

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO

MATHEUS LIMA CORRÊA ABREU

**AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DA CUNHÃ (*Clitoria ternatea* L.) EM
DIFERENTES IDADES DE CORTE**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES
2012**

MATHEUS LIMA CORRÊA ABREU

**AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DA CUNHÃ (*Clitoria ternatea* L.) EM
DIFERENTES IDADES DE CORTE**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para obtenção de grau de Mestre em Ciência Animal.

ORIENTADOR: PROF. RICARDO AUGUSTO MENDONÇA VIEIRA

**CAMPOS DOS GOYTACAZES
2012**

MATHEUS LIMA CORRÊA ABREU

**AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DA CUNHÃ (*Clitoria ternatea* L.) EM
DIFERENTES IDADES DE CORTE**

**Dissertação apresentada ao Centro de
Ciências e Tecnologias Agropecuárias da
Universidade Estadual do Norte Fluminense
Darcy Ribeiro, como requisito parcial para
obtenção do grau de Mestre em Ciência
Animal.**

Aprovada em 14 de março de 2012.

Comissão Examinadora:

Prof. Douglas Sampaio Henrique (D. Sc., Zootecnia) - UTFPR

Prof. Mirton José Frota Morenz (D. Sc., Produção Animal) - EMBRAPA

Prof. Alberto Magno Fernandes (D. Sc., Zootecnia) - UENF
Co-Orientador

Prof. Ricardo Augusto Mendonça Vieira (D. Sc., Zootecnia) - UENF
Orientador

AGRADECIMENTOS

A Deus, aos meus amados pais, José Clóvis Antunes Abreu e Carmen Lúcia Lima Corrêa Abreu, minha namorada Marcella Costa Radael e seu pais Sr. Itair e Sra. Dalgiza pelo apoio incondicionais, por sempre acreditarem em mim e por fazerem todo o possível para que eu conquistasse os meus objetivos.

Ao orientador Ricardo Augusto Mendonça Vieira, agradeço a confiança em mim depositada, a atenção e compreensão com minhas dificuldades; a dedicação e ensinamentos transmitidos com segurança, essenciais ao bom desenvolvimento deste trabalho, e pelas experiências acadêmico-científicas que, certamente, serão de grande valia em minha carreira.

A equipe da caprinocultura: Leonardo, Nardele, Norberto, Raphael e Wagner, eu agradeço pela grande ajuda na realização dos trabalhos a campo, pelos momentos de descontração e agradável convivência.

A Daniela Oss pela convivência e ajuda nas incubações necessárias para realização desse experimento.

As funcionárias da coordenação do programa de pós graduação em Ciência Animal, Jovana e Conceição, pelo carinho e paciência.

A Natalia, Elizabeth, Vanessa, Carolina, Elias e Gilson, pela excelente convivência, pelos bons momentos compartilhados que tornaram meus dias aqui mais agradáveis.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão da bolsa de estudo.

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, pela oportunidade de realização do curso, crescimento pessoal e profissional.

Ao professor Alberto Magno Fernandes agradeço pela convivência e ajuda durante esses anos.

Aos professores Carlos Augusto Brandão de Carvalho e Douglas Henrique Sampaio por participarem da banca examinadora, por todas as sugestões e críticas fundamentais à complementação desse trabalho.

A todos aqueles que mesmo não tendo sido nominados tive a oportunidade de conviver nesses últimos dois anos e que muito contribuíram para que eu pudesse chegar até aqui.

Muito obrigado!!!

“Talvez meio caminho andado seja a gente acreditar no que faz. Mas acima de tudo, o que mais nos incentiva, o que mais nos valoriza, e também mais nos torna conscientes de nossa responsabilidade, é saber que outros crêm em nós. E não há palavras que descrevam o que sentimos ao saber dos sacrifícios a que eles se impõem, por crerem não apenas em nós mas, também, no que cremos”.

Albert Einstein

BIOGRAFIA

Matheus Lima Corrêa Abreu, Filho de José Clovis Antunes Abreu e Carmen Lúcia Lima Corrêa Abreu, nascido em Itaboraí, RJ, em 18 de Janeiro de 1984.

Concluiu o ensino médio no Colégio “Nossa Senhora de Natividade” em Itaperuna –RJ em Dezembro de 2001.

Ingressou no Curso de Zootecnia na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, através do Vestibular, em março de 2004. Concluiu o curso em Dezembro de 2008.

Durante a graduação foi bolsista de apoio acadêmico e extensão universitária na mesma instituição. Foi membro do colegiado acadêmico do curso de zootecnia, onde representou os alunos deste curso durante um ano. Participou como membro da PROCAMPO Consultoria Agropecuária – primeira empresa Júnior da UENF, entre os anos de 2004 e 2007. Foi membro fundador, membro do Conselho administrativo, Consultor de zootecnia, Gerente de Projetos Externos de Zootecnia e Diretor de Projetos de Zootecnia. Participou do estagio do Programa de Desenvolvimento da Pecuária Leiteira da Região de Viçosa – PDPL-RV, convênio entre a *Dairy Partners América* e a Universidade Federal de Viçosa através da Fundação Arthur Bernardes, durante os meses de agosto e setembro de 2006.

De Maio de 2009 a Março de 2010 foi bolsista “Universidade Aberta” do Programa de Extensão da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro com o Projeto intitulado “Caracterização Zootécnica de Rebanhos e Sócio-econômica de Criadores de Caprinos Leiteiros no Noroeste Fluminense”

Iniciou o mestrado no curso de Ciência Animal em Março de 2010 sob orientação do professor Ricardo Augusto Mendonça Vieira. E em Março de 2012 submeteu-se à defesa de Dissertação para a obtenção do título de mestre em Ciência Animal.

RESUMO

ABREU, Matheus, Lima, Corrêa, M. Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; Março de 2012; Avaliação Nutricional da Cunhã (*Clitoria ternatea* L.) em Diferentes Idades de Corte. Professor Orientador: Ricardo Augusto Mendonça Vieira.

As amostras de *Clitoria ternatea* L. foram cortadas aos 35, 50, 70 e 90 dias após o corte de uniformização na área experimental. O experimento foi projetado como um delineamento inteiramente casualizado, com total de 18 unidades experimentais (parcelas). A matéria seca (MS) e a produção de matéria seca (PMS) da planta inteira foram separadas quantitativamente em folhas, em hastes e em vagens para cada idade de corte. As análises bromatológicas e cinéticas de produção de gás *in vitro* realizadas avaliaram a qualidade de cada parte da planta. A produção, a composição química e os parâmetros de produção de gás estimados foram analisados por meio de ajuste de um modelo estatístico misto com dois tipos de estrutura de covariância: componente de variância e não estruturada com variância heterogênea. Os “pools” de produção rápida e lenta de gás foram detectados tanto para folhas quanto nas hastes. Apenas nas vagens foram detectados “pool” simples de produção de gás. Pressuposta homocedasticidade foi confirmada para todas as variáveis exceto a cutina nas hastes e para alguns parâmetros da cinética de produção de gás das folhas e hastes. A produção de matéria seca da planta apresentou tendência cúbica semelhante a um padrão de curva sigmoide. A PMS de folhas apresentou efeito quadrático e a PMS de hastes aumentou linearmente. Não

houve presença representativa de vagens aos 35 e 50 dias. O teor de MS da planta inteira teve efeito quadrático e apresentou o mínimo no intervalo de 90 dias. As frações não fibrosas e a cutina das folhas não foram afetadas pela idade de corte. A idade de corte afetou a maioria dos componentes químicos e os parâmetros de produção de gás relativos às hastes. Baseado no máximo da PMS para as folhas, o corte de 70 dias maximizou a quantidade de partes comestíveis de massa de leguminosas forrageiras de alta qualidade. No entanto, o equilíbrio entre produção sustentável de forragem e qualidade tem que ser pesquisado.

Palavra chaves: Leguminosa tropical, Produção de forrageira, Composição bromatológica, Cinética de produção de gases.

ABSTRACT

ABREU, Matheus Lima Corrêa, M. Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; March 2012; Nutritional evaluation of butterfly pea (*Clitoria ternatea* L.) in different ages of cutting. Advisor: Ricardo Augusto Mendonça Vieira.

Samples of *Clitoria ternatea* L. were harvested at 35, 50, 70, and 90 d after a uniformity harvest in a field study designed as a completely randomized design with a total of 18 experimental units. The dry matter (DM) yield (DMY) of the whole plant was separated quantitatively into leaves, stems, and pods at each harvesting age. Chemical analyses and *in vitro* gas production kinetics were performed to assess the quality of the plant parts. Yields, chemical composition, and estimates of gas production parameters were analyzed by fitting a mixed statistical model with two types of covariance structures as follows: variance components and an unrestricted structure with heterogeneous variances. Fast and slow gas yielding pools were detected for both leaves and stems parts, but only a single pool was detected for pods. The homocedasticity assumption was more likely for all variables, except leaf cutin, and for some parameters of the gas production kinetics of leaves and stems. The DMY of the whole plant presented a cubic trend and resembled a crescent sigmoid-shaped pattern. The leaf DMY presented a quadratic fit, and the stem DMY increased linearly. There was no presence of typical pods at 35 and 50 d. The DM content of the whole plant was quadratic and presented a minimum in the 90 d interval. The non-fibrous fractions and cutin of the leaves were unaffected by

harvesting age, while the fibrous fractions were affected by harvesting age. The harvesting age affected the majority of the chemical constituents and gas kinetic parameters related to the stems. Based on the maximum DMY for leaves, the 70 d harvest maximized the amount of high quality edible parts of the forage legume mass. However, a compromise between a sustainable forage production and quality has to be achieved.

Keywords: Tropical legumes, Forage yield, Chemical composition, Gas production kinetics.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1. Classificação e Origem	15
2.2. Características agronômicas	15
2.3. Consumo Voluntário	19
2.4. Composição Bromatológica.....	21
2.4.1. Composição química da cunhã	23
2.5. Digestibilidade e técnica de degradação in vitro	23
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
CAPÍTULO 1	33
APÊNDICE(S)	64

1. INTRODUÇÃO

A baixa disponibilidade na época seca e qualidade do valor nutritivo das forrageiras tropicais estão entre os principais entraves da produção pecuária nacional devido à maior proporção de lignina incrustada na parede celular das plantas forrageiras, o que limita a eficiência de produção de carne e de leite na maioria dos empreendimentos pecuários nas regiões agropastoris do Brasil tropical. Outro problema é a estacionalidade da produção forrageira, mais predominante nas gramíneas C₄, que geram reflexos na necessidade de complementação alimentar dos animais e nos custos de produção, pois os insumos obtidos externamente à propriedade, especialmente as fontes de nitrogênio para manutenção de fertilidade do solo, da produção e da adequação do valor nutricional da dieta animal, oneram excessivamente o sistema (BARCELOS et al., 2004). Além do mais, as informações bromatológicas disponíveis de muitas gramíneas e leguminosas forrageiras tropicais são ainda limitadas a alguns métodos laboratoriais, havendo, portanto, a necessidade de se obter informações adicionais como aquelas alcançadas por meio da análise sequencial da fibra e do fracionamento e cinética digestiva de carboidratos e proteínas.

As leguminosas forrageiras tropicais têm muito a contribuir devido à capacidade de fixação simbiótica do nitrogênio atmosférico e o maior conteúdo de proteína. Além dessa característica, essas forrageiras apresentam produtividade e consumo voluntário satisfatório que é um dos pré-requisitos para ser utilizado na alimentação de ruminantes.

O grau de sucesso das leguminosas tropicais forrageiras utilizadas é extremamente variável, principalmente nos sistemas de consórcio entre gramíneas e leguminosas. A produção de feno é uma alternativa viável de direcionar a produção de leguminosas forrageiras, no entanto, as legumineiras e os bancos de proteínas podem ser as formas mais baratas e seguras de cultivar essas forrageiras para alimentar o gado.

A cunhã (*Clitoria ternatea* L.) tem se destacado entre as leguminosas forrageiras tropicais devido à capacidade de adaptação a diferentes climas ao redor do mundo, por tolerar bem períodos de estiagem, por apresentar boa persistência, por manter bom rendimento forrageiro e por seu potencial quantitativo, no que se refere à melhoria da produtividade animal, com custo relativamente menor que o de certas fontes proteicas concentradas.

Apesar desse potencial para uso pecuário, são necessárias pesquisas mais aprofundadas para que se possa estimar o valor nutritivo dessa leguminosa, de forma mais precisa e exata. Alguns estudos têm sido conduzidos no país, principalmente na região nordeste, todavia existe uma carência de resultados nas demais regiões brasileiras em relação ao valor nutricional e ao manejo a ser adotado dentro da propriedade. Com base nos estudos já realizados, é possível inferir que a cunhã apresenta alto valor protéico e qualidade de fibra com custo relativamente baixo, o que torna um recurso forrageiro alternativo à substituição, pelo menos em parte, de alimentos concentrados.

Há, portanto, a necessidade de mais estudos para quantificar a produtividade e o valor nutricional da cunhã em diferentes estádios de maturidade. Ademais, a existência de dados conflitantes na literatura relacionados à produtividade e à composição bromatológica apontam para que sejam realizadas pesquisas mais detalhadas sobre esta leguminosa, particularmente no que se refere ao seu uso como fonte de alimento de boa qualidade para caprinos.

O trabalho teve como objetivo estimar o rendimento forrageiro, a composição bromatológica e os parâmetros relativos à cinética de produção de gás *in vitro* da cunhã (*Clitoria ternatea* L.) em diferentes estádios de maturidade.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Classificação e Origem

Clitoria ternatea L. é uma planta da família *Fabaceae* subfamília *Faboideae*, tribo *Phaseoleae*, subtribo *Clitoriinae* (COOK et al., 2005). No Brasil é popularmente conhecida como cunhã (HALL, 1985; COOK et al., 2005). Sua origem é controversa. Há indícios de que sua verdadeira origem tenha sido na ilha Ternate do arquipélago Molucas na Indonésia (GUPTA et al., 2010). Todavia, existem também relatos de que esta planta possa ser originária da Ásia (GOMEZ & KALAMANI, 2003; AVALOS et al., 2004; BARRO & RIBEIRO, 1983), da América do Sul ou Central do Caribe (COOK et al., 2005). Isso se deve ao fato de ser amplamente cultivada e naturalizada ao redor do mundo (MORRIS, 2009).

2.2. Características agronômicas

A cunhã é uma leguminosa forrageira bianual (AVALOS et al., 2004; HALL, 1985; CONWAY et al., 2001; DOUGHTON et al., 2001; NICHOLS et al, 2007) com flores que variam de cor azul escuro a branca (MORRIS, 2009). É altamente palatável e geralmente preferida pelos animais em detrimento a outras forrageiras (ROUT, 2005; GOMEZ & KALAMANI, 2003). É uma leguminosa que apresenta diversas formas de utilização, tais como: alimentação de ruminantes, cobertura vegetal, ornamentação, além de fornecer componentes bioativos com valor medicinal (GOMEZ & KALAMANI, 2003; GUPTA et al., 2010).

É uma leguminosa forrageira tropical delgada, volúvel, com cinco folíolos e raízes profundas. Distribui-se em toda a zona tropical do globo terrestre e se propaga por meio de sementes (HALL, 1985; GOMEZ & KALAMANI, 2003; BARROS et al., 2004; AVALOS et al., 2004).

Leguminosas forrageiras são geralmente boas fontes de proteína para ruminantes em pastagens (BALOYI et al., 2001). A cunhã possui boa digestibilidade da matéria seca e os relatos numéricos da literatura oscilam entre 60 e 75% (GOMEZ & KALAMANI, 2003). No entanto, não apresenta boa resistência se pastejada por períodos longos, dessa forma, ela tende a desaparecer, o que torna mais conveniente a produção direcionada tanto para a fenação quanto para legumineira (AVALOS et al., 2004).

Dentre as leguminosas forrageiras pesquisadas e muito utilizadas na pecuária está a leucena (*Leucaena leucocephala* Lam. de Wit) devido ao alto conteúdo proteico de suas folhas. Porém, Conway et al., (2001) observaram algumas vantagens que a cunhã tem em relação à leucena. Visto que, quando comparada, a cunhã possui baixo custo de estabelecimento e menor risco de fracasso devido à maior resistência a competição com ervas daninhas. Custo de remoção menor, o que pode permitir rotação de cultura na área, e o estabelecimento mais rápido, favorecendo o primeiro pastejo e ou a produção de forragem em menor tempo.

No que diz respeito aos aspectos agronômicos, a cunhã apresenta outras qualidades como a capacidade de se adaptar a solos argilosos, a facilidade de controle de ervas daninhas durante o plantio, a propagação por sementes que possibilita o aumento de sua população ao longo do tempo; é produtiva, com boa qualidade de forragem e proporciona excelente ganho de peso nos bovinos. Ademais, tolera baixas temperaturas e proporciona fertilidade ao solo (DOUGHTON et al., 2001).

Ademais, a cunhã adapta-se a solos com pH de 5,5 a 8,9, o que inclui solos calcários, e a altitudes de 0 a 1.800 metros em regiões com precipitação de 800 a 4.000 mm e temperaturas de 19 a 32°C (GOMEZ & KALAMANI, 2003); tolera bem a seca e pode se desenvolver em localidades onde o regime pluvial é de apenas 380 mm/ano (BARROS, et al., 2004); atinge altura entre 60 e 70 cm (BARRO & RIBEIRO, 1983) e apresenta elevado potencial para produção anual de forragem (REYNOSO et al., 2003). No entanto, a produção de matéria seca é muito dependente das condições hídricas, uma vez que não tolera encharcamento

(BARRO & RIBEIRO, 1983; HALL, 1985). No primeiro ano o rendimento pode alcançar de 0,5 a 4,0 ton MS.ha⁻¹.corte⁻¹. Nos anos subsequentes a produção anual de matéria seca pode variar de 1,5 a 5,0 ton.ha⁻¹ em áreas exclusivas de cunhã (CONWAY et al., 2001).

Nesse sentido, Barro & Ribeiro, 1983 relatam que produções podem alcançar 17, 27, 29 e 27 ton.ha⁻¹.ano⁻¹ de matéria seca com cortes nas idades de 42, 56, 70 e 84 dias, respectivamente. Isto corrobora os resultados encontrados por Araújo Filho et. al., (1994), que obtiveram rendimentos nas mesmas idades de corte, com produções de 17, 24, 22 e 21 ton.ha⁻¹.ano⁻¹ de matéria seca e produção máxima registrada no segundo corte. Porém, ambos os trabalhos foram realizados na mesma região o que pode caracterizar um resultado endêmico. Todavia, as inferências de boa produção de matéria seca supracitadas, a cunhã tem potencial para ser cultivada com finalidade de fonte de fibra de boa qualidade para ruminantes (HALL, 1985, CONWAY et al., 2001; JUMA et al., 2006). A utilização dessa leguminosa pode ser em forma de pastagem, banco de proteína ou legumineira (corte), sendo esta última disponibilizada aos animais na forma *in natura*, pré-murchada ou na forma de feno (AVALOS et al., 2004).

Outra maneira de cultivo da cunhã que tem sido estudada é a consorciação com as gramíneas. No entanto, a produção é aquém do cultivo solteiro, obviamente devido à competição por nutrientes e área. Nesse sentido, Reynoso et al., (2003) pesquisaram a associação da cunhã com a grama estrela (*Cynodon plectostachyus* K. Schum. Pilg) em quatro ciclos de pastejos e observaram uma produção máxima de cunhã de 15 ton MS. ha⁻¹ no primeiro ciclo de pastejo, decrescendo nos ciclos subsequentes com 30 dias de descanso. No consórcio entre a cunhã e o capim elefante (*Pennisetum purpureum*, Schumach.) observou-se que a produção de matéria seca da leguminosa solteira foi maior que o sistema consorciado, contudo, a introdução de cunhã nas parcelas de capim elefante não afetou a produção de biomassa da gramínea (ARAÚJO FILHO et al., 1996). Esse declínio é possivelmente justificado devido ao maior poder de rebrota das gramíneas em relação as leguminosas e essas últimas podem não sobreviver, uma vez que, o sistema fisiológico das leguminosas é do tipo C₃, o que as tornam fotossinteticamente menos eficientes que as gramíneas C₄, além da possível seleção feita pelos animais que preferem as leguminosas, mais palatáveis que as gramíneas (VAN SOEST, 1994).

Os herbívoros, principalmente os classificados como intermediários, quanto ao hábito alimentar como os caprinos, têm preferência por alimentar-se de materiais mais tenros, com melhor valor nutritivo como as folhas, quando dada oportunidade. Devido a isso, a relação folha/caule existente em uma leguminosa pode ser um indicativo de qualidade da forragem ofertada uma vez que irá interferir no consumo da mesma por parte dos animais (PFISTER & MALECHEK, 1986; VAN SOEST, 1996).

A cunhã aos 102 dias de transplântio e cultivadas em vasos apresentaram uma relação folha/haste de 1,3 (TEIXEIRA et al., 2010). Mistura et al., (2010) avaliaram 5 níveis de adubação orgânica (esterco de ovino) e observaram uma relação folha/haste média de 1,4 com 45 dias de rebrota e não houve efeito de tratamento para essa variável. Uma tendência decrescente dessa relação foi relatada por Barro & Ribeiro, (1983) quando observaram as proporções de 1,26; 0,87; 0,73 e 0,97 em feno de cunhã para as idades de 42, 56, 70 e 84 dias de rebrotas, respectivamente. Contudo, as metodologias utilizadas para avaliar a relação folha/haste por esses trabalhos são diferentes, o que dificulta uma análise mais verossímil.

É importante salientar que no processo de fenação de leguminosas podem ocorrer perdas consideradas de folhas, o que acarretaria na redução do valor nutritivo do feno ofertado ao gado (COLLINS, 1983). A relação folha/haste interfere na fixação de N, e o maior teor desse elemento encontra-se nas folhas, mais precisamente na Ribulose bifsosfato carboxilaseoxigenase – RUBISCO (TEIXEIRA, 2008).

Em estudos com a fixação biológica de N e a rebrota nas leguminosas *Calopogonio mucunoides* e *Clitoria ternatea*, Sousa et al., (1996) concluíram que essa última apresentou maior habilidade de adaptação ao estresse decorrente da remoção da parte aérea em relação à primeira espécie, com pequena redução da massa nodular, rapidez na recuperação da atividade de enzima nitrogenase e, conseqüentemente, influenciando no rendimento de nitrogênio no vegetal. Este autor atribuiu a maior capacidade de rebrota da cunhã à sua maior disponibilidade de carboidratos de reserva nas raízes e ao seu desenvolvimento radicular robusto.

2.3. Consumo Voluntário

O consumo voluntário refere-se à quantidade máxima de matéria seca ingerida espontaneamente pelo animal (VAN SOEST, 1994). Ou pode ser definido como a quantidade ingerida de alimento por um animal ou grupo de animais durante um determinado período de tempo, durante o qual eles têm livre acesso ao alimento oferecido (FORBES, 2007).

O consumo voluntário é um dos componentes do valor nutritivo dos alimentos, junto com a digestibilidade e a eficiência de utilização energética. No entanto, o consumo oferece muitas variações entre animais, o que torna o estabelecimento dos valores alimentares relativo a esse componente, difícil de ser estimado de forma precisa (VAN SOEST, 1994).

A teoria atualmente dominante de controle de consumo em ruminantes limita-se aos efeitos de propriedades físicas dos volumosos e do conteúdo energético da dieta (CONRAD et al., 1964; MERTENS, 1987). No entanto, essa hipótese tem sofrido críticas com base na pressuposição de que metabólitos produzidos a partir de substratos proteicos e energéticos estejam envolvidos nos mecanismos de regulação do consumo (PITTROFF & KOTHMANN, 1999).

Fedele et al., (2002) demonstram que cabras foram capazes de ajustar sua dieta para adequar suas exigências ao longo do ciclo produtivo (lactação + período seco). Isso está de acordo com a hipótese de que a regulação do consumo é realizada não só pelo balanço nutricional da dieta do animal, mas, principalmente, em função das exigências energéticas e proteicas do mesmo para desempenhar suas funções reprodutivas, produtivas e de manutenção (PITTROFF & KOTHMANN, 1999). Ainda assim, os animais do experimento de Fedele et al., (2002) ingeriram fibra insolúvel em detergente neutro de forragem seletivamente, o que indica que este nutriente é também exigido pelos animais (VAN SOEST, 1994) e possivelmente está envolvido na regulação do consumo voluntário de matéria seca (MERTENS, 1987).

Em relação aos componentes da parede celular vegetal, Oba & Allen, (1999) relataram que a concentração de FDN da forragem é inversamente proporcional ao consumo voluntário de ruminantes. Assim, forragem com baixa concentração de FDN tende a ter maior consumo. Para Van Soest, (1994), o consumo voluntário é uma característica circunstancial ao ambiente e que pode ser influenciado por

muitos fatores, inclusive pela característica da forragem disponível para o animal numa dada época do ano.

Forbes, (2007) relatou que não existe uma relação estreita entre o nível de consumo voluntário e o teor em carboidratos da forragem. No entanto, pode ser, sim, que uma fração da parede celular vegetal, como a FDN, seja um bom preditor da ingestão de forragens (VAN SOEST, 1994).

Outros fatores, como aqueles que limitam a digestibilidade podem influenciar indiretamente no consumo, e dentre estes se destacam a lignificação da parede celular vegetal e o teor de tanino na forrageira (VAN SOEST, 1994; ALVES et al., 2001). Esse último composto, principalmente quando na sua forma condensada, pode se ligar à RUBISCO de forma estável, sendo essa proteína a principal fonte proteica para os ruminantes alimentados com forragem fresca (MCNABB et al., 1998; REED, 1995). Os taninos condensados pertencem a um grupo de compostos fenólicos de alto peso molecular que ocorrem em diversas leguminosas forrageiras tropicais e se constituem numa forma de defesa das plantas contra a herbivoria (VAN SOEST, 1994; GUIMARÃES-BEELLEN et al., 2006).

Há relatos de ampla variação no consumo de leguminosas tropicais na literatura. Barros et al., (1991b) observaram consumo aproximado de mata-pasto (*Cassia spp*) entre 10 e 48 g.kg^{-0,75}.d⁻¹ em MS para caprinos e ovinos, respectivamente. Pereira et al., (2000) estudaram o consumo voluntário de sabiá (*Mimosa caesalpinifolia Benth.*) na forma de "Mulch" e feno das variedades com e sem espinho e encontraram um consumo de MS de 38, 38 e 27 g.kg^{-0,75}.d⁻¹, respectivamente. Em estudos com kudzu tropical (*Pueraria phaseoloides Roxb. Benth*), Ruiloba, (1990) observou consumo de MS de 54 g.kg^{-0,75}.d⁻¹ por bovinos no Panamá. Um dos motivos para essa variação no consumo para diferentes espécies de leguminosas tropicais pode estar relacionado aos variados sistemas de defesa contra herbivoria, como a presença de espinhos e, ou principalmente, aos fatores anti nutricionais, bem característicos dessas leguminosas (VAN SOEST, 1994).

Barros et al., (1991a) registraram consumo de feno de cunhã aproximado de 68 a 78 g.kg^{-0,75}.d⁻¹ para caprinos e ovinos, respectivamente. Barros et al., (2004) observaram consumo de feno de cunhã por ovinos de aproximadamente 90 g.kg^{-0,75}.d⁻¹ em MS. Esse consumo mostra-se satisfatório visto que o consumo médio de feno de algumas gramíneas como o capim elefante, o capim buffel, e capim angola foram de 74 ± 5 g.kg^{-0,75}.d⁻¹ em MS (CAMURÇA et al., 2002).

2.4. Composição Bromatológica

A composição bromatológica indica a concentração dos principais nutrientes de um dado alimento. Van Soest, (1994) foi mais específico ao exemplificar que a composição química das plantas e, conseqüentemente, o seu valor nutritivo, resultam da distribuição das fontes fotossintéticas nos vários tecidos vegetais. O valor nutritivo dos vegetais depende diretamente da disponibilidade de conteúdo celular distribuído na parte aérea da planta e da estrutura de parede celular que tem a sua disponibilidade em interdependência com o grau de lignificação.

Do ponto de vista agrônômico é feita a generalização de que com o avanço da idade declina a qualidade da forrageira. Essa relação pode ser acelerada por respostas individuais da planta e por fatores ambientais. A maioria das generalizações sobre a qualidade e composição das forrageiras deriva de estudos em regiões temperadas com quatro estações bem definidas. No entanto, as regiões tropicais não apresentam grande variação no comprimento dos dias, apresentam altas temperaturas, principalmente noites quentes, e ausência quase completa de noites muito frias de inverno (VAN SOEST, 1994). Concomitantemente, esse autor ainda relata que forrageiras tropicais têm baixa qualidade devido à maior proporção de parede celular e maior lignificação em função da sua fisiologia, por predominarem as gramíneas com mecanismo fotossintético do tipo C₄.

No entanto, quando se compara espécies leguminosas tropicais com as de clima temperado nota-se que não há tanta diferença em relação à composição química. Essa semelhança entre as leguminosas de diferentes climas ocorre devido à fisiologia similar do tipo C₃. Porém, as leguminosas tropicais contêm teores de lignina mais elevados, o que afeta a digestão da fibra, além de muitas dessas leguminosas forrageiras dos trópicos possuírem metabólitos secundários como taninos e saponinas (GINER-CHAVEZ et al., 1997; VAN SOEST, 1994).

Estudos que quantificaram o tanino na cunhã encontraram teores relativamente baixos desse composto fenólico, $13,1 \pm 3,0 \text{ g.kg}^{-1}$ em planta inteira (JUMA et al., 2006) e $9,1 \text{ g.kg}^{-1}$ apenas nas folhas (GINER-CHAVEZ et al., 1997). Teores mais elevados de tanino foram observados em outras leguminosas tropicais no mesmo estudo, o que pode ser um indicativo de que as concentrações desses compostos fenólicos não sejam limitantes ao uso da cunhã como alimento para herbívoros.

As análises para quantificar a fibra presente nas plantas forrageiras são de grande interesse na alimentação de ruminantes, pois as dietas desses animais costumam conter grandes quantidades de forragem, e a fração fibrosa afeta tanto o consumo quanto o desempenho animal (JUNG, 1997).

A cunhã tem alto teor proteico e moderado conteúdo fibroso se comparada à maioria das gramíneas tropicais (AVALOS et al., 2004), o que está de acordo com a composição das leguminosas em geral (VAN SOEST, 1994). No entanto, a lignina encontrada nas hastes das leguminosas torna a fração fibrosa nessa parte mais indisponível que a encontrada nas nervuras das gramíneas C₄ (VAN SOEST, 1996). Essa característica das leguminosas e gramíneas é uma questão central. As folhas nas leguminosas têm papel apenas fisiológico como a fotossíntese, já nas gramíneas, além dessa função, as folhas têm também papel estrutural, o que justifica a incrustação pela lignina. Esse fato é importante no que se refere à utilização das plantas pelos animais, pois os mesmos tendem a selecionar primeiramente as folhas, no caso das leguminosas, e as partes mais tenras das porções apicais, no caso das gramíneas, visto que essas partes da planta têm maior valor nutricional (VAN SOEST, 1994).

Os principais produtos da hidrólise total dos carboidratos presentes na parede celular das folhas de gramíneas forrageiras são glicose e xilose; e das leguminosas são glicose, xilose e ácidos urônicos. Isso indica uma participação mais alta de pectina na parede celular das leguminosas quando comparada às gramíneas (VAN SOEST et al., 1991; JUNG, 1997; LONGLAND et al., 1995).

A pectina é um polissacarídeo não amiláceo rapidamente degradável pelas bactérias ruminais. Esse polissacarídeo é importante e mais significativo em dicotiledôneas, o que incluem forrageiras e produtos como sementes oleaginosas sendo que as leguminosas são a família mais importante (VAN SOEST et al., 1991). Esses autores ainda relataram que a análise da FDN não quantifica a pectina, no entanto, ela merece destaque devido ao valor nutricional. No entanto, a pectina pode ser incluída na fração da fibra alimentar total e quantificada como fibra solúvel nos alimentos em conjunto com outros compostos resistentes às enzimas dos animais superiores, mas rapidamente fermentáveis pelos microrganismos ruminais (VAN SOEST, et al., 1991; MERTENS, 1996).

2.4.1. Composição química da cunhã

Além de apresentar boa produção anual, de 20 a 25 ton.ha⁻¹ em MS (Reynoso et al., 2003), a cunhã tem boa composição nutricional. Fato importante para atender às exigências nutricionais dos animais (CENTENO, 2007).

Os teores de lignina na MS em feno de cunhã encontrado na literatura variam de 8 a 16% em idades de corte entre 42 e 90 dias (BARROS et al., 1991a; BARROS et al., 2004; BARRO & RIBEIRO, 1983). Maiores proporções de lignina podem ser encontradas em leguminosas tropicais em relação às leguminosas temperadas e provavelmente, essa característica das leguminosas tropicais está relacionada ao fator ambiente, principalmente à temperatura mais elevada (VAN SOEST, 1994).

O teor proteico da cunhã observado tanto em cultivos solteiros como em consórcio com gramíneas, varia de 17 a 23% (BARRO & RIBEIRO, 1983; BARROS et al., 1991a; ARAÚJO et al., 1994; ARAÚJO et al., 1996; BARROS et al., 2004; CENTENO, 2007; JUMA et al., 2006). Os valores encontrados por esses autores estão de acordo com a variação da entidade nutricional de 15 a 25% relatado por Gomez & Kalamani, (2003) para a espécie. Alto teor proteico, encontrado em uma forrageira é considerado um pré-requisito para que essa seja um bom alimento para animais herbívoros.

A literatura tem demonstrado que o teor de FDN da cunhã varia entre 42 a 61% (BARRO & RIBEIRO, 1983; BARROS et al., 1991a; JUMA et al., 2006). Porém, há necessidade de mais estudos em relação à análise de fibra da cunhã, visto que há poucos trabalhos referentes a essas análises.

2.5. Digestibilidade e técnica de degradação in vitro

Dentre os componentes que caracterizam o valor nutritivo de um alimento (consumo, digestibilidade e eficiência energética), a digestibilidade é a medida mais precisa quando comparada às demais. Isto está relacionado ao fato de a degradabilidade oferecer menor variação entre os animais para estabelecer o valor alimentar, além do quê, o consumo em ensaios de pastejo é obtido por meio de estimativas indiretas (VAN SOEST, 1994).

A digestibilidade, principalmente de carboidratos, muitas vezes é estimada por sistemas *in vitro* que simulam o processo digestivo no rúmen. Os sistemas *in vitro* podem ser mais práticos e permitem a quantificação das características cinéticas intrínsecas do alimento, pois os microrganismos *in vivo* e as enzimas são sensíveis a fatores dietéticos que influenciam a taxa e a extensão da digestão (MERTENS, 2005). Os sistemas químicos são rápidos e oferecem resultados reprodutíveis, no entanto, não refletem o processo biológico digestivo que ocorre no ambiente ruminal, e por isso há a necessidade de realização de ensaios biológicos para quantificação da degradação do alimento (VAN SOEST, 1994).

No caso da fibra, a digestibilidade tem sido definida como a proporção da fibra ingerida que não é excretada nas fezes. A fibra, por sua vez, tem uma fração indigestível e outra potencialmente digestível (MERTENS, 1996). O processo de digestão da fibra consiste na hidrólise dos polissacarídeos e a conversão dos monossacarídeos resultantes em ácidos graxos voláteis, gases da fermentação e em calor (VARGA et al., 1998).

Uma das técnicas de degradabilidade *in vitro* mais utilizadas para estimar a cinética de degradação é a técnica de produção de gás *in vitro*. Esta técnica oferece rápida estimativa da taxa de digestão e pode ser útil para estimar a digestibilidade dos alimentos para ruminantes (CAMPOS et al., 2000). Contudo, a técnica de produção de gás é mais útil quando se deseja estimar os parâmetros cinéticos de degradação da fração solúvel do alimento (GONÇALVES et al., 2001).

Blummel & Ørskov (1993) descreveram um sistema de produção de gás que oferece a vantagem de fornecer dados de duas digestibilidades dos alimentos com apenas uma incubação, na qual o volume de gás produzido pode ser indicador da digestibilidade aparente do alimento pela perda de MS, e o resíduo pode ser quantificado para calcular a digestibilidade “verdadeira” do alimento, medida após tratamento do resíduo com detergente neutro para remoção dos microrganismos que podem ser em quantidade relativamente grande após 24 ou 48 horas de incubação.

Esse fato é interessante, pois a técnica *in vitro* para determinação da digestibilidade dos alimentos está relacionada com a digestibilidade verdadeira na medida em que a mesma não é contaminada pela matéria endógena fecal (VAN SOEST, 1994).

As grandes vantagens da utilização das técnicas "*in vitro*" são: a dispensável manutenção de vários animais fistulados, o que torna esta técnica menos trabalhosa

e mais barata; possibilidade de utilização de números maiores de amostras devido à rapidez e facilidade da técnica (CONE et al., 1996).

No que diz respeito à cunhã, ainda há escassez de dados na literatura relacionados à utilização de técnicas *in vitro* para determinar a digestibilidade. No entanto, Juma et al., (2006) mediram a produção de gás da cunhã, mucuna e glirícidia e encontraram resultados semelhantes para as três espécies. As produções de gás dessas leguminosas estimaram em 52,8; 53,5 e 50,3% a matéria orgânica digerida em 48 horas.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, A. A. et al. Fatores que interferem no consumo de alimento pelos ruminantes: Uma revisão. **Revista Científica de Produção Animal**, Piauí - Brasil, v. 3, n. 2, p.62-72, 2001.

ARAÚJO FILHO, J. A. et al. Consorciação do capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum) e da cunhã (*Clitoria ternatea* L.) sob quatro intervalos de corte. **Pasturas Tropicais**, Cali, Colômbia, v. 18, n. 1, p.47-50, 1996.

ARAÚJO FILHO, J. A. et al. Efeito da altura e intervalo de corte na produção de forragem da cunhã (*Clitoria ternatea* L.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 6, p.979-982, jun. 1994.

AVALOS, J. F. V. et al. Agrotecnia e utilización de *C. ternatea* en sistemas de producción de carne y leche. **Revista Técnica Pecuaria En México**, México, v. 1, n. 42, p.79-96, 2004.

BALOYI J. J.; et. al. Condensed tannin and saponin content of *Vigna unguiculata* (L.) Walp, *Desmodium uncinatum*, *Stylosanthes guianensis* and *Stylosanthes scabra* grown in Zimbabwe. **Tropical Animal Health and Production**. v. 33, p.57-66, 2001.

BARCELOS, ALEXANDRE DE OLIVEIRA et al. Leguminosa como alternativa para suplementação animal. In: MARTINS, Carlos Eugênio et al. (Comp.). **Sustentabilidade da Pecuária de Leite e Corte da Região do Leste Mineiro**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2004. Cap. 07, p. 91-116.

BARRO, C. RIBEIRO, A. The study of *Clitoria ternatea* L. hay as a forage alternative in tropical countries. Evolution of the chemical composition at four different growth stages. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, EUA, v.34, p.780-782, 1983.

BARROS, N. N. et al. Estudo Comparativo da digestibilidade de leguminosa forrageira com ovinos e caprinos **Pesquisa Agropecuária Brasileira: I** . Digestibilidade in vivo de feno de cunhã, Brasília, v. 26, n. 8, p.1209-1213, 1991a.

BARROS, N. N. et al. Estudo Comparativo da digestibilidade de leguminosas nativas com caprinos e ovinos do "sertão" Cearense: II. Digestibilidade in vivo de feno de mata pasto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 8, p.1215-1218, 1991b.

BARROS, N. N. ROSSETTI, A. G. CARVALHO, R. B. Feno de cunhã (*Clitoria ternatea* L.) para acabamento de cordeiros. **Ciência Rural**, Santa Maria-RS, v.34, n.2, p.499-504, 2004.

BLUMMEL, M. ORSKOV, E. R. Comparison of in vitro gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle. **Animal Feed Science and Technology**, Holanda, v. 40, n. 3, p.109-119, 1993.

CAMPOS, F. P. et al. Avaliação do sistema de monitoramento computadorizado de digestão in vitro: 3. Desaparecimento da matéria seca e/ou FDN pela produção de gás. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa-MG, v. 29, n. 02, p.537-544, 2000.

CAMURÇA, D. A. et al. Desempenho produtivo de ovinos alimentados com dietas a base de feno de gramíneas tropicais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa-MG, v. 31, n. 05, p.2113-2122, 2002.

CENTENO, BISMARCK SANDOVAL. **Características Agronómicas y Nutricionales de Asociaciones de Gramíneas y Leguminosas Tropicales**. 2007. 102 f. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Recinto Universitario de Mayagüez, Universidad de Puerto Rico, Porto Rico, 2007.

COLLINS, M. Wetting and Maturity Effects on the Yield and Quality of Legume Hay. **Agronomy Journal**, v.75, n.3, p.523-527, 1983.

CONE, J. W. et al. Prediction of in situ rumen escape protein from in vitro incubation with protease from *Streptomyces griseus*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Inglaterra, v. 72, p.120-126, 1996.

CONRAD, H. R. PRATT, A. D. E HIBBS, J. W. Regulation of feed intake in dairy cows. I. change in importance of physical and physiological factors with increasing digestibility. **Journal of Dairy Science**. v.47, p.54-62, 1964.

CONWAY, M.J. et al. Butterfly pea - A legume success story in cropping lands of central Queensland. **Proceeding of the 10th Australian Agronomy conference, Hobart**. 2001.

COOK, B. et al. Trop. Forages: an interactive selection tool, CSIRO, DPI&F Queensland, CIAT, Cali. 2005. (http://www.tropicalforages.info/key/Forages/Media/Html/Clitoria_ternatea.htm, access on 1/20/2012).

DOUGHTON, J. A. et al. The impact of a farming system approach on adoption of Butterfly pea in central Queensland. **Proceedings of the 10th Australian Agronomy conference**, Hobare. 2001.

FEDELE, V. et al. Effect of free-choice and traditional feeding systems on goat feeding behaviour and intake. **Livestock Production Science**, Inglaterra, n. 74, p.19-31, 2002.

FORBES, JOHN MICHAEL. **Voluntary food intake and diet selection in farm animals**. 2. ed. Eua: Cabi, 2007. 461 p.

GINER-CHAVEZ, B. I. et al. Comparison of the precipitation of Alfalfa leaf protein and bovine serum Albumin by tannins in the radial diffusion method, **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.74, p.513-523, 1997.

GOMEZ, S. M. KALAMANI, A. Butterfly Pea (*Clitoria ternatea* L.): A Nutritive Multipurpose Forage Legume for the Tropics - An Overview. **Pakistan Journal of Nutrition, Paquistão**, v. 2, n. 6, p.374-379, 2003.

GONÇALVES, A. L. et al. Cinética de degradação de alguns volumosos usados na alimentação de cabras leiteiras por intermédio da técnica de produção de gases sob diferentes níveis de pH. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa-MG, v. 30, n. 6, p.1904-1912, 2001.

GUIMARÃES-BEELLEN, P. M. et al. Efeito dos taninos condensados de forrageiras nativas do semi-árido nordestino sobre o crescimento e atividade celulolítica de *Ruminococcus flavefaciens* FD1. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte-MG, v. 58, n. 05, p.910-917, 2006.

GUPTA, J. K. CHAHAL, J. BHATIA, M. *Clitoria ternatea* (L.): Old and new aspects. **Journal of Pharmacy Research**, Índia, v. 11, n. 03, p.2610-2614, 2010.

HALL, T. J.. Adaptation and agronomy of *Clitoria ternatea* L. in Northern Australia. **Tropical Grasslands, Australia**, v. 19, n. 04, p.156-163, 1985.

JUMA, H. K. et al. Evaluation of *Clitoria*, *Gliricidia* and *Mucuna* as nitrogen supplements to Napier grass basal diet in relation to the performance of lactating Jersey cows. **Livestock Science**, Inglaterra, n. 103, p.23-29, 2006.

JUNG, H. J. G. Conference: New developments in forage science contributing to enhanced fiber utilization by ruminants: Analysis of forage fiber and cell walls in ruminant nutrition. **The Journal of Nutrition**, USA, p.810-813, 1997.

LONGLAND, A. C. et al. Non-starch polysaccharide composition and in vitro fermentability of tropical forage legumes varying in phenolic content. **Animal Feed Science and Technology**, v.55, p.161-177, 1995.

MCNABB, W. C et al. Effect of Condensed Tannins Prepared from Several Forages on the In Vitro Precipitation of Ribulose-1,5-bisphosphate Carboxylase (Rubisco) Protein and its Digestion by Trypsin (EC 2.4.21.4) and Chymotrypsin (EC 2.4.21.1). **Journal of The Science of Food and Agriculture**, EUA, n. 77, p.201-212, 1998.

MERTENS, D. R. Predicting intake and digestibility using mathematical models of ruminal function. **Journal Animal Science**, Savoy, v.64, n.6, p.1548-1558, 1987.

MERTENS, D. R. Using fiber and carbohydrate analyses to formulate dairy rations. Formulating dairy rations. Informational Conference with Dairy and Forage Industries, US, **Dairy Forage Research Center**, p. 81-92, 1996.

MERTENS, D.R. Rate and extent of digestion. In: DIJKSTRA, J.; FORBES, J.M.; FRANCE, J. (Eds). **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. 2.ed. Wallingford: CABI Publishing, p.13-47, 2005.

MISTURA, C. et al. Adubação orgânica no cultivo da Cunhã na região semiárida do Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Bahia, v.11, n.03, p.581-594, 2010.

MORRIS, J. B. Characterization of butterfly pea (*Clitoria ternatea* L.) accessions for morphology, phenology, reproduction and potential nutraceutical, pharmaceutical trait utilization. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Alemanha, n. 56, p.421-427, 2009.

NICHOLS, P. G. H. New annual and short lived perennial pasture legumes for Australian agriculture/15 years of revolution. **Field Crops Research**, Australia, v. 104, p.10-23, 2007.

OBBA, M.; ALLEN, M. S. Evaluation of the importance of the digestibility of neutral detergent fiber from forage: Effects on dry matter intake and milk yield of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, EUA, p.589-596, 1999.

PEREIRA, V. L. A. et al. Consumo Voluntario do "Mulch" e dos Fenos de Sabiá (*Mimosa caesalpinifolia* Benth.) Inerme e com Aculeos. **Revista Científica de Produção Animal**, Piauí, v. 02, n. 01, p.24-30, 2000.

PFISTER, J.A., MALECHEK, J.C. The voluntary forage intake and nutrition of goats and sheep in the semiarid tropics of Northeastern Brazil. **Journal Animal Science**, v.63, p.1078-1086. 1986.

PITTROFF, W.; KOTHMANN, M. M. Part V - Herbage intake regulation: Regulation of intake and diet selection by herbivores. In: NUTRITIONAL ECOLOGY OF HERBIVORES, - 1999, San Antonio, Texas, Usa. Proceedings of the **Vth Symposium on the Nutrition of Herbivores**. Savoy, Illinois, EUA: American Society Of Animal Science, 1999. p. 366-422.

REED, J.D. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. **Journal Animal Science**, v.73, n.4, p.1516-1528, 1995.

REYNOSO, O. R. et al. Evaluación del rendimiento y la utilización de la asociación estrella-clitoria cosechada a diferente asignación de forraje. **Técnica Pecuaria en México**, México, v. 41, n. 002, p.219-230, 2003.

ROUT, G. R. Micropropagation of *Clitoria ternatea* Linn. (Fabaceae) An important medicinal plant. **In Vitro Cellular & Developmental Biology plant**, v. 41, p.516-519, 2005.

RUILOBA, M. H. Bancos de Kudzú como fuente de proteína para la producción de leche en Panamá. **Pasturas Tropicales**, Cali, Colômbia, v. 12, n. 01, p.44-47, 1990.

SOUZA, E. S. et al. Fixação de N₂ e crescimento do calopogônio (*Calopogonium mucunoides* Desv.) de da cunhã (*Clitoria ternatea* L.), após sucessivos cortes.

Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Viçosa-MG, v. 25, n. 6, p.1036-1048, 1996.

TEIXEIRA, V. I. et al. Aspectos agronômicos e bromatológicos de leguminosas forrageiras no nordeste brasileiro. **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v. 226, n. 59, p.245-254, 2010.

TEIXEIRA, VICENTE IMBROISI. **Aspectos agronômicos e bromatológicos de leguminosas forrageiras na Zona da Mata Seca de Pernambuco**. 2008. 55 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife - PE, 2008.

VAN SOEST, P.J. Allometry and ecology of feeding behavior and digestive capacity in herbivores: a review. **Zoo Biology**, v.15, p.455-479, 1996.

VAN SOEST, P.J., ROBERTSON, J.B., LEWIS, B.A. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. **Journal Dairy Science**, v.74, p.3583-3597, 1991.

VAN SOEST, PETER J.. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. 2th New York: Cornell University Press, 1994, p.476.

VARGA, G. A. DANN, H. M. ISHLER, V. A. The use of fiber concentrations for ration formulation. **Journal of Dairy Science**, EUA, v. 81, n., p.3063-3074, 1998.

CAPÍTULO 1

O capítulo a seguir corresponde a um artigo integrante desta dissertação submetido como manuscrito ao jornal “*Animal Feed Science and Technology*” (ISSN: 0377-8401) e, como tal, sua redação e edição foram preparadas segundo às normas deste periódico, normas essas constantes na página do mesmo na rede mundial de computadores conforme o endereço a seguir:

http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/503299/authorinstructions

Data de acesso: 06/01/2012

1
2 ***Clitoria ternatea* L. as a potential high quality forage legume**

3
4 Matheus Lima Corrêa Abreu¹, Ricardo Augusto Mendonça Vieira^{2,#}, Norberto da Silva
5 Rocha¹, Leonardo Siqueira Glória¹, Raphael Pavesi Araújo¹, Alberto Magno Fernandes²

6
7 ¹Graduate Student, Graduate Program in Animal Science (GPAS), UENF, Campos dos
8 Goytacazes, RJ, Brazil.

9 ²Laboratório de Zootecnia e Nutrição Animal, Universidade Estadual do Norte
10 Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Campos dos Goytacazes, RJ, Brazil.

11 #Corresponding author: UENF/CCTA/LZNA, Av. Alberto Lamego, 2000, Campos dos
12 Goytacazes, RJ, Brazil, CEP 28013-602. E-mail: ramvieira@uenf.br.

13
14 **Abstract**

15 Samples of *Clitoria ternatea* L. were harvested at 35, 50, 70, and 90 d after a uniformity
16 harvest in a field study designed as a completely randomized design with a total of 18
17 experimental units. The dry matter (DM) yield (DMY) of the whole plant was separated
18 quantitatively into leaves, stems, and pods at each harvesting age. Chemical analyses and
19 *in vitro* gas production kinetics were performed to assess the quality of the plant parts.
20 Yields, chemical composition, and estimates of gas production parameters were
21 analyzed by fitting a mixed statistical model with two types of covariance structures as
22 follows: variance components and an unrestricted structure with heterogeneous
23 variances. Fast and slow gas yielding pools were detected for both leaves and stems
24 parts, but only a single pool was detected for pods. The homocedasticity assumption was
25 more likely for all variables, except leaf cutin, and for some parameters of the gas

26 production kinetics of leaves and stems. The DMY of the whole plant presented a cubic
27 trend and resembled a crescent sigmoid-shaped pattern. The leaf DMY presented a
28 quadratic fit, and the stem DMY increased linearly. There was no presence of typical
29 pods at 35 and 50 d. The DM content of the whole plant was quadratic and presented a
30 minimum in the 90 d interval. The non-fibrous fractions and cutin of the leaves were
31 unaffected by harvesting age, while the fibrous fractions were affected by harvesting
32 age. The harvesting age affected the majority of the chemical constituents and gas
33 kinetic parameters related to the stems. Based on the maximum DMY for leaves, the 70 d
34 harvest maximized the amount of high quality edible parts of the forage legume mass.
35 However, a compromise between a sustainable forage production and quality has to be
36 achieved.

37

38 **Keywords:** Tropical legumes, Forage yield, Chemical composition, Gas production
39 kinetics.

40

41 **Abbreviations:** AD, acid detergent; CF, crude fat; CP, crude protein; DM, dry matter; DMY,
42 dry matter yield; LR, mass ratio between leaves and the whole plant; aNDFom, insoluble
43 fiber as neutral detergent fiber expressed exclusive of residual ash; NFC, nonfibrous
44 carbohydrates; Lignin (sa), lignin determined by solubilization of cellulose with sulfuric
45 acid; Lignin (pm), lignin determined by oxidation of lignin with permanganate; ND,
46 neutral detergent.

47

48 **1. Introduction**

49 The legume scientifically known as *Clitoria ternatea* L. belongs to the *Fabaceae*
50 family, *Faboideae* subfamily, *Phaseoleae* tribe, and *Clitoriinae* subtribe, and this legume is

51 also known by many common names, such as Clitoria, Butterfly pea, Blue pea, Conchitas,
52 and Kordofan pea. This legume is a perennial, vigorous, twining, and summer growing
53 tropical plant with an obscure origin (Cook et al., 2005; Gomez and Kalamani, 2003; Hall,
54 1985). Some authors attribute the origin of this legume to tropical America (Upadhyaya
55 and Pachauri, 1983), but it is more likely that it originated from the island of Ternate in
56 the Molluca archipelago, Indonesia (Gupta et al., 2010). The beginning of the cultivation
57 of this legume in Brazil is also obscure, but it is well known as Cunhã in Brazil and may
58 be considered naturalized.

59 Besides its good palatability and nutritive value, Cunhã (*C. ternatea* L.) has been
60 recognized as a good forage source for the hot and semiarid (BSh climate according to
61 Köppen standards) region of northeastern Brazil due to its adaptability and resilience
62 under drought conditions as well as its potential for regrowth soon after the onset of the
63 rainy season (Araújo Filho et al., 1994; Barros et al., 1991). However, the widespread
64 presence of Cunhã in humid and low altitude areas in the tropics, as well as its response
65 to irrigation (Avalos et al., 2004; Gomez and Kalamani, 2003; Hall, 1985; Juma et al.,
66 2006) and its use as a forage source by some smallholders in lowland areas near the
67 coast (P. D. Lacerda, EMATER-RJ State Extension Agency, by personal communication),
68 have motivated us to investigate the performance and potential nutritive value of this
69 legume. Although some information exists regarding the yield and chemical composition
70 at different stages of development of the Cunhã plant, there is minimal information
71 about animal performance (Araújo Filho et al., 1994; Barro and Ribeiro, 1983; Barros et
72 al., 1991; 2004), which justifies a detailed chemical analysis and an additional
73 investigation on the kinetics of gas production as an auxiliary measure of the potential
74 nutritive value of this tropical legume.

75 The objectives of the present work were to estimate the dry matter yield,
76 chemical composition, and gas production kinetics of Cunhã samples at different
77 harvesting ages collected during a field trial conducted at Campos dos Goytacazes in
78 Northern Rio de Janeiro State, Brazil.

79

80 **2. Material and methods**

81 Cunhã (*C. ternatea* L.) was sown in early spring (October) of 2008 in a 900 m²
82 area containing Xanthic and Eutrophic Oxisol with 10% declivity located in Northern Rio
83 de Janeiro State (21°42'33" S and 41°20'23" W; 12 m of altitude), Brazil. The area is
84 located in a region where an Aw (Köppen standards) climate predominates with an
85 annual rainfall of 800 mm. The seeds were physically scarified prior to being inoculated
86 with Rhizobium of the cowpea group, and 4–6 seeds were sown manually at every 0.2 m
87 along 0.8 ± 0.3 m spaced lines.

88 A completely randomized design was set up by demarcation of 18 plots formed
89 by 5 lines (3 m in length) on August 22nd of 2010, i.e., 22 months after planting.
90 Uniformity of the plots was achieved by harvesting all herbage mass greater than 0.2 m
91 in height. All plots were manually weeded and kept without weeds during the course of
92 the experiment. Plots received single doses of limestone and K₂O equivalent to 1,500
93 and 100 kg/ha, respectively, in addition to a single dose of goat manure (20 ton/ha)
94 enriched with P₂O₅ (50 kg/ha). Four treatments were randomly assigned to the
95 experimental units after the day of the uniformity harvest as follows: five plots were
96 harvested after 35 d, four plots were harvested after 50 d, four plots were harvested
97 after 70 d, and five plots were harvested after 90 d. The area was irrigated once to twice
98 a week according to the rainfall. Since the uniformity harvest, the rainfall accumulated 3
99 mm for 30 d, 43 mm for 60 d, and 269 mm for the entire 90 d period of the field trial.

100

101

102 *2.1. Sampling, processing, and analyses of the forage samples*

103 Plots were harvested at the same time of the day for all treatments, which was
104 after dew drying. The herbage mass of the plots harvested at a cutting height of 0.2 m
105 above the ground was collected, and the fresh weight was recorded to the nearest 0.005
106 kg. The fresh forage was dried at 55 °C for 72 h in a forced air oven. The total air dried
107 mass of each plot was then quantitatively separated into leaves, stems, and pods
108 (whenever present), and the respective weights were recorded to the nearest 0.005 kg.
109 The separated masses of leaves, stems, and pods were ground through a 5 mm screen in
110 a Wiley mill, and samples of approximately 0.1 kg were then ground through a 1 mm
111 screen for chemical analyses and in vitro gas production.

112 Forage samples were analyzed for dry matter (DM, AOAC 967.03; AOAC, 1990),
113 crude fat (CF, AOAC 2003.06; Thiex et al., 2003), and ash (AOAC 942.05; AOAC, 1990).
114 The crude protein (CP) content was obtained by digesting samples (0.25 g) with 5 mL of
115 H₂SO₄ and 1 g of a 56:1 mixture of Na₂SO₄ and Cu₂SO₄·5H₂O in 100 mL tubes using
116 aluminum digestion blocks according to the guidelines outlined in method AOAC 984.13
117 and method AOAC 2001.11, including N recovery with certified NH₄H₂PO₄ and lysine-
118 HCl (AOAC, 1990; Thiex et al., 2002). The insoluble fiber content was assayed with
119 sodium sulfite and two additions of a standardized solution of heat-stable amylase, and
120 with ash excluded according to method AOAC 2002.04 (aNDFom; Mertens, 2002). The
121 non-fibrous carbohydrates were estimated with the following equation: NFC = 1000 –
122 CP – CF – Ash – aNDFom. The lignin content was assessed by two methods. The first
123 method assessed Lignin (sa) by the sulfuric acid method (AOAC 973.18; AOAC, 1990)
124 after a sequential ND→AD extraction (Van Soest et al., 1991). The second method

125 assessed Lignin (pm) as the weight loss after permanganate oxidation (Goering and Van
126 Soest, 1970) in the following sequence: ND→AD→72% H_2SO_4 → $KMnO_4$ →ash. This
127 sequence was also used to determine cutin as the weight loss between $KMnO_4$ and ash
128 residues (p. 147 of Van Soest, 1994).

129

130 *2.1. Gas production kinetics*

131 The in vitro incubations were performed in a 39 °C water bath using 100 mL
132 serum amber bottles sealed with butyl rubber stoppers and aluminum crimp seals.
133 Individual samples of air-dried leaves, stems, and pods (approximately 0.5 g; nearest to
134 0.1 mg) were transferred into the flasks. The forage samples were incubated with 40 mL
135 of a reduced culture medium with 10 mL of rumen inoculum as previously described by
136 Goering and Van Soest (1970). The culture medium, reducing solution, and inoculum
137 were prepared as a single batch (Hall and Mertens, 2008). The inoculum was obtained
138 from a six-year-old Holstein-Zebu steer that weighed 550 kg. The steer was maintained
139 in a pasture of palisade grass (*Urochloa brizantha* (Hochst. ex A. Rich) R. Webster)
140 during the winter (dry period), and the steer was supplemented ad libitum with
141 chopped 1.5-year-old sugar cane (*Saccharum* spp.) and 1 kg/d of a concentrate
142 containing 290 g/kg of soybean meal, 680 g/kg of ground corn, and 30 g/kg of a
143 commercial mineral salt. The liquid and fibrous mat of the rumen contents were
144 collected separately to completely fill respective thermal bottles. The fibrous mat
145 (approximately 250 g) was then blended for 60 s with 500 mL of the rumen fluid under
146 continuous CO_2 gassing, and the mixture was then filtered through four layers of
147 cheesecloth. The filtered inoculum was added to the reduced culture medium in a 4:1
148 ratio, and the mixture was maintained at 39 °C with CO_2 gassing until the mixture was
149 transferred to the flasks.

150 Time profiles of cumulative gas production were obtained for leaves, stems, and
151 pods using a non-automated device similar to the one used by Malafaia et al. (1999). The
152 device contained a 0–8 psi manometer (0.05 increments) that was attached to a three-
153 way plastic valve. One of the ways of the valve was connected to a silicone tube (\varnothing 5
154 mm; 1.5 m in length) with a 20 gauge needle attached to the loose extremity of the tube.
155 The second way was attached to the manometer by a small piece of the silicone tube and
156 plastic clamps. The third way was connected by another silicone tube (\varnothing 5 mm; 1.3 m in
157 length) to the top of a graduated 25 mL pipette (0.1 mL increments), which had its
158 conical end connected to the straight and narrow stem of a pear-shaped separating
159 funnel (1,000 mL) with 0.4 m of the same type of silicone tube. The funnel and pipette
160 were attached to a metal support stand in a vertical and static position. The connecting
161 system was filled through the mouth of the funnel with a 0.1 g/L resazurin solution to
162 the zero mark (meniscus) of the pipette using the principle of communicating vessels.
163 Filling the system with liquid was performed with caution to avoid air bubbles.

164 The gas pressure hold in the airspace of the fermentation flask was read in the
165 manometer by inserting the 20 gauge needle of the loose extremity through the butyl
166 rubber stopper of the crimp sealed flask, and the gas volume produced was read after
167 changing the position of the three-way valve to allow the top-down displacement of the
168 liquid inside the pipette. The objective of the loose extremity was to read the pressure
169 and volume without removing the bottle from the water bath. However, the bottles were
170 removed every day to be slightly shaken in the early morning and early evening to mix
171 the contents of the incubation run. Pressure and volume readings were performed at 1,
172 2, 3, 6, 8, 10, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 48, 72, and 96 h of incubation. Volume displacement
173 in the pipette was allowed only after sensible pressure readings. Volume readings were
174 expressed as mL/0.1 g of DM. No blank incubations were performed.

175

176

177 *2.1.1. Estimating gas production kinetics*

178 The time profiles generated exhibited four different shapes according to the
 179 forage samples. Therefore, the following four different models proposed by Zwietering
 180 et al. (1990) and Schofield et al. (1994) were fitted accordingly:

$$181 \quad V_t = V_f [1 - \exp(-kt)] + \varepsilon; \quad (\text{Eq. 1})$$

$$182 \quad V_t = V_f \exp\{-\exp[1 + ke(L - t)]\} + \varepsilon; \quad (\text{Eq. 2})$$

$$183 \quad V_t = V_{f1} [1 - \exp(-k_1 t)] + V_{f2} \exp\{-\exp[1 + k_2 e(L - t)]\} + \varepsilon; \quad (\text{Eq. 3})$$

$$184 \quad V_t = V_{f1} \exp\{-\exp[1 + k_1 e(L - t)]\} + V_{f2} \exp\{-\exp[1 + k_2 e(L - t)]\} + \varepsilon; \quad (\text{Eq. 4})$$

185 V_t (Eqs. (1)–(4)) is the cumulative gas production over time (t, h); V_f (Eqs. (1)–(2)) is
 186 the asymptotic gas volume reached for a single pool substrate; k (1/h) is the fractional
 187 rate constant of cumulative gas production inferable as the digestion rate of a single pool
 188 substrate (Eqs. (1)–(2)); and L (Eq. (2)) is the discrete lag time (h). Eq. (3) is a dual-
 189 pool model designed to estimate the asymptotic gas production of fast (V_{f1}) and slow
 190 (V_{f2}) digesting substrates (pools) with their respective k_1 and k_2 degradation rates,
 191 which are both expressed as (1/h). In Eq. (3), the fast digesting pool is fermented as a
 192 first-order process without lag, and the second pool follows a logistic pattern with a lag
 193 time ($L; h$). Eq. (4) was designed to fit sigmoid-shaped patterns in which fast and slow
 194 digesting pools yield asymptotic gas volumes (V_{f1} and V_{f2}) at k_1 and k_2 (1/h) rates after
 195 a common lag time for both pools ($L; h$). The term e is the base of the natural logarithms
 196 (Eqs. (2)–(4)), and ε is the random error term (Eqs. (1)–(4)). The mean digestion time
 197 (MDT, h) for each equation was calculated as follows: MDT = $1/k$ for Eq. (1);
 198 MDT = $1/k + L$ for Eq. (2); and MDT = $1/k_1 + 1/k_2 + L$ for Eq. (3) and for Eq. (4).

199

200

201 *2.2. Statistical analysis*

202 The linearity between the observed volume and pressure readings of the gas
 203 production technique (Theodorou et al., 1994) was checked by means of the robust
 204 regression method. The ROBUSTREG procedure of SAS (version 9; SAS Institute Inc.,
 205 Cary, NC, USA) was used with the default M estimation algorithm and the sentence for
 206 requesting the final weighted least squares (fwls) estimates of the regression model.
 207 Provided that the general relationship between volume and pressure was linear, the
 208 parameters of the different nonlinear models (Eqs. (1)–(4)) were estimated with the
 209 NLIN procedure of SAS. Eqs. (1)–(4) were fitted to each cumulative gas production
 210 profile for all forage parts. The computed Akaike’s information criterion for the robust
 211 regression and the sum of squares of the errors computed after fitting the four nonlinear
 212 equations are outputs of the SAS program. In sequence, the likelihood of the robust
 213 linear and quadratic regression models regarding the volume × pressure relationship as
 214 well as the likelihood of the nonlinear models were evaluated according to information
 215 criteria (Akaike, 1974; Burnham and Anderson, 2004) and by observing the
 216 recommendations suggested by Vieira et al. (2012).

217 The variables related to the dry matter yield (DMY; kg/ha); separated DMY
 218 (kg/ha) for leaves, stems, and pods; proportion of leaves (dimensionless); chemical
 219 components; and gas production parameters at the different harvesting ages
 220 (treatments) were analyzed by the following mixed model:

$$221 \quad Y_{ij} = \mu + \alpha_i + e_{ij}. \quad (\text{Eq. 5})$$

222 Y_{ij} is the observation measured in the j-th plot at the i-th harvesting age after the
 223 uniformity harvest. The fixed effects in Eq. (5) are the mean (μ) and harvesting age (α_i),

224 and the random effect is the usual error term (e_{ij}). The statistical model was fitted using
225 the PROC MIXED procedure of SAS (version 9) with maximum likelihood as the
226 estimation method. The repeated command was used with plots as subjects. The
227 variance-covariance matrix was modeled as variance components, and as the
228 unrestricted variance-covariance structure with treatment grouping to account for
229 heterogeneous variances (Littell et al., 2006). The likelihood of the different variance-
230 covariance structures was assessed by the Akaike information criteria as performed by
231 Vieira et al. (2012). Null hypotheses regarding treatments and their linear, quadratic,
232 and cubic effects were rejected when $P < 0.05$. Tendencies regarding treatment effects
233 were considered when $0.05 < P < 0.10$.

234 For significant regressions and trends, the estimated 95% confidence intervals
235 (95%CI) were presented as follows: $\hat{y}_x \pm (Ur - Lr)/2$; where \hat{y}_x is the predicted
236 dependent variable for a given x (harvesting age); and Ur and Lr are the upper and
237 lower limits, respectively, of the 95%CI. For absent treatment effects, the 95%CI for the
238 mean (\bar{y}) of the dependent variable was provided as follows: $\bar{y} \pm (Ur - Lr)/2$. The
239 approximate 99% confidence interval (99%CI) was estimated for x_m as the abscissa
240 coordinate of the maximum or minimum of the fitted quadratic polynomial according to
241 Neter and Wasserman (1974).

242

243 **3. Results**

244 The uniformity harvest was performed approximately one month before the end
245 of the winter (June 21st–September 23rd) of 2010 during which the minimum
246 temperature and minimum relative humidity had risen (Figs. 1a and 1b). Although the
247 irrigation was performed once to twice a week in the first 60 d and given the rainfall and

248 rise in the relative humidity, the irrigation was stopped during the last 30 d of the
249 experimental period.

250 The homocedasticity assumption, as verified by the Akaike criteria, was more
251 likely for all variables, except for the following variables: k_1 of leaves; cutin content, k_1 ,
252 k_2 , and MDT of stems. The alternative model used in these exceptions was the
253 unstructured variance-covariance matrix with treatment grouping.

254

255 *3.1. Dry matter yields*

256 The DMY of the whole plant resembled a crescent sigmoid-shaped pattern. The
257 reasonable evidence for that was the cubic trend observed in Table 1. However, the DMY
258 of leaves presented a significant quadratic fit, and the DMY of stems increased linearly.
259 There was no presence of typical pods at the first and second harvesting ages. The
260 flowers had become protruded at 35 and 50 d after the uniformity harvest, but no
261 characteristic pods were noticeable at these times. Therefore, the mass of such flowers
262 was considered merely as the mass of leaves, and the mass of typical pods was
263 detectable only at 70 and 90 d after the uniformity harvest. Therefore, only a conclusive
264 F -ratio test was applied to demonstrate the mass accumulation of pods between the last
265 two harvesting ages with respective P -values as shown in Table 1. The leaf:whole plant
266 DM mass ratio (LR) presented a sigmoid decreasing pattern. This dimensionless
267 proportion was transformed as $2 \arcsin \sqrt{LR}$ prior to analysis, and a significant cubic
268 effect was detected (Table 1), which agreed with the observed decreasing sigmoid
269 behavior. According to information criteria, the variables regarding DMY presented
270 uncorrelated errors and homocedasticity as evidenced by the greater likelihood of the
271 simplest variance components structure. With regard to the related quadratic regression
272 (Table 2), the maximum DMY for leaves peaked within the approximate 99%CI for x_m as

273 73 ± 3 d after the uniformity harvest. Thus, when considering $x_m = 73$ d, the peak DMY
274 for leaves was 1541 ± 238 kg/ha.

275

276 3.2. Chemical composition

277 There was evidence of a quadratic trend for the DM content of the whole plant
278 (Table 1). The value reached a minimum DM content of 170.7 ± 14.2 g/kg of fresh
279 forage at 57 ± 4 d (Table 2). A negative linear effect for the ash content of the whole
280 plant and a decreasing quadratic effect for the stems were observed. The 95%CI of the
281 minimum ash content was 45.6 ± 4.9 g/kg DM at $x_m = 72 ± 3$ d. Ash contents in the
282 leaves and pods were unaffected by the harvesting age (Tables 1 and 2).

283 Although a cubic trend was detected for the CF content of the whole plant, its
284 behavior was difficult to justify biologically. Therefore, a linear decrease was considered
285 more likely with aging. A cubic effect was also evident for the CF content of the leaves,
286 but only the general mean was reported. The CF content in stems was quadratic and
287 reached a minimum of 10.2 ± 0.8 g/kg DM within the 78–86 d range (Tables 1 and 2).
288 The CF contents of pods at 70 and 90 d did not differ (Table 1).

289 The CP content of the whole plant decreased linearly with the harvesting age. A
290 quadratic trend for the CP contents of stems was observed, and the estimated regression
291 indicated that the minimum content was 103.3 ± 9.5 g/kg DM within the approximated
292 67–76 d range. The CP contents of leaves and pods were unaffected by the harvesting
293 age (Tables 1 and 2).

294 The NFC content decreased linearly in the whole plant. The cubic effect for the
295 NFC content in stems was difficult to justify, so a linear decrease was considered more
296 appropriate. The treatment effects on the NFC contents of leaves and pods were
297 considered absent (Table 1).

298 We can observe in Tables 1 and 2 that the fibrous fractions (aNDFom; Lignin (sa),
299 and Lignin (pm)) of the whole plant (g/kg DM) increased linearly as the harvesting age
300 increased. The cubic effect for cutin of the whole plant was disregarded, and only a
301 linear decreasing effect was considered. Cutin was unaffected by the treatments for the
302 individual plant parts. The other fibrous fractions increased linearly in the leaves, and
303 they were considered to increase in a quadratic fashion for the stems with quadratic
304 trends visually resembling an asymptotic function in the 90 d interval. The cubic trends
305 for aNDFom and Lignin (pm) of stems shown in Table 1 were disregarded because no
306 apparent inflection points characteristic of sigmoid-shaped patterns in those trends
307 were visually identified. The aNDFom and cutin contents of pods at 70 and 90 d did not
308 differ, but significant differences were observed for the other fibrous fractions at these
309 ages. For stems, the aNDFom, Lignin (sa), and Lignin (pm) contents peaked at 82 ± 4 ,
310 75 ± 4 , and 87 ± 10 d, respectively, after the uniformity harvest with peak contents of
311 638.0 ± 12.7 , 117.5 ± 5.6 , and 108.1 ± 5.9 g/kg DM, respectively.

312

313 *3.3. Kinetics of gas production*

314 The linearity assumption between volume and pressure was held true according
315 to the computed information criteria because the linear robust regression was more
316 likely than the quadratic one (Figure 2). Despite the greater likelihood for third and
317 fourth degrees regressions whether compared to the linear model, the higher order
318 polynomials were not considered because they matched the main linear trend.

319 Ten profiles of accumulated gas volume from leaves and stems were better
320 described by Eq. (4) due to its greater likelihood. The other results for leaves were as
321 follows: 4 profiles were better described by Eq. (1), 3 profiles were better described by
322 Eq. (2), and 1 profile was better described by Eq. (3). For stems, 5 profiles were better

323 described by Eq. (1), and 3 profiles were better described by Eq. (3). Therefore, Eq. (4)
324 was adopted for describing the gas production kinetics of leaves and stems. For pods, all
325 profiles were better described by Eq. (1).

326 The estimated lag time of the cumulative gas production profiles decreased
327 linearly for leaves and stems (Tables 1 and 2). There was no detectable lag for pods at
328 70 and 90 d, given that Eq. (1) was the best choice for describing gas profiles generated
329 from pods. For leaves, the asymptotic gas volume of the fast digesting pool was
330 unaffected by the harvesting age, and the gas volume from the slow digesting pool of the
331 leaves and both the fast and slow digesting pools of the stems presented quadratic
332 behaviors (Table 1). The gas volume produced for the slow digesting fraction of the
333 leaves peaked at 9.3 ± 1.9 mL/0.1 g of DM close to 61 ± 3 d. The gas volume produced
334 from the fast digesting pool of the stems reached a minimum of 5.5 ± 1.0 mL/0.1 g of DM
335 at almost 61 ± 3 d, and the slow digesting pool of the stems peaked at 8.5 ± 0.5 mL/0.1 g
336 of DM when x_m was approximately 55 ± 3 d. The asymptotic gas volume produced from
337 the single digesting pool of the pods was significantly different between 70 and 90 d, as
338 shown in Table 1. The fractional rates of gas production related to the fast and slow
339 digesting pools of the leaves as well as the single gas production rate related to the
340 digesting pool of the pods at 70 and 90 d were unaffected by the treatments (Table 1).
341 The cubic trend for the k_2 rate of leaves was disregarded. The 95%CI for the k_1 and k_2
342 rates of leaves as well as the k rate for pods are presented in Table 2. The same behavior
343 was followed by the MDT estimated for leaves and pods. For stems, the k_1 rate and MDT
344 presented quadratic behaviors as functions of the harvesting age (Table 1). The k_1 rate
345 peaked at 0.1193 ± 0.0097 /h at 68 ± 3 d, and the MDT reached a minimum of
346 60.0 ± 3.6 h at 59 ± 2 d according to the estimated quadratic regressions for stems
347 presented in Table 2.

348

349 **4. Discussion**

350 Araújo filho et al. (1994) and Barro and Ribeiro (1983) observed quadratic
351 responses in forage DMY with a growth profile resembling an asymptotic first-order
352 behavior with no apparent inflection point during the 42 (growth), 56 (beginning of
353 flowering), 70 (pod formation), and 84 d (seed) of regrowth under irrigation in the
354 semiarid region of Northeastern Brazil. In this region, Araújo filho et al. (1994)
355 recommended the harvesting age to be 56 d with a cutting height of 0.1 m because the
356 practiced cutting heights did not affect plant DMY, and forage production was
357 maximized with 6.5 cuts/year, namely 21,850 kg/ha/year. Our results for the whole
358 plant DMY resembled a sigmoid-shaped pattern according to the cubic trend observed
359 (Tables 1 and 2). The LR ratio presented a sigmoid decay pattern as illustrated by the
360 significant cubic degree polynomial (Table 2). In this case, an initial smooth delay for the
361 reduction of LR during the first 35 and 50 d was succeeded by an abrupt decline that
362 was followed by an asymptotic stabilization for the last 70 and 90 d.

363 The calculated leaf to stem mass ratios, based on the estimated regressions
364 shown in Table 2 at 35, 50, 70, and 90 d, were 3.11, 3.10, 2.30, and 1.37, respectively.
365 Barro and Ribeiro (1983) reported that the same ratio after haymaking has values of
366 1.26, 0.87, 0.73, and 0.97 at 42, 50, 70, and 84 d, respectively. This disparity may have
367 been partly due to the foliage loss during haymaking. Because hay is more difficult to
368 produce in areas with high relative humidity and heavy rain, the herbage mass of Cunha
369 may be better used as fresh fodder to ruminants. The county of Campos dos Goytacazes
370 (Northern Rio de Janeiro State) offers good haymaking conditions due to lower rainfall
371 (600–800 mm) and prevailing dry northeastern winds during the spring-summer
372 period. For other regions of the Rio de Janeiro State (e.g., the northwestern and highland

373 regions with rainy spring–summer seasons), however, the production of good quality
374 hay is more difficult to achieve.

375 It is probable that Araújo Filho et al. (1994) set the recommended harvesting age
376 at 56 d based on the absence of senescent leaves in the forage mass, but such an
377 assertion was not provided in their report. In the present study, the leaf DMY peaked
378 near 70 d after the uniformity harvest. At the practiced cutting height, there were
379 negligible amounts of senescent leaves in the harvested herbage mass. Nonetheless,
380 there were considerable amounts of senescent leaves on the ground at this harvesting
381 age. When considering that foliage is the preferable part of the forage legume or browse
382 mass eaten by ruminants (Pfister and Malechek, 1986; Van Soest, 1996), it is reasonable
383 to consider that the ideal harvesting age was closest to 70 d in our study. Other yield
384 variables reported in our study included the 70 d harvest in the approximate 99%CI for
385 x_m . Table 3 shows the predicted values of the studied Cunha variables by considering an
386 optimum harvest after 70 d of regrowth. Therefore, when considering 5.2 cuts/year
387 multiplied by the 95%CI for leaf production at 70 d (Table 3), the projected leaf DMY
388 would be 6,672–9,272 kg/ha/year. Given the same predicted values (Table 3), a total
389 forage DMY ranging from 14,373–18,824 kg/ha/year could be achieved at 70 d for
390 irrigated Cunha fields in Northern Rio de Janeiro State. There are other variables, such
391 as soil type, fertility, cultivar, spacing, seed density and stand density, that may influence
392 DMY (Avalos et al., 2004; Hall, 1985). Nevertheless, these projections need to be
393 strengthened by long-term multilocation trials.

394 The chemical composition of legume leaves varies much less when compared to
395 grass counterparts as the plant matures because there is no decisive supporting role for
396 the leaves of legumes or other forbs (Van Soest, 1996). The lignified matrix is a
397 structural part of plant cell walls and is mostly affected by maturity, thus leaving the

398 digestibility of the cell contents relatively unaffected (Huhtanen et al., 2006; Van Soest,
399 1967; Van Soest, 1996). In this regard, the ash, CF, CP, and neutral detergent solubles
400 (NDS) are nutritional uniform entities (Huhtanen et al., 2006; Lucas, 1964), and given
401 that NFC are contained in the NDS fraction, it can be assumed that this fraction also
402 behaves uniformly according to the Lucas theory (Lucas, 1964). In this sense, the leaves
403 were considered the Cunhã plant parts with nutritional entities less affected by
404 lignification and cell wall thickening (Tables 1, 2, and 3). Therefore, the leaf DMY should
405 be regarded for maximizing the amount of edible parts of the forage mass and taken into
406 account for management purposes.

407 There are differences in the composition among plant parts (Van Soest, 1996),
408 and these differences were confirmed in the present study. Compared to all studied
409 plant parts, the stems were the more lignified and fibrous part of the plant at 70 d (Table
410 3). As a result of cell wall thickening with maturity (Van Soest, 1994), the amounts of the
411 nutritional entities, including ash, CF, CP, and NFC, of the stems were reduced (Tables 2
412 and 3). Barro and Ribeiro (1983) reported that the insoluble fiber content of the whole
413 Cunhã plant resembles a quadratic behavior with the neutral detergent residue of the
414 plant accessions peaking at 511 g/kg DM near 70 d, as well as a possible linear increase
415 for permanganate lignin with 152 g/kg of DM at the same age. At a flowering state of
416 60% (near 60 d from the uniformity harvest in the present study), Juma et al. (2006)
417 reported an insoluble fiber content for the whole plant of 605 g/kg DM. Barros et al.
418 (1991) found insoluble fiber (as a neutral detergent residue) and permanganate lignin
419 contents of 497 and 83 g/kg of DM, respectively. This disparity in the literature for
420 reported fibrous contents for the whole plant compared to the aNDFom and lignin
421 contents in Table 3 may be because, in the present study, the entire fresh material of the
422 plot was collected with no loss of leaves, which was the plant part richest in NDS. The

423 cutting height may be another interfering factor on quality, which means more or less
424 stem mass in the harvested herbage. Other differences with respect to literature values
425 may be due to the analysis methods of forage fiber and lignin. Therefore, the sequential
426 analysis for lignins was adopted in the present study to avoid interferences due to
427 solubility differences in the neutral and acid detergents (Van Soest et al., 1991).

428 The gas production technique has been used as an additional *in vitro* method to
429 help scientists estimate the digestion kinetics of feedstuffs in the rumen. There are
430 several devices designed to perform the *in vitro* method. Nonetheless, we selected a
431 cheaper method that yielded actual readings of pressure and volume to allow more
432 direct control of the performance of the method (Malafaia et al., 1999; Theodorou et al.,
433 1994). The linearity between volume and pressure readings was held during the
434 incubation run (Figure 2), which indicated that a reasonable performance of the gas
435 production device used was achieved (Theodorou et al., 1994). However, the method
436 used in the present study had a sensitivity limitation indicated by the positive intercept
437 for the relationship between the volume and pressure. The system used in the present
438 study only detected pressure if the accumulated amount of gas in the bottle headspace
439 was greater than 6.0 mL, which explains why volume readings were allowed only for
440 pressure readings greater than or equal to 0.05 psi. Although the system was
441 exhaustively checked for possible gas leaks, it remains as a possible source of bias. Tests
442 are currently being performed to correct systematic errors to improve this method for
443 future studies.

444 The kinetic aspects of the *in vitro* digestion may reveal some intrinsic properties
445 of the feedstuffs studied. The lag time, fractional rates, and extent of digestion
446 (asymptotic gas production) are affected by inhibitory substances, such as lignin, cutin,
447 and tannins, as well as other phenolic and plant defensive compounds that naturally

448 occur in the substrate. Tropical legumes are an example of feedstuffs rich in these
449 inhibitory substances (Longland et al., 1995; Mertens, 2005; Van Soest, 1994). In the
450 present study, these chemicals were not quantified in the Cunchã parts, but Juma et al.
451 (2006) reported an average of 17.1 g/kg DM for tannins.

452 Schofield and Pell (1995) concluded that the gas production technique has the
453 advantage of assessing the fractional rates of both soluble and insoluble components by
454 fitting compartmental models, such as those shown by Eqs. (1)–(4). Moreover, they
455 identified two gas yielding pools for the whole plant DM of both clover (*Trifolium*
456 *pratense* L.) and alfalfa (*Medicago sativa* L.) with asymptotic gas productions of 21.0 and
457 20.2 mL/0.1 g of DM, respectively. Schofield and Pell (1995) also reported values of 0.64
458 and 0.54 as the $V_{f1}/(V_{f1} + V_{f2})$ ratio for clover and alfalfa, respectively, and they
459 reported that the fractional rates of the fast and slow digesting pools are 0.153 and
460 0.028/h, respectively, for clover and 0.110 and 0.030/h, respectively, for alfalfa. The
461 calculated MDT from the values reported by Schofield and Pell (1995) were 42.8 and
462 43.5 h for clover and alfalfa, respectively. In the present study, the fast digesting pool at
463 70 d presented $V_{f1}/(V_{f1} + V_{f2})$ ratios of 0.53 and 0.40 for leaves and stems, respectively,
464 and the gas production from pods was more likely to have originated from a uniform
465 digesting pool. The basic difference between the MDT calculated from the study by
466 Schofield and Pell (1995) and the MDT calculated in the present study is based on the
467 magnitude of the faster lag times present in the study by Schofield and Pell (1995).

468 The 95%CI values reported in Tables 2 and 3 allow a high nutritive value to be
469 inferred for Cunchã comparable to clover and alfalfa, at least in terms of the chemical
470 composition and fermentation characteristics. Information on animal performances is
471 scarce, but Avalos et al. (2004) reported similar performances for Brown-Swiss cows
472 eating equivalent amounts of Cunchã and alfalfa, which may support an expected high

473 nutritional value for Cunhã. Despite the favorable features of Cunhã, such as a high
474 protein content, perennial nature, and vigorous regrowth capacity (Gomez and
475 Kalamani, 2003), in addition to the comparable estimates of gas production kinetics to
476 alfalfa and clover at 70 d, this harvesting age may not be close enough to the optimum
477 harvesting age of Cunhã. Nonetheless, a compromise between a sustainable forage
478 production and the quantity and quality of the herbage mass has to be sought for the
479 efficient utilization of Cunhã as a good forage source.

480

481 **5. Conclusions**

482 The forage legume, Cunhã (*C. ternatea* L.), has a good potential to be cultivated
483 under irrigation in Northern Rio de Janeiro State because it yields comparable amounts
484 of good quality fodder as those observed in other tropical regions, especially if this
485 legume is offered fresh and with a high content of leaves because the leaves of this
486 legume are the least affected by the maturation process. Cunhã yields forage with a
487 potential nutritive value comparable to the traditionally cultivated forage legume crops
488 (e.g., alfalfa) despite the possible positive linear effect of maturity on aNDFom and
489 Lignin (sa) contents in its leaves. In the conditions of the present study, the harvesting
490 age to achieve the maximum DMY of leaves was 70 d, but long-term multilocation trials
491 are still required to improve the prediction of dry matter yields and other variables
492 involved in its forage management for the State of Rio de Janeiro.

493

494 **Acknowledgements**

495 This research and grants were supported by the Conselho Nacional de Desenvolvimento
496 Científico e Tecnológico – CNPq (Brazil), process numbers 303869/2009-7 and
497 479593/2010-8, respectively, and by the Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à

498 Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro – FAPERJ, process number E-26/110.231/2011.
499 The first author was granted by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de
500 Nível Superior – CAPES (Brazil).

501

502 **References**

503 Akaike, H., 1974. A new look at the statistical model identification. IEEE Trans. Autom.
504 Control 19, 716-723.

505 AOAC, 1990. Official methods of analysis. 15th Edition, Association of Official Analytical
506 Chemists, Arlington.

507 Araújo Filho, J.A., Gadelha, J.A., Silva, N.L., Leite, E.R., Araújo, M.R.A., 1996. Consorciação
508 do capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) e da cunhã (*Clitoria ternatea* L.)
509 sob quatro intervalos de corte. Pasturas Trop. 18, 47-50.

510 Araújo Filho, J.A., Gadelha, J.A., Silva, N.L., Pereira, R.M.A., 1994. Efeito da altura e
511 intervalo de corte na produção de forragem da cunhã (*Clitoria ternatea* L.). Pesq.
512 Agropec. Bras. 29, 979-982.

513 Avalos, J.F.V., Cárdenas, J.A.B., Ceja, J.V.R., Guerrero, J.J.B., 2004. Agrotechnics and use of
514 *Clitoria ternatea* in beef and milk production systems. Téc. Pecu. Méx. 42, 79-96.

515 Barro, C., Ribeiro, A., 1983. The study of *Clitoria ternatea* L. hay as a forage alternative in
516 tropical countries. Evolution of the chemical composition at four different growth
517 stages. J. Sci. Food Agric. 34, 780-782.

518 Barros, N.N., Freire, L.C.L., Lopes, E.A., Johnson, W.L., 1991. Estudo comparativo da
519 digestibilidade de leguminosa forrageira com ovinos e caprinos. 1. Digestibilidade *in*
520 *vivo* do feno de cunhã. Pesq. Agropec. Bras. 26, 1209-1213.

521 Barros, N.N., Rossetti, A.G., Carvalho, R.B., 2004. Feno de cunhã (*Clitoria ternatea* L.) para
522 acabamento de cordeiros. Cienc. Rural 34, 499-504.

- 523 Burnham, K.P., Anderson, D.R., 2004. Multimodel inference: understanding AIC and BIC
524 in model selection. *Sociol. Methods & Res.* 33, 261-304.
- 525 Cook, B., Pengelly, B., Brown, S., Donnelly, J., Eagles, D., Franco, A., Hanson, J., Mullen, B.,
526 Partridge, I., Peters, M., Schultze-Kraft, R., 2005. Tropical Forages: an interactive
527 selection tool, CSIRO, DPI&F Queensland, CIAT, Cali.
528 (http://www.tropicalforages.info/key/Forages/Media/Html/Clitoria_ternatea.htm,
529 access on 1/20/2012).
- 530 Goering, H.K., Van Soest, P.J., 1970. Forage fiber analysis. Agricultural handbook No. 379.
531 U.S.D.A., Washington.
- 532 Gomez, S.M., Kalamani, A., 2003. Butterfly pea (*Clitoria ternatea*): A nutritive
533 multipurpose forage legume for the tropics - an overview. *Pak. J. Nutr.* 2, 374-379.
- 534 Gupta, G.K., Chalal, J., Bhatia, M., 2010. *Clitoria ternatea* (L.): old and new aspects. *J.*
535 *Pharm. Res.* 3, 2610-2614.
- 536 Hall, M.B., Mertens, D.R., 2008. In vitro fermentation vessel type and method alter fiber
537 digestibility estimates. *J. Dairy Sci.* 91, 301-307.
- 538 Hall, T.J., 1985. Adaptation and agronomy of *Clitoria ternatea* L. in northern Australia.
539 *Trop. Grassl.* 19, 156-163.
- 540 Huhtanen, P., Nousiainen, J., Rinne, M., 2006. Recent developments in forage evaluation
541 with special reference to practical applications. *Agric. Food Sci.* 15, 293-323.
- 542 Juma, H.K., Abdulrazak, S.A., Muing, R.W., Ambula, M.K., 2006. Evaluation of *Clitoria*,
543 *Gliricidia* and *Mucuna* as nitrogen supplements to Napier grass basal diet in relation
544 to the performance of lactating Jersey cows. *Livest. Sci.* 103, 23-29.
- 545 Littell, R.C., Milliken, G.A., Stroup, W.W., Wolfinger, R.D., Schabenberger, O., 2006. SAS®
546 for Mixed Models. SAS Institute Inc., Cary.

- 547 Longland, A.C., Theodorou, M.K., Sanderson, R., Lister, S.J., Powell, C.J., Morris, P., 1995.
548 Non-starch polysaccharide composition and *in vitro* fermentability of tropical forage
549 legumes varying in phenolic content. *Anim. Feed Sci. Technol.* 55, 161-177.
- 550 Lucas, H.L., 1964. Stochastic elements in biological models; their sources and
551 significances, In: Gurland, J. (Ed.), *Stochastic models in medicine and biology*,
552 University of Wisconsin Press, Madison, pp. 355-383.
- 553 Malafaia, P.A.M., Filho, S.C.V., Vieira, R.A.M., 1999. Kinetic parameters of ruminal
554 degradation estimated with a non-automated system to measure gas production.
555 *Livest. Prod. Sci.* 58, 1216-1231.
- 556 Mertens, D.R., 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent
557 fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. *J. Assoc. Off.*
558 *Anal. Chem.* 85, 1217-1240.
- 559 Mertens, D.R., 2005. Rate and extent of digestion, In: Dijkstra, J., Forbes, J.M., France, J.
560 (Eds.), *Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism*, CAB International,
561 Wallingford, pp. 13-48.
- 562 Neter, J., Wasserman, W., 1974. *Applied Linear Statistical Models*. Richard D. Irwin, Inc.,
563 Homewood.
- 564 Pfister, J.A., Malechek, J.C., 1986. The voluntary forage intake and nutrition of goats and
565 sheep in the semiarid tropics of Northeastern Brazil. *J. Anim. Sci.* 63, 1078-1086.
- 566 Schofield, P., Pell, A.N., 1995. Measurement and kinetic-analysis of the neutral detergent-
567 soluble carbohydrate fraction of legumes and grasses. *J. Anim. Sci.* 73, 3455-3463.
- 568 Schofield, P., Pitt, R.E., Pell, A.N., 1994. Kinetics of Fiber Digestion from *in vitro* gas
569 production. *J. Anim. Sci.* 72, 2980-2991.

- 570 Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B., France, J., 1994. A simple
571 gas-production method using a pressure transducer to determine the fermentation
572 kinetics of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 48, 185-197.
- 573 Thiex, N. J., S. Anderson, Gildemeister, B., 2003. Crude fat, hexanes Extraction, in feed,
574 cereal grain, and forage (Randall/Soxtec/Submersion Method): collaborative study. *J.*
575 *Assoc. Off. Anal. Chem.* 86, 899-908.
- 576 Thiex, N.J., Manson, H., Anderson, S., Persson, J.-Á., 2002. Determination of crude protein
577 in animal feed, forage, grain, and oilseeds by using block digestion with a copper
578 catalyst and steam distillation into boric acid: collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal.*
579 *Chem.* 85, 309-317.
- 580 Upadhyaya, R.S., Pachauri, V.C., 1983. Nutritive value of *Clitoria ternatea* L. hay for
581 Barbari goats. *Indian J. Anim. Sci.* 53, 1032-1033.
- 582 Van Soest, P.J., 1967. Development of a comprehensive system of feed analyses and its
583 application to forages. *J. Anim. Sci.* 26, 119-128.
- 584 Van Soest, P.J., 1994. Nutritional ecology of the ruminant. Cornell University Press,
585 Ithaca.
- 586 Van Soest, P.J., 1996. Allometry and ecology of feeding behavior and digestive capacity in
587 herbivores: a review. *Zoo Biol.* 15, 455-479.
- 588 Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral
589 detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy*
590 *Sci.* 74, 3583-3597.
- 591 Vieira, R.A.M., Campos, P.R.S.S., Coelho da Silva, J.F., Tedeschi, L.O., Tamy, W.P., 2012.
592 Heterogeneity of the digestible insoluble fiber of selected forages in situ. *Anim. Feed*
593 *Sci. Technol.* 171, 154-166.

594 Zwietering, M.H., Jongenburger, I., Rombouts, F.M., van't Riet, K., 1990. Modeling of the
595 Bacterial Growth Curve. *Appl. Environm. Microbiol.* 56, 1875-1881.

596

597

598

599

600

601

602

603

604

605

606

607

608

609

610

611

612

613

614

615

616

617

618

619

620

621

622

623

624

625

626

627

628

629

630

631

632

633

634

635

636

637

638

639

640

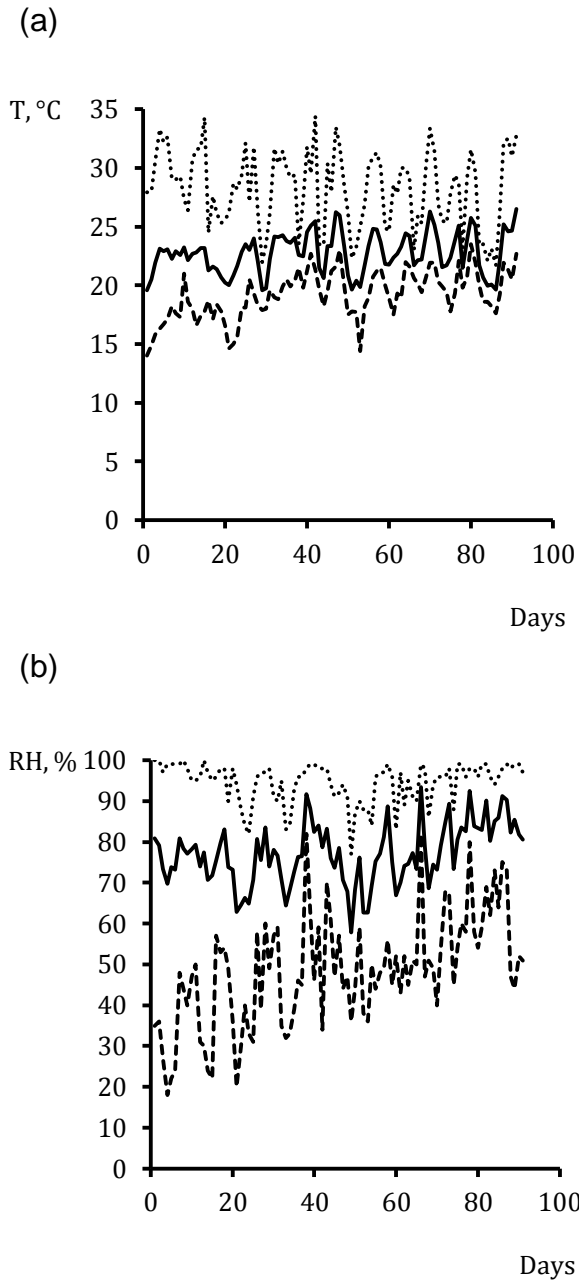


Figure 1. Maximum (dotted lines), means (solid lines), and minimum (dashed lines) of the daily air temperature (T, °C; panel a), and daily relative humidity (RH, %; panel b) during the 91 d experimental period.

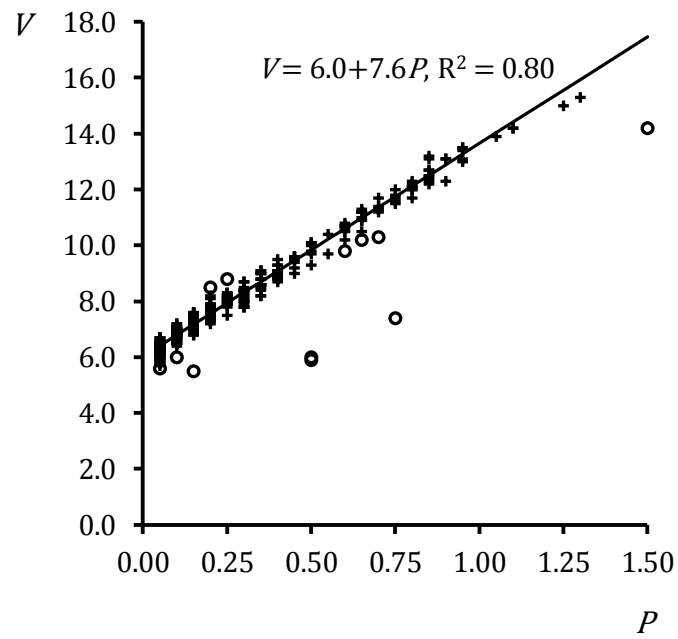


Figure 2.

Plot of the Volume (V , mL) \times Pressure (P , psi) readings showing observed points (crosses, $n = 408$), the estimated linear relationship by the robust regression technique, and the respective outliers identified (circles, $n = 12$). The linear model was more likely than the quadratic one according to the Akaike criteria.

Table 1

P-values regarding the linear (L), quadratic (Q), and cubic (C) effects for the dry matter yield (DMY), the leaf:plant dry mass ratio (LR), the chemical components^a, and gas production parameters for the whole butterfly pea, its leaves, and stems, and *P*-values for the *F*-ratio test for pods.

Variable	Whole Plant			Leaves			Stems			Pods
	L	Q	C	L	Q	C	L	Q	C	<i>F</i> -ratio
DMY (kg/ha)	<0.001	0.088	0.056	<0.001	0.004	0.455	<0.001	0.486	0.498	0.049
LR	<0.001	0.303	0.003	—	—	—	—	—	—	—
DM ^b	0.161	0.063	0.372	—	—	—	—	—	—	—
Ash ^c	<0.001	0.683	0.448	0.810	0.634	0.890	0.002	0.011	0.439	0.917
CF ^c	<0.001	0.710	0.001	0.131	0.914	0.037	<0.001	0.001	0.314	0.129
CP ^c	0.006	0.146	0.129	0.728	0.363	0.493	0.057	0.087	0.548	0.417
NFC ^c	<0.001	0.587	0.125	0.113	0.938	0.486	<0.001	0.333	0.050	0.089
aNDFom ^c	<0.001	0.188	0.514	0.015	0.284	0.921	<0.001	0.002	0.056	0.301
Lignin (sa) ^c	<0.001	0.818	0.237	0.004	0.777	0.878	<0.001	0.020	0.410	0.010
Lignin (pm) ^c	<0.001	0.583	0.437	0.079	0.730	0.101	<0.001	0.070	0.094	0.008
Cutin ^c	0.016	0.341	0.036	0.636	0.640	0.009	0.870	0.256	0.629	0.855
Lag (h)	—	—	—	0.001	0.956	0.152	0.007	0.777	0.690	—
Vf_1 ^d	—	—	—	0.395	0.111	0.139	<0.001	0.002	0.742	—
Vf_2 ^d	—	—	—	0.695	0.049	0.070	0.022	0.019	0.502	—
V_f ^d	—	—	—	—	—	—	—	—	—	<0.001
k_1 (1/h) ^e	—	—	—	0.286	0.284	0.295	0.016	0.047	0.237	—
k_2 (1/h) ^e	—	—	—	0.933	0.776	0.081	0.109	0.139	0.631	—
k (1/h) ^e	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.611
MDT (h) ^e	—	—	—	0.956	0.010	0.145	0.027	0.050	0.867	0.616

^a DM, dry matter; CF, crude fat; CP, crude protein; NFC, non fibrous carbohydrates; aNDFom, neutral detergent fiber assayed with amylase and sulphite and expressed exclusive of residual ash; Lignin (sa), sulphuric acid lignin; and Lignin (pm) as permanganate lignin.

^b g/kg of the fresh harvested mass.

^c g/kg of DM.

^d Vf_1 , Vf_2 , and V_f are fast, slow, and single pools gas productions, expressed as mL/0.1 g of DM.

^e k_1 , k_2 , and k are fractional rates of the fast, slow, and single pools, respectively, and MDT is mean digestion time.

Table 2

Trends (regressions) or 95% confidence intervals as a function of the harvesting age (x) regarding the dry matter yield (DMY), the leaf:plant dry mass ratio (LR), the chemical components^a, and gas production parameters for the whole Cunhã plant, its leaves, stems, 70 d pods, and 90 d pods.

Variables	Trends or 95% confidence intervals for				
	The Whole Plant	Leaves	Stems	70 d Pods	90 d Pods
DMY (kg/ha)	$6,379 - 403x + 8.47x^2 - 0.048x^3$	$-2,519 + 111x - 0.76x^2$	$-385 + 15x$	850 ± 440	$1,443 \pm 393$
LR	$-0.749 + 0.091x - 0.002x^2 + 8.6 \times 10^{-6}x^3$	—	—	—	—
DM ^b	$251.5 - 2.8x + 0.025x^2$	—	—	—	—
Ash ^c	$89.2 - 0.3x$	96.5 ± 2.1	$11.4 - 0.2x + 0.001x^2$	55.6 ± 5.1	56.0 ± 5.7
CF ^c	$53.2 - 0.3x$	49.8 ± 2.6	$31.3 - 0.5x + 0.003x^2$	22.5 ± 7.5	30.7 ± 8.4
CP ^c	$291.6 - 0.5x$	319.5 ± 9.2	$183.1 - 2.2x + 0.016x^2$	237.4 ± 21.2	249.1 ± 23.8
NFC ^c	$362.1 - 1.4x$	295.4 ± 15.4	$288.9 - 1.1x$	281.1 ± 34.4	238.1 ± 38.5
aNDFom ^c	$204.0 + 2.4x$	$203.8 + 0.6x$	$339.6 + 7.3x - 0.044x^2$	403.4 ± 32.3	426.2 ± 36.1
Lignin (sa) ^c	$34.7 + 0.5x$	$32.2 + 0.2x$	$37.5 + 2.1x - 0.005x^2$	58.3 ± 10.1	80.4 ± 11.3
Lignin (pm) ^c	$11.0 + 0.6x$	$13.2 + 0.2x$	$33.7 + 1.7x - 0.010x^2$	55.6 ± 7.4	73.0 ± 8.3
Cutin ^c	$23.1 - 0.1x$	19.8 ± 1.7	17.2 ± 2.9	11.3 ± 4.8	10.7 ± 5.4
Lag (h)	—	$4.0 - 0.02x$	$2.9 - 0.02x$	—	—
Vf_1 ^d	—	9.9 ± 1.6	$22.3 - 0.5x + 0.003x^2$	—	—
Vf_2 ^d	—	$-1.9 + 0.4x - 0.003x^2$	$5.1 + 0.1x - 0.001x^2$	—	—
V_f ^d	—	—	—	19.1 ± 1.2	14.7 ± 1.1
k_1 (1/h) ^e	—	0.1332 ± 0.0869	$0.0206 + 0.0028x - 2.0 \times 10^{-5}x^2$	—	—
k_2 (1/h) ^e	—	0.0285 ± 0.0067	0.0186 ± 0.0030	—	—
k (1/h) ^e	—	—	—	0.0770 ± 0.0061	0.0789 ± 0.0027
MDT ^e (h)	—	55.3 ± 8.8	$121.8 - 2.1x + 0.02x^2$	23.7 ± 2.1	24.9 ± 2.4

^a DM, dry matter; CF, crude fat; CP, crude protein; NFC, non fibrous carbohydrates; aNDFom, neutral detergent fiber assayed with amylase and expressed exclusive of residual ash; Lignin (sa), sulphuric acid lignin; and Lignin (pm) as permanganate lignin.

^b g/kg of the harvested mass.

^c g/kg of DM.

^d Vf_1 , Vf_2 , and V_f are fast, slow, and single pools gas productions, expressed as mL/0.1 g DM.

^e k_1 , k_2 , and k are fractional rates of the fast, slow, and single pools, respectively, and MDT is mean digestion time.

Table 3.

95% confidence intervals (95%CI) regarding the dry matter yield (DMY), the leaf:plant dry mass ratio (LR), the chemical components^a, and gas production parameters for the whole Cunhã plant, its leaves, and stems at the 70 d harvest.

Variables	95%CI for		
	The Whole Plant	Leaves	Stems
DMY (kg/ha)	3192 ± 428	1533 ± 250	666.1 ± 87.3
LR	0.49 ± 0.01	—	—
DM ^{a,b}	174.8 ± 14.1	—	—
Ash ^{a,c}	67.0 ± 2.1	—	45.7 ± 5.1
CF ^{a,c}	35.4 ± 2.4	—	10.7 ± 0.9
CP ^{a,c}	255.1 ± 8.7	—	103.3 ± 9.7
NFC ^{a,c}	267.9 ± 11.3	—	208.7 ± 16.2
aNDFom ^{a,c}	374.7 ± 5.7	243.2 ± 9.9	631.6 ± 15.1
Lignin (sa) ^{a,c}	66.4 ± 2.2	45.2 ± 2.5	117.1 ± 6.2
Lignin (pm) ^{a,c}	53.3 ± 1.7	26.2 ± 2.2	108.0 ± 6.9
Cutin ^{a,c}	16.8 ± 1.8	—	—
Lag (h)	—	2.3 ± 0.3	2.3 ± 0.3
Vf_1^d	—	—	5.5 ± 1.0
Vf_2^d	—	9.0 ± 1.8	8.3 ± 0.5
V_f^d	—	—	—
k_1 (1/h) ^e	—	—	0.1194 ± 0.0098
k_2 (1/h) ^e	—	—	—
k (1/h) ^e	—	—	—
MDT (h) ^e	—	—	62.4 ± 3.7

^a DM, dry matter; CF, crude fat; CP, crude protein; NFC, non fibrous carbohydrates; aNDFom, neutral detergent fiber assayed with amylase and expressed exclusive of residual ash; Lignin (sa), sulphuric acid lignin; and Lignin (pm) as permanganate lignin.

^b g/kg of the harvested mass.

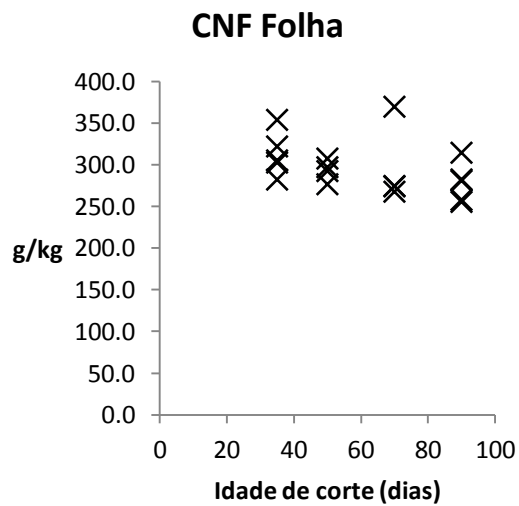
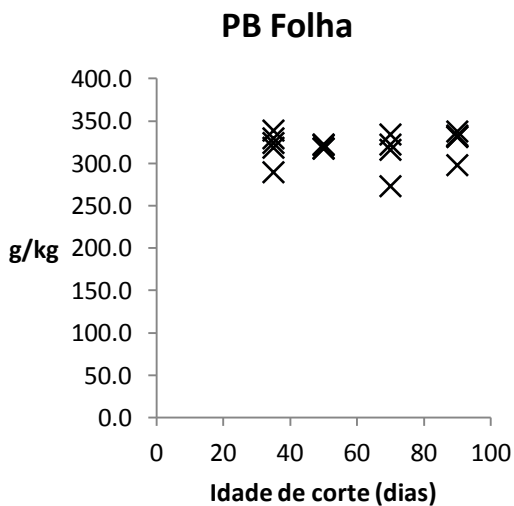
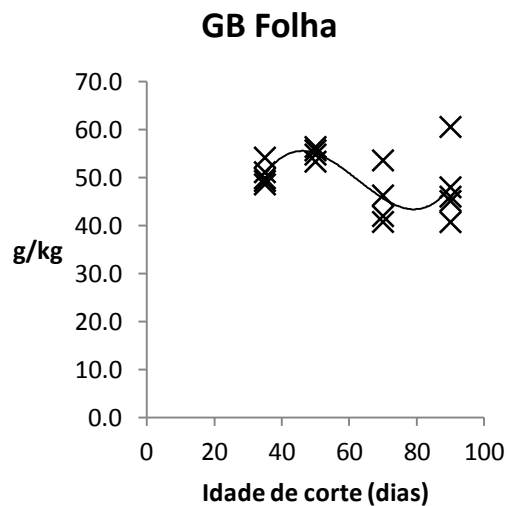
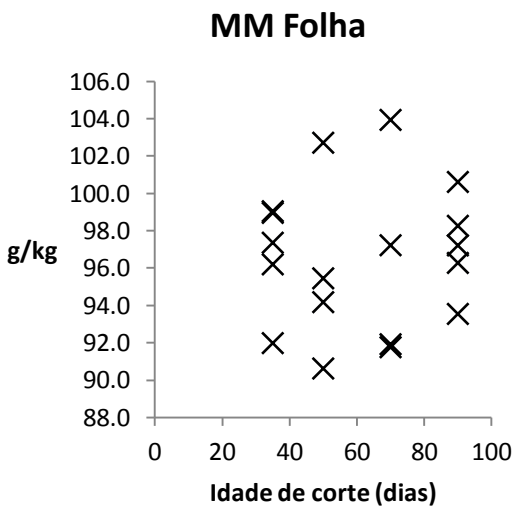
^c g/kg of DM.

^d Vf_1 , Vf_2 , and V_f are fast, slow, and single pools gas productions, expressed as mL/0.1 g DM.

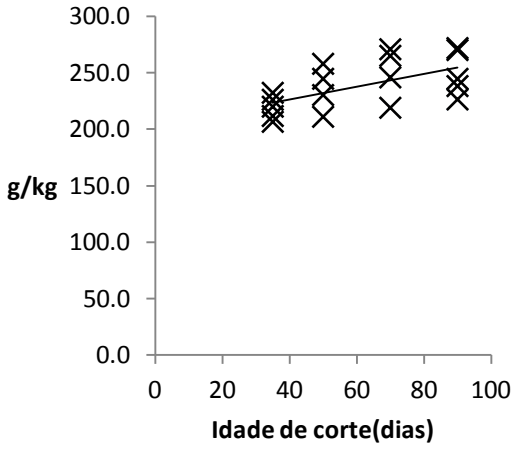
^e k_1 , k_2 , and k are fractional rates of the fast, slow, and single pools, respectively, and MDT is mean digestion time.

APÊNDICE(S)

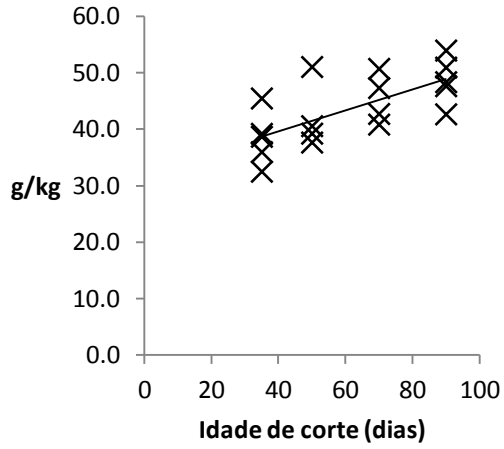
APÊNDICE A- Composição bromatológica de folhas: **MM** – matéria mineral, **GB** – gordura bruta, **PB** – proteína bruta, **CNF** – carboidratos não fibrosos, **aFDNom** – matéria orgânica de fibra, **Lig H₂SO₄** - lignina em ácido sulfúrico, **Lig KMNO₄** - lignina em permanganato, **Cut** - cutina, e parâmetros da produção de gases: **L** – latência discreta, **Vf₁** - produção de gases na fase de digestão rápida, **Vf₂** - produção de gases na fase de digestão lenta, **k₁** – taxa de produção de gases na fase de digestão rápida, **k₂** - taxa de produção de gases na fase de digestão lenta, **TMD** – tempo médio de digestão.



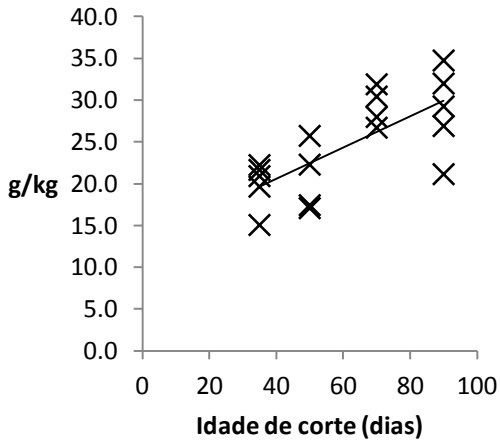
aFDNom Folha



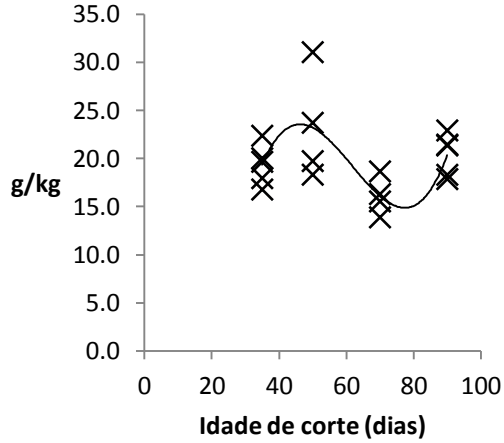
Lig H₂SO₄ Folha



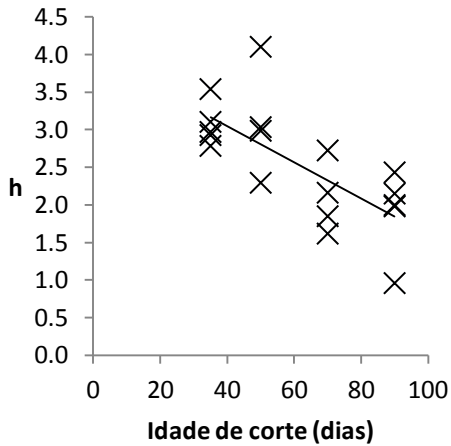
Lig KMNO₄ Folha



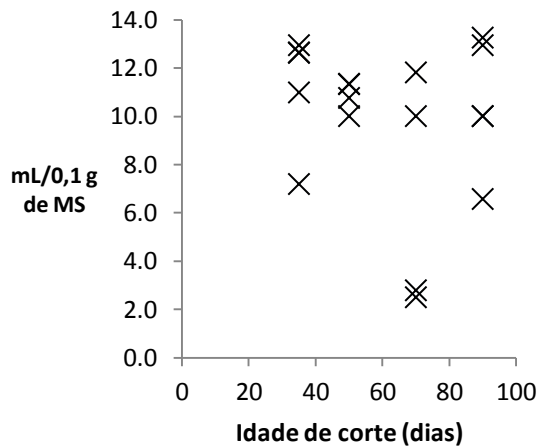
Cut Folha



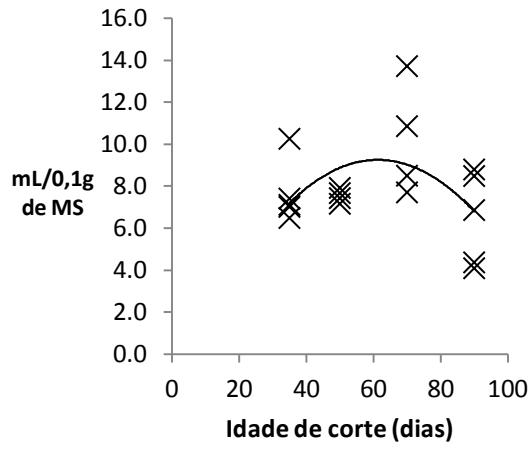
L Folha



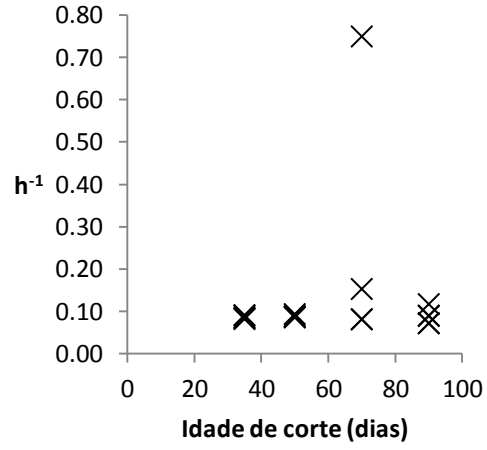
Vf₁ Folha



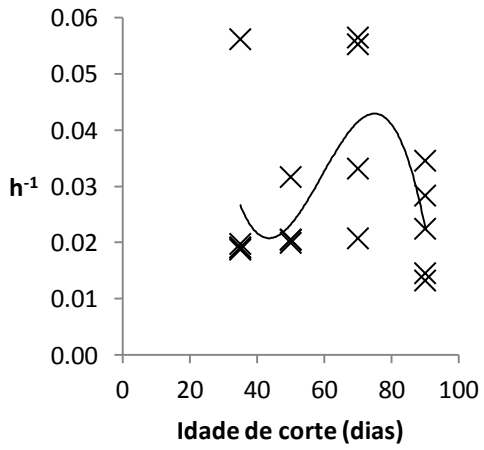
Vf₂ Folha



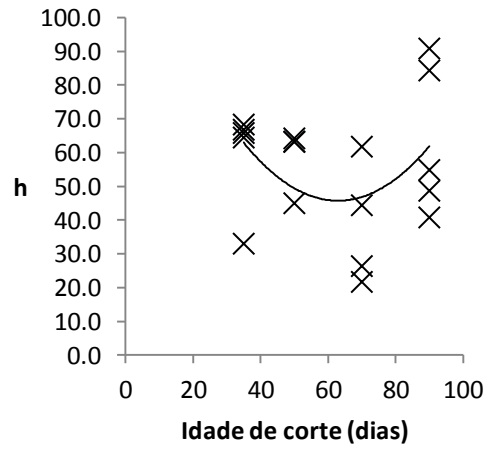
k₁ Folha



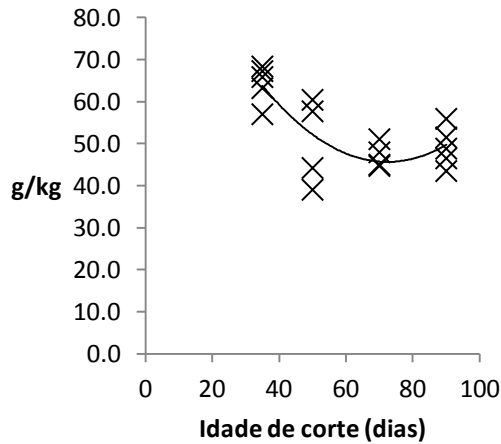
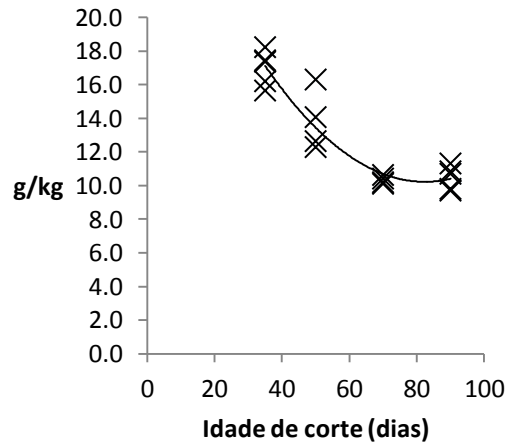
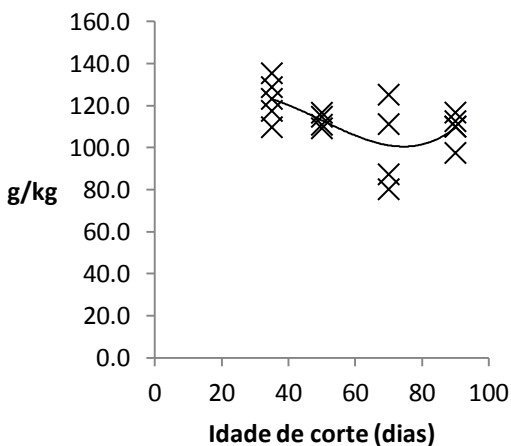
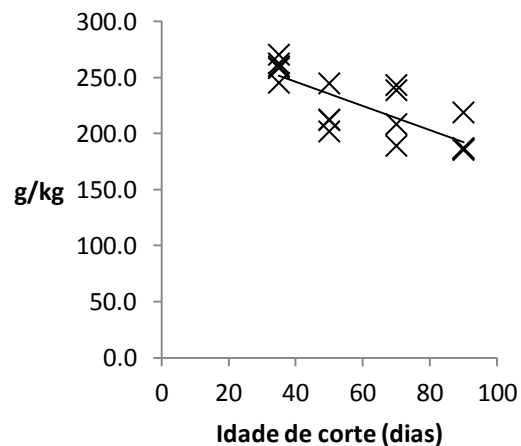
k₂ Folha

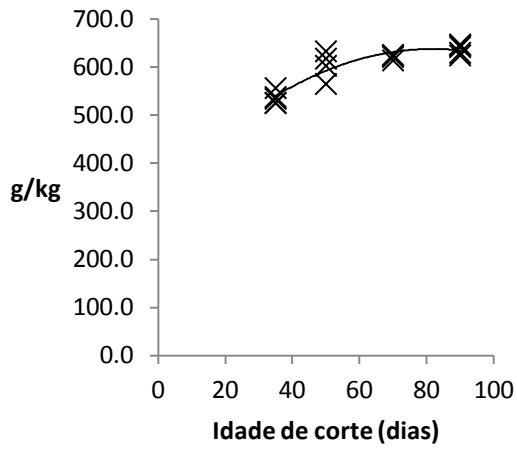
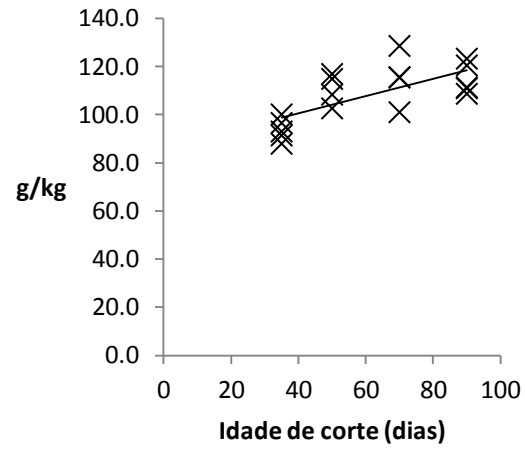
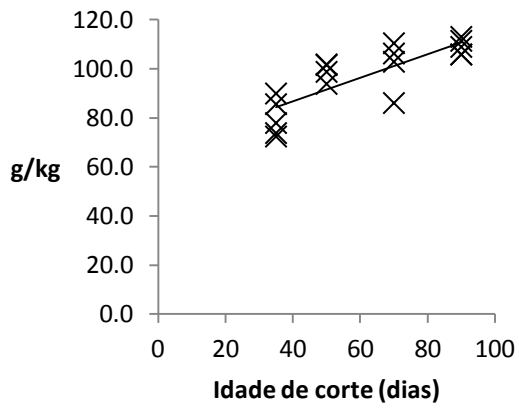
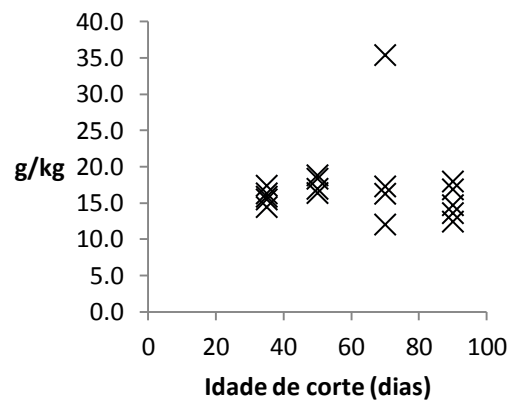
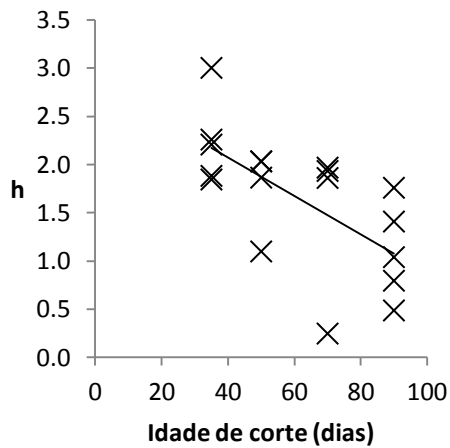
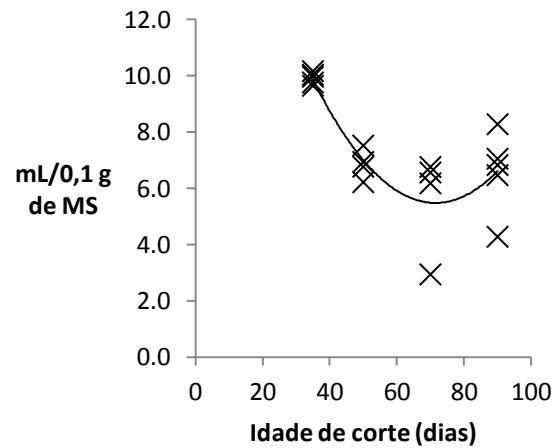


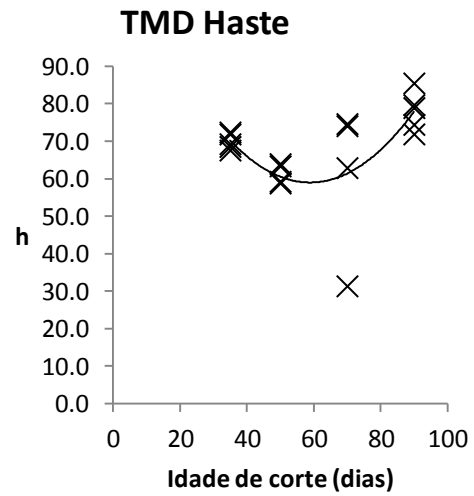
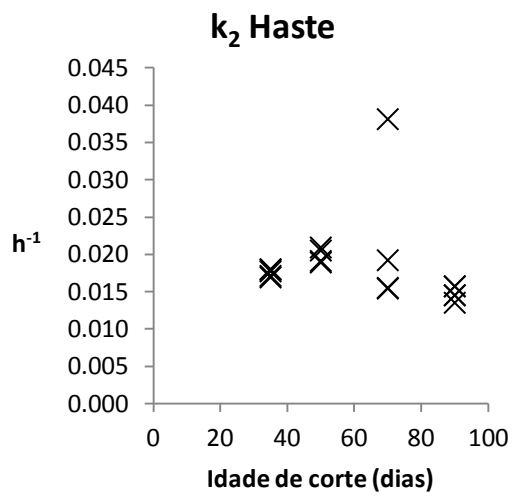
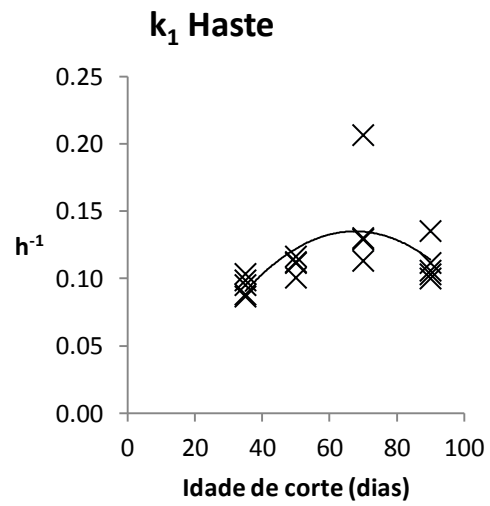
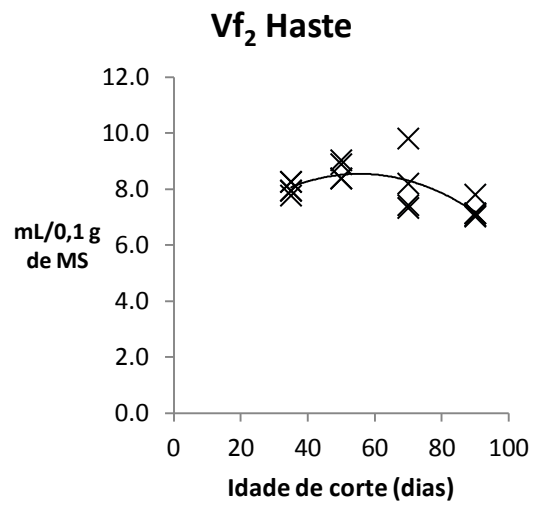
TMD Folha



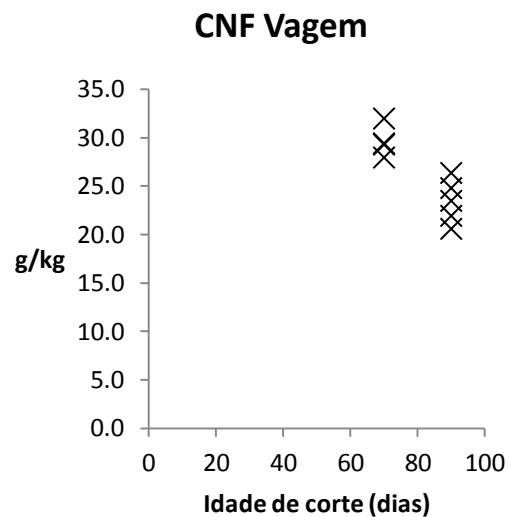
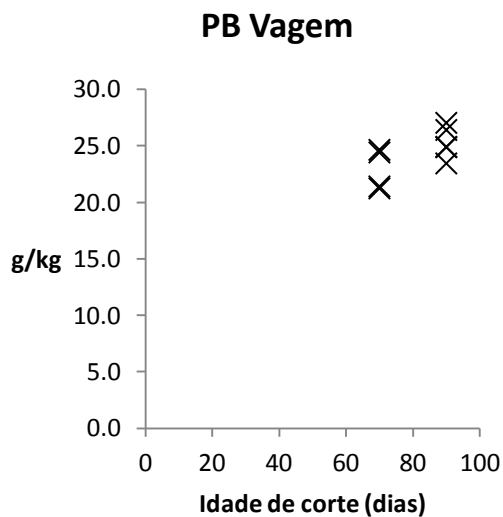
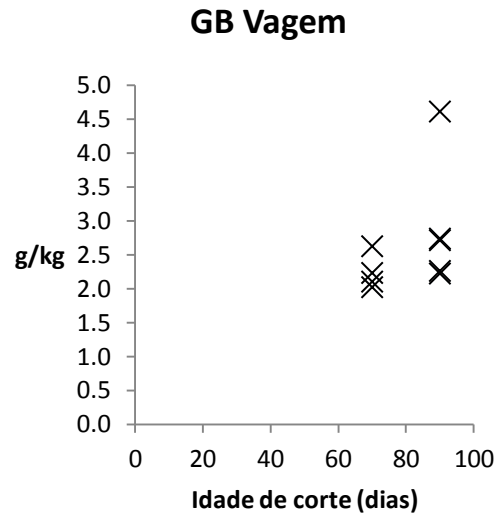
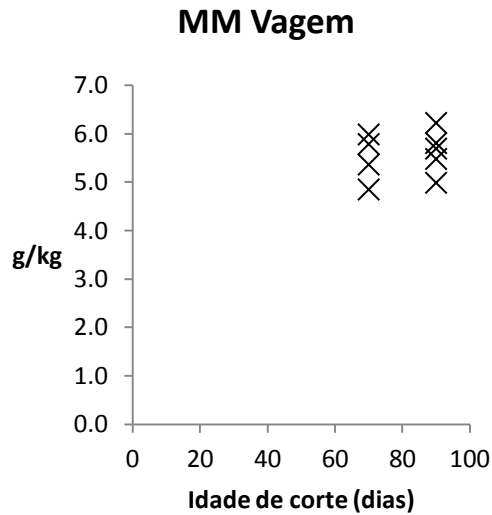
APÊNDICE B - Composição bromatológica de hastes: **MM** – matéria mineral, **GB** – gordura bruta, **PB** – proteína bruta, **CNF** – carboidratos não fibrosos, **aFDNom** – matéria orgânica de fibra, **Lig H₂SO₄** - lignina em ácido sulfúrico, **Lig KMNO₄** - lignina em permanganato, **Cut** - cutina, e e parâmetros da produção de gases: **L** – latência discreta, **Vf₁** - produção de gases na fase de digestão rápida, **Vf₂** - produção de gases na fase de digestão lenta, **k₁** – taxa de produção de gases na fase de digestão rápida, **k₂** - taxa de produção de gases na fase de digestão lenta, **TMD** – tempo médio de digestão.

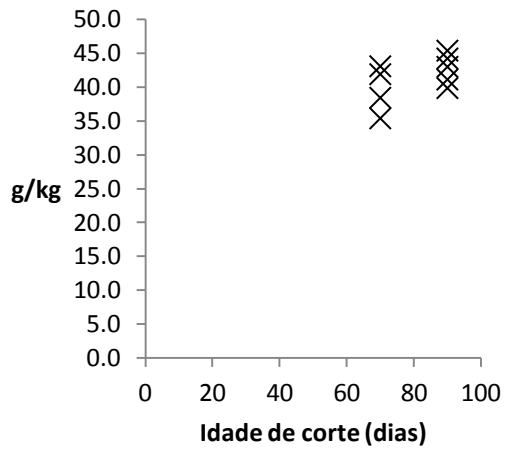
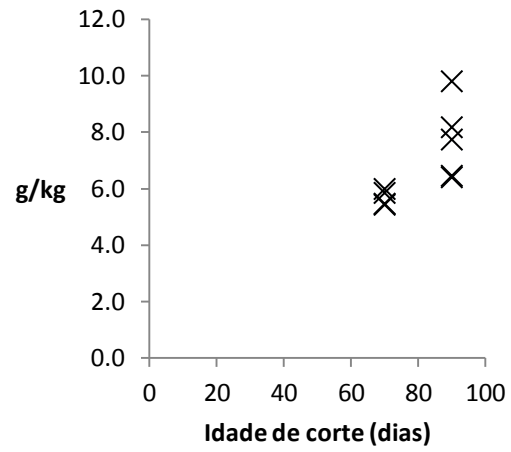
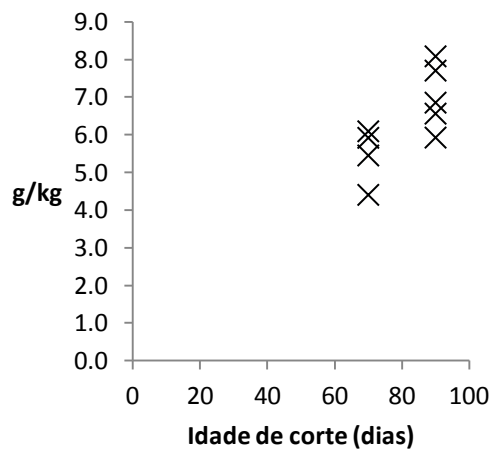
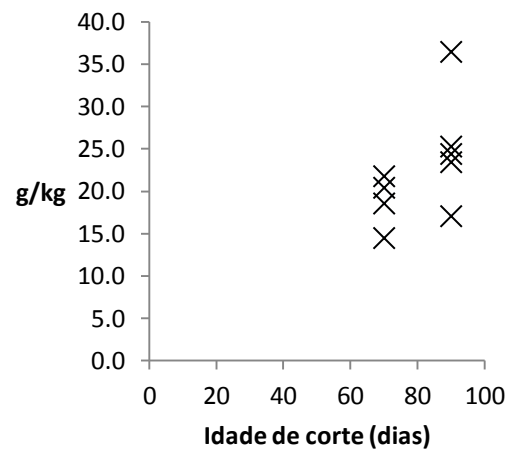
MM Haste**GB Haste****PB Haste****CNF Haste**

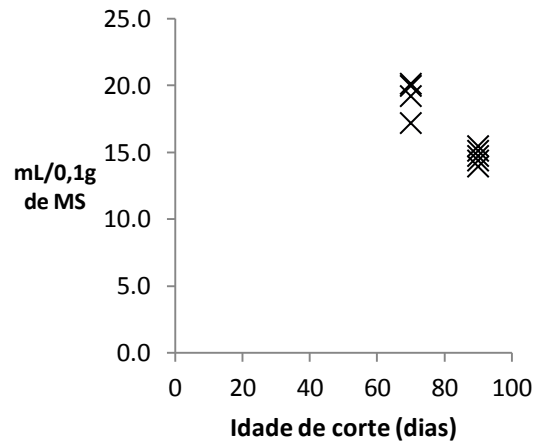
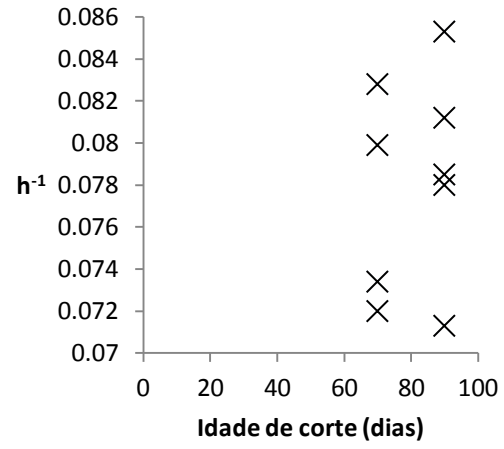
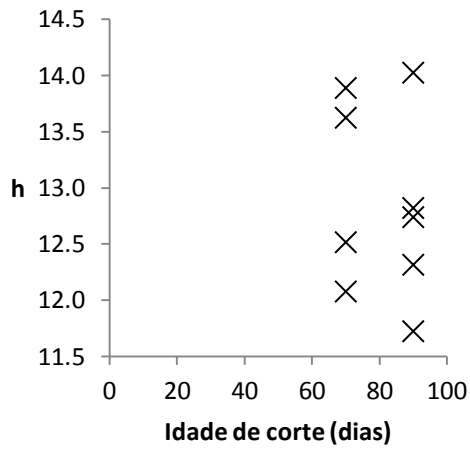
aFDNom Haste**Lig H₂SO₄ Haste****Lig KMnO₄ Haste****Cut Haste****L Haste****Vf₁ Haste**



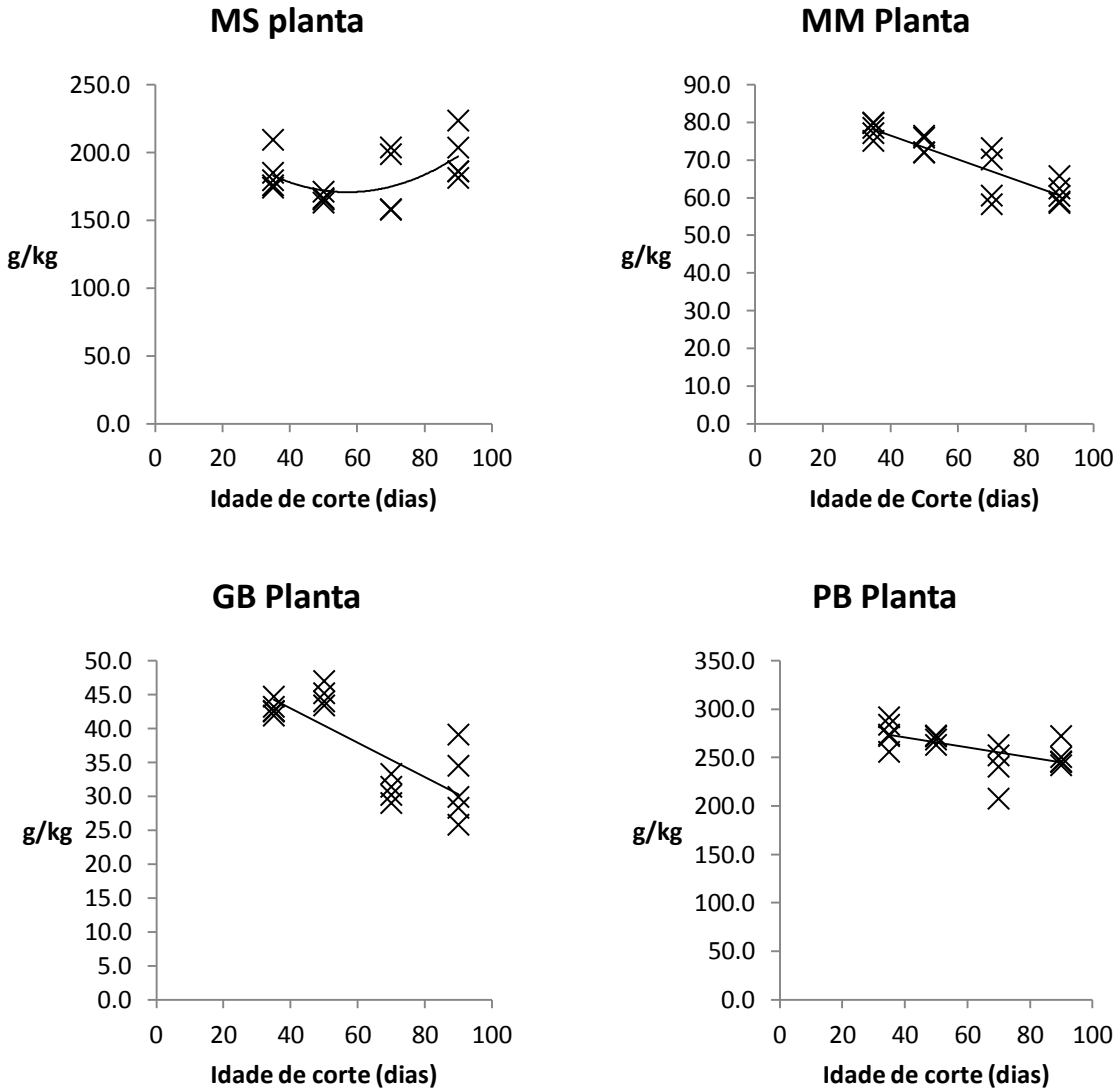
APÊNDICE C - Composição bromatológica de vagens: **MM** – matéria mineral, **GB** – gordura bruta, **PB** – proteína bruta, **CNF** – carboidratos não fibrosos, **aFDNom** – matéria orgânica de fibra, **Lig H₂SO₄** - lignina em ácido sulfúrico, **Lig KMNO₄** - lignina em permanganato, **Cut** - cutina, e parâmetros de produção de gases: **Vf** – produção simples de gases, **k** – taxa de produção de gases, **TMD** – tempo médio de digestão.

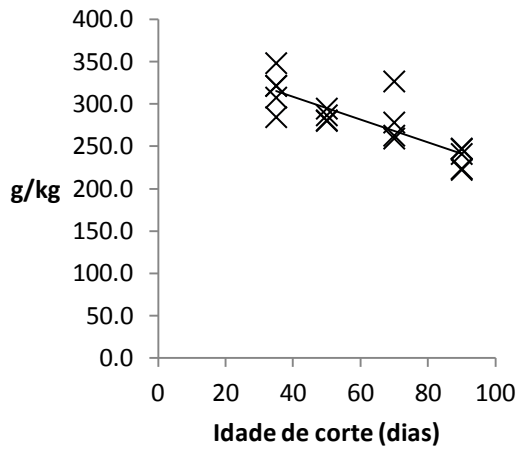
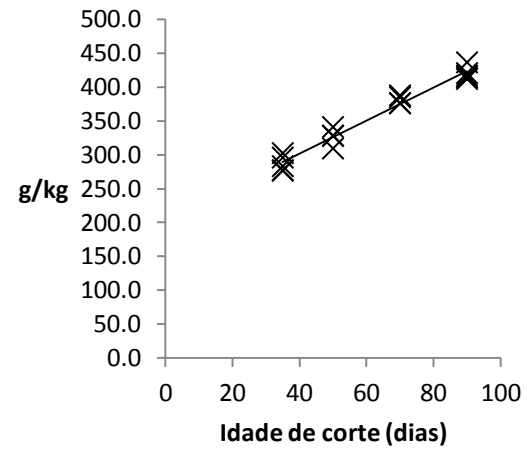
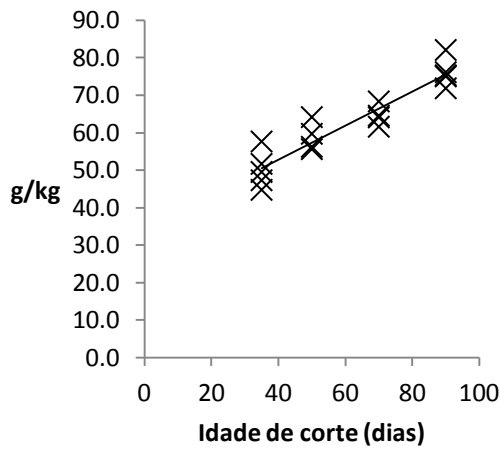
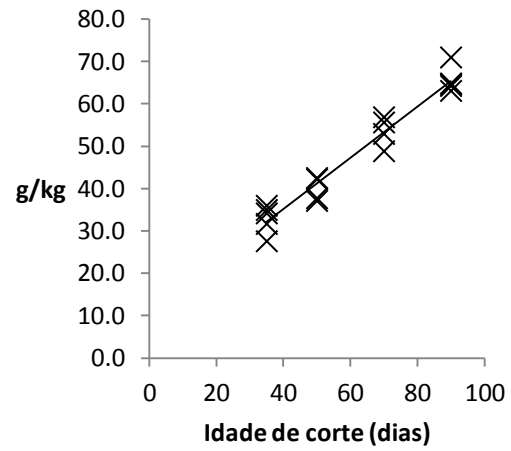


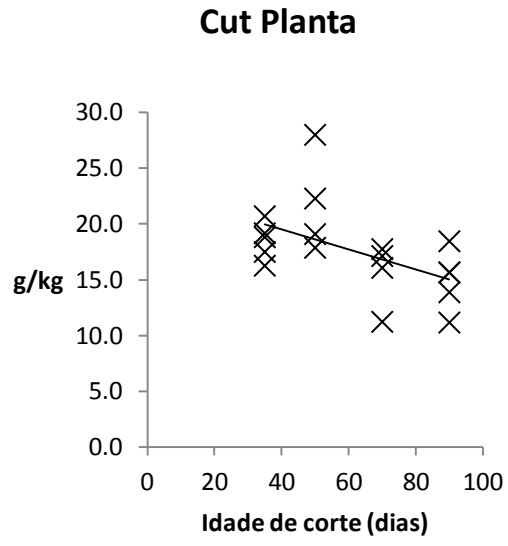
aFDNom Vagem**H₂SO₄ Vagem****Lig KMnO₄ Vagem****Cut Vagem**

Vf Vagem**k Vagem****TMD Vagem**

APÊNDICE D - Composição bromatológica de plantas inteiras: **MS** – matéria seca, **MM** – matéria mineral, **GB** – gordura bruta, **PB** – proteína bruta, **CNF** – carboidratos não fibrosos, **aFDNom** – matéria orgânica de fibra, **Lig H₂SO₄** - lignina em ácido sulfúrico, **Lig KMNO₄** - lignina em permanganato, **Cut** - cutina.



CNF Planta**aFDNom Planta****Lig H₂SO₄ Planta****Lig KMnO₄ Planta**



Apêndice E - Produção de matéria seca da cunhã (*Clitoria ternatea* L.). **MSP** - matéria seca de planta inteira, **MSF** - matéria seca de folha, **MSH** - matéria seca de haste, **MSV** - matéria seca de vagem, **MSF/MSP** - rendimento de folha.

