

**CONTRATO DE COMODATO Nº 31/2022–
UFLA, QUE ENTRE SI CELEBRAM A
UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS –
UFLA E NADIR FAVERO, NA FORMA
ABAIXO.**

Pelo presente Instrumento e na melhor forma de direito, de um lado a **UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS**, pessoa jurídica de direito público, autarquia especial integrante da Administração Indireta da União, vinculada ao Ministério da Educação, criada pela Lei nº 8.956, de 15 de dezembro de 1994, inscrita no CNPJ/MF sob o nº 22.078.679/0001-74, com sede na cidade de Lavras, Estado de Minas Gerais, *Campus* Universitário, doravante denominada **COMODATÁRIA**, neste ato representada por seu Reitor, Professor **JOÃO CHRYSOSTOMO DE RESENDE JUNIOR**, nomeado pelo Decreto Presidencial de 30 de abril de 2020, publicado no DOU de 4/5/2020, página 1, Seção 2, portador da Cédula de Identidade nº [REDACTED], emitida pela SSP/MG, e do CPF nº [REDACTED], residente e domiciliado na cidade de Lavras, Estado de Minas Gerais, e, de outro lado, **NADIR FAVERO**, pessoa natural, inscrito na SEF/MG sob o nº [REDACTED], portador da Cédula de Identidade, nº [REDACTED] emitida pela SSP/SP e do CPF/MF nº [REDACTED], doravante denominado **COMODANTE**, resolvem celebrar o presente **CONTRATO DE COMODATO**, tendo em vista o que consta no Processo Administrativo n.º 23090.016301/2022-11, referente ao Edital de Chamamento Público nº 03/2022, que será regido pelos artigos 579 e seguintes da Lei nº 10.406/2002 (Código Civil Brasileiro), pela Lei nº 8.666/93, no que couber, e pelas demais normas legais pertinentes à matéria, bem como pelas cláusulas e condições a seguir estabelecidas:

CLÁUSULA PRIMEIRA – DO OBJETO

O objeto do presente Instrumento é o empréstimo à **COMODATÁRIA**, em regime de comodato, de 80 bovinos fêmeas de linhagem comercial da raça Nelore, em bom estado sanitário e nutricional, com a finalidade de dar suporte às atividades relacionadas ao Projeto de Pesquisa denominado "**Produção animal em pastos consorciados de *Brachiaria brizantha* e *Arachis pintoi***", financiado pela FAPEMIG, processo APQ-02059-18.

SUBCLÁUSULA PRIMEIRA – Os semoventes citados no caput devem possuir ter idade entre 06 e 10 meses, pesar entre 170 a 200 kg, fêmeas, filhos do mesmo touro ou, no máximo, dois touros diferentes, animais recém desmamados, possuírem pelagem da cor branca e boa conformação dos membros anteriores e posteriores.

SUBCLÁUSULA SEGUNDA – O valor de mercado de cada semovente é de aproximadamente R\$ 2.100,00 (dois mil e cem reais).

SUBCLÁUSULA TERCEIRA – Os animais serão recebidos em duas etapas, metade após a assinatura do contrato e, a segunda metade, 12 meses após assinatura do contrato.

DS


DocuSigned by:

D04F56D99ABD451..

CLÁUSULA SEGUNDA – DAS OBRIGAÇÕES DA COMODATÁRIA

Constituem obrigações da **COMODATÁRIA**, a serem executadas pelo **DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA**, doravante denominado **DZO/UFLA**, na condição de Unidade Executora do presente Contrato, neste ato representado por seu Chefe:

I - receber e conferir os semoventes objeto deste Contrato, assinando conjuntamente com o **COMODANTE** o TERMO DE RECEBIMENTO, no qual devem constar as características e demais observações que se fizerem necessárias para identificação de cada um dos semoventes;

II - indicar o servidor ou os servidores responsáveis pela guarda e manejo dos semoventes nas instalações da **COMODATÁRIA**;

III - manter os bovinos de que trata a Cláusula Primeira em local apropriado e em total segurança, até a efetiva devolução ao **COMODANTE**, não podendo onerá-los ou cedê-los a qualquer título a terceiros;

IV - não realizar qualquer alteração nos semoventes, ressalvadas as mudanças ocorridas no desenvolvimento fisiológico decorrentes das dietas experimentais a que forem submetidos, em razão da execução do Projeto de Pesquisa de que trata o caput da Cláusula Primeira;

V - comunicar ao **COMODANTE** sobre ocorrências envolvendo qualquer um dos animais em comodato;

VI - restituir ao **COMODANTE**, no prazo fixado na Cláusula Sétima, os semoventes comodatados, nas mesmas condições em que os recebeu, acrescidos do desenvolvimento fisiológico inerente a essa espécie animal na fase em que se encontrar na data da devolução, assinando o respectivo TERMO DE DEVOLUÇÃO;

VII - arcar com as despesas de alimentação e vacina de cada semovente, bem como de eventuais medicações;

VIII - ministrar os alimentos aos animais diariamente e acompanhar as condições de saúde dos mesmos, devendo comunicar eventuais intercorrências ao proprietário;

IX - utilizar os semovente de que trata a Cláusula Primeira exclusivamente para os fins de pesquisa da **COMODATÁRIA**;

X - prestar, sempre que solicitado, esclarecimentos acerca do objeto deste Instrumento, autorizando o **COMODANTE** a vistoriar os semoventes, sempre que desejado, desde que previamente agendado.

CLÁUSULA TERCEIRA – DAS OBRIGAÇÕES DO COMODANTE

Constituem obrigações do **COMODANTE**:

I - emprestar à **COMODATÁRIA**, a título de comodato, os semoventes descritos na Cláusula Primeira, livres e desembaraçados de quaisquer ônus, pelo período de vigência deste Contrato;

II - assinar o TERMO DE RECEBIMENTO de que trata o inciso I da Cláusula Segunda, bem como o TERMO DE DEVOLUÇÃO mencionado na Cláusula Sétima;

III - eximir-se de cobrar quaisquer valores pelo empréstimo dos semoventes de que trata a Cláusula Primeira, salvo se a **COMODATÁRIA** incorrer em perdas e danos ou em mora pela não devolução no prazo determinado na Cláusula Sexta, conforme previsto no artigo 582 do Código Civil Brasileiro.

IV após a devolução, enviar os animais para abate em um frigorífico com selo de inspeção federal e permitir que o Coordenador do Projeto ou seus representantes tenham acesso a amostra de 1 kg de carne, 5 g do tecido pancreático e jejuno de cada animal, para as avaliações descritas na metodologia do Plano de Trabalho do Projeto 1 (Anexo I).

CLÁUSULA QUARTA – DA VIGÊNCIA

O prazo de vigência do presente Contrato é de 24 (vinte e quatro) meses, a contar da data de sua assinatura, podendo ser prorrogado, caso haja interesse das partes, mediante celebração de Termo Aditivo.

SUBCLÁUSULA ÚNICA – O **COMODANTE** não poderá, salvo necessidade imprevista e urgente, reconhecida judicialmente, suspender o uso e gozo dos semoventes emprestados, antes de findo o prazo convencional.

CLÁUSULA QUINTA – DOS RECURSOS FINANCEIROS

Todas as despesas decorrentes do presente contrato, inclusive o transporte dos animais, serão custeadas pelo financiamento FAPEMIG, PROCESSO APQ-02059-18, sob responsabilidade do Prof. Daniel Rume Casagrande.

CLÁUSULA SEXTA – DA RESCISÃO

A inobservância por uma das partes das cláusulas e condições aqui pactuadas facultará à outra proceder à rescisão do presente Contrato, independentemente de notificação ou interpelação judicial ou extrajudicial.

CLÁUSULA SÉTIMA – DA DEVOLUÇÃO DOS BENS

Os semoventes de que trata a Cláusula Primeira deverão ser devolvidos ao **COMODANTE** até o término da vigência do Contrato.

SUBCLÁUSULA PRIMEIRA – O **COMODANTE** deverá receber e conferir os semoventes objetos deste Contrato, assinando conjuntamente com a **COMODATÁRIA** o TERMO DE DEVOLUÇÃO, no qual devem constar as características e demais observações que se fizerem necessárias para identificação de cada um dos semoventes, inclusive relativas ao peso e condições de saúde dos animais, atestadas por veterinário da UFLA.

SUBCLÁUSULA SEGUNDA - Em caso de inobservância do prazo previsto no caput, a **COMODATÁRIA** responderá pelo aluguel da coisa não devolvida, nos termos do inciso I da Cláusula Oitava.

SUBCLÁUSULA TERCEIRA – Em caso de não devolução de qualquer dos semoventes objetos deste Contrato, a **COMODATÁRIA** sujeitar-se-á ao pagamento de indenização em favor do **COMODANTE**, no importe de R\$ 2.100,00 (dois mil e cem reais) para cada animal não devolvido, salvo nas hipóteses de caso fortuito ou força maior, conforme descrito no inciso II da Cláusula Oitava.

CLÁUSULA OITAVA – DAS DISPOSIÇÕES GERAIS

Durante a vigência do presente Instrumento, será observado o seguinte:

I- a mora porventura havida na devolução de qualquer um dos semoventes de que trata a Cláusula Primeira facultará ao **COMODANTE** arbitrar o valor do aluguel devido, conforme permissivo do artigo 582 do Código Civil Brasileiro, a ser calculado entre o dia seguinte ao da expiração deste Contrato e o dia anterior ao da efetiva devolução.

II- Os casos fortuitos e de força maior serão excludentes da responsabilidade das partes, conforme disposto no artigo 393 e parágrafo único do Código Civil Brasileiro, salvo se, estando os bens do **COMODANTE** e da **COMODATÁRIA** em risco, os prepostos da segunda dispuserem-se a salvar os bens desta, em detrimento do salvamento dos pertencentes à primeira, quando então o **COMODANTE** poderá valer-se do disposto no artigo 583 do mesmo *Codex* e exigir o pagamento referente aos danos que foram causados em decorrência de tal ato.

CLÁUSULA NONA – DA PUBLICAÇÃO

Caberá à **COMODATÁRIA** providenciar a publicação deste Contrato, por extrato, no *Diário Oficial* da União, até o 5º (quinto) dia útil do mês seguinte ao de sua assinatura, para ocorrer no prazo de 20 (vinte) dias daquela data, conforme determina o parágrafo único do artigo 61 da Lei nº 8.666/93.

CLÁUSULA DÉCIMA – DO FORO

Por força do art. 109, inciso I, da Constituição Federal, o foro competente para dirimir quaisquer controvérsias resultantes da execução deste Contrato é o da Justiça Federal, Subseção Judiciária de Lavras, Estado de Minas Gerais.

E, assim, por estarem justos e acordados, assinam o presente Instrumento em 2 (duas) vias de igual teor e forma, para todos os fins de direito e de Justiça, na presença de duas testemunhas instrumentárias abaixo nomeadas e subscritas.

Lavras, data da assinatura eletrônica

Pelo **COMODANTE**:

NADIR FAVERO

Produtor Rural

Pela **COMODATÁRIA**:

DocuSigned by:

2439E966308C404...

JOÃO CHRYSOSTOMO DE RESENDE JÚNIOR

Reitor da UFLA



RILKE TADEU FONSECA DE FREITAS

Chefe do DZO/UFLA

TESTEMUNHAS:

DocuSigned by:

Evelyn Pinheiro Tenório de Albuquerque

Nome: Evelyn Pinheiro Tenório de Albuquerque

DocuSigned by:

Cláudia Salgado Gomes

D4E99C5BB96D413...

Nome: Cláudia Salgado Gomes

ANEXO I - PROJETO SIMPLIFICADO / PLANO DE TRABALHO

CHAMAMENTO PÚBLICO Nº 03/2022 – UFLA

I – DADOS CADASTRAIS DO PROJETO

1. TÍTULO DO PROJETO

Mistura de leguminosas ou N-mineral como fatores para aumento da produtividade e de sustentabilidade em ambientes de pastagens no estado de Minas Gerais

2. ÓRGÃO EXECUTOR

Departamento de Zootecnia

3. ÁREA DE ABRANGÊNCIA

☒	Pesquisa	☐	Inovação Tecnológica
☐	Extensão	☐	Extensão Tecnológica
☐	Ensino	☐	Desenvolvimento Institucional

4. RESUMO DO PROJETO

Espécies forrageiras com diferentes dinâmicas de crescimento podem minimizar a sazonalidade de produção de forragem na época seca do ano. Diante disso, hipotetiza-se que a aplicação de N na forma de fertilizante no capim Braquiária, poderá acelerar a produção de forragem para a estação seca do ano. Além disso, a combinação de duas espécies de leguminosas forrageiras em consórcio com capim Braquiária poderá ter produção similar ao pasto adubado. A associação de leguminosas ainda poderá maximizar a transferência de nitrogênio, comparado a sistemas de produção utilizando o consórcio de gramínea com apenas uma leguminosa, ou com monocultura de gramínea sem entrada de N. E por fim será possível quantificar o efeito mitigador de gases de efeito estufa com uso de leguminosas e N-adubo. Objetiva-se com este estudo comparar o efeito da inclusão do feijão guandu seja em uma pastagem de Braquiária ou em uma pastagem mista de Braquiária e amendoim forrageiro já estabelecida a 7 anos, compado ao uso de N-adubo ou não. O delineamento experimental será em blocos casualizados, com cinco tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos serão: 1) Braquiária (*Urochloa brizantha* (Hochst ex A. Rich) Stapf cv. Marandu) sem adubação nitrogenada, 2) Consórcio de Braquiária com *Arachis pintoi* Krap. & Greg. cv. Mandobi (amendoim forrageiro), 3) Consórcio de Braquiária com *Cajanus cajan* (L.) Millsp (feijão guandu), semeando no início do diferimento 4) Consórcio de Braquiária com amendoim forrageiro e feijão guandu, 5) Braquiária adubada com 150 kg ha⁻¹ ano⁻¹ de N. Serão utilizadas 20 unidades experimentais (piquete 0,6 ha). Todos os tratamentos serão manejados com método de lotação contínua com taxa de lotação variável. Os animais a serem utilizados para o pastejo serão novilhas da raça Nelore. As avaliações a serem feitas são a avaliação de massa de forragem, acúmulo de forragem, valor nutritivo, consumo de forragem, ciclagem de nutrientes via serrapilheira e excretas, metano entérico e dessem.

II – DESCRIÇÃO DO PROJETO

5. INTRODUÇÃO

A disponibilidade limitada de nitrogênio (N) é apontada como um dos fatores chave que afeta o declínio da produtividade das pastagens (Vendramini et al., 2014). A inserção de leguminosas no sistema de pastagem e utilização de adubos nitrogenados (Dubeux et al., 2007; Apolinário et al., 2013) resultam no aumento na taxa de lotação. Entretanto, o custo e a logística de distribuição da fertilização com N impactam negativamente sua viabilidade (Homem et al., 2021b).

A introdução das leguminosas é uma alternativa para aumentar a quantidade de N nas pastagens. As leguminosas forrageiras são capazes de suprir as necessidades de N do solo, associando-se aos microrganismos do solo para transformar o N₂ atmosférico em compostos de N utilizáveis pelas plantas. Além disso, o consórcio entre gramínea e leguminosa, gera um efeito aumentando as taxas de decomposição da

serapilheira, onde a inclusão de 50% de leguminosa no sistema pode reduzir a imobilização de N, resultando no aumento da ciclagem total de nutrientes (Siqueira da Silva et al., 2012).

Apesar de existirem diversos trabalhos avaliando os efeitos do consórcio gramínea-leguminosa na formação da pastagem (Ziech et al., 2015; Dubeux et al., 2017; Terra et al., 2019), muitas das possíveis combinações de gramíneas e leguminosas não foram avaliadas. De acordo com Barcellos et al. (2008), essas combinações podem resultar em melhorias no suprimento de quantidade e qualidade do pasto ao longo do ano e também na recuperação de áreas degradadas.

A utilização de estratégias de manejo do pastejo como altura do dossel, por exemplo, tem se tornado um requisito essencial em pastagens com entrada de N (Rouquette Jr., 2015), fornecendo condições para melhores ajustes na estrutura do dossel para o pastejo (Congio et al., 2018). A entrada de nitrogênio em sistemas de pastagem pode alterar a morfologia das forrageiras devido ao aumento de sua taxa de crescimento. Mas, ajustes na taxa de lotação podem resultar em estruturas de dossel semelhantes, mesmo com diferentes entradas de N. No entanto, quase nenhuma informação está disponível sobre a estrutura do dossel de pastagens tropicais fertilizadas e mistas quando comparadas com sistemas não fertilizados com N sob as mesmas metas de manejo de pastagem (Homem et al., 2021a).

Outro fator importantíssimo é a produção de metano, uma consequência necessária da digestão da forragem. Tornando crescente pela busca de estratégias para mitigar o CH₄ entérico produzido por ruminantes, principalmente por razões ambientais e também pelo potencial de minimizar as perdas de energia pelo animal, levando a maiores ganhos. Portanto, para reduzir a pegada de carbono na produção de gado de corte, uma estratégia eficaz seria aumentar a produção por unidade de carbono emitido (Capper, 2011).

A alimentação a base de forragens, especialmente espécies de leguminosas forrageiras, representa uma estratégia interessante para fornecer nitrogênio ao animal e diminuir as emissões de CH₄, aumentando a produtividade animal e mitigando as mudanças climáticas (CH₄, N₂O e emissões de amônia; Makkar, 2003; Reed, 1995). Leguminosas forrageiras contendo taninos condensados, mostraram reduzir a degradação de proteínas no rúmen in vitro (Makkar, 2003) e os ruminantes parecem capturar essas proteínas de forma mais eficiente.

Quando comparados aos sistemas de produção de ruminantes à base de gramíneas ou cereais usando altas concentrações de fertilizante N, os sistemas de produção à base de leguminosas forrageiras tendem a ter um impacto ambiental menos negativo na biodiversidade de espécies de plantas, perdas de N por lixiviação e emissões de GEE (Phelan et al., 2015).

Por fim, é fato sabido de que as pastagens sem entrada de N podem atingir graus severos de degradação. A aplicação de nitrogênio ou a integração de amendoim forrageiro em uma pastagem aumenta a conservação das reservas de N do solo ao aumentar o N total reciclado por meio de depósito de serapilheira e da excreção do gado (Homem et al., 2021b). A aplicação de N ou introdução de uma leguminosa na ciclagem de N é essencial para se obter sistemas de pastagem produtivos e sustentáveis. Os sistemas de alimentação de ruminantes baseados em forragens de alta qualidade podem diminuir a contribuição da pecuária para os GEE. O principal determinante da qualidade da forragem é o estágio de crescimento na colheita e mistura de espécies. Com o estágio avançado de crescimento, o conteúdo de fibra aumenta, resultando em maior produção de metano (Eugène et al., 2021). Leguminosas forrageiras usadas em sistemas ruminantes podem diminuir as emissões de GEE devido ao menor uso de fertilizantes N e produção de fertilizantes, aumento da biodiversidade e diminuição do parasitismo em ruminantes. Portanto, leguminosas forrageiras podem ser ambiental e economicamente benéficas para diversos sistemas de produção.

Referências Bibliográficas

- Apolinário, Valéria XO et al. Deposition and decomposition of signal grass pasture litter under varying nitrogen fertilizer and stocking rates. **Agronomy Journal**, v. 105, n. 4, p. 999-1004, 2013.
- Barcellos, Alexandre de Oliveira et al. Sustentabilidade da produção animal baseada em pastagens consorciadas e no emprego de leguminosas exclusivas, na forma de banco de proteína, nos trópicos brasileiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. SPE, p. 51-67, 2008.
- Capper, Judith L. The environmental impact of beef production in the United States: 1977 compared with 2007. **Journal of animal science**, v. 89, n. 12, p. 4249-4261, 2011.
- Congio, Guilherme FS et al. Strategic grazing management towards sustainable intensification at tropical pasture-based dairy systems. **Science of the total environment**, v. 636, p. 872-880, 2018.
- Dubeux JR, J. C. B. et al. Nutrient cycling in warm-climate grasslands. **Crop Science**, v. 47, n. 3, p. 915-928, 2007.
- Dubeux JR, José CB et al. Biological N₂ fixation, belowground responses, and forage potential of rhizoma peanut cultivars. **Crop Science**, v. 57, n. 2, p. 1027-1038, 2017.
- Eugène, Maguy; Klumpp, Katja; Sauvart, Daniel. Methane mitigating options with forages fed to ruminants. **Grass and Forage Science**, v. 76, n. 2, p. 196-204, 2021.
- Homem, Bruno GC et al. N-fertiliser application or legume integration enhances N cycling in tropical pastures. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 121, n. 2, p. 167-190, 2021a.

Homem, Bruno GC et al. Palisadegrass pastures with or without nitrogen or mixed with forage peanut grazed to a similar target canopy height. 2. Effects on animal performance, forage intake and digestion, and nitrogen metabolism. **Grass and Forage Science**, 2021b.

Makkar, H. P. S. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. **Small ruminant research**, v. 49, n. 3, p. 241-256, 2003.

Phelan, P. et al. Forage legumes for grazing and conserving in ruminant production systems. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 34, n. 1-3, p. 281-326, 2015.

Reed, Jess D. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. **Journal of animal science**, v. 73, n. 5, p. 1516-1528, 1995.

Rouquette JR, Francis M. Grazing systems research and impact of stocking strategies on pasture-animal production efficiencies. **Crop Science**, v. 55, n. 6, p. 2513-2530, 2015.

Siqueira Da Silva, Hiran Marcelo et al. Signal grass litter decomposition rate increases with inclusion of calopo. **Crop science**, v. 52, n. 3, p. 1416-1423, 2012.

Terra, Ana Beatriz C. et al. Leguminosas forrageiras na recuperação de pastagens no Brasil. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 42, n. 2, p. 11-20, 2019.

Ziech, Ana Regina Dahlem et al. Proteção do solo por plantas de cobertura de ciclo hibernar na região Sul do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 50, p. 374-382, 2015.

6. OBJETIVO GERAL

O objetivo desta pesquisa é investigar as respostas da estrutura do dossel e do valor nutritivo da forragem, bem como avaliar o desempenho, consumo, produção animal, metabolismo de N e gases de efeito estufa de pastagens mistas de capim-marandu, amendoim forrageiro e feijão guandu em comparação ao capim-marandu em monocultura, fertilizado ou não com N, pastejado sob lotação contínua com taxa de lotação variável, a fim de obter similar altura do dossel em todas as unidades experimentais.

7. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o desempenho produtivo de pastagens em monocultivo (brachiaria), monocultivo com adubação nitrogenada e consórcio entre gramínea (brachiaria) e leguminosas (amendoim forrageiro e feijão guandu)
- Avaliar o desempenho animal, consumo e produção (ganho de peso)
- Mensurar a emissão de gases de efeito estufa (GEE)

8. JUSTIFICATIVA

Nas últimas décadas, a degradação das pastagens tornou-se mais evidente com o resultado da má gestão do uso de fertilizantes inadequado (Sollenberger, 2019). A aplicação de fertilizantes de nitrogênio (N) tem se tornando prática mais comum, o que resulta em aumento na produtividade e nas concentrações de proteínas do pasto (Delevatti et al., 2019). Todavia, o uso desse fertilizante pode ser limitado por custos e logística de distribuição (Homem et al., 2021). Dessa forma, a introdução das leguminosas é uma alternativa para aumentar a quantidade de N nas pastagens. As leguminosas forrageiras são capazes de suprir as necessidades de N do solo, associando-se aos microrganismos do solo para transformar o N₂ atmosférico em compostos de N utilizáveis pelas plantas. (Silva et al., 2012). Nas últimas décadas, um grande número de estudos tem sido conduzido relacionados aos efeitos de forragens (gramíneas, leguminosas ou misturas) na excreção de N. Entre as leguminosas tropicais, o amendoim forrageiro tem sido promissor para uso em pastagens mistas em ecossistemas de pastagens de clima tropical (Gomes et al., 2018; Pereira et al., 2020). O feijão guandu é uma cultura de leguminosa de grãos que é cultivada por pequenos agricultores em muitas partes do mundo (Bopape et al., 2021). Podendo fixar e produzir mais N por unidade de área da biomassa vegetal do que muitas outras leguminosas. Essa capacidade de fixação de nitrogênio do feijão guandu é desejável para a produção agrícola ambientalmente sustentável (Peoples et al., 1995). Apesar de existirem diversos trabalhos avaliando os efeitos do consórcio gramínea-leguminosa na formação da pastagem (Ziech et al., 2015; Dubeux et al., 2017; Terra et al., 2019), muitas das possíveis combinações de gramíneas e leguminosas não foram avaliadas. De acordo com Barcellos et al. (2008), essas combinações podem resultar em melhorias no suprimento de quantidade e qualidade do pasto ao longo do ano e também na recuperação de áreas degradadas. Quase nenhuma informação está disponível sobre a estrutura do dossel e o valor nutritivo de pastagens tropicais fertilizadas e mistas quando comparadas com sistemas não fertilizados com N sob as mesmas metas de manejo de pastagem (Homem et al., 2021c). Dessa forma, são necessárias mais pesquisas para avaliar os benefícios da inclusão de leguminosas em pastagens. Nesse trabalho será hipotetizado que a inclusão de amendoim forrageiro e feijão guandu em sistemas de pastejo pode substituir a fertilização de N a longo prazo, melhorar a ciclagem de nutrientes e aumentar a produtividade geral do rebanho, com diminuição da emissão de GEE.

Referências bibliográficas

Homem, Bruno GC et al. N-fertiliser application or legume integration enhances N cycling in tropical pastures. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 121, n. 2, p. 167-190, 2021.

Delevatti, Lutti M. et al. Effect of nitrogen application rate on yield, forage quality, and animal performance in a tropical pasture. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 1-9, 2019.

Sollenberger, Lynn E. et al. Grassland management affects delivery of regulating and supporting ecosystem services. **Crop Science**, v. 59, n. 2, p. 441-459, 2019.

Silva, H. M., Batista Dubeux Jr, J. C., Ferreira dos Santos, M. V., de Andrade Lira, M., de Andrade Lira Jr, M., & Muir, J. P. Signal grass litter decomposition rate increases with inclusion of calopo. **Crop science**, v. 52, n. 3, p. 1416-1423, 2012.

Gomes, Fernanda K. et al. Effects of grazing management in brachiaria grass-forage peanut pastures on canopy structure and forage intake. **Journal of Animal Science**, v. 96, n. 9, p. 3837-3849, 2018.

Pereira, Lilian Elgalise Techio et al. Herbage utilization efficiency of continuously stocked marandu palisade grass subjected to nitrogen fertilization. **Scientia Agricola**, v. 72, p. 114-123, 2015.

Bopape, F. L. et al. Symbiotic efficiency of pigeonpea (*Cajanus cajan*) with different sources of nitrogen. **Plant Genetic Resources**, p. 1-4, 2021.

Peoples, Mark B. et al. Biological nitrogen fixation: an efficient source of nitrogen for sustainable agricultural production. In: Management of biological nitrogen fixation for the development of more productive and sustainable agricultural systems. Springer, Dordrecht, 1995. p. 3-28.

Ziech, A. R. D. et al. Proteção do solo por plantas de cobertura de ciclo hibernar na região Sul do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 50, n. 5, p. 374-382, 2015.

Terra, A. B. C. et al. Leguminosas forrageiras na recuperação de pastagens no Brasil. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 42, n. 2, p. 11-20, 2019

Dubeux Jr, J. C. et al. Biological N₂ fixation, belowground responses, and forage potential of *Rhizoma peanut* cultivars. **Crop Science**, v. 57, n. 2, p. 1027-1038, 2017.

Barcellos, A. D. O. et al. Sustentabilidade da produção animal baseada em pastagens consorciadas e no emprego de leguminosas exclusivas, na forma de banco de proteína, nos trópicos brasileiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. SPE, p. 51-67, 2008.

9. METODOLOGIA / FORMA DE DESENVOLVIMENTO

Local experimental e tratamentos

O estudo será realizado na Fazenda Experimental da Universidade Federal de Lavras, Brasil (21 ° 14'S, 44 ° 58'W; 918 m acima do nível do mar). O clima da região é classificado (sistema Köppen) como Cwa mesotérmico úmido subtropical (Sá Júnior et al., 2002). Os dados climáticos serão obtidos por meio da estação meteorológica, que se localiza a 1000m da área experimental.

O solo da área é Latossolo Vermelho Distrófico de textura argilosa, com as seguintes características: 563 g argila kg solo⁻¹ (0-0,10 m) e 574 g argila kg solo⁻¹ (0,20-0,40 m). As análises de solo foram conduzidas de acordo com a técnica padrão da Embrapa (Claessen et al. 1997). O solo (0-0,20 m) apresentou as seguintes propriedades ao final do último experimento executado (Homen et al. 2021c): pH (H₂O) = 5,9; trocável Al, Ca, Mg, 0,07, 2,4 e 0,7 cmolc dm⁻³, respectivamente; P disponível (método Mehlich-I) 7,6 mg dm⁻³, K trocável 82,8 mg dm⁻³ e matéria orgânica do solo 31,0 g kg⁻¹.

Estabelecimento de pastagem e tratamento

Em novembro de 2013, toda a área experimental (12 ha) foi corrigida (2.500 kg de cal dolomítica ha⁻¹). Dois meses depois, o capim-marandu foi estabelecido com a aplicação de 52 kg de P ha⁻¹ como superfosfato simples e 41,5 kg de K ha⁻¹ como cloreto de potássio. Em dezembro de 2015, a área experimental foi dividida em 12 pastagens onde os tipos de pastagem foram alocados aleatoriamente e os tamanhos de pastagem foram 0,7, 1,0 e 1,3 ha para as pastagens de GRAMÍNEA [*Brachiaria brizantha* (Hochst. Ex A. Rich.) R.D. Webster [syn. *Urochloa brizantha* Stapf cv. Marandu]] + N, GRAMÍNEA + AMENDOIM (*Arachis pintoi* Krapov. & W.C. Greg. Cv. BRS Mandobi) e GRAMÍNEA, respectivamente (Homem et al., 2021b). As pastagens de GRAMÍNEA + AMENDOIM foram semeadas com amendoim forrageiro em dezembro de 2015. Informações mais detalhadas sobre o capim-marandu e o amendoim-forrageiro são descritas por Homem et al. (2021a).

Para realização do presente estudo, a área sofreu uma nova divisão em setembro de 2021, passando a ter 20 piquetes, com dimensões de 0,7, 1,0 e 1,3 ha. Os tratamentos serão cinco sistemas de pastejo, incluindo GRAMÍNEA SEM N, GRAMÍNEA + N; GRAMÍNEA + AMENDOIM, GRAMÍNEA + GUANDU [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] e GRAMÍNEA + AMENDOIM + GUANDU. O plantio do feijão guandu foi realizado em fevereiro de 2022, por meio de uma plantadeira de espaçamento 1,10m, com 100 sementes liberadas por minuto.

O estudo no campo terá início em junho de 2022 e será dividido em dois anos e quatro estações

(verão, outono, inverno e primavera): A lotação contínua com uma taxa de lotação variável será usada para manutenção da altura alvo do dossel, que será de 0,20 a 0,25m. Em cada ano experimental, duas novilhas Nelore (234 ± 36 kg de PV inicial e $12 \pm 1,3$ meses de idade) serão utilizadas como animais testes e permanecerão no mesmo tratamento e piquete durante todo o período experimental. Quando necessário, para ajustar a altura do dossel, animais *put-and-take* serão adicionados ou retirados (Allen et al. 2011). Água e suplementos minerais sem N serão fornecidos ad libitum. A altura média do dossel será medida semanalmente usando uma régua de pasto (Barthram 1985) em 80 pontos aleatórios por pasto, e a taxa de lotação será ajustada quando necessário.

Anualmente, na primavera (entre novembro e dezembro), todas as pastagens serão adubadas com superfosfato simples e cloreto de potássio correspondendo a 22 kg ha^{-1} de P e 41 kg ha^{-1} de K, respectivamente.

As seguintes características serão avaliadas:

- Massa de forragem
- Taxa de acúmulo de forragem
- Composição botânica do pasto
- Valor nutritivo: proteína bruta e digestibilidade *in vitro* da matéria seca
- Dinâmica de serapilheira
- Consumo e produção animal
- Balanço da ciclagem de N e desempenho animal
- Emissão de gases de efeito estufa (GEE)

O delineamento experimental será em blocos casualizados com cinco tratamentos (tipo de pasto; GRAMÍNEA SEM N, GRAMÍNEA + N; GRAMÍNEA + AMENDOIM, GRAMÍNEA + GUANDU e GRAMÍNEA + AMENDOIM + GUANDU, quatro repetições e medidas repetidas ao longo do tempo (estações do ano). Os dados serão analisados ajustando modelos mistos (Littell et al. 2000) por meio do procedimento MIXED do SAS (SAS Institute, Cary NC). Os efeitos dos tipos de pastagem e das estações do ano serão considerados efeitos fixos e os efeitos de bloco e ano serão considerados como efeito aleatório. O critério de informação de Akaike será usado para escolher a melhor estrutura de (co) variância (Akaike 1974). Os dados serão submetidos à análise de variância e, em caso de diferença significativa entre as médias, serão comparados em nível de 10% de significância pelo teste DMS de Fisher.

Variáveis Analisadas

Massa e acúmulo de forragem e composição botânica do pasto

A massa de forragem será amostrada por meio do corte de seis quadros ao nível do solo, medindo $1 \times 0,5 \text{ m}$, por piquete, em locais com altura média do dossel. Após a colheita, o material fresco será pesado e subamostrado com aproximadamente 250 g de material fresco para avaliação da concentração de matéria seca (MS). Uma subamostra adicional de aproximadamente 2 kg será retirada para a separação manual dos componentes botânicos e morfológicos. As amostras da gramínea serão separadas em colmo (caule + bainha), folha (lâmina foliar) e material morto. As amostras de leguminosas serão separadas em estolão e folha (estípula + pecíolo + folheto). As amostras de forragem serão secas em estufa a 55°C por 72 horas até um peso constante. A massa da gramínea será considerada folha + colmo sem material morto, e a massa da leguminosa será considerada folha + massa de estolão. Para massa de forragem será considerada a biomassa aérea de plantas herbáceas (massa de gramíneas e leguminosas, conforme tratamento) sem material morto. Para cálculo de material morto do pasto, será utilizado a relação material verde:morto. A relação folha:caule será estimada como a divisão da massa de folhas pela massa de caule com base no peso seco.

No Laboratório de Forragicultura da UFLA, as amostras serão moídas em moinho tipo Wiley, em peneiras com crivo de 2 mm (AOAC, 2000) para se proceder as análises de proteína, os ensaios de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS).

Valor nutritivo

Proteína bruta (PB)

O nitrogênio total (NT) será determinado através do método de Kjeldahl (AOAC, 1995/ 954.01), onde o teor de proteína bruta (PB) será calculado multiplicando-se o valor de NT por 6,25.

Ensaios de digestibilidade *in vitro* matéria seca (DIVMS)

Para determinação da digestibilidade *in vitro* da matéria seca será utilizado o equipamento DAISY II Incubator (ANKOM® Technology), conforme descrito segundo Tilley & Terry (1963), com as adaptações descritas por Holden (1999).

Também será estimada a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) através de duas metodologias. Por meio do equipamento DAISYII Incubator (ANKOM® Technology) e também por meio do ANKOM® Gas Production System.

Os ensaios utilizando a técnica *in vitro* automática de produção de gás com o sistema ANKOM® Gas Production System fornece um método simples para monitorar e medir a produção de gás, através de frascos com volume de 250mL, de módulos sensor de pressão RF, de um sensor que mede a pressão ambiente, e de um software operacional coordenador de base com interface para computador, que efetua as leituras de

pressão automaticamente.

As amostras serão adicionadas nas garrafas, o módulo RF sensor será acoplado às mesmas e colocado em estufa à temperatura de 39°C. A pressão no interior dos frascos será registrada automaticamente pelo software em unidades de psi a cada 5 minutos durante 48 h, que permite a elaboração de um gráfico por meio da obtenção de vários pontos da produção de gases, que representa o comportamento da produção de gases em diferentes tempos de fermentação, sendo possível a mensuração da produção de gás total, estimar a digestibilidade in vitro da matéria seca (DIVMS) e cinética de fermentação.

O meio nutritivo utilizado será preparado a partir de soluções de micro e macrominerais, indicadora e tampão, sendo continuamente saturado com CO₂ e mantido a 39°C até a utilização na incubação, segundo Goering & Van Soest (1970). O pH e a saturação de CO₂ do meio serão controlados pela mudança de cor utilizando o indicador de resazurina, onde será avaliado como pH ótimo valores entre 6,8 e 6,9. Em seguida, em cada frasco será adicionado 0,5 g de amostras pré-secas e moídas em peneira com crivos de 2 mm, 40 mL do meio nutritivo, 2 ml da solução redutora e 10 mL do inóculo ruminal, anteriormente filtrado.

O inóculo ruminal será obtido a partir de amostras compostas das frações sólida e líquida do conteúdo ruminal de bovinos adultos com cânula permanente no rúmen. Após a coleta do conteúdo ruminal será filtrado por meio de quatro camadas de gaze, armazenado em garrafa térmica pré-aquecida à temperatura de 39°C, e em sequência inoculado com CO₂ até o momento da incubação para evitar contaminação com O₂.

Após a preparação das amostras nas garrafas, as mesmas receberão saturação de CO₂ durante aproximadamente 15 segundos, para então o sistema ser fechado e acondicionado na estufa com temperatura regulada para 39°C.

Após o período de fermentação, serão adicionados 2 ml de HCl 6 N em cada frasco para a diminuição do pH a um valor inferior a 2, e também será adicionado 0,5 g de pepsina e incubar por mais 48 horas para estimativa da DIVMS. Após este período o conteúdo do interior dos frascos será filtrado e lavado em filtros de papel previamente pesados. Este resíduo após a filtração será seco em estufa de esterilização à 105°C durante 16 horas, após este tempo os filtros com os resíduos serão pesados e a DIVMS será estimada através do modelo proposto por Goering & Van Soest (1970) na (Eq. XII):

$$\%DIVMS = [1,00 - (R - C) - \text{brancopeso da amostra pré seca} * MS] * 100$$

$$\%DIVMS = [1,00 - R - C - \text{brancopeso da amostra pré seca} * MS] * 100$$

Onde:

R = Peso do resíduo + filtro de papel;

F = Peso do filtro de papel;

O procedimento metodológico utilizado para a análise da digestibilidade in vitro da matéria seca com o equipamento DAISYII Incubator (ANKOM® Technology) será descrito segundo Tilley & Terry (1963), com as modificações descritas por Holden (1999). Serão utilizados sacos de filtro F57 (porosidade de 57 microns) previamente lavados e enxaguados com acetona P.A. e secos a temperatura de 105°C por 16 horas para a obtenção do peso.

Após este processo será pesado 0,5 g das amostras pré-secas e moídas em peneiras com crivos de 1 mm, nos saquinhos F57 que depois de selados serão distribuídos equitativamente em cada jarro do fermentador artificial DAISYII Incubator, onde cada jarro deve dispor de no máximo 25 amostras. Será colocado nos jarros de digestão as amostras com 1600 ml da solução tampão com pH 6,8 para que a temperatura nos jarros atinja o equilíbrio de 39,5°C, antes de ser adicionado o inóculo ruminal.

Após a coleta e filtração do líquido ruminal, deverá ser adicionado 400 ml do inóculo em cada jarro previamente aquecido e cada jarro será saturado com CO₂, para a partir de então o sistema ser fechado de forma segura para ser incubado por 48 horas. No segundo estágio da incubação será adicionado 8g de pepsina e 40 ml de HCl 6N em cada jarro e procederá a incubação por mais 24 horas. Após este processo os jarros serão drenados e os sacos com amostras serão lavados três vezes com água destilada e secos à temperatura de 105°C por 16 horas.

Ao final será utilizada a seguinte equação (Eq. XIII):

$$\%DIVMS = 100 - [(W3 - (W1 * W4)) * 100 / W2 * MS]$$

$$\%DIVMS = 100 - [W3 - W1 * W4 * 100 / W2 * MS]$$

Onde:

W1: peso de tara da bolsa

W2: peso de amostras

W3: peso da bolsa final depois de 24 h de digestão com Pepsina + ácido clorídrico

W4: correção da bolsa em branco (peso da bolsa em branco. Depois do ensaio de digestão Pepsina+HCl/ peso da bolsa original)

Dinâmica de serapilheira

A deposição, decomposição e composição química da serapilheira serão medidas ao longo do experimento. O acúmulo e o desaparecimento da serapilheira serão avaliados de acordo com a técnica descrita por Rezende et al. (1999). A cada 28 dias, seis quadros de 1 por 0,5 m serão posicionados em pontos de altura média do dossel e a serapilheira será coletada. A serapilheira será considerada o material vegetal desprendido

e morto na superfície do solo (Allen et al. 2011). Quatorze dias após a coleta da serapilheira existente, a serapilheira do mesmo ponto de coleta será coletada e essas amostras serão denominadas serapilheira depositada. Posteriormente, a cada 28 dias, o mesmo procedimento será adotado para o material existente e depositado até o final do experimento. A serapilheira depositada será a soma de toda a serapilheira colhida durante cada estação do ano (Rezende et al. 1999).

Após a coleta, as amostras de serapilheira serão secas em estufa a 55°C por 72 h até peso constante. Após a secagem, todas as amostras de serapilheira serão moídas em moinho Cyclotec (Tecator, Herndon, VA) em peneira com crivo de 1mm. Após a moagem, a MS de cada amostra será obtida por secagem em estufa a 105°C por 18 h (método 934.01; AOAC 2000), e a matéria orgânica (MO) será obtida por incineração a 500°C por 4 h (Moore e Mott 1974). Todos os dados serão expressos com base na MO para eliminar os efeitos das partículas minerais na concentração de nutrientes. As proporções de nutrientes serão obtidas pela divisão das concentrações de nutrientes, todas expressas em uma base de MO (g kg⁻¹ de MO). A constante de decomposição será calculada de acordo com a seguinte equação descrita por Rezende et al. (1999):

$$k = [\ln (Le_{(n-1)} + Ld_n) - \ln (Le_n)]/t$$

Onde $Le_{(n-1)}$ é a quantidade de serrapilheira existente no ciclo anterior, Ld_n é a quantidade de serrapilheira depositada no ciclo atual, Le_n é a serapilheira existente no ciclo atual, e t é o tempo do ciclo (14 d). A meia-vida ($t^{1/2}$) será estimada de acordo com a seguinte equação de Rezende et al. (1999):

$$t^{1/2} = \ln (2)/k$$

Onde k será constante de decomposição (g g⁻¹ d⁻¹). O desaparecimento da serapilheira foi estimado pela seguinte equação de Rezende et al. (1999):

$$\text{Desaparecimento de serapilheira} = Le_{(n-1)} + Ld_n - Le_n$$

A concentração total de N será determinada usando o procedimento de Kjeldahl (método 920.87; AOAC 2000). No pasto de GRAMÍNEA + LEGUMINOSA, as proporções de gramíneas e leguminosas nas amostras de serapilheira serão estimadas através da razão dos isótopos naturais ¹²C e ¹³C pela equação:

$$\% \text{ leguminosa} = 100(\delta^{13}C_G - \delta^{13}C_S) / (\delta^{13}C_G - \delta^{13}C_L)$$

Onde % leguminosa é a proporção de carbono de uma leguminosa na amostra de serapilheira, $\delta^{13}C_G$ é o valor da abundância de ¹³C do material morto da gramínea, $\delta^{13}C_L$ é o valor da abundância ¹³C do material morto da leguminosa, e $\delta^{13}C_S$ é o valor da abundância de ¹³C das amostras de serapilheira da GRAMÍNEA+LEGUMINOSA.

Para a análise de ¹³C, as subamostras serão moídas até textura de pó fino em um moinho de bolas, semelhante ao descrito por Arnold e Schepers (2004). As subamostras contendo entre 300 e 500 µg de C serão analisadas para abundância total de C e ¹³C usando o mesmo espectrômetro de massa de razão de isótopos de fluxo contínuo que será usado para determinar a abundância de ¹⁵N.

Consumo e produção animal

Serão coletadas amostras de forragem manualmente durante a avaliação do consumo (três amostras para cada pasto e estação) para análise do valor nutritivo (Vries, 1995). Antes da coleta, um observador bem treinado irá observar o comportamento de pastejo dos animais e com essas observações serão feitas as escolhas dos locais a serem coletados amostras. As amostras de forragem colhidas manualmente serão coletadas no estrato superior do dossel (20% superior do estrato). Nos pastos MISTOS, gramíneas e leguminosas serão coletadas e separadas em laboratório. Amostras de forragem serão secas em estufa a 55°C por 72 h até peso constante. Em seguida, uma amostra composta de cada espécie será feita para cada unidade experimental.

As amostras compostas serão moídas em moinho Cyclotec (Tecator, Herndon, VA) com peneiras com crivo de 1 mm. A MS de cada amostra será obtida por secagem em estufa a 105°C por 18 h (método 934.01; AOAC 2000). O consumo de forragem será estimado a partir da excreção fecal e fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) uma vez por estação. Amostras fecais pontuais serão coletadas uma vez ao dia, no mesmo horário (meio-dia), obtendo-se, ao final, uma amostra composta produzida para cada animal durante os cinco dias de coleta. Durante os dias de amostragem, as novilhas serão trazidas das pastagens para um brete de manejo para coletar as fezes diretamente da ampola retal (±100 g). Cada coleta por animal terá uma duração máxima de 5 minutos, a fim de evitar maior estresse animal. Logo após a coleta fecal, cada animal será levado imediatamente para seu respectivo pasto de tratamento. A produção fecal será estimada usando dióxido de titânio como marcador externo (Titgemeyer et al. 2001) durante onze dias consecutivos, seis para adaptação e cinco para coleta. O dióxido de titânio será dosado na quantidade de 10 g animal⁻¹d⁻¹ no momento da primeira coleta de fezes e fornecida diretamente na boca dos animais com o auxílio de um aplicado de bólus para bovinos (Agrovet equipamentos). Amostras fecais serão secas em estufa a 55°C por 72 h até obtenção de peso constante, a fim de determinar a concentração de MS e, em seguida pesadas e moídas em um moinho Cyclotec (Tecator, Herndon, VA) em peneira com crivo de 1 mm. As amostras fecais serão analisadas quanto à concentração de dióxido de titânio, de acordo com Myers et al. (2004). Amostras fecais e de forragem colhidas à mão serão incubadas no rúmen por 288 h para determinar FDNi (Huhtanen et al. 1994). Duas novilhas canuladas alimentadas com dieta composta de capim-marandu e pastagem mista de amendoim forrageiro e/ou feijão guandu ou monocultivo de capim-marandu serão utilizadas na estimativa da FDNi, de acordo com o

tratamento. A excreção fecal será usada para encontrar a quantidade total de iNDF nas fezes; dessa forma, obteve-se a estimativa do consumo de FDNi por dia. Depois disso, o iNDF das amostras colhidas manualmente será determinado para estimar o consumo de forragem.

No tratamento MISTO, a proporção de gramíneas e leguminosas no consumo de forragem será estimada através da razão dos isótopos naturais ^{12}C e ^{13}C pela equação:

$$\% \text{ leguminosa} = 100(\delta^{13}\text{C}_G - \delta^{13}\text{C}_S) / (\delta^{13}\text{C}_G - \delta^{13}\text{C}_L)$$

Onde a porcentagem de leguminosa será a proporção de carbono de uma leguminosa nas amostras fecais residuais de FDNi (Lopes de Sá 2017), $\delta^{13}\text{C}_G$ é o valor da abundância de $\delta^{13}\text{C}$ do FDNi residual em amostras colhidas à mão de gramínea, $\delta^{13}\text{C}_L$ é o valor da abundância $\delta^{13}\text{C}$ do resíduo FDNi em amostras de leguminosas colhidas à mão e $\delta^{13}\text{C}_S$ é o valor da abundância de $\delta^{13}\text{C}$ do resíduo de FDNi em amostras fecais.

A abundância de ^{13}C das amostras será determinada conforme descrito para serrapilheira. Para a avaliação de $\delta^{13}\text{C}$, alíquotas contendo entre 200 e 400 μg de C serão analisadas usando um espectrômetro de massa de isótopo de fluxo contínuo automatizado (Finnigan MAT, Bremen, Alemanha) acoplado à saída de um analisador Costech [modelo ECS4010] de C e N total— Finnigan MAT, Bremen, Alemanha, no Laboratório de isótopo John Day Stable da Embrapa Agrobiologia.

A concentração de nitrogênio em amostras de forragem colhidas manualmente será determinada pelo procedimento de Kjeldahl (método 920.87; AOAC 2000) e usado para determinar o consumo de N total na forragem. O consumo de N em kg ha^{-1} será obtido multiplicando-se o consumo diário de N por animal e a carga animal para cada tratamento.

Balanço da ciclagem de N e desempenho animal

O N derivado da fixação biológica (FBN) será estimado por estação usando a técnica de abundância natural do isótopo ^{15}N (Shearer e Kohl 1986). A técnica é baseada na observação de que o N disponível para a planta na maioria dos solos é ligeiramente enriquecido com o isótopo ^{15}N em relação à atmosfera (Okito et al. 2004). Assim, uma planta fixadora de N_2 terá uma abundância menor de ^{15}N do que uma planta de controle não fixadora que é inteiramente dependente do N do solo. A massa das leguminosas e as plantas não fixadoras serão analisadas quanto à abundância de ^{15}N . O material vegetal será seco em forno a 55°C por 72 h até um peso constante e moído em um moinho de bolas, até obtenção de pó fino (Arnold e Schepers, 2004). A abundância de ^{15}N das amostras será determinada conforme descrito para a abundância de ^{13}C da serrapilheira. As amostras para análise irão conter entre 30 e 50 μg de N. De acordo com a metodologia, o N derivado da atmosfera (% Ndfa) será calculado da seguinte forma:

$$\% \text{ Ndfa} = \left(\frac{\delta^{15}\text{N}_{\text{Referência}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{Leguminosa}}}{\delta^{15}\text{N}_{\text{Referência}} - B} \right) \times 100$$

Onde $\delta^{15}\text{N}$ referência será o valor $\delta^{15}\text{N}$ do solo obtido de plantas não fixadoras crescendo junto com a leguminosa, $\delta^{15}\text{N}$ leguminosa será o valor de $\delta^{15}\text{N}$ para a planta fixadora de N_2 e B será a abundância natural de ^{15}N do N derivado da fixação biológica de N na leguminosa. O amendoim forrageiro e o feijão guandu são plantas fixadoras de nitrogênio. Plantas não fixadoras de N_2 que crescem nas proximidades das unidades experimentais serão usadas como plantas de referência para avaliar a abundância de ^{15}N do solo disponível para plantas.

A quantidade de N biologicamente fixada na biomassa aérea da leguminosa será (kg N ha^{-1}) foi calculada como:

$$\text{Ndfa} = \text{Nacumulado} \times \% \text{Ndfa}$$

Onde Ndfa será a quantidade total de N na biomassa aérea leguminosa derivado de FBN (kg N ha^{-1} temporada $^{-1}$), N acumulado será a quantidade total de N da leguminosa depositado na serrapilheira somada a quantidade de N da leguminosa ingerida pelos animais (kg N ha^{-1} temporada $^{-1}$), e a %Ndfa é a %Ndfa na biomassa aérea da leguminosa

A excreção fecal de N (g N d^{-1}) será avaliada pela concentração de N nas fezes (método 920.87; AOAC 2000) multiplicado pela produção fecal total. A excreção urinária será estimada por meio de amostras pontuais de urina, obtidas por estimulação vulvar ao mesmo tempo que as amostras fecais serão coletadas. Uma alíquota de aproximadamente 12 mL será retirada e serão adicionados 48 mL de ácido sulfúrico 0,02 N (H_2SO_4) (Chen e Gomes 1992). Uma amostra composta 5-d será coletada e armazenada em um frasco plástico a -20°C . A concentração de creatinina na urina será determinada por meio de um kit comercial (Creatinine K, Labtest, Lagoa Santa, Brasil). O volume de urina será estimado usando a concentração de creatinina como marcador e assumindo uma produção diária de creatinina, de acordo com a seguinte equação (Silva et al. 2012):

$$\text{UV} = (0,0345 \times \text{SBW}^{0,9491}) \div \text{UCc}$$

Onde UV (L d^{-1}) será a produção urinária total diária, SBW (kg) o peso corporal reduzido e UCc (g L^{-1}) a concentração de creatinina na urina. A excreção urinária de N (g de N d^{-1}) será determinada por sua concentração de N em relação ao volume urinário (método 920.87; AOAC 2000). O N excretado nas fezes e urina em kg ha^{-1} será obtido multiplicando a excreção diária de N por animal e a taxa de lotação para cada tratamento. O N retido no animal será medido pela diferença entre a ingestão de N e a excreção de N nas fezes e na urina.

Por fim, o balanço da ciclagem de nitrogênio será medido de acordo com os valores de N reciclado via

serrapilheira e excreção do rebanho. A absorção pelas plantas será considerada como N da serrapilheira depositada + ingestão total de N pelas novilhas + mudança na biomassa de N. A produção de nitrogênio será considerada o N retido pelo animal (produto) e as perdas. O nitrogênio retido será calculado pela diferença entre a excreção de N pelo rebanho e as perdas de N. O nitrogênio armazenado na carcaça do animal será calculado como peso vivo $\times$ 0,025 (Scholefield et al. 1991).

Emissão de gases de efeito estufa (GEE)

As emissões da produção entérica de GEE serão medidas usando a técnica do traçador SF₆ (Johnson et al., 1994) seis dias de cada estação. Tubos de permeação de latão (comprimento = 4,4 cm, diâmetro externo = 1,43 cm, diâmetro interno = 0,79 cm, profundidade interna = 3,8 cm e volume = 1,86 mL), com arruelas de náilon e uma membrana de Teflon (508 μ m), fixada com um tecido poroso (2 μ m porosidade) de aço inoxidável e uma porca de latão, serão usados em cada boi. Os tubos de permeação serão preenchidos com aproximadamente 2,0 g de hexafluoreto de enxofre (SF₆). Os tubos de permeação serão mantidos a 39°C e pesados 17 vezes em 60d, onde a taxa de liberação será calculado e estipulado para cada animal. Tubos de permeação serão dosados para bois por meio de pistola de bolas 7 dias antes do experimento. Cada aplicação será feita em dois minutos por animais. Após a aplicação, os animais retornaram para o pasto e ficaram sendo observados durante 24 horas.



Figura 1. Animal usando o equipamento de coleta de GEE. Fonte: Daciele Abreu.

Para coleta de metano serão utilizados tubos de cloreto de polivinila (PVC) com um volume total de 2 L (Figura 1). As amostras serão coletadas evacuando os recipientes de coleta a 68,6 cm Hg e conectando o recipiente a um cabresto, que será equipado com um tubo capilar ondulado posicionado para amostrar, usando um desenho em alça, de ambas as narinas. O volume dos recipientes de coleta e o fluxo dos tubos capilares serão projetados para permitir que metade do vácuo permaneça após 24 horas. Quatro equipamentos de coleta e tubos capilares serão usados para determinar as concentrações ambientais de CH₄ e SF₆ e colocados, um em cada direção (Norte, Sul, Leste e Oeste) da área experimental total. Foi proposto por Haisan et al. (2014) para considerar qualquer animal com pelo menos 2 dias de medições válidas de CH₄. Para o experimento atual, apenas novilhas com pelo menos 3 dias de coleta e medição bem-sucedidas serão consideradas na análise final das variáveis GEE.

Referências Bibliográficas

- Allen, Vivien Gore et al. An international terminology for grazing lands and grazing animals. **Grass and forage science**, v. 66, n. 1, p. 2, 2011.
- AOAC International. Salmonella in selected foods—immunoconcentration Salmonella (ICS) and enzyme-linked immunofluorescent assay (EFLA) screening method. AOAC official method 2001.09. Official methods of analysis, 17th ed, 2000.
- AOAC. Association of official analytical chemists. Official methods of analysis. 1990.
- Arnold, S. L.; Schepers, J. S. A simple roller-mill grinding procedure for plant and soil samples. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 35, n. 3-4, p. 537-545, 2004.
- Barthram, G. T. Hill Farming Research Organisation, Biennial Report 1984-1985.
- Boddey, Robert M. et al. Forage legumes in grass pastures in tropical Brazil and likely impacts on

- greenhouse gas emissions: A review. **Grass and Forage Science**, v. 75, n. 4, p. 357-371, 2020.
- Chen, Xubin B.; Gomes, M. J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives: an overview of the technical details. 1992.
- Claessen, M. E. C. Manual de Métodos de Análise de Solo. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Revista Atual**. Rio de Janeiro, p. 212, 1997.
- De Sá Júnior, Arionaldo et al. Application of the Köppen classification for climatic zoning in the state of Minas Gerais, Brazil. **Theoretical and Applied Climatology**, v. 108, n. 1, p. 1-7, 2012.
- De Vries, MF Wallis. Estimating forage intake and quality in grazing cattle: a reconsideration of the hand-plucking method. **Rangeland Ecology & Management/Journal of Range Management Archives**, v. 48, n. 4, p. 370-375, 1995.
- Georing, H. K. Forage Fiber Analyses (Apparatus, Reagents, Procedures, and Some Application). **Agriculture handbook**, v. 379, p. 1-20, 1970.
- Haisan, J. et al. The effects of feeding 3-nitrooxypropanol on methane emissions and productivity of Holstein cows in mid lactation. **Journal of dairy science**, v. 97, n. 5, p. 3110-3119, 2014.
- Holden, L. A. Comparison of methods of in vitro dry matter digestibility for ten feeds. **Journal of dairy science**, v. 82, n. 8, p. 1791-1794, 1999.
- Homem, Bruno GC et al. N-fertiliser application or legume integration enhances N cycling in tropical pastures. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, p. 1-24, 2021c.
- Homem, Bruno GC et al. Palisadegrass pastures with or without nitrogen or mixed with forage peanut grazed to a similar target canopy height. 2. Effects on animal performance, forage intake and digestion, and nitrogen metabolism. **Grass and Forage Science**, 2021b.
- Homem, Bruno GC et al. Palisadegrass pastures with or without nitrogen or mixed with forage peanut grazed to a similar target canopy height. 1. Effects on herbage mass, canopy structure and forage nutritive value. **Grass and Forage Science**, 2021a.
- Huhtanen, Pekka; Kaustell, Kaisa; Jaakkola, Seija. The use of internal markers to predict total digestibility and duodenal flow of nutrients in cattle given six different diets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 48, n. 3-4, p. 211-227, 1994.
- Johnson, Kristen et al. Measurement of methane emissions from ruminant livestock using a sulfur hexafluoride tracer technique. **Environmental science & technology**, v. 28, n. 2, p. 359-362, 1994.
- Littell, Ramon C.; Pendergast, Jane; Natarajan, Ranjini. Modelling covariance structure in the analysis of repeated measures data. **Statistics in medicine**, v. 19, n. 13, p. 1793-1819, 2000.
- Lopes De Sá, O. A. A. Leguminosas forrageiras em pastos consorciados: métodos para mensurar a composição botânica da dieta e diversidade e eficiência de bactérias fixadoras de nitrogênio em amendoim forrageiro. 2017. Tese de Doutorado. Thesis (Ph. d. in Animal Science)-Federal University of Lavras, Lavras. 76 p. <http://repositorio.ufla.br/jspui/handle/1/28102>.
- Moore, J. Ei; Mott, G. O. Recovery of residual organic matter from in vitro digestion of forages. **Journal of Dairy Science**, v. 57, n. 10, p. 1258-1259, 1974.
- Myers, W. D. et al. A procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. **Journal of Animal Science**, v. 82, n. 1, p. 179-183, 2004.
- Okito, A. et al. Isotopic fractionation during N₂ fixation by four tropical legumes. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 36, n. 7, p. 1179-1190, 2004.
- Rezende, C. d P. et al. Litter deposition and disappearance in Brachiaria pastures in the Atlantic forest region of the South of Bahia, Brazil. **Nutrient cycling in Agroecosystems**, v. 54, n. 2, p. 99-112, 1999.
- Shearer, Georgia; Kohl, Daniel H. N₂-fixation in field settings: estimations based on natural ¹⁵N abundance. **Functional Plant Biology**, v. 13, n. 6, p. 699-756, 1986.
- Titgemeyer, E. C. et al. Evaluation of titanium dioxide as a digestibility marker for cattle. **Journal of Animal Science**, v. 79, n. 4, p. 1059-1063, 2001.

10. RESULTADOS ESPERADOS

De maneira geral, espera-se com essa pesquisa fornecer à comunidade científica e técnica subsídios necessários para que possam ser tomadas decisões na área de forragicultura e nutrição de plantas forrageiras, gerando informações que sirvam de alicerce para futuros trabalhos que envolvam manejo de plantas forrageiras, permitindo aumento na produtividade e redução nos custos de produção, refletindo em benefícios aos pecuaristas e à cadeia produtiva em geral.

De modo específico, espera-se que esse projeto gere resultados de pesquisa sobre o desempenho produtivo de forrageiras em monocultivo ou consorciadas, com fornecimento ou não de adubação nitrogenada, gerando suporte para o desenvolvimento de uma Dissertação de Mestrado em Zootecnia; uma Tese de mestrado em Zootecnia; trabalhos científicos para apresentação em simpósios e/ou congressos; e artigos científicos sobre desempenho e produção de pastagens em monocultivo e/ou consorciadas.

III – PRAZO DO COMODATO

11. PRAZO EM QUE OS SEMOVENTES PERMANECERÃO SOB POSSE DA UFLA

24 meses

IV – PLANO DE TRABALHO DO COMODATO

12. SERVIDOR RESPONSÁVEL PELA GUARDA DOS ANIMAIS

Função no Projeto Coordenador	Nome Daniel Rume Casagrande	CPF [REDACTED]
Instituição UFLA	Cargo/Função: Professor Associado	

13. ESPECIFICAÇÕES DOS ANIMAIS

QUANTIDADE	RAÇA	IDADE	PESO	SEXO
80	Animais zebuínos de linhagem comercial da raça Nelore	06 a 10 meses	170 a 200 kg	Fêmeas
CARACTERÍSTICAS VISUAIS		CARACTERÍSTICAS GENÉTICAS		FAIXA DE PREÇO POR ANIMAL
Animais com pelagem branca, com boa conformação dos membros anteriores e posteriores		Animais zebuínos de linhagem comercial da raça Nelore		R\$ 2.000 a R\$ 2.200

14. CRONOGRAMA

FASE DO PROJETO EM QUE SERÃO UTILIZADOS OS ANIMAIS	ATIVIDADES A SEREM DESENVOLVIDAS	PERÍODO (em meses)
Trimestre 1	Plantio do amendoim, corte e uniformização, plantio do feijão guandu	Mês 1 a 3
Trimestre 2	Corte de uniformização, fertilização, avaliação dos pastos	Mês 3 a 5
Trimestre 3	Avaliação dos pastos	Mês 5 a 10
Trimestre 4	Avaliação dos pastos, entrada dos animais	Mês 10 a 13
Trimestre 5	Avaliação dos pastos, pesagem dos animais	Mês 13 a 16
Trimestre 6	Fertilização, pesagem dos animais, avaliação de consumo, avaliação de metano nos animais, análises laboratoriais, tabulação de dados	Mês 16 a 19
Trimestre 7	Fertilização, pesagem dos animais, avaliação de consumo, avaliação de metano nos animais, análises laboratoriais, tabulação de dados	Mês 19 a 21
Trimestre 8	Fertilização, pesagem dos animais, avaliação de consumo, avaliação de metano nos animais, análises laboratoriais, tabulação de dados, qualificação, elaboração da tese, defesa	Mês 21 a 24

V – APROVAÇÃO DO PROJETO

15. APROVAÇÃO DO PROJETO

Projeto aprovado no âmbito do Processo APQ-02059-18 - FAPEMIG

Certificado de Conclusão

Identificação de envelope: 37AE4079AE0D4CD49CD70DAAA938CC3C
Assunto: DocuSign: Contrato de Comodato n.31-2022-Edital 04-2022 - e PT.pdf
Envelope fonte:
Documentar páginas: 17
Certificar páginas: 5
Assinatura guiada: Ativado
Selo com Envelopeld (ID do envelope): Ativado
Fuso horário: (UTC-03:00) Brasília

Status: Concluído

Remetente do envelope:
Cláudia Salgado Gomes
SCN Quadra 02 Bloco A, no 190, sala 504 PARTE
o-1, Asa Sul
Brasília, 70.712-900
claudia.salgado@ufla.br
Endereço IP: 177.105.33.122

Rastreamento de registros

Status: Original
06/07/2022 13:45:31

Portador: Cláudia Salgado Gomes
claudia.salgado@ufla.br

Local: DocuSign

Eventos do signatário

Cláudia Salgado Gomes
claudia.salgado@ufla.br
Nível de segurança: E-mail, Autenticação da conta
(Nenhuma)

Assinatura

DocuSigned by:
Cláudia Salgado Gomes
D4E99C5BB96D413...

Adoção de assinatura: Estilo pré-selecionado
Usando endereço IP: 177.105.33.100

Registro de hora e data

Enviado: 06/07/2022 13:47:17
Visualizado: 06/07/2022 13:58:23
Assinado: 06/07/2022 13:58:40
Assinatura de forma livre

Termos de Assinatura e Registro Eletrônico:
Não disponível através da DocuSign

Evelyn Pinheiro Tenório de Albuquerque
juridico.nintec@ufla.br
Nível de segurança: E-mail, Autenticação da conta
(Nenhuma)

DocuSigned by:
Evelyn Pinheiro Tenório de Albuquerque
872158407E8B4DE...

Adoção de assinatura: Estilo pré-selecionado
Usando endereço IP: 177.105.33.83

Enviado: 06/07/2022 13:47:17
Visualizado: 06/07/2022 13:56:43
Assinado: 06/07/2022 13:57:29
Assinatura de forma livre

Termos de Assinatura e Registro Eletrônico:
Não disponível através da DocuSign

João Chrysostomo de Resende Junior
joacrcj@ufla.br
Nível de segurança: E-mail, Autenticação da conta
(Nenhuma)

DocuSigned by:
João Chrysostomo de Resende Junior
2439E966308C404...

Adoção de assinatura: Imagem de assinatura
carregada
Usando endereço IP: 177.105.30.99

Enviado: 06/07/2022 13:47:18
Visualizado: 07/07/2022 09:18:27
Assinado: 07/07/2022 09:19:45
Assinatura de forma livre

Termos de Assinatura e Registro Eletrônico:
Aceito: 07/07/2022 09:18:27
ID: 6083ef53-0f22-46c1-b4f4-fc2e84b1f5db

NADIR FAVERO
nadirfaveronf@gmail.com
Nível de segurança: E-mail, Autenticação da conta
(Nenhuma)

Concluído
Usando endereço IP: 191.6.133.66
Assinado com o uso do celular

Enviado: 06/07/2022 13:47:18
Visualizado: 06/07/2022 17:15:24
Assinado: 06/07/2022 17:36:15
Assinatura de forma livre

Termos de Assinatura e Registro Eletrônico:
Aceito: 06/07/2022 17:15:24
ID: 76d340ef-a3a4-4055-bfa2-c7757b86f3a1

Eventos do signatário	Assinatura	Registro de hora e data
RILKE TADEU FONSECA DE FREITAS rilke.chefiadzo@ufla.br Nível de segurança: E-mail, Autenticação da conta (Nenhuma)	 Adoção de assinatura: Desenhado no dispositivo Usando endereço IP: 177.105.43.253 Assinado com o uso do celular	Enviado: 06/07/2022 13:47:18 Visualizado: 06/07/2022 14:16:41 Assinado: 06/07/2022 14:23:07 Assinatura de forma livre

Termos de Assinatura e Registro Eletrônico:
Aceito: 06/07/2022 14:16:41
ID: a6ccd555-a315-4285-a403-ed3e3e83b9249

Eventos do signatário presencial	Assinatura	Registro de hora e data
Eventos de entrega do editor	Status	Registro de hora e data
Evento de entrega do agente	Status	Registro de hora e data
Eventos de entrega intermediários	Status	Registro de hora e data
Eventos de entrega certificados	Status	Registro de hora e data
Eventos de cópia	Status	Registro de hora e data
Eventos com testemunhas	Assinatura	Registro de hora e data
Eventos do tabelião	Assinatura	Registro de hora e data
Eventos de resumo do envelope	Status	Carimbo de data/hora
Envelope enviado	Com hash/criptografado	06/07/2022 13:47:18
Entrega certificada	Segurança verificada	06/07/2022 14:16:41
Assinatura concluída	Segurança verificada	06/07/2022 14:23:07
Concluído	Segurança verificada	07/07/2022 09:19:45
Eventos de pagamento	Status	Carimbo de data/hora

Termos de Assinatura e Registro Eletrônico