. 3, p. 789–797, 2 set. 2018.

CAPPER, J. L.; CADY, R. A. The effects of improved performance in the U.S. dairy cattle industry on environmental impacts between 2007 and 2017. **Journal of Animal Science**, v. 98, n. 1, p. 1–14, 2020.

CARMONA-FLORES, L. et al. Milk Production, N Partitioning, and Methane Emissions in Dairy Cows Grazing Mixed or Spatially Separated Simple and Diverse Pastures. **Animals**, v. 10, n. 8, p. 1301, 30 jul. 2020.

CARVALHO, L. R. et al. Nodulation and biological nitrogen fixation (BNF) in forage peanut (*Arachis pintoi*) cv. Belmonte subjected to grazing regimes. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 278, n. August 2018, p. 96–106, 2019.

CASTRO-MONTOYA, J. M.; DICKHOEFER, U. The nutritional value of tropical legume forages fed to ruminants as affected by their growth habit and fed form: A systematic review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 269, n. August, p. 114641, 2020.

CHEN, S. et al. Encoded C 4 homologue enzymes genes function under abiotic stresses in C3 plant. **Plant Signaling & Behavior**, v. 17, n. 1, 2022.

CHENG, M.; MCCARL, B.; FEI, C. Climate Change and Livestock Production: A Literature Review. **Atmosphere**, v. 13, n. 1, 2022.

CHUNG, G. et al. The Effects of Domestication on Secondary Metabolite Composition in Legumes. **FRONTIERS IN GENETICS**, v. 11, n. September, 2020.

CONANT, R. T. et al. Grassland management impacts on soil carbon stocks: A new synthesis: A. **Ecological Applications**, v. 27, n. 2, p. 662–668, 2017.

CONGIO, G. F. DE S. et al. Enteric methane mitigation strategies for ruminant livestock systems in the Latin America and Caribbean region: A meta-analysis. **Journal of Cleaner Production**, v. 312, 2021.

CRIPPA, M., G. **GHG emissions of all world countries**. [s.l: s.n.].

DAL PIZZOL, J. G. et al. Complementarities between grasses and forage legumes from temperate and subtropical areas on in vitro rumen fermentation characteristics. **ANIMAL FEED SCIENCE AND TECHNOLOGY**, v. 228, p. 178–185, 2017.

DE KÁSSIA GOMES, F. et al. Carbohydrates and protein digestive traits in beef cattle grazing fertilised or mixed tropical pasture. **Archives of Animal Nutrition**, v. 78, n. 1, p. 60–77, 2 jan. 2024.

DETMANN, E. et al. What is the impact of neutral detergent fibre digestibility on productive performance of beef cattle fed tropical forages? **Livestock Science**, v. 290, n. August, p. 105608, 2024.

DIAS-FILHO, M. B. Diagnóstico das Pastagens no Brasil. **Embrapa Amazônia Oriental**, v.

Documentos, p. 21–43, 2014.

EDWARDS, E. J. et al. The Origins of C4 Grasslands: Integrating Evolutionary and Ecosystem Science. **Science**, v. 328, n. 5978, p. 587–591, 30 abr. 2010.

EHLERINGER, JAMES R. AND CERLING, T. E. C 3 and C 4 plants. **The Earth system: biological and ecological dimensions of global environmental change**, v. 2, n. 72, p. 186–190, 2002.

FAGUNDES, G. M. et al. Tannin-rich forage as a methane mitigation strategy for cattle and the implications for rumen microbiota. **Animal Production Science**, v. 61, n. 1, p. 26, 2021.

FAO. The state of food and agriculture: Livestock in the balance. **FAO**, p. 180, 13 abr. 2009.

FERNANDES, G. M. et al. In situ degradability and selected ruminal constituents of sheep fed with peanut forage hay. **Archives of Animal Nutrition**, v. 67, n. 5, p. 393–405, 2013.

FERRARETTO, L. F.; SHAVER, R. D.; LUCK, B. D. Silage review: Recent advances and future technologies for whole-plant and fractionated corn silage harvesting. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 3937–3951, 2018.

FOX, D. G. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: III. Cattle requirements and diet adequacy. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 11, p. 3578–3596, 1 nov. 1992.

FRANCE, J. et al. A Model to Interpret Gas Accumulation Profiles Associated with In Vitro Degradation of Ruminant Feeds. **Journal of Theoretical Biology**, v. 163, n. 1, p. 99–111, jul. 1993.

GALVANI, F.; GAERTNER, E. Adequação da Metodologia Kjeldahl para determinação de Nitrogênio Total e Proteína Bruta. **Circular Técnica**, v. 4, p. 1–9, 2006.

GOMES, F. D. K. et al. Archives of Animal Nutrition Carbohydrates and protein digestive traits in beef cattle grazing fertilised or mixed tropical pasture. **Archives of Animal Nutrition**, v. 00, n. 00, p. 1–18, 2024.

GOOPY, J. P. et al. Severe below-maintenance feed intake increases methane yield from enteric fermentation in cattle. **British Journal of Nutrition**, v. 123, n. 11, p. 1239–1246, 2020.

HALL, M. B.; HEREJK, C. Differences in yields of microbial crude protein from in vitro fermentation of carbohydrates. **Journal of Dairy Science**, v. 84, n. 11, p. 2486–2493, 2001.

HECKATHORN, S. A.; MCNAUGHTON, S. J.; COLEMAN, J. S. **C4 Plants and Herbivory**. [s.l.] Woodhead Publishing Limited, 1999.

HOMEM, B. G. C. et al. Palisadegrass pastures with or without nitrogen or mixed with forage peanut grazed to a similar target canopy height . 1 . Effects on herbage mass , canopy structure and forage nutritive value. n. February, p. 1–13, 2021a.

HOMEM, B. G. C. et al. Palisadegrass pastures with or without nitrogen or mixed with forage peanut grazed to a similar target canopy height. 2. Effects on animal performance, forage intake and digestion, and nitrogen metabolism. **Grass and Forage Science**, v. 76, n. 3, p. 413–426, 2021b.

HOMEM, B. G. C. et al. Forage peanut legume as a strategy for improving beef production without increasing livestock greenhouse gas emissions. **Animal**, v. 18, n. 5, p. 101158, 2024.

HRISTOV, A. N. et al. An inhibitor persistently decreased enteric methane emission from dairy cows with no negative effect on milk production. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 112, n. 34, p. 10663–10668, 25 ago. 2015.

HUWS, S. A. et al. Addressing global ruminant agricultural challenges through understanding the rumen microbiome: Past, present, and future. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. SEP, p. 1–33, 2018.

IBGE. **Produção da Pecuária Municipal 2023**. Rio de Janeiro: [s.n.]. Disponível em: <<https://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-catalogo?view=detalhes&id=784>>.

JANK, L. et al. The value of improved pastures to Brazilian beef production. **Crop and Pasture Science**, v. 65, n. 11, p. 1132–1137, 2014.

JAYANEGARA, A.; LEIBER, F.; KREUZER, M. Meta-analysis of the relationship between dietary tannin level and methane formation in ruminants from in vivo and in vitro experiments. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 96, n. 3, p. 365–375, jun. 2012.

JOHANSEN, M.; LUND, P.; WEISBJERG, M. R. Feed intake and milk production in dairy cows fed different grass and legume species: A meta-analysis. **Animal**, v. 12, n. 1, p. 66–75, 2018.

JOHNSON, A.D. Sample preparation and chemical analysis of vegetation. In: t'MANNETJE, L. (Ed.). *Measurement of grassland vegetation and animal production Aberystwyth: Commonwealth Agricultural Bureaux*, 1978. p.96-102.

JOHNSON, K. et al. Measurement of methane emissions from ruminant livestock using a sulfur hexafluoride tracer technique. **Environmental Science & Technology**, v. 28, n. 2, p. 359–362, 1 fev. 1994.

KELLN, B. M. et al. Impact of condensed tannin-containing legumes on ruminal fermentation, nutrition, and performance in ruminants: a review. **CANADIAN JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE**, v. 101, n. 2, p. 210–223, 2021.

KIM, H. et al. The effects of dietary supplementation with 3-nitrooxypropanol on enteric methane emissions, rumen fermentation, and production performance in ruminants: A meta-analysis. **Journal of Animal Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 31–42, 2020.

KRAPOVICKAS, A.; GREGORY, W. C. TAXONOMIA DEL GENERO “ ARACHIS (LEGUMINOSAE)” Published by : Instituto de Botánica del Nordeste (IBONE) Stable

URL : <https://www.jstor.org/stable/41941177>. v. 8, n. 1, p. 1–179, 1994.

LAL, R. Soil Carbon Sequestration Impacts on Global Climate Change and Food Security. **Science**, v. 304, n. 5677, p. 1623–1627, 11 jun. 2004.

MACHADO, L. et al. Identification of bioactives from the red seaweed *Asparagopsis taxiformis* that promote antimethanogenic activity in vitro. **Journal of Applied Phycology**, v. 28, n. 5, p. 3117–3126, 2016.

MAPBIOMAS. Mapeamento Anual de Cobertura e Uso da Terra do Brasil – Coleção 7. Destaques do mapeamento anual da cobertura e uso da terra no Brasil de 1985 a 2021: pastagem. p. 1–11, 2022.

MARUMO, J. L.; LAPIERRE, P. A.; VAN AMBURGH, M. E. Enteric Methane Emissions Prediction in Dairy Cattle and Effects of Monensin on Methane Emissions: A Meta-Analysis. **Animals**, v. 13, n. 8, 2023.

MAURICIO, R. M. et al. A semi-automated in vitro gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. **Animal Feed Science and Technology**, v. 79, n. 4, p. 321–330, 1999.

MAURINO, V. G. Using energy-efficient synthetic biochemical pathways to bypass photorespiration. **Biochemical Society Transactions**, v. 47, n. 6, p. 1805–1813, 22 nov. 2019.

MAZZETTO, A. M.; FALCONER, S.; LEDGARD, S. Mapping the carbon footprint of milk production from cattle: A systematic review. **Journal of Dairy Science**, v. 105, n. 12, p. 9713–9725, 2022.

MCALLISTER, T. A.; NEWBOLD, C. J. Redirecting rumen fermentation to reduce methanogenesis. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 48, n. 1–2, p. 7–13, 2008.

MELGAR, A. et al. Effects of 3-nitrooxypropanol on rumen fermentation, lactational performance, and resumption of ovarian cyclicity in dairy cows. **JOURNAL OF DAIRY SCIENCE**, v. 103, n. 1, p. 410–432, 2020.

MELGAR, A. et al. Enteric methane emission, milk production, and composition of dairy cows fed 3-nitrooxypropanol. **Journal of dairy science**, v. 104, n. 1, p. 357–366, 2021.

MIN, B. R.; SOLAIMAN, S. Comparative aspects of plant tannins on digestive physiology, nutrition and microbial community changes in sheep and goats: A review. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 102, n. 5, p. 1181–1193, 2018.

MORAIS MOURA, A. et al. Nutritive value and in vitro methane production of *Urochloa brizantha* cv. Marandu under fixed time or variable stocking cycles. **Grass and Forage Science**, v. 76, n. 3, p. 427–439, 2021.

MOREIRA, G. D. et al. Tropical tanniferous legumes used as an option to mitigate sheep enteric methane emission. **Tropical Animal Health and Production**, v. 45, n. 3, p. 879–882, 7 mar. 2013.

- MUELLER-HARVEY, I. et al. Benefits of Condensed Tannins in Forage Legumes Fed to Ruminants: Importance of Structure, Concentration, and Diet Composition. **CROP SCIENCE**, v. 59, n. 3, p. 861–885, 2019.
- NAUMANN, H. et al. Relationships between Structures of Condensed Tannins from Texas Legumes and Methane Production During In Vitro Rumen Digestion. **MOLECULES**, v. 23, n. 9, 2018.
- NAUMANN, H. D. et al. Effect of molecular weight of condensed tannins from warm-season perennial legumes on ruminal methane production in vitro. **BIOCHEMICAL SYSTEMATICS AND ECOLOGY**, v. 50, p. 154–162, 2013.
- NAWAB, A. et al. The Potential Effect of Dietary Tannins on Enteric Methane Emission and Ruminant Production, as an Alternative to Antibiotic Feed Additives-A Review. **Annals of Animal Science**, v. 20, n. 2, p. 355–388, 2020.
- NIDERKORN, V.; BAUMONT, R. Associative effects between forages on feed intake and digestion in ruminants. **ANIMAL**, v. 3, n. 7, p. 951–960, 2009.
- OLIVEIRA, B. S. et al. In vitro screening of plants from the Brazilian Caatinga biome for methanogenic potential in ruminant nutrition. p. 35538–35547, 2018.
- PATRA, A. K.; SAXENA, J. Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, n. 1, p. 24–37, 15 jan. 2011.
- PELL, A. N.; SCHOFIELD, P. Computerized Monitoring of Gas Production to Measure Forage Digestion In Vitro. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 4, p. 1063–1073, 1993.
- PITTA, D. et al. Symposium review: Understanding the role of the rumen microbiome in enteric methane mitigation and productivity in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 105, n. 10, p. 8569–8585, 1 out. 2022.
- PIZZOL, J. G. D. et al. Complementarities between grasses and forage legumes from temperate and subtropical areas on in vitro rumen fermentation characteristics. **Animal Feed Science and Technology**, v. 228, n. November 2016, p. 178–185, 2017.
- PORTER, L. J.; HRSTICH, L. N.; CHAN, B. G. The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. **Phytochemistry**, v. 25, n. 1, p. 223–230, 1985.
- RAMÍREZ-RESTREPO, C. A.; BARRY, T. N. Alternative temperate forages containing secondary compounds for improving sustainable productivity in grazing ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v. 120, n. 3–4, p. 179–201, maio 2005.
- RAMOS, B. L. P. et al. Forage production, morphogenetic and structural components, and nutritional value of tropical grasses in the semiarid condition. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 43, n. 6, p. 2499–2516, 2022.
- REZAEI AHVANOOEI, M. R. et al. Effects of monensin supplementation on lactation performance of dairy cows: a systematic review and dose–response meta-analysis. **Scientific**

Reports, v. 13, n. 1, p. 1–13, 2023.

RUSSELL, J. B. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 11, p. 3551–3561, 1 nov. 1992.

SAEG Sistema para Análises Estatísticas, Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes - UFV - Viçosa, 2007.

SCHOFIELD, P.; PITT, R. E.; PELL, A. N. Kinetics of fiber digestion from in vitro gas production. **Journal of animal science**, v. 72, n. 11, p. 2980–2991, 1994.

SEEG. SEEG - ANÁLISE DAS EMISSÕES DE GASES DE EFEITO ESTUFA E SUAS IMPLICAÇÕES PARA AS METAS CLIMÁTICAS DO BRASIL - 1970-2022. p. 34, 2023.

SEEG. SEEG - ANÁLISE DAS EMISSÕES DE GASES DE EFEITO ESTUFA E SUAS IMPLICAÇÕES PARA AS METAS CLIMÁTICAS DO BRASIL - 1970-2023. p. 49, 2024.

SHELTON, I. D.; WAGHORN, G. C. Effect of condensed tannins in *Lotus corniculatus* on the nutritive value of pasture for sheep. **The Journal of Agricultural Science**, v. 128, n. 3, p. 365–372, 1997.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. DE. **Análise de alimentos : métodos químicos e biológicos**. 3. ed ed. Viçosa SE - 235 p: UFV Viçosa, 2006.

SKIDMORE, M. E. et al. Erratum: Sustainable intensification in the Brazilian cattle industry: the role for reduced slaughter age (*Environmental Research Letters* (2022) 17 (064026) DOI: 10.1088/1748-9326/ac6f70). **Environmental Research Letters**, v. 17, n. 8, 2022.

SNIFFEN, C. J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 11, p. 3562–3577, 1 nov. 1992.

SODER, K. J.; ROCA-FERNANDEZ, A.; DILLARD, S. L. Ruminal fermentation and enteric methane production of legumes containing condensed tannins fed in continuous culture. **JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE**, v. 97 MA-P, p. 297- 298 WE- Science Citation Index Expanded (SCI, 2019).

TAPIO, I. et al. The ruminal microbiome associated with methane emissions from ruminant livestock. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 8, n. 1, p. 1–11, 2017.

TILLEY, J. M. A.; TERRY, R. A. a Two-Stage Technique for the in Vitro Digestion of Forage Crops. **Grass and Forage Science**, v. 18, n. 2, p. 104–111, 1963.

UDÉN, P. et al. Use of replicates in statistical analyses in papers submitted for publication in *Animal Feed Science and Technology*. **Animal Feed Science and Technology**, v. 171, n. 1, p. 1–5, 2012.

UNGERFELD, E. M. Metabolic Hydrogen Flows in Rumen Fermentation: Principles and Possibilities of Interventions. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, n. April, 2020.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional Ecology of the Ruminant: Ruminant Metabolism, Nutritional Strategies, the Cellulolytic Fermentation and the Chemistry of Forages and Plant Fibers.** [s.l.] Comstock Pub. Associates, 1987.

VITOUSEK, P. M. et al. Biological nitrogen fixation: Rates, patterns and ecological controls in terrestrial ecosystems. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 368, n. 1621, 2013.

WAY, D. A. et al. Increasing water use efficiency along the C₃ to C₄ evolutionary pathway : a stomatal optimization perspective. v. 65, n. 13, p. 3683–3693, 2014.

ZHANG, X. et al. Characterization of the complete chloroplast genome of *Arachis pintoi* Krapov . & W . C . Greg ., a perennial leguminous forage. **Mitochondrial DNA Part B**, v. 6, n. 12, p. 3452–3453, 2021.

ZHAO, C. et al. Inflammatory mechanism of Rumenitis in dairy cows with subacute ruminal acidosis. **BMC Veterinary Research**, v. 14, n. 1, p. 1–8, 2018.

7. Mateial complementar

FOR	MO	CZ	EE	FDA	FDN	LIG	PTN	CNF	PH	DIFPHP	DMS
MO	0,00	0,00	0,02	0,00	0,01	0,41	0,00	0,29	0,30	0,30	0,01
CZ		0,00	0,02	0,00	0,01	0,41	0,00	0,29	0,30	0,30	0,01
EE			0,00	0,04	0,23	0,04	0,47	0,02	0,20	0,20	0,37
FDA				0,00	0,01	0,14	0,00	0,12	0,08	0,08	0,01
FDN					0,00	0,00	0,00	0,00	0,47	0,47	0,00
LIG						0,00	0,00	0,00	0,17	0,17	0,00
PTN							0,00	0,00	0,37	0,37	0,00
CNF								0,00	0,48	0,48	0,00
PH									0,00	0,00	0,11
DIFPHP										0,00	0,11
DMS											0,00
DMS96											
GASI											
GASD											
CH4P											
CH4I											
CH4D											
AF											
BF											
DF											
CF											
V1S											
C1S											
LS											
V2S											
C2S											
ACE24											
PROP24											
BUT24											
ACE96											
PROP96											
BUT96											
AP24											
AP96											
NNH324											
NNH396											
TC											
TCMS											
DE 2%											
DE 3%											
DE 5%											
DE %8											
AGV24h											
%ace24											
%pro24											
%but24											
AGV96h											
%ace96											
%pro96											
%but96											
PPMIC											

Figura 22 - Correlações de todas as variáveis das dietas a base de *Urochloa brizantha* cv. marandu com diferentes níveis de *Arachis pintoi* (0, 25, 50, 100) durante as estações de Águas e Seca. Continuação na próxima página.

FOR	DMS96	GASI	GASD	CH4P	CH4I	CH4D	AF	BF	DF	CF	VIS	CIS
MO	0,00	0,03	0,34	0,41	0,13	0,29	0,00	0,09	0,35	0,02	0,04	0,04
CZ	0,00	0,03	0,34	0,41	0,13	0,29	0,00	0,09	0,35	0,02	0,04	0,04
EE	0,23	0,19	0,07	0,03	0,09	0,01	0,22	0,34	0,17	0,17	0,17	0,32
FDA	0,00	0,03	0,24	0,33	0,16	0,20	0,00	0,44	0,44	0,12	0,00	0,24
FDN	0,00	0,00	0,47	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,48	0,01	0,29	0,00
LIG	0,29	0,00	0,37	0,00	0,00	0,00	0,49	0,00	0,49	0,06	0,00	0,00
PTN	0,00	0,00	0,47	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,46	0,01	0,48	0,00
CNF	0,01	0,00	0,47	0,00	0,00	0,00	0,17	0,00	0,38	0,03	0,10	0,00
PH	0,10	0,05	0,09	0,24	0,09	0,13	0,28	0,08	0,11	0,16	0,00	0,45
DIFPHP	0,10	0,05	0,09	0,24	0,09	0,13	0,28	0,08	0,11	0,16	0,00	0,45
DMS	0,00	0,00	0,31	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,44	0,07	0,44	0,00
DMS96	0,00	0,00	0,41	0,45	0,02	0,41	0,00	0,04	0,48	0,12	0,00	0,00
GASI		0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,37	0,20	0,39	0,00
GASD			0,00	0,36	0,14	0,00	0,25	0,44	0,06	0,12	0,42	0,25
CH4P				0,00	0,00	0,00	0,07	0,02	0,01	0,49	0,00	0,01
CH4I					0,00	0,00	0,26	0,00	0,13	0,30	0,17	0,00
CH4D						0,00	0,03	0,08	0,00	0,26	0,02	0,01
AF							0,00	0,03	0,00	0,08	0,00	0,02
BF								0,00	0,02	0,03	0,01	0,00
DF									0,00	0,10	0,41	0,42
CF										0,00	0,33	0,09
VIS											0,00	0,24
CIS												0,00
LS												
V2S												
C2S												
ACE24												
PROP24												
BUT24												
ACE96												
PROP96												
BUT96												
AP24												
AP96												
NNH324												
NNH396												
TC												
TCMS												
DE 2%												
DE 3%												
DE 5%												
DE %8												
AGV24h												
%ace24												
%pro24												
%but24												
AGV96h												
%ace96												
%pro96												
%but96												
PPMIC												

Figura 41 - Correlações de todas as variáveis das dietas a base de *Urochloa brizantha* cv. marandu com diferentes níveis de *Arachis pintoi* (0, 25, 50, 100) durante as estações de Águas e Seca. Continuação na próxima página.

FOR	LS	V2S	C2S	ACE24	PROP24	BUT24	ACE96	PROP96	BUT96	AP24	AP96	NNH324	NNH396
MO	0,20	0,14	0,04	0,29	0,27	0,11	0,02	0,11	0,08	0,07	0,09	0,00	0,01
CZ	0,20	0,14	0,04	0,29	0,27	0,11	0,02	0,11	0,08	0,07	0,09	0,00	0,01
EE	0,31	0,33	0,29	0,05	0,33	0,03	0,30	0,15	0,29	0,15	0,32	0,49	0,26
FDA	0,00	0,34	0,05	0,05	0,18	0,01	0,04	0,01	0,09	0,29	0,44	0,00	0,01
FDN	0,19	0,00	0,00	0,17	0,01	0,00	0,00	0,32	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
LIG	0,00	0,00	0,00	0,43	0,00	0,05	0,00	0,15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
PTN	0,38	0,00	0,00	0,19	0,02	0,00	0,00	0,15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
CNF	0,07	0,00	0,00	0,16	0,01	0,00	0,00	0,38	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
PH	0,00	0,01	0,09	0,09	0,07	0,14	0,01	0,00	0,19	0,30	0,16	0,17	0,37
DIFPHP	0,00	0,01	0,09	0,09	0,07	0,14	0,01	0,00	0,19	0,30	0,16	0,17	0,37
DMS	0,47	0,00	0,00	0,15	0,01	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
DMS96	0,04	0,07	0,00	0,10	0,42	0,06	0,00	0,02	0,01	0,06	0,09	0,00	0,00
GASI	0,47	0,00	0,00	0,21	0,03	0,01	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
GASD	0,42	0,23	0,10	0,38	0,35	0,40	0,08	0,05	0,17	0,23	0,38	0,34	0,38
CH4P	0,00	0,01	0,00	0,49	0,00	0,13	0,00	0,49	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
CH4I	0,12	0,00	0,00	0,31	0,00	0,02	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
CH4D	0,01	0,10	0,00	0,40	0,00	0,18	0,00	0,27	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00
AF	0,00	0,06	0,05	0,07	0,22	0,06	0,07	0,06	0,11	0,32	0,33	0,04	0,03
BF	0,11	0,00	0,00	0,29	0,01	0,08	0,01	0,24	0,02	0,01	0,00	0,00	0,00
DF	0,01	0,08	0,06	0,31	0,18	0,28	0,43	0,46	0,25	0,06	0,45	0,50	0,33
CF	0,48	0,02	0,29	0,03	0,47	0,01	0,42	0,17	0,23	0,02	0,09	0,02	0,03
V1S	0,00	0,00	0,26	0,06	0,01	0,29	0,35	0,00	0,43	0,08	0,00	0,48	0,19
C1S	0,18	0,00	0,00	0,36	0,01	0,05	0,00	0,31	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
LS	0,00	0,00	0,36	0,22	0,00	0,44	0,44	0,00	0,21	0,00	0,00	0,50	0,11
V2S		0,00	0,03	0,44	0,00	0,07	0,05	0,02	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00
C2S			0,00	0,41	0,03	0,02	0,00	0,04	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00
ACE24				0,00	0,00	0,00	0,32	0,13	0,46	0,07	0,22	0,18	0,20
PROP24					0,00	0,01	0,07	0,11	0,02	0,00	0,00	0,03	0,00
BUT24						0,00	0,02	0,20	0,06	0,03	0,08	0,00	0,00
ACE96							0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
PROP96								0,00	0,12	0,43	0,09	0,05	0,30
BUT96									0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
AP24										0,00	0,00	0,00	0,00
AP96											0,00	0,00	0,00
NNH324												0,00	0,00
NNH396													0,00
TC													
TCMS													
DE 2%													
DE 3%													
DE 5%													
DE %8													
AGV24h													
%ace24													
%pro24													
%but24													
AGV96h													
%ace96													
%pro96													
%but96													
PPMIC													

Figura 42 - Correlações de todas as variáveis das dietas a base de *Urochloa brizantha* cv. marandu com diferentes níveis de *Arachis pintoi* (0, 25, 50, 100) durante as estações de Águas e Seca. Continuação na próxima página.

FOR	TC	TCMS	DE 2%	DE 3%	DE 5%	DE %8	AGV24h	%ace24	%pro24	%but24	AGV96h
MO	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,38	0,29	0,27	0,11	0,02
CZ	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,38	0,29	0,27	0,11	0,02
EE	0,47	0,47	0,25	0,27	0,29	0,34	0,08	0,05	0,33	0,03	0,22
FDA	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,05	0,18	0,01	0,02
FDN	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,39	0,17	0,01	0,00	0,00
LIG	0,00	0,00	0,28	0,28	0,28	0,28	0,16	0,43	0,00	0,05	0,01
PTN	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,39	0,19	0,02	0,00	0,00
CNF	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,39	0,16	0,01	0,00	0,00
PH	0,50	0,50	0,09	0,08	0,07	0,06	0,07	0,09	0,07	0,14	0,00
DIFPHP	0,50	0,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,39	0,15	0,01	0,00	0,00
DMS	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,39	0,15	0,01	0,00	0,00
DMS96	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14	0,10	0,42	0,01	0,00
GASI	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,42	0,21	0,03	0,01	0,00
GASD	0,49	0,49	0,46	0,48	0,47	0,41	0,50	0,38	0,35	0,40	0,12
CH4P	0,00	0,00	0,39	0,35	0,30	0,22	0,15	0,49	0,00	0,13	0,01
CH4I	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,37	0,31	0,00	0,02	0,00
CH4D	0,01	0,01	0,49	0,47	0,39	0,28	0,17	0,40	0,00	0,18	0,01
AF	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08	0,07	0,29	0,06	0,05
BF	0,00	0,00	0,05	0,06	0,08	0,12	0,19	0,29	0,01	0,08	0,04
DF	0,36	0,36	0,36	0,28	0,16	0,06	0,47	0,31	0,18	0,28	0,39
CF	0,01	0,01	0,14	0,15	0,18	0,23	0,08	0,03	0,47	0,12	0,49
V1S	0,41	0,41	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,06	0,01	0,29	0,12
C1S	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,22	0,36	0,01	0,05	0,00
LS	0,25	0,25	0,05	0,07	0,09	0,15	0,06	0,22	0,00	0,44	0,23
V2S	0,00	0,00	0,09	0,10	0,12	0,16	0,23	0,44	0,00	0,07	0,20
C2S	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,42	0,41	0,03	0,02	0,00
ACE24	0,17	0,17	0,10	0,09	0,09	0,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,26
PROP24	0,01	0,01	0,39	0,38	0,35	0,32	0,00	0,00	0,00	0,09	0,14
BUT24	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,03
ACE96	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,46	0,32	0,07	0,02	0,00
PROP96	0,28	0,28	0,02	0,02	0,02	0,02	0,11	0,13	0,11	0,20	0,00
BUT96	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,34	0,46	0,02	0,06	0,00
AP24	0,00	0,00	0,05	0,04	0,03	0,02	0,50	0,07	0,00	0,03	0,01
AP96	0,00	0,00	0,09	0,10	0,10	0,11	0,09	0,22	0,00	0,08	0,01
NNH324	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,36	0,18	0,03	0,00	0,00
NNH396	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,47	0,20	0,00	0,00	0,00
TC	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,41	0,17	0,01	0,00	0,00
TCMS		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,41	0,17	0,01	0,00	0,00
DE 2%			0,00	0,00	0,00	0,00	0,14	0,10	0,39	0,01	0,00
DE 3%				0,00	0,00	0,00	0,14	0,09	0,38	0,00	0,00
DE 5%					0,00	0,00	0,14	0,09	0,35	0,00	0,00
DE %8						0,00	0,14	0,08	0,32	0,00	0,00
AGV24h							0,00	0,00	0,00	0,00	0,37
%ace24								0,00	0,00	0,00	0,26
%pro24									0,00	0,01	0,14
%but24										0,00	0,03
AGV96h											0,00
%ace96											
%pro96											
%but96											
PPMIC											

Figura 43 - Correlações de todas as variáveis das dietas a base de *Urochloa brizantha* cv. marandu com diferentes níveis de *Arachis pintoi* (0, 25, 50, 100) durante as estações de Águas e Seca. Continuação na próxima página.

FOR	%ace96	%pro96	%but96	PPMIC
MO	0,12	0,10	0,31	0,01
CZ	0,12	0,10	0,31	0,01
EE	0,26	0,33	0,46	0,43
FDA	0,39	0,48	0,40	0,01
FDN	0,00	0,00	0,01	0,00
LIG	0,00	0,00	0,01	0,00
PTN	0,00	0,00	0,04	0,00
CNF	0,00	0,00	0,00	0,00
PH	0,39	0,16	0,13	0,30
DIFPHP	0,00	0,00	0,03	0,00
DMS	0,00	0,00	0,03	0,00
DMS96	0,23	0,07	0,11	0,00
GASI	0,00	0,00	0,19	0,00
GASD	0,05	0,44	0,01	0,01
CH4P	0,00	0,00	0,10	0,00
CH4I	0,00	0,00	0,14	0,00
CH4D	0,00	0,00	0,47	0,12
AF	0,49	0,35	0,28	0,01
BF	0,00	0,00	0,08	0,00
DF	0,44	0,38	0,27	0,29
CF	0,23	0,08	0,13	0,00
V1S	0,01	0,01	0,27	0,49
C1S	0,00	0,00	0,03	0,00
LS	0,02	0,00	0,05	0,05
V2S	0,00	0,00	0,04	0,00
C2S	0,06	0,00	0,03	0,00
ACE24	0,31	0,25	0,36	0,06
PROP24	0,01	0,00	0,02	0,03
BUT24	0,03	0,07	0,28	0,00
ACE96	0,00	0,00	0,33	0,00
PROP96	0,33	0,06	0,04	0,23
BUT96	0,22	0,00	0,00	0,00
AP24	0,01	0,00	0,02	0,00
AP96	0,00	0,00	0,01	0,00
NNH324	0,00	0,00	0,19	0,00
NNH396	0,00	0,00	0,04	0,00
TC	0,00	0,00	0,01	0,00
TCMS	0,00	0,00	0,01	0,00
DE 2%	0,24	0,07	0,10	0,00
DE 3%	0,24	0,07	0,09	0,00
DE 5%	0,25	0,07	0,09	0,00
DE %8	0,26	0,06	0,08	0,00
AGV24h	0,20	0,10	0,19	0,24
%ace24	0,31	0,25	0,36	0,06
%pro24	0,01	0,00	0,02	0,03
%but24	0,09	0,07	0,28	0,00
AGV96h	0,01	0,01	0,22	0,00
%ace96	0,00	0,00	0,25	0,03
%pro96		0,00	0,00	0,00
%but96			0,00	0,00
PPMIC				0,00

Figura 44 - Correlações de todas as variáveis das dietas a base de *Urochloa brizantha* cv. marandu com diferentes níveis de *Arachis pintoi* (0, 25, 50, 100) durante as estações de Águas e Seca. Continuação na próxima página.