



AMANDA VASCONCELOS GUIMARÃES

**LEVEDURA VIVAS EM DIETAS DE ALTA
FORRAGEM PARA NOVILHAS**

LAVRAS – MG

2015

AMANDA VASCONCELOS GUIMARÃES

**LEVEDURA VIVAS EM DIETAS DE ALTA FORRAGEM PARA
NOVILHAS**

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

Orientador

Dr. José Cleto da Silva Filho

LAVRAS – MG

2015

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

Guimarães, Amanda Vasconcelos.

Levedura vivas em dietas de alta forragem para novilhas /
Amanda Vasconcelos Guimarães. – Lavras : UFLA, 2015.
66 p. : il.

Tese(doutorado)–Universidade Federal de Lavras, 2015.

Orientador: José Cleto da Silva Filho.

Bibliografia.

1. Novilhas. 2. Digestibilidade. 3. Desempenho. 4.
Comportamento ingestivo. I. Universidade Federal de Lavras. II.
Título.

AMANDA VASCONCELOS GUIMARÃES

**LEVEDURA VIVAS EM DIETAS DE ALTA FORRAGEM PARA
NOVILHAS**

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

APROVADA em 24 de fevereiro de 2015.

Dr. Marcos Neves Pereira	UFLA
Dra. Iraídes Ferreira Furusho Garcia	UFLA
Dra. Renata Apocalypse Nogueira Pereira	EPAMIG
Dra. Patrícia Maria de França	UNIFENAS

Dr. José Cleto da Silva Filho
Orientador

LAVRAS – MG
2015

*Aos meus pais, Denise e Waldeque, e ao meu filho Heitor.
Ao meu amado Fernando pelo incentivo nos momentos de incerteza.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Zootecnia pela oportunidade de realização deste curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudo.

Ao professor José Cleto, que se dispôs a me orientar.

Ao professor Marcos Neves, pela oportunidade e ajuda na condução deste trabalho e pelos ensinamentos.

Aos integrantes do grupo do leite, pela importante ajuda diária na condução do experimento, em especial aos contemporâneos de Pós- Graduação, Ronaldo, Nilson, Gustavo, Vitor, Gilson e Ozana, e aos alunos de graduação Roberto e Bruno Monteiro.

Aos integrantes do Nefor, pela ajuda e pela oportunidade de ter participado desse grupo.

Às amigas Juliana e Greiciele, e aos amigos Fabrício e Tiago Teófilo, por toda ajuda e pelos bons momentos que passamos juntos.

Um especial agradecimento à amiga Rayana, que sempre esteve disposta a ajudar, em todos os sentidos e em todas as etapas deste trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia, Márcio, Eliane, Zé, Borginho, Leandro e muitos outros, pelo apoio, e por estarem dispostos a me auxiliar sempre que foi preciso.

Aos professores e pesquisadores, pela contribuição e participação no exame de qualificação e na banca examinadora da defesa.

A todos os meus professores da UFLA que participaram da minha formação.

Aos meus amigos da UFLA e a todos que em algum momento colaboraram para a execução deste trabalho.

Muito obrigada.

RESUMO GERAL

Forragens de baixa qualidade resultam em menores taxas fermentativas e afetam negativamente a produtividade de ruminantes. Esta condição justifica a utilização de estratégias de alimentação capazes de melhorar o aproveitamento desse tipo de forragem pelo animal. Leveduras vivas podem melhorar a eficiência de aplicação dos recursos utilizados na alimentação animal. O efeito da levedura sobre o desempenho e digestibilidade de novilhas leiteiras, alimentadas com forragem tropical ou temperada, de baixa qualidade e alta inclusão dietética, foi avaliado. As novilhas foram alimentadas individualmente em *tie stall*. Trinta e seis novilhas mestiças (144 ± 70 Kg de peso inicial) receberam uma dieta de padronização por 12 dias, e em seguida, o tratamento por 126 dias, com ajuste de covariável em delineamento em blocos casualizados. Os tratamentos foram arrançados em esquema fatorial 2×2 , sendo dois tipos de feno (Tifton ou Aveia), com levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) ou controle. Uma mistura de soja, núcleo mineral e 10g de levedura (2×10^{10} UFC de células vivas) foi ofertada diariamente e previamente antes do fornecimento do feno, para garantir o total consumo. A proporção da dieta (% MS) foi de 91,5% de volumoso e 7,4% de farelo de soja. A suplementação com levedura aumentou o consumo de matéria seca na dieta com feno de Tifton (5,0 vs. 4,6 kg, $P=0,05$). O tratamento feno de aveia proporcionou maior ganho que o tratamento com feno de tifton (0,44 vs 0,29 kg) e maior eficiência (0,10 vs 0,07, $P<0,01$). Levedura induziu ganho de altura no tratamento com feno de tifton (117 vs 121, $P<0,02$). A digestibilidade da MS, MO e FDN não respondeu à suplementação com levedura. Os tratamentos com feno de aveia apresentaram maior digestibilidade da MS, MO e da FDN ($P<0,01$). A suplementação com levedura tendeu a reduzir o tempo da primeira refeição ($P=0,11$). A taxa de ingestão (kg/min) foi maior no tratamento com feno de tifton (91 vs 80). Levedura estimulou a síntese de proteína microbiana no feno de tifton (1,23 vs 1,00, $P<0,01$). O pH e a amônia ruminal foram maiores nos tratamentos com feno de tifton (média de 6,1 e 6,5, respectivamente). Levedura mudou o padrão ingestivo quando foi utilizado o feno de aveia, houve um maior consumo no período da tarde ($P<0,01$) e menor pela manhã ($P<0,05$). Os tratamentos com tifton induziram maior rejeição de partículas finas ($P=0,01$). Em dietas de alta forragem e baixa qualidade a suplementação com levedura não melhorou a digestibilidade da fibra em detergente neutro. Entretanto, levedura teve efeito negativo sobre o consumo, ganho de peso e eficiência alimentar de novilhas consumindo feno de aveia, e efeito positivo sobre o consumo de matéria seca e a síntese de proteína microbiana de novilhas consumindo feno de tifton.

Palavras-chave: *Saccharomyces cerevisiae*. Levedura viva. Fibra. Desempenho. Novilhas.

GENERAL ABSTRACT

Low quality forage result in lower fermentation rates and negatively affect ruminant productivity. This justifies the use of feeding strategies capable of improving the exploitation of this type of forage by the animals. Live yeast can improve the efficiency of resources applied to animal feed. We evaluated the effect of yeast over performance and digestibility of dairy heifers fed with low quality and high diet inclusion, tropical or temperate forage. The heifers were individually fed in tie stall. We fed 36 hybrid heifers (initial weight of 144 ± 70 kg) a standardizing diet for 12 days and, subsequently, were treated for 126 days with co-variable adjustment in randomized blocks design. The treatments were arranged in 2x2 factorial scheme with two types of hay (Tifton or oat) and yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) or control. A mixture of soy, mineral premix and 10 g of yeast (2×10^{10} c.f.u. of live cells) was offered daily and before the hay to guarantee total intake. Diet proportion (%DM) was of 91.5% of forage and 7.4% of soybean meal. The supplementation with yeast increased dry matter intake of the diet with Tifton hay (5.0 vs. 4.6 kg, $P=0.05$). The oat hay treatment provided higher gain than the treatment with Tifton hay (0.44 vs 0.29 kg) and higher efficiency (0.10 vs 0.07, $P<0.01$). The yeast induced height gain in the treatment with Tifton hay (117 vs 121, $P<0.02$). The digestibility of DM, OM and NDF ($P<0.01$). The supplementation with yeast tended to reduce the time of the first meal ($P=0.11$). Intake rate (kg/min) was higher in the treatment with Tifton hay (91 vs 80). Yeast stimulated the synthesis of microbial protein for Tifton hay (1.23 vs 1.00, $P<0.01$). The pH ruminal ammonia presented higher values with Tifton hay (average of 6.1 and 6.5, respectively). Yeast changed the digestive pattern when using oat hay, presenting higher intake in the afternoon ($P<0.01$) and lower in the morning ($P<0.05$). The treatments with Tifton induced higher rejection of fine particles ($P=0.01$). The diets with high forage and low quality, the supplementation with yeast did not improve digestibility of neutral detergent fiber. However, yeast presented a negative effect over intake, weight gain and feed efficiency of heifers fed oat hay and positive effects over intake of dry matter and the synthesis of microbial protein of heifers fed Tifton hay.

Keywords: *Saccharomyces cerevisiae*. Live yeast. Fiber. Performance. Heifers.

LISTA DE FIGURAS

SEGUNDA PARTE-ARTIGO

- Figura 1 Nitrogênio ureico no plasma de novilhas alimentadas com feno de Aveia ou feno de Tifton. $P < 0,01$ 58

LISTA DE TABELAS

SEGUNDA PARTE-ARTIGO

Tabela 1	Composição química do feno de aveia (A), feno de tifton (T), farelo de soja (FS) e levedura (L).....	47
Tabela 2	Composição das dietas consumidas em ingredientes e nutrientes nos tratamentos feno de aveia (A) ou feno de tifton (T), suplementadas (L) ou não com levedura viva (% da MS).....	48
Tabela 3	Consumo de matéria seca (CMS), ganho de peso, eficiência alimentar e morfometria de novilhas mestiças alimentadas com feno de Aveia (A) ou feno de Tifton (T), suplementadas (L) ou não com levedura viva.....	49
Tabela 4	Digestibilidade aparente de nutrientes no trato digestível total por novilhas mestiças alimentadas com feno de Aveia (A) ou feno de Tifton (T), suplementadas (L) ou não com levedura viva	51
Tabela 5	Atividade mastigatória e duração da primeira refeição de novilhas mestiças alimentadas com fenos de Aveia (A) ou feno de Tifton (T), suplementadas (L) ou não com levedura viva	53
Tabela 6	Protozoário, pH e amônia no fluido ruminal, relação entre alantoína e creatinina na urina, nitrogênio ureico no plasma (NUP) de novilhas mestiças alimentadas com feno de Aveia (A) ou feno Tifton (T), suplementadas (L) ou não com levedura viva	55
Tabela 7	Proporção do consumo diário por novilhas mestiças alimentadas com feno de Aveia (A) ou feno de Tifton (T), suplementadas (L) ou não com levedura viva.....	59

Tabela 8	Índice de seleção de partícula de novilhas mestiças alimentadas com feno de aveia (A) ou feno de tifton (T), suplementadas (L) ou não com levedura viva no intervalo de 07:00 – 13:00h.....	60
----------	---	----

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE	
1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1	Leveduras	14
2.2	Atuação de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> no rúmen	15
2.2.1	Estabilidade do pH ruminal	16
2.2.2	Remoção de oxigênio	17
2.2.3	Proporção molar de ácidos graxos de cadeia curta	18
2.2.4	Concentração de amônia	19
2.3	Fluxo de nitrogênio microbiano	20
2.4	Digestibilidade da fibra	21
2.5	Gramíneas tropicais x temperadas	22
	REFERÊNCIAS	26
	SEGUNDA PARTE – ARTIGO	32
	ARTIGO 1 Levedura viva em dietas de alta forragem para novilhas	32
1	INTRODUÇÃO	35
2	MATERIAL E MÉTODOS	38
2.1	<i>Statistical analysis</i>	44
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
4	CONCLUSÕES	61
	REFERÊNCIAS	63

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

A falta de forragem em quantidade e qualidade adequada, ainda é um problema de nutrição enfrentado por pequenos produtores do Brasil, sobretudo, durante a estação seca do ano. As forragens fornecidas aos animais são de baixa qualidade, estas apresentam alto teor de fibra e baixo teor de proteína bruta, e atuam negativamente sobre o consumo de matéria seca, consumo de nutrientes, digestibilidade e taxa de passagem.

Quanto menor for o valor nutritivo da forragem, maior deverá ser o consumo, para compensar essa deficiência e atender as exigências de crescimento e produção dos animais. Assim, a utilização de estratégias alimentares capazes de estimular a ingestão de matéria seca e a atividade microbiana do rúmen, pode contribuir para melhoraria no desempenho produtivo do animal.

Uma dessas estratégias consiste na utilização de leveduras vivas (*Saccharomyces cerevisiae*) como aditivo microbiano. Leveduras podem modificar a atividade e a composição da microbiota ruminal, e aumentar a eficiência digestiva e o consumo de matéria seca em ruminantes. Os efeitos positivos da suplementação com levedura viva sobre o ambiente ruminal têm sido atribuídos a mudanças na população microbiana e fornecimento de fatores de crescimento (ácidos orgânicos, vitaminas e aminoácidos), que estimulam o crescimento de microrganismos celulolíticos e consumidores de ácido láctico (CHAUCHEYRAS-DURAND; WALKERA; BACH, 2008).

O efeito da suplementação de levedura sobre os parâmetros ruminais parece ser maior em dietas com alto nível de ingestão, e alta porcentagem de concentrado na dieta. No entanto, evidências sugerem que a digestibilidade da

matéria orgânica pode ser mais eficiente quando ocorre um aumento da proporção de fibra em detergente neutro (FDN) na dieta (DESNOYERS et al., 2009).

Resultados recentes indicam que leveduras vivas são capazes de modificar o padrão de refeição de vacas leiteiras, sugerindo um mecanismo de ação sobre o comportamento alimentar. Em um estudo de Devries e Chevaux (2014), as vacas que receberam leveduras vivas reduziram em 20% (5 min) o tempo de cada refeição, e tenderam a aumentar o número de refeições (1,2) por dia e reduzir o intervalo e o tamanho das refeições, sem que houvesse efeito na duração de alimentação. As vacas alimentadas com levedura também tenderam a gastar mais tempo ruminado por dia. É provável que efeito positivo das leveduras vivas sobre a digestibilidade da fibra, possa ter acelerado a taxa de passagem de alimentos e, assim, ter reduzido o intervalo entre refeições. Também foi relatado para bovinos de corte que a levedura seca ativa aumentou a frequência de visitas ao cocho, e que os animais consumiam pequenas quantidades por visitas (LONCKE et al., 2012).

A Suplementação com *Saccharomyces cerevisiae* pode melhorar o desempenho, a eficiência alimentar, e a digestibilidade de novilhas alimentadas com dieta de alta forragem, a base de feno de gramínea tropical ou temperada.

Objetivou-se avaliar o efeito de *Saccharomyces cerevisiae* sobre o desempenho, a eficiência alimentar, e digestibilidade de novilhas leiteiras alimentadas forragem tropical ou forragem temperada de baixa qualidade e alta inclusão dietética.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Leveduras

Leveduras são fungos unicelulares, não filamentosos, utilizados como ferramenta biotecnológica em vários setores industriais, sendo a *Saccharomyces cerevisiae* tradicionalmente utilizada na fermentação de carboidratos e a mais utilizada como aditivo em suplementos para animais (MARTIN; NISBET, 1992).

Comercialmente, as leveduras apresentam algumas características interessantes de serem exploradas, pois são reconhecidas como seguras para alimentação animal, não liberam resíduos nos tecidos animais, são utilizadas em pequenas quantidades, e promovem o crescimento de bactérias celulolíticas. As diversas cepas de *Saccharomyces cerevisiae* diferem na sua capacidade de promover mudanças no ambiente ruminal, assim, Newbold et al. (1995) sugerem que existam cepas específicas para ruminantes.

Algumas espécies de leveduras já foram identificadas no líquido ruminal, porém, as *S. cerevisiae* não são membros normalmente encontrados na comunidade microbiana ruminal (LUND, 1974). Provavelmente, a temperatura e a composição química do líquido ruminal inibem o crescimento de *S. cerevisiae* (ARAMBEL; TUNG, 1987; NEWBOLD, 1995). Entretanto, o número de células viáveis de levedura reduz no fluido ruminal apenas 30 horas depois de interrompida a suplementação, por isso, convém que a suplementação seja realizada de forma contínua, junto com a dieta, para manter suas atividades (CHAUCHEYRAS-DURAND et al., 1995). Os aditivos disponíveis a base de levedura variam amplamente quanto a espécie, cepa e viabilidade das células (ERASMUS; BOTHA; KISTNER, 1992). Comercialmente, há produtos que contém células vivas, mortas ou misturas, em distintas proporções dessas, e

podem ou não conter parte do meio onde a levedura cresceu; há também outra classe de produto que é a levedura autolisada. Os níveis de inclusão na dieta variam de 4 a 100g/cabeça/dia, valores estes, que estão bem abaixo dos níveis quando leveduras são fornecidas como fonte de proteína na dieta (BRUNING; YOKOYAMA, 1988).

2.2 Atuação de *Saccharomyces cerevisiae* no rúmen

O estudo sobre o modo de ação das leveduras vivas como aditivos suplementares para ruminantes é bastante amplo. Os efeitos variam de acordo com o tipo de substrato utilizado, condição fisiológica do animal, estratégia de alimentação, e níveis de concentrado (WALLACE, 1994). Alguns resultados do uso desse aditivo estão bem caracterizados, e muitos são os mecanismos de ação propostos para explicar os efeitos da sua adição à dieta de ruminantes sobre a melhora do desempenho animal (SANTOS; GRECO, 2012).

O efeito da *S. cerevisiae* sobre o ambiente ruminal pode favorecer a utilização do ácido lático por bactérias consumidoras de ácido lático, estabilizando o pH ruminal e prevenindo acidose (NEWBOLD et al., 1995). Esses microrganismos podem interagir com bactérias que degradam a parede celular das plantas, melhorando a colonização de partículas de alimentos e a fermentação da fibra dietética (CHAUCHEYRAS-DURAND; WALKERA; BACH, 2008). Além disso, alguns estudos têm sugerido que a remoção do O₂ presente no ambiente ruminal e a atividade respiratória das leveduras, poderia estimular o crescimento de bactérias estritamente anaeróbicas, principalmente celulolíticas (WALLACE; NEWBOLD, 2007).

2.2.1 Estabilidade do pH ruminal

Estudos têm relacionado a suplementação de *S. cerevisiae* à estabilização do pH ruminal, principalmente em dietas ricas em concentrado (WALLACE, 1994). A elevação do pH ruminal é seguida pela redução da concentração de ácido láctico (NISBET; MARTIN, 1991; WILLIAMS et al., 1991), devido, provavelmente, ao uso dos precursores do lactato, inibição da produção de lactato, ou do estímulo de uso do lactato por outros microrganismos, já que o ácido láctico não é usado como substrato pelas *S. cerevisiae* para o seu crescimento (PANCHAL et al., 1984).

Os efeitos de *S. cerevisiae* sobre o pH são discretos quando as dietas apresentam alta inclusão de forragem, uma vez que essas dietas não promovem grandes oscilações de pH ao longo do dia. Possenti et al. (2008), trabalhando com dietas exclusivas em forragens, observaram que o pH ruminal foi mais estável na ausência da levedura, e resultados semelhantes foram obtidos por McGinn et al. (2004).

Piva et al. (1993) trabalhando com dietas composta de 30% de silagem de milho, 22% de feno de alfafa e 48% de concentrado, observaram tendência na redução do pH em resposta a adição de 10g/dde leveduras na dieta de vacas lactação.

O pH é considerado um fator importante para explicar alteração na digestão, pois um ambiente mais favorável para o crescimento de bactéria celulolítica, pode aumentar a digestão da fibra e a ingestão de alimentos (HARRISON et al., 1998). Mertens (1992) sugeriu que a digestão da fibra decresce quando o pH ruminal está abaixo de 6,7. Contudo, sabe-se que em dietas ricas em forragens há uma pequena variação ao longo do dia, e comumente são observados valores elevados de pH (VAN KESSEL; RUSSELL, 1996). Bertipaglia (2008) avaliou o efeito da suplementação de *S. cerevisiae* em

duas épocas do ano (transição águas/secas e secas) sobre alguns parâmetros em novilhas de corte recriadas em pastagem de capim tropical, e verificou que o pH ruminal não foi afetado pelo uso isolado da *S.cerevisiae*.

Outro efeito importante, associado à variação no valor do pH ruminal, refere-se a produção de metano pelo metabolismo ruminal. Quando se utiliza forrageiras de boa qualidade ou quando as dietas são ricas em concentrado, a produção de metano diminui, quando o valor do pH cai para valores inferiores a 6,0. Em sistemas de alta forragem o pH médio é de 6,7(VAN KESSEL; RUSSELL, 1996), nessas condições, há maior conversão de CO₂ e H₂ em metano, quando comparadas a dietas à base de concentrados ou de forrageiras de melhor qualidade. Possenti et al. (2008), trabalhando com bovinos fistulados e dois níveis de feno de gramínea (80 e 50), e dois de leucena (20 e 50), associados ou não à levedura, não observaram valor de pH ruminal abaixo de 6,5. Os autores comentaram que a produção de metano foi relativamente baixa. Além disso, os autores ressaltaram o efeito associativo do alto nível de leucena na dieta com o uso de levedura na redução da emissão do gás metano e, melhoria do padrão de fermentação, bem como da eficiência energética pelos ruminantes.

2.2.2 Remoção de oxigênio

Embora o rúmen seja considerado um ambiente anaeróbio, uma pequena quantidade de O₂ encontra-se dissolvido no líquido ruminal, com oscilações ao longo do dia, ocasionadas pela ingestão de alimentos e água, salivagem e ruminação. A presença de oxigênio no rúmen tem efeito tóxico aos microrganismos anaeróbios, impedindo sua proliferação e/ou adesão, pois, estes não apresentam ou têm baixa atividade de enzimas capazes de destoxificar compostos reativos do oxigênio, resultantes da ativação ou redução do oxigênio molecular (RUSSEL, 2002).

Newbold, Wallace e McIntosh (1996), ao estudarem o modo de ação da *S. cerevisiae*, postulou que o consumo de O₂ por esses microrganismos favoreceu a microbiota anaeróbica do rúmen, estimulando o crescimento da massa microbiana. De acordo com os autores, a capacidade de consumo de oxigênio *in vitro* de algumas cepas de *S. cerevisiae* foi eficiente em consumir até 89% do O₂ em relação ao tratamento controle. No entanto, esta teoria baseada na remoção do O₂ parece ser inconsistente (SANTOS; GRECO, 2012). De acordo com esses autores é difícil postular que o aumento na concentração de bactérias totais e de celulolíticas se dê por redução na concentração de O₂ no líquido ruminal, devido ao consumo proporcionado pelas cepas de *S. cerevisiae*, pois a população total no rúmen de *S. cerevisiae*, além de ser pequena, sua capacidade em consumir O₂ é dependente da concentração de ácidos graxos voláteis no rúmen, e quando a concentração deste chega a 110 mM, valor frequentemente encontrado no fluido ruminal, o consumo de O₂ cai para zero (LEE et al., 2003). Assim, seria mais plausível esperar que a inclusão de leveduras ativas no rúmen, agiria de forma indireta, estimulando o crescimento de populações capazes de metabolizar O₂, e que, o aumento na concentração de bactérias celulolíticas se deva ao ambiente ruminal mais propício ao seu desenvolvimento (SANTOS; GRECO, 2012).

2.2.3 Proporção molar de ácidos graxos de cadeia curta

Os estudos avaliando o efeito da adição de leveduras sobre o perfil de fermentação demonstram alguns resultados opostos. Bertipaglia (2008), trabalhando com animais em pastagem tropical, observou que a inclusão de levedura à dieta, aumentou a concentração de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) total, mas essa resposta foi observada apenas durante o período das secas. Piva et al. (1993) observaram aumento significativo na proporção molar

de acetato e na relação acetato:propionato, quando leveduras foram fornecidas para vacas em lactação, consumindo uma dieta com 52% de volumoso e 48% de concentrado.

Resultado contrário foi obtido por Williams et al. (1991), ao suplementarem leveduras para garrotes fistulados, em dietas a base de cevada e feno, estes autores observaram queda na relação entre acetato e propionato. De mesmo modo, Erasmus et al. (2005), também encontraram efeito da adição de *S. cerevisiae* na dieta de vacas leiteiras sobre a proporção molar dos AGCC e queda na relação acetato:propionato.

2.2.4 Concentração de amônia

Os efeitos da suplementação com cultura de levedura sobre a concentração de amônia e ácidos graxos de cadeia curta no rúmen são sempre discretos. Alguns estudos não encontraram alteração no nitrogênio amoniacal ruminal (FRANZOLIN; COSTA; FERNANDES, 2004; NEWBOLD; MCKAIN; PLATA et al., 1994; WALLACE, 1993). Em estudo com alto teor de FDN e baixo de PB Moloney e Drennan (1994) não detectaram alterações na concentração de nitrogênio amoniacal quando a levedura foi incluída à dieta. Os autores argumentaram que estas respostas estariam mais bem relacionadas com a característica da dieta. Franzolin, Costa e Fernandes (2004) não notaram diferenças significativas nos valores médios da concentração de amônia ruminal (15,25 mg/100 mL), com a adição de leveduras a uma dieta com 75% de feno de gramínea. Erasmus, Botha e Kistner (1992) verificaram que houve redução de 10% na concentração média de amônia ruminal nos animais suplementados com cultura de levedura. Essa queda pode ser atribuída a utilização deste metabólito pelas bactérias, sendo então, incorporado à proteína microbiana.

O fornecimento de cultura de levedura foi capaz de estimular a produção de NH_3 pela população bacteriana ruminal (ARAMBEL; WIEDMEIN; WALTERS, 1987; MARTIN; NISBET, 1992). Segundo Arambel, Wiedmeim e Walters (1987), este aumento na produção de NH_3 pode ser em razão da possível atividade proteolítica das culturas de leveduras, ou por estas fornecerem nutrientes adicionais aos microrganismos proteolíticos do rúmen. No entanto, Chaucheyras-Durand, Masegla e Fonty (2005), evidenciaram que a atividade proteolítica de *Proventella albensis*, *Streptococcus bovis* e *Butyrivibrio fibrisolvens* foi reduzida quando cultivadas com leveduras vivas (*S. cerevisiae* cepa CNCM I-1077).

2.3 Fluxo de nitrogênio microbiano

Leveduras podem afetar benéficamente o metabolismo de nitrogênio no rúmen, pois, levam a um aumento do fluxo de N microbiano para o intestino delgado, porém, poucos estudos *in vivo* avaliaram o impacto das leveduras no fluxo de N microbiano intestinal, e alguns estudos têm demonstrado pequeno impacto no fluxo de proteína microbiana (SANTOS; GRECO, 2012).

Newbold et al. (1995), trabalhando com ovelhas, não observaram efeito significativo da suplementação com levedura sobre o fluxo de N microbiano para o duodeno, mas, numericamente, houve um incremento de 9%, que pôde ser explicado pelo aumento na população microbiana.

É esperado que o aumento na digestibilidade ruminal da matéria orgânica, acompanhado pelo aumento no consumo de matéria seca, implique em aumento na concentração de certas populações microbianas no ambiente ruminal, e maior fluxo de N microbiano (SANTOS; GRECO, 2012). No estudo de Newbold et al. (1995) foi possível observar mudança no perfil de aminoácidos da proteína microbiana e na degradabilidade ruminal da proteína

dietética, levando a acreditar que levedura pode ter estimulado o crescimento de determinadas bactérias. Ao contrário, Putnam et al. (1997) não identificaram mudanças no fluxo duodenal de proteína microbiana e de aminoácidos, quando suplementaram *S. cerevisiae* para vacas em início de lactação, submetidas há dois níveis de PB (16,1 ou 18,8%).

2.4 Digestibilidade da fibra

Alguns trabalhos têm demonstrado efeitos benéficos de leveduras associados ao aumento na digestibilidade da matéria seca e da FDN (PLATA et al., 1994). Bitencourt et al. (2011), em estudo com vacas em lactação, ao avaliarem o efeito da suplementação de 10g/d de leveduras vivas (Natucell[®]. 1 x 10¹⁰ ufc de *Saccharomyces cerevisiae*/g, cepa CNCM I – 1077), sobre a digestibilidade da fibra em detergente neutro, em dietas com 30% de FDN, observaram tendência ($P=0,08$) no aumento da digestibilidade total da fibra em detergente neutro.

Tem sido sugerido que leveduras favorecem o aumento no número total de bactérias ruminais e de populações celulolíticas, e que este seria um dos mecanismos capazes de induzir ganhos na digestão da fibra Wallace (1994). A ação das leveduras sobre o pH e a concentração de lactato pode ser a razão para o aumento do número de bactérias celulolíticas e digestão da fibra (WILLIAMS et al., 1991). No entanto, Bitencourt et al. (2011) observaram que a digestibilidade aparente da fibra, tendeu a ser maior nas dietas com levedura, mas não detectaram alteração no valor de pH ruminal.

Callaway e Martin (1997) sugerem que a utilização da levedura pode atuar sobre o tempo necessário para colonização microbiana da fibra. Sullivan e Martin (1999), ao analisarem a degradabilidade *in vitro* da matéria seca dos fenos de alfafa e de capim bermuda, observaram um aumento numérico na

degradabilidade da matéria seca das forragens, quando *S. cerevisiae* foi adicionada e a composição da dieta influenciou os resultados obtidos. O pH e os produtos da fermentação foram pouco afetados quando o milho moído foi utilizado. Williams et al. (1991) sugeriram que a digestibilidade da dieta está mais relacionada com a estrutura física e química da forragem, e com o tempo de retenção ruminal.

A presença de levedura no rúmen pode favorecer a colonização da parede celular por fungos *Neocallimastix frontalis* (CHAUCHEYRAS-DURAND et al., 1995). Estes microrganismos apresentam hifas com capacidade de penetrar na cutícula das plantas e reduzir a resistência do tecido ao processo de digestão microbiana, melhorando a adesão celular pelas bactérias (McALISTER et al., 1994).

Resultado de uma meta-análise sugere que o uso mais efetivo das leveduras ocorra em dietas de baixa fibra e alto amido, situação onde a produção da enzima celulase é comprometida (WILLIAMS et al., 1991). Robinson e Erasmus (2007) comentaram que as respostas à suplementação de leveduras parecem diminuir na medida em que se aumenta a proporção de fibra da dieta. No entanto, resultados mais recentes de uma meta-análise sugerem que a suplementação com levedura teria um efeito sobre a digestibilidade da matéria orgânica quando a FDN foi aumentada nas dietas (DESNOYERS et al., 2009).

2.5 Gramíneas tropicais x temperadas

Gramíneas de clima tropicais diferem das de clima temperado. Ambas as forragens podem apresentar baixa qualidade, em função do estágio vegetativo, caracterizadas pelo baixo teor de proteína bruta e pela elevada lignificação da fração fibrosa, o que provoca baixos níveis de consumo e compromete a digestibilidade. Ainda que possuam diferenças do ponto de vista nutricional e

estrutural, com o avanço do conhecimento de manejo e nutrição, é possível obter expressivos ganhos com a utilização de ambas gramíneas.

De modo geral, as gramíneas de clima temperado apresentam maior potencial de digestão quando comparadas com gramíneas de clima tropical, este potencial de digestão está associado à maior espessura de parede celular e à menor proporção de tecidos de rápida digestão das gramíneas C₄ em relação as C₃ (WILSON; MERTENS, 1995). Geralmente, os tecidos de gramíneas temperadas são mais acessíveis e suscetíveis à aderência e colonização microbiana. A maioria dos tecidos de rápida digestão está presente no conteúdo celular que corresponde à fração solúvel ou parcialmente solúvel e de alta digestibilidade, e pode ser digerido tanto por enzimas microbianas como por aquelas secretadas pelo aparelho digestivo dos animais (VAN SOEST, 1994).

A epiderme das folhas é a primeira barreira a ser quebrada pelos microrganismos ruminais. Em gramíneas de clima temperado a epiderme é presa por células do mesófilo, que são de rápida digestão e normalmente não constituem barreira física. Já as gramíneas de clima tropical podem apresentar uma epiderme firmemente fixada aos feixes vasculares por células de parede grossa e lignificada de esclerênquima, responsável pela lenta e parcial digestão (AKIN, 1989, 1993).

Dentre os constituintes da parede celular, a celulose e a hemicelulose são as maiores fonte de substratos disponíveis para fermentação pelos microrganismos ruminais, e sua digestão ocorre quase que em sua totalidade, através da ação enzimática dos microrganismos.

As variações encontradas em digestibilidade da matéria seca podem ser resultado da proporção dos diversos tecidos presentes na planta, estes que degradam de forma diferente em função de sua composição química. Tecidos lignificados são apontados como fator limitante da digestibilidade das plantas,

no entanto, Akin e Burdick (1975), sugeriram que os locais de lignificação podem ser mais importantes que o teor de lignina das plantas.

Alguns resultados envolvendo o uso de *S. cerevisiae* em dietas a base de gramíneas temperadas, não apontaram efeitos positivos desse aditivo sobre o desempenho animal. Prohomann (2006), trabalhando com bezerros de corte, com média de peso vivo de 187 kg, mantidos em pasto consorciado de aveia preta e azevém perene, observou que o efeito da adição de 10 g de levedura (Procreatin-7[®], 1×10^{10} ufc de *S. cerevisiae*/g de produto), não influenciou o ganho médio diário dos animais, tanto no período de maior ou menor qualidade da pastagem. Estes resultados são semelhantes aos encontrados por Neumann et al. (2008), que estudaram o desempenho de cordeiros super precoces em sistema de *creep-feeding*, em pastagem consorciada de aveia preta e azevém, acrescidas ou não de cultura de levedura, e também não observaram diferenças no ganho de peso e nem sobre o consumo de concentrado. Nesse estudo, foi utilizado o mesmo produto comercial (Procreatin-7[®], 1×10^{10} ufc de *S. cerevisiae*/g de produto), em diferentes níveis de suplementação (0, 0,4 e 0,8 g animal/dia). Olson et al. (1994), trabalhando com bovinos de corte em pastagens temperadas, observaram aumento no consumo de matéria orgânica quando houve a inclusão de cultura de levedura na dieta.

Bertipaglia (2008) avaliou a adição de levedura viva (Procreatin-7[®], $42,8 \times 10^6$ ufc de *S. cerevisiae*) na alimentação de novilhas mantidas em pasto de capim-marandu, e não observou peso final superior dos animais quando suplementados, em relação aos demais tratamentos (sal mineral, suplemento mineral proteico, suplemento mineral proteico com monensina). Resultados obtidos por Williams et al. (1991), sugerem que a atuação da cultura de levedura seria maior nas dietas que comprometem mais a celulólise, pois, pode reduzir os efeitos associativos negativos que influenciam a digestão da celulose. Os

autores, quando avaliaram a adição de cultura de levedura em dietas compostas por 60% de concentrado e 40% de volumoso, e compararam com dietas compostas por 50:50, observaram aumento na digestibilidade apenas nas dietas contendo 60% de concentrado.

REFERÊNCIAS

- AKIN, D. E. Histological and physical factors affecting digestibility of forages. **Agronomy Journal**, Madison, v. 81, n. 5, p. 17-25, Sept. 1989.
- AKIN, D. E. Perspectives of cell wall biodegradation: session synopsis. In: JUNG, H. G. et al. (Ed.). **Forage cell wall structure and digestibility**. Madison: ASA, 1993. p. 73-82.
- AKIN, D. E.; BURDICK, D. Percentage of tissue types in tropical and temperate grass leaf blades and degradation of tissues by rumen microorganisms. **Crop Science**, Madison, v. 15, n. 5, p. 661-668, Sept. 1975.
- ARAMBEL, M. J.; TUNG, R. S. Effect of yeasts on the rumen ecosystem. In: RUMEN FUNCTION CONFERENCE, 9., 1987, Chicago. **Proceedings...** Chicago: [s.n.], 1987.
- ARAMBEL, M. J.; WIEDMEIN, R. D.; WALTERS, J. L. Influence of donor animal adaptation to added yeast culture and/or *Aspergillus oryzae* fermentation extract on in vitro rumen fermentation. **Nutrition Reports International**, Los Altos, v. 35, n. 3, p. 433, Apr. 1987.
- BERTIPAGLIA, L. M. A. **Suplementação protéica associada à monesina sódica e *Saccharomyces Cerevisiae* na dieta de novilhas mantidas em pastagens de capim-Marandu**, 2008. 129 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual de São Paulo, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, São Paulo, 2008.
- BITENCOURT, L. L. et al. Diet digestibility and performance of dairy cows supplemented with live yeast. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 68, n. 3, p. 301-307, May/June 2011.
- BRUNING, C. L.; YOKOYAMA, M. T. Characteristics of live and killed Brewer's yeast slurries and intoxication by intraruminal administration to cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 66, n. 2, p. 585-591, Abr. 1988.
- CALLAWAY, E. S.; MARTIN, S. A. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* culture on ruminal bacteria that utilize lactate and digest cellulose. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 9, p. 2035-2044, Feb. 1997.

CHAUCHEYRAS-DURAND, F. et al. *In vitro* H₂ utilization by a ruminal acetogenic bacterium cultivated alone or in association with an Archaea Methanogen is stimulated by a probiotic strain of *Saccharomyces cerevisiae*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 61, n. 9, p. 3466-3467, Sept. 1995.

CHAUCHEYRAS-DURAND, F.; MASSEGLIA, S.; FONTY, G. Effect of the microbial feed additive *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-1077 on protein and peptide degrading activities of rumen bacteria grown *in vitro*. **Current Microbiology**, New York, v. 50, n. 2, p. 96-101, Feb. 2005.

CHAUCHEYRAS-DURAND, F.; WALKERA, N. D.; BACH, A. Effects of active dry yeast on the rumen microbial ecosystem: Past, present and future. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 145, n. 1, p. 5-26, Apr. 2008.

DESNOYERS, M. et al. Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 4, p. 1620-1632, Apr. 2009.

DEVRIES, T. J.; CHEVAUX, E. Modification of the feeding behavior of dairy cows through live yeast supplementation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, n.10, p. 6499-6510, Aug. 2014.

ERASMUS, L. J. et al. Influence of prepartum and postpartum supplementation of a yeast culture and monensin, or both, on ruminal fermentation and performance of multiparous dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 122, n. 3-4, p. 219-239, Sept. 2005.

ERASMUS, L. J.; BOTHA, P. M.; KISTNER, A. Effect of yeast culture supplement on production, rumen fermentation, and duodenal nitrogen flow in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, n. 11, p. 3056-3065, Nov. 1992.

FRANZOLIN, R.; COSTA, F. A. A.; FERNANDES, L. B. Avaliação do uso de aditivos em dietas de bovinos zebuínos. In. REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2004. 1 CD ROM.

HARRISON, G. A. et al. Influence of addition of yeast culture supplement to diets of lactating dairy cows on ruminal fermentation and microbial populations. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 71, n. 11, p. 2967-2975, Nov. 1998.

LEE, J. H. et al. Factors affecting oxygen uptake by yeasts *Issatenchia orientalis* as microbial feed additive for ruminants. **Asian Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul, v. 16, n. 7, p. 1011-1014, Apr. 2003.

LONCKE, C. et al. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-1077 supplementation on zootechnical performances and feeding behavior of dairy bull calves during growing period. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 90, n. 3, p. 589, 2012. Suplemento.

LUND, A. Yeasts and moulds in the bovine rumen. **Journal of General Microbiology**, Spencers Wood, v. 81, n. 2, p. 453-462, Oct. 1974.

MARTIN, S. A.; NISBET, D. J. Effect of direct-fed microbials on rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, n. 6, p. 1736-1744, June 1992.

McALLISTER, T. A. et al. Microbial attachment and feed digestion in the rumen. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, n. 11, p. 3004-3018, Nov. 1994.

McGINN, S. M. et al. Methane emissions from beef cattle: effects of monensin, sunflower oil, enzymes, yeast, and fumaric acid. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, n. 11, p. 3346-3356, Nov. 2004.

MERTENS, D. R. Análise da fibra e sua utilização na avaliação de alimentos e formulação de rações. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE RUMINANTES, 1992 **Anais...** Lavras: SBZ-ESAL, 1992. p. 188.

MOLONEY, A. P.; DRENNAN, M. J. The influence of the basal diet on the effects of yeast culture on ruminal fermentation and digestibility in steers. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 50, n. 1-2, p. 55-73, Apr. 1994.

NEUMANN, M. et al. Utilização de leveduras vivas (*Saccharomyces cerevisiae*) visando à produção de cordeiros Ile de France superprecoce em sistema de creep-feeding. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 8, p. 2285-2292, Nov. 2008.

NEWBOLD, C. J. et al. Different strains of *Saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on ruminal bacterial numbers *in vitro* and in sheep. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, n. 3, p. 1811-1818, Jan. 1995.

NEWBOLD, C. J.; MCKAIN, N.; WALLACE, R. J. Combined effects of *Aspergillus oryzae* fermentation extract and monensin on fermentation in the rumen simulation technique (Rusitec). **Journal of Agricultural Science**, New York, v. 12. n. 2. p. 241-246. Out. 1993.

NEWBOLD, C. J.; WALLACE, R. J.; McINTOSH, F. M. Mode of action of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a feed additive for ruminants. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 76, n. 2, p. 249-261, Aug. 1996.

NISBET, D. J.; MARTIN, S. A. Effect of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on lactate utilization by the ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, n. 11, p. 4628-4633, Nov. 1991.

OLSON, K. C. et al. Influence of yeast culture supplementation and advancing season on steers grazing mixedgrass prairie in the northern great plains: I. dietary composition, intake, and in situ disappearance. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, n. 8, p. 2149-2157, Aug. 1994.

PANCHAL, C. J. et al. Genetic manipulation of brewing and related yeast strains. **Food Technology**, Chicago, v. 99, n. 2, p. 111-129, Feb. 1984.

PIVA, G. et al. Effects of yeast on dairy cow performance, ruminal fermentation, blood components, and milk manufacturing properties. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.76, n. 9, p.2717-2722, 1993.

PLATA, P. F. et al. Effect of a yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on neutral detergent fiber digestion in steers fed oat straw based diets. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 49, n. 3-4, p. 203-210, Apr. 1994.

POSSENTI, R. A. et al. Efeitos de dietas contendo *Leucaena leucocephala* e *Saccharomyces cerevisiae* sobre a fermentação ruminal e a emissão de gás metano em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.37, n.8, p.1509-1516, Aug. 2008.

PROHMANN, P. F. **Suplementação de novilhos em pastagem de aveia (*Avena strigosa* Schreb) e azevém (*Lolium multiflorum* Lam) com ou sem adição de probiótico**. 2006. 128 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2006.

PROVENZA, F. D. Acquired aversions as the basis for varied diets of ruminants foraging on rangelands. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 74, n. 8, p. 2010-2020, Sept. 1996.

PUTMAN, D. E. et al. Effect of yeast culture in the diets of early lactation dairy cows on ruminal fermentation and passage of nitrogen fractions and amino acids to the small intestine. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 2, p. 374-384, Feb. 1997.

ROBINSON, P. H.; L. J. ERASMUS. Lactating dairy cow responses to yeast products. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 1, p. 236, 2007. Suplemento.

RUSSELL, J. B. **Rumen microbiology and its role in ruminant nutrition**. New York: Academic Press, 2002. 119 p.

SANTOS, J. E. P.; GRECO, L. F. Levedura viva e cultivo de leveduras em dietas de bovinos leiteiros. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL EM FORMULAÇÃO DE DIETAS PARA O GADO DE LEITE, 2012, Lavras. **Anais...** Lavras: Suprema Gráfica e Editora, 2012. p. 9-33.

SULLIVAN, H. M.; MARTIN, S. A. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* culture on in vitro mixed ruminal microorganism fermentation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 82, n. 9, p. 2011-2016, May 1999.

VAN KESSEL, J. A. S.; RUSSEL, J. B. The effect of pH on ruminal methanogenesis. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 20, n. 4, p. 205-210, Aug. 1996.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476 p.

WALLACE, R. J. Ruminal microbiology, biotechnology, and ruminant nutrition: progress and problems. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, n. 11, p. 2992-3003, June 1994.

WALLACE, R. J.; NEWBOLD, C. J. **Microbial feed additives for ruminants**. 2. ed. London: Chapman and Hall, 1992. 317 p.

WALLACE, R. J.; NEWBOLD, C. J. **Microbial feed additives for ruminants.** [S.l.: s.n.], 2007. Disponível em: <http://www.old-herbornuniversity.de/literature/books/OHUni_book_8_article_9.pdf>. Acesso em: 12 mar. 2014.

WILLIAMS, P. E. V. et al. Effects of the inclusion of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae* plus growth medium) in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, n. 7, p. 3016-3026, Nov. 1991.

WILSON, J. R.; BROWN, R. H.; WINDHAM, W. R. Influence of leaf anatomy on dry matter digestibility of C3, C4, and C3/C4 intermediate types of *Panicum* species. **Crop Science**, Madison, v. 23, n. 1, p. 141-146, Jan. 1983.

WILSON, J. R.; MERTENS, D. R. Cell wall accessibility and cell structure limitations to microbial digestion of forage. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 1, p. 251-259, Jan. 1995.

SEGUNDA PARTE – ARTIGO

ARTIGO 1 Levedura viva em dietas de alta forragem para novilhas

Amanda Vasconcelos Guimarães^{1a}

José Cleto da Silva Filho^a

Rayana Brito da Silva^a

Ronaldo Francisco de Lima^b

Renata Apocalypse Nogueira Pereira^c

Marcos Neves Pereira^a

**Artigo formatado de acordo com a NBR 6022 (ABNT, 2003), conforme
orientação do Manual de Normalização da UFLA.**

¹ Departamento de ciência animal, Universidade Federal de Lavras.

^{a b} Departamento de ciência animal, Universidade Federal do Amazonas.

^c Unidade Regional EPAMIG Sul de Minas.

RESUMO

Forragens de baixa qualidade resultam em menores taxas fermentativas e afetam negativamente a produtividade de ruminantes. Esta condição justifica a utilização de estratégias de alimentação capazes de melhorar o aproveitamento desse tipo de forragem pelo animal. Leveduras vivas podem melhorar a eficiência de aplicação dos recursos utilizados na alimentação animal. O efeito da levedura sobre o desempenho e digestibilidade de novilhas leiteiras, alimentadas com forragem tropical ou temperada, de baixa qualidade e alta inclusão dietética, foi avaliado. As novilhas foram alimentadas individualmente em *tie stall*. Trinta e seis novilhas mestiças (144 ± 70 Kg de peso inicial) receberam uma dieta de padronização por 12 dias, e em seguida, o tratamento por 126 dias, com ajuste de covariável em delineamento em blocos casualizados. Os tratamentos foram arrançados em esquema fatorial 2×2 , sendo dois tipos de feno (Tifton ou Aveia), com levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) ou controle. Uma mistura de soja, núcleo mineral e 10g de levedura (2×10^{10} UFC de células vivas) foi ofertada diariamente e previamente antes do fornecimento do feno, para garantir o total consumo. A proporção da dieta (% MS) foi de 91,5% de volumoso e 7,4% de farelo de soja. A suplementação com levedura aumentou o consumo de matéria seca na dieta com feno de Tifton (5,0 vs. 4,6 kg, $P=0,05$). O tratamento feno de aveia proporcionou maior ganho que o tratamento com feno de tifton (0,44 vs 0,29 kg) e maior eficiência (0,10 vs 0,07, $P<0,01$). Levedura induziu ganho de altura no tratamento com feno de tifton (117 vs 121, $P<0,02$). A digestibilidade da MS, MO e FDN não respondeu à suplementação com levedura. Os tratamentos com feno de aveia apresentaram maior digestibilidade da MS, MO e da FDN ($P<0,01$). A suplementação com levedura tendeu a reduzir o tempo da primeira refeição ($P=0,11$). A taxa de ingestão (kg/min) foi maior no tratamento com feno de tifton (91 vs 80). Levedura estimulou a síntese de proteína microbiana no feno de tifton (1,23 vs 1,00, $P<0,01$). O pH e a amônia ruminal foram maiores nos tratamentos com feno de tifton (média de 6,1 e 6,5, respectivamente). Levedura mudou o padrão ingestivo quando foi utilizado o feno de aveia, houve um maior consumo no período da tarde ($P<0,01$) e menor pela manhã ($P<0,05$). Os tratamentos com tifton induziram maior rejeição de partículas finas ($P=0,01$). Em dietas de alta forragem e baixa qualidade a suplementação com levedura não melhorou a digestibilidade da fibra em detergente neutro. Entretanto, levedura teve

efeito negativo sobre o consumo, ganho de peso e eficiência alimentar de novilhas consumindo feno de aveia, e efeito positivo sobre o consumo de matéria seca e a síntese de proteína microbiana de novilhas consumindo feno de tifton.

Palavras-chave: *Saccharomyces cerevisiae*. Levedura viva. Fibra. Desempenho. Novilhas.

1 INTRODUÇÃO

A falta de forragem em quantidade e qualidade adequada, ainda é um problema de nutrição enfrentado pela pecuária leiteira nacional, sobretudo, durante a estação seca do ano. As forragens de baixa qualidade tendem a apresentar alto teor de fibra, e atuam negativamente sobre o consumo de matéria seca e nutrientes, digestibilidade e taxa de passagem.

Quanto menor for o valor nutritivo da forragem, maior deverá ser o consumo, para compensar essa deficiência e atender as exigências de crescimento e produção dos animais. Assim, a utilização de estratégias alimentares capazes de estimular a ingestão de matéria seca, e a atividade microbiana do rúmen, podem contribuir para a melhoria no desempenho produtivo do animal.

Uma dessas estratégias consiste na utilização de leveduras vivas (*Saccharomyces cerevisiae*) como aditivo microbiano. Leveduras podem modificar a atividade e a composição da microbiota ruminal, e aumentar a eficiência digestiva e o consumo de matéria seca em ruminantes. Os efeitos positivos da suplementação com levedura viva sobre o ambiente ruminal têm sido atribuídos a mudanças na população microbiana, e fornecimento de fatores de crescimento (ácidos orgânicos, vitaminas e aminoácidos), que estimulam o crescimento de microrganismos celulolíticos e consumidores de ácido láctico (CHAUCHEYRAS-DURAND; WALKERA; BACH, 2008).

O efeito da suplementação de levedura sobre os parâmetros ruminais, parece ser maior em dietas com alto nível de ingestão, e alta porcentagem de concentrado na dieta. No entanto, evidências sugerem

que a digestibilidade da matéria orgânica pode ser mais eficiente quando ocorre um aumento da proporção de fibra em detergente neutro (FDN), na dieta (DESNOYERS et al., 2009).

De maneira geral, os tecidos das gramíneas de clima temperado apresentam maior potencial de digestão que os tecidos de gramíneas tropicais, já que são mais acessíveis e suscetíveis a aderência e colonização microbiana.

Resultados recentes indicaram que levedura viva foi capaz de modificar o padrão de refeição de vacas leiteiras, sugerindo um mecanismo de ação sobre comportamento alimentar. Em um estudo de Devries e Chevaux (2014), as vacas que receberam leveduras vivas reduziram em 20% (5 min) o tempo de cada refeição e tenderam a aumentar o número de refeições (1,2) por dia, e reduzir o intervalo e o tamanho das refeições, sem que houvesse efeito na duração de alimentação. As vacas alimentadas com levedura também tenderam a gastar mais tempo ruminado por dia. É provável que efeito positivo das leveduras vivas sobre a digestibilidade da fibra, possa ter acelerado a taxa de passagem de alimentos e, assim, ter reduzido o intervalo entre refeições. Também foi relatado para bovinos de corte, que a levedura seca ativa, aumentou a frequência de visitas ao cocho, e que os animais consumiam pequenas quantidades por visitas (LONCKE et al., 2012).

A Suplementação com *Saccharomyces cerevisiae* pode melhorar o desempenho, a eficiência alimentar, e digestibilidade de novilhas alimentadas com dieta de alta forragem a base de feno de gramínea tropical ou temperada.

Objetivou-se avaliar o efeito de *Saccharomyces cerevisiae* sobre o desempenho, a eficiência alimentar e digestibilidade de novilhas leiteiras alimentadas por forragem tropical, ou forragem temperada de baixa qualidade e alta inclusão dietética.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Trinta e seis novilhas mestiças Holandês-Zebu, com peso inicial de 144 ± 70 Kg, foram alimentadas individualmente às 7h e 14h, em confinamento total do tipo *tie stall*, com camas de areia, cochos individuais e acesso integral a água. O período experimental foi de 138 dias, sendo 12 dias de padronização e 126 dias de comparação entre os tratamentos. O delineamento experimental foi em blocos casualizados. Após o período de adaptação, os animais foram agrupados em nove blocos, com base no peso corporal, e dentro de cada bloco, foram aleatoriamente alocados em um dos tratamentos. Foram utilizados dois tipos de feno (Aveia ou Tifton) associados ou não à levedura, em arranjo 2x2 (Tabela 1). A levedura utilizada foi a *Saccharomyces cerevisiae*, cepa KA500, 2×10^{10} ufc/g (Levumilk, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, RS).

Os dados de consumo de matéria seca (CMS), peso vivo e medidas corporais determinados no período de padronização, foram utilizados como covariável no modelo estatístico. Durante este período, todos os animais receberam a mesma dieta, à base de feno de tifton, milho moído e sal mineral. Os fenos foram triturados em máquina forrageira.

Antes do fornecimento matinal do feno foi oferecido 440g de farelo de soja (MN) e 60g sal mineral (VACCI-PHOS 90, com ADE), adicionado ou não de 10g de levedura. As sobras alimentares e o feno oferecido foram pesados e registrados diariamente, sendo a oferta ajustada de modo a resultar em sobras de 5% do fornecido em matéria seca. Ao final da semana foi formada uma amostra composta

representativa de cada feno para determinar o teor de matéria seca (MS), fibra em detergente neutro (FDN) e perfil de distribuição das partículas de fibra, por separador de partículas modelo *Penn State* (LAMMERS; BUCKMASTER; HEINRICHS, 1996).

A composição química dos alimentos (Tabela 1) foi determinada a partir de uma amostra composta, representativa de cada ingrediente, e formada por união de amostras semanais. Os alimentos foram moídos em moinho de facas estacionário do tipo Thomas-Willey, com peneiras de porosidade de 1mm para análises químicas e de 2 mm para incubação ruminal *in situ*. Uma subamostra foi analisada quanto aos teores de MS, proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), matéria mineral (MM), FDN, fibra em detergente ácido (FDA), lignina (H_2SO_4 72% p/p), fibra em detergente neutro indigestível (FDN_i), fibra em detergente ácido indigestível (FDA_i), carboidratos solúveis totais (CHOS) e digestibilidade *in vitro* da MS. O teor de MS foi determinado por desidratação em estufa a 105°C por 16 horas. As cinzas foram determinadas por incineração da amostra em mufla, a 600°C por 4 horas. A análise de proteína bruta foi realizada em um destilador a vapor do tipo Microkjeldhal, segundo a AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS, 1990). A análise de extrato etéreo foi realizada segundo a AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS, 1990). A quantificação de FDN foi realizada em um analisador de fibra TE-149 (TECNAL de Piracicaba, SP), utilizando sacos de TNT (tecido-não-tecido). A análise lignina foi realizada mediante hidrólise do resíduo da FDA, com H_2SO_4 72% p/p, segundo método descrito por Van Soest (1994). As concentrações de FDN_i e FDA_i foram

obtidas após incubação ruminal *in situ* dos alimentos, em sacos F57 (Ankon®) por 264 horas, segundo Casali et al. (2008). A análise de carboidratos solúveis totais (CHO's) foi realizada pelo método da Antrona, proposto por Dische (1962).

A digestibilidade verdadeira *in vitro* da matéria seca (DVIVMS) foi realizada segundo Tilley e Terry (1963) adaptado para uso em incubador Tecnal TE-200. A DVIVMS consta da primeira etapa de digestão de 48 horas de duração, seguida de digestão em detergente neutro, conforme procedimento para determinação da FDN.

Uma amostra de 1g da levedura foi misturada em 9 mL de água peptonada estéril e homogeneizada por 20 min em agitador. A amostra foi então, submetida à diluição seriada e cultivo em meio YEPG (Merck, Damstadt, Alemanha). As placas foram incubadas por três dias a 30⁰ C, para então ser realizada a contagem de colônias.

O peso vivo e o perímetro torácico foram determinados em intervalos de sete dias, antes da oferta matinal de alimentos, e as alturas na garupa e na cernelha, foram obtidas em intervalos de 14 dias. O ganho diário de peso foi calculado para cada uma das dezoito semanas do período de comparação, pela diferença entre os pares de determinações, intervalados de sete dias. A eficiência alimentar foi calculada dividindo-se o ganho diário pelo consumo de matéria seca. As alturas foram determinadas com bengala graduada do tipo *Lydtin* na extremidade dorsal do processo espinhoso da terceira vértebra torácica, e no ponto mais alto do osso sacro. A medida de perímetro torácico foi tomada caudalmente aos membros torácicos, determinada com fita graduada em centímetros.

A observação visual da atividade bucal de cada animal foi registrada a cada 5 minutos por 24 horas ininterruptas, em intervalos de 30 dias. As atividades bucais consideradas foram: ingestão de alimento, ingestão de água, ruminação e ócio. O tempo de mastigação em minutos por dia, foi definido pela soma dos tempos de ingestão de alimento e de ruminação. Os tempos de mastigação, ingestão e ruminação por unidade de MS e FDN consumida, foram calculados considerando o CMS e FDN mensurado no dia da avaliação.

As fezes foram coletadas diretamente na ampola retal, de 6 em 6 horas, durante 72 horas, começando com 2 horas de atraso a cada novo dia, do 130^o ao 132^o dia do período experimental. As amostras diárias de fezes de cada animal foram armazenadas a -20°C para posterior secagem e análises químicas. As amostras de fezes foram secas em estufa com ventilação forçada a 60°C por 72 horas, processadas em moinho de facas com peneiras de porosidade de 1 mm para análises químicas de 2 mm para incubação ruminal *in situ*. Das amostras diárias de fezes secas ao ar, de cada animal, foram feitas amostras compostas. A concentração de fibra em detergente ácido indigestível (FDA_i) foi obtidas após incubação ruminal dos alimentos, sobras e fezes conforme descrito anteriormente. A estimativa da produção de MS fecal foi estimada pela concentração do indicador interno FDA_i.

A coleta de fluido ruminal foi realizada ao final do experimento, por meio de sonda flexível orogástrica, com auxílio de uma bomba de sucção a vácuo acoplada a um Kitassato (Rosenberger, 1993). As amostras do líquido ruminal foram obtidas aproximadamente 12 horas após o fornecimento matinal de alimentos (19:00 ± 1:00 hora),

aleatoriamente, dentro de bloco, para determinação do pH, N amoniacal e contagem de protozoários. Após filtragem em peneira, o pH foi aferido imediatamente em um peagâmetro digital.

Para análise do teor de amônia, uma alíquota de 40 mL de fluido foi congelada após adição de 1 mL de ácido clorídrico a 50%. Uma segunda alíquota do fluido foi diluída 1:1 com solução de formaldeído a 50%, para posterior contagem de protozoários (DEHORITY, 1984). A contagem dos protozoários foi realizada em microscópio óptico, utilizando uma subamostra de 1mL do fluido formalizado, diluído e preservado em glicerol 20%, coradas com o corante lugol, com câmara de Newbauer (WARNER, 1962), em duplicata. A enumeração obtida a partir da média da leitura de dois campos foi expressa como número de células mL⁻¹.

Amostras *spot* de urina foram obtidas no 130º dia de comparação, durante micção espontânea, em dois horários, antes e após alimentação matinal. A urina foi filtrada em gaze e alíquotas de 10 mL de cada horário, foram retiradas e diluídas imediatamente em 40 mL de ácido sulfúrico a 10%, e congeladas para posteriores análises de alantoína (ALA) e creatinina (CRE).

A relação ALA:CRE foi usada como indicativo de resposta à produção de proteína microbiana no rúmen. O teor de ALA na urina foi mensurado pelo método colorimétrico descrito por Chen e Gomes (1995). A análise de creatinina foi determinada utilizando-se *kits* comerciais, Kit Creatinina (Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratório LTDA, Goiânia- GO).

Ao final da décima sétima semana experimental, amostras de sangue foram coletadas da veia jugular de cada animal para dosagem de nitrogênio ureico no plasma (NUP). As coletas foram realizadas imediatamente antes da primeira refeição, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10 e 12 horas após o fornecimento matinal de alimentos. O sangue foi colhido em tubos vacuolizados, com anticoagulantes, e foram mantidos sob refrigeração até o momento da centrifugação. Uma segunda amostra de sangue também foi obtida 12 horas após a primeira refeição, em tubos contendo fluoreto de potássio para dosagem de glicose.

Após o final de cada coleta as amostras foram centrifugadas a 2.118 xg, por 10 minutos, para obtenção do plasma, que foi armazenado a -20°C até o momento da análise. As análises de nitrogênio ureico e glicose foram realizadas pelo método colorimétrico enzimático, utilizando-se os *kits* comerciais uréia 500 e Glucox 500 (Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratório LTDA, Goiânia - GO), respectivamente.

Quatro dias após a coleta de líquido ruminal, cada animal foi exposto a um desafio com amido fermentável. No dia anterior ao desafio, o alimento foi removido às 13:00h, e no dia seguinte, antes da oferta matinal do feno, a acidose foi induzida pelo fornecimento de 1,5 kg (na matéria natural) de silagem de milho grão reidratado.

Amostras dos fenos e das sobras alimentares (matéria natural) foram analisadas quanto à seleção do tamanho de partícula no feno ofertado, e 6 horas após alimentação matinal, dois dias anterior ao desafio com amido, no dia do desafio e após o desafio, nesses mesmos dias, também foram mensuradas as proporções de consumo diário entre 07:00h

e 13:00h (manhã), 13:00h e 19:00h (tarde) e 19:00h e 07:00h (noite), obtidas por mensuração do oferecido e das sobras alimentares em cada intervalo. Foi utilizado o separador de partículas Penn State (LAMMERS; BUCKMASTER; HEINRICHS, 1996), produzindo separação de partículas em três frações de tamanho: partículas longas (>19 mm), partículas médias (< 19 mm, > 8mm), e partículas curtas (< 8 mm).

2.1 *Statistical analysis*

As variáveis medidas ao longo do tempo foram analisadas como medidas repetidas pelo procedimento MIXED do pacote estatístico SAS (LITTEL; MILLIKEN; STROUP, 2006). Foram testadas três estruturas de covariância: auto regressiva de ordem 1, simetria composta e não estruturada, sendo utilizada a que obteve o menor valor para o critério de Akaike corrigido, e utilizou-se o seguinte modelo: $Y_{ijkl} = \mu + CV + B_i + F_j + L_k + F_j \times L_k + T_l + F_j \times T_l + L_k \times T_l + F_j \times L_k \times T_l + e_{ijkl}$

Onde: μ = Média geral; CV = covariável (medição da mesma variável no final da padronização); B_i = Efeito de bloco ($i = 1$ a 9); F_j = Efeito de feno ($j =$ tifton, aveia); L_k = Efeito de levedura ($k =$ com Levumilk, sem Levumilk); $F_j \times L_k$ = Interação entre feno e levedura; T_l = Efeito de tempo ($l =$ semanas 1 a 18); $F_j \times T_l$ = Interação entre feno e tempo; $L_k \times T_l$ = Interação entre levedura e tempo; $F_j \times L_k \times T_l$ = interação entre feno, levedura e tempo; e_{ijkl} = erro residual.

O quadrado médio para o efeito de animal aninhado na interação feno x levedura foi usado como medida de erro para testar o efeito de

feno, levedura e interação feno x levedura. O NUP foi analisado pelo mesmo modelo, mas sem o efeito de covariável.

As variáveis mensuradas uma vez durante o período experimental foram analisadas pelo mesmo modelo, porém, sem o efeito de covariável e o efeito de tempo e suas interações com feno e levedura.

Valores de probabilidade para o erro tipo I abaixo de 0,05 foram considerados como significativos, e abaixo de 0,10 como tendência. Quando significativo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição química dos fenos utilizados nesse estudo apresentaram valores de MS, PB, FDN e CNF bastante próximos (Tabela 1), com média de 90,1; 7,5; 77,0 e 7,5%, respectivamente. O alto teor de fibra, juntamente com o baixo de teor de proteína bruta, caracteriza o feno de aveia e o feno de tifton utilizado neste trabalho como de baixa qualidade.

As principais diferenças química observadas ocorreram sobre a fração insolúvel em detergente ácido (FDA) e lignina, bem como aumento da participação de lignina na FDN. A alta relação lignina/FDN do feno de aveia indica a presença de componentes com alta lignificação. Embora o feno de aveia tenha apresentado valor superior ao feno de tifton, é provável que isto não limite o potencial máximo de degradação da parede celular do feno de aveia, haja vista que a lignina presente em gramíneas temperadas apresenta baixo grau de associação com a fibra (WILSON; BROWN; WINDHAM, 1983).

Tabela 1 Composição química do feno de aveia (A), feno de tifton (T), farelo de soja (FS) e levedura (L)

Itens ¹	A	T	FS	L
	% da matéria natural			
Matéria seca (MS)	90,1	90,1	88,7	96,8
	% da matéria seca			
Cinzas	6,6	5,8	6,7	6,5
Proteína bruta	7,4	7,7	50,1	36,4
Fibra em detergente neutro	76,6	77,4	15,0	-
Extrato etéreo	1,9	1,6	1,7	-
Carboidrato não fibroso	7,4	7,5	26,5	-
Fibra em detergente ácido	48,3	44,5	10,5	-
Lignina	6,3	4,9	0,3	-
Hemicelulose	28,3	32,9	4,5	-
Celulose	42,0	39,6	10,2	-
Celulose indigestível	10,1	14,3	1,1	-
Carboidratos solúveis totais	2,8	2,5	10,0	-
Lignina/FDN	8,3	6,4	2,1	-
FDN _{indigestível}	23,6	29,7	1,7	-
FDA _{indigestível}	13,5	15,4	0,6	-
Digestibilidade <i>in vitro</i> da MS	53,2	51,3	-	-
	% da matéria natural*			
Partículas > 19 mm	47,0 ±12,4	57,0 ±9,7	-	-
Partículas 8-19 mm	32,0 ±8,1	31,0 ±6,4	-	-
Partículas < 8 mm	21,0 ±6,3	11,0 ±3,6	-	-

*Média de 32 amostras

Observa-se que apesar dos fenos terem sido triturados na mesma máquina forrageira, o feno de aveia e o feno de tifton, não apresentaram o mesmo tamanho de partícula (Tabela 1). O feno de tifton apresentou uma maior proporção de partículas > 19mm e uma menor proporção de partículas < que 8mm em relação ao feno de aveia.

As dietas consumidas foram isoFDN, isoPB e isoMM (71,1 ; 10,6 e 5,9 %, base MS, respectivamente) Tabela 2. Estes resultados são

importante para minimizar o efeito de confundimento nas respostas experimentais.

Tabela 2 Composição das dietas consumidas em ingredientes e nutrientes nos tratamentos feno de aveia (A) ou feno de tifton (T), suplementadas (L) ou não com levedura viva (% da MS)

	A	AL	T	TL
Forragem	91,3	90,7	91,8	92,0
Farelo de soja	7,6	8,0	7,1	6,9
Mineral ¹	1,2	1,3	1,1	1,1
Fibra em detergente neutro	70,7	70,7	71,6	71,8
Proteína bruta	10,5	10,7	10,7	10,6
Cinzas	6,0	5,9	6,0	5,9

¹Minerais e vitaminas: 18,5% de Ca; 15% de P; 3,0% de Mg; 3,0% de S; 240 ppm de Co; 3000 ppm de Cu; 8000 ppm de Mn; 12000 ppm de Zn; 9 0 ppm de Se; 180 ppm de I; 1.000.000 UI/Kg Vit. A; 250.000 UI/Kg Vit. D; 6.250 UI/Kg Vit. E.

A suplementação com levedura viva aumentou o consumo de matéria seca (kg/d) na dieta com feno de tifton (Tabela 3). A maior ingestão de matéria seca em resposta a suplementação com levedura viva, tem sido frequentemente atribuída ao ganho em digestão da fibra (ERASMUS; BOTHA; KISTNER, 1992; WALLACE; NEWBOLD, 1992; WILLIAMS et al., 1991). Resultados de duas meta-análises sugerem que a inclusão de levedura influencia de forma positiva o consumo (DESNOYERS et al., 2009; POPPY et al., 2012), porém, quando a variável consumo de matéria seca foi expressa em % do peso corporal, observou-se queda no consumo na dieta com feno de Aveia em resposta à suplementação com levedura. Essa resposta negativa observada na dieta com Aveia, foi similar a observada por Oliveira et al. (2010), quando esta mesma cepa de *Sacharomyces cerevisiae* foi suplementada

em dieta de alta densidade nutricional para vacas em lactação. No entanto, o autor não explica quais fatores podem ter influenciado esta redução no consumo de matéria seca.

Houve efeito da interação entre forragem e levedura ($P < 0,01$) sobre o ganho de peso (Tabela 3). Os animais alimentados somente com feno de aveia obtiveram ganhos de 440g de peso vivo, este resultado foi semelhante ao observado para as novilhas que consumiram feno de tifton e levedura.

Tabela 3 Consumo de matéria seca (CMS), ganho de peso, eficiência alimentar e morfometria de novilhas mestiças alimentadas com feno de Aveia (A) ou feno de Tifton (T), suplementadas (L) ou não com levedura viva

	A	AL	T	TL	EPM ¹	F ²	L	F x L	P ³
CMS, kg/d	4,7 ^b	4,6 ^b	4,6 ^b	5,0 ^a	0,11	0,21	0,27	0,05	+
CMS, % peso corporal	2,02 ^a	1,92 ^b	2,03 ^a	2,12 ^a	0,038	0,01	0,94	0,03	*
Ganho de peso, kg	0,44 ^a	0,32 ^b	0,29 ^b	0,37 ^{ab}	0,04	0,26	0,65	<0,01	+
Eficiência ⁴	0,10 ^a	0,08 ^{ab}	0,07 ^b	0,08 ^{ab}	0,005	0,01	0,62	0,01	+
Peso, kg	245 ^a	239 ^b	234 ^c	241 ^{ab}	1,5	0,01	0,89	<0,01	●
Perímetro ⁴ , cm	143	143	142	143	0,8	0,13	0,67	0,56	
Cernelha ⁵ , cm	114	112	113	113	0,9	0,65	0,47	0,12	
Garupa ⁶ , cm	120 ^{ab}	118 ^{ab}	117 ^b	121 ^a	1,4	0,83	0,52	0,02	

¹EPM = Erro padrão das médias. ²Valores de probabilidade para os efeitos e suas interações: F = Forragem, L = Levedura. ³ $P < 0,10$ para as interações: * forragem x semana, + levedura x semana, ● forragem x levedura x semana. Efeito de semana <0,01. ⁴Ganho de peso/CMS.

De maneira geral, a ingestão de MS correspondeu aos efeitos observados no ganho de peso. A suplementação com levedura afetou negativamente o ganho de peso quando o feno de Aveia foi utilizado. É provável que esta menor resposta tenha sido influenciada pela redução do

CMS (% PC). Desnoyer et al. (2009), ao avaliarem dados de múltiplos estudos com vacas em lactação, observaram que de maneira geral a suplementação com *S. Cerevisiae* resultou em aumento da ingestão de matéria seca e da produção de leite em 1,2 kg/dia. Sugere-se que a mudança no microambiente ruminal, como o aumento na digestão da fibra e da matéria orgânica, e o aumento no consumo de matéria seca, possa ter contribuído para o aumento da produção de leite. Aditivos alimentares também têm sido adicionados a dieta de animais em crescimento, com o objetivo de acelerar o desenvolvimento corporal, e geralmente em situações com alto risco de morbidade. Santos e Greco (2012) compilaram dados de diversos autores e observaram que o benefício em desempenho animal de bezerros foi bastante variável quando os animais foram suplementados com levedura.

A dieta com feno de Aveia resultou em maior eficiência quando comparada à dieta com feno de Tifton (Tabela 3). Numericamente, a suplementação com levedura favoreceu um ganho em eficiência alimentar das novilhas que receberam a dieta feno de Tifton. Embora no estudo de Oliveira et al. (2010), tenha sido detectado uma resposta negativa da suplementação sobre o consumo, ocorreu modesto ganho de 3,8% na eficiência alimentar de vacas quando foram suplementadas com 10g desta mesma cepa, sendo a resposta, associada ao menor consumo de matéria seca, sem alteração na produção de leite.

Apesar do ganho em eficiência alimentar ser uma resposta aceitável ao uso de leveduras, os autores comentaram que pode não existir um padrão definido de variação na produção e no consumo, quando

ocorre resposta favorável. O peso médio durante o período experimental foi maior para a dieta feno de Aveia (Tabela 3).

A suplementação com levedura reduziu o peso médio das novilhas quando a gramínea temperada foi utilizada. Houve similaridade entre os tratamentos para as medidas de perímetro torácico e altura de cernelha (Tabela 3). A suplementação com levedura proporcionou maior altura de garupa na dieta feno de Tifton.

As variáveis digestibilidade da matéria seca (DMS), digestibilidade matéria orgânica (DMO), digestibilidade da fibra em detergente neutro (DFDN) e digestibilidade da matéria orgânica não-FDN (DMOnFDN) não responderam à suplementação com levedura (Tabela 4). A DMS, DMO, DFDN e DMOnFDN foram notadamente maiores quando a forragem temperada foi utilizada (Tabela 4). Oliveira et al. (2010) também não observaram efeito positivo da suplementação com leveduras vivas sobre as variáveis de digestão no trato digestivo total de vacas leiteiras.

Tabela 4 Digestibilidade aparente de nutrientes no trato digestível total por novilhas mestiças alimentadas com feno de Aveia (A) ou feno de Tifton (T), suplementadas (L) ou não com levedura viva

	A	AL	T	TL	EPM ¹	F ²	L	Fx L
	% do consumido							
MS ³	65,8	66,9	60,9	60,1	1,38	<0,01	0,92	0,45
MO ⁴	68,2	69,2	62,8	61,6	1,23	<0,01	0,94	0,36
FDN ⁵	63,5	64,8	54,2	53,5	1,39	<0,01	0,85	0,45
MOOnFDN ⁶	82,8	82,7	90,9	88,1	1,21	<0,01	0,22	0,28

¹EPM = Erro padrão das médias. ²Valores de probabilidade para os efeitos e suas interações: F = Forragem, L = Levedura. ³MS= Matéria seca. ⁴MO= Matéria orgânica. ⁵FDN = Fibra em detergente neutro. ⁶MOOnFDN = Matéria orgânica não-FDN.

Embora as forragens tenham apresentado composição química semelhante (Tabela 1), sabe-se que gramíneas temperadas diferem das tropicais por apresentarem maior proporção de tecidos de rápida e total digestão. Assim, esperava-se que a levedura atuasse sobre os carboidratos estruturais em ambas as forragens, favorecendo a digestibilidade dos tecidos fibrosos. Porém, a suplementação com levedura não foi capaz de causar alterações benéficas a digestão da fibra. Este resultado é semelhante ao observado por Olson et al. (1994), que não encontraram resposta positiva a suplementação de levedura quando as gramíneas estavam em estágio de maturação avançada.

Foi observado efeito de forragem para o consumo de matéria seca, matéria orgânica e fibra em detergente neutro digestíveis. O consumo de cada componente digerido representa o produto do consumo do nutriente e do coeficiente de digestibilidade total do mesmo, logo, o maior consumo dos nutrientes digestíveis nas dietas com feno de Tifton, pode ser atribuído ao maior CMS. O consumo de matéria seca e de fibra em detergente neutro (% PV), foi maior na dieta com feno de Tifton e suplementada com levedura, e menor na dieta feno de Aveia e levedura (Tabela 5).

O consumo de matéria seca e de fibra em detergente neutro (kg/d) tendeu a seguir o mesmo padrão de resposta, onde a suplementação com levedura afetou negativamente na dieta com Aveia e positivamente na dieta com Tifton. Ao analisar a ingestão de FDN pelos animais, verifica-se que esta variou de 1,3 a 1,6% do PC. Segundo Van Soest (1994), o consumo de fibra pode ultrapassar 1,2% PC quando a dieta apresenta baixa densidade energética, sem o comprometimento do consumo em

decorrência do efeito de enchimento ruminal. Logo, o mecanismo que limitou o consumo de FDN (% PC) na dieta feno de Aveia com levedura, parece não estar relacionado com o fator enchimento.

Tabela 5 Atividade mastigatória e duração da primeira refeição de novilhas mestiças alimentadas com fenos de Aveia (A) ou feno de Tifton (T), suplementadas (L) ou não com levedura viva

	A	AL	T	TL	EPM ¹	F ²	L	F x L	P ³
CFDN, kg/d	3,4 ^{ab}	3,1 ^b	3,5 ^{ab}	3,7 ^a	0,15	0,04	0,89	0,13	*
CFDN, %									
PV	1,47 ^{ab}	1,34 ^b	1,54 ^a	1,58 ^a	0,04	0,01	0,08	0,01	*
	min/d								
Ingestão	412 ^{ab}	359 ^c	374 ^{bc}	453 ^a	15,4	0,08	0,42	<0,01	*
Ruminação	481	460	505	510	12,7	0,01	0,51	0,32	+
Mastigação ⁴	893 ^b	819 ^c	879 ^b	962 ^a	16,5	<0,01	0,80	<0,01	
	min/kg de CMS								
Ingestão	91 ^a	84 ^{ab}	80 ^b	91 ^a	3,8	0,64	0,61	0,02	
Ruminação	107	107	109	104	5,1	0,95	0,61	0,61	●
Mastigação ⁴	197	190	189	195	7,7	0,79	0,92	0,39	
	min/kg de FDN consumido								
Ingestão	129 ^a	118 ^{ab}	109 ^b	124 ^{ab}	5,8	0,22	0,74	0,03	*
Ruminação	150	150	148	140	7,9	0,42	0,60	0,66	+
Mastigação ⁴	280	268	256	263	12,3	0,27	0,85	0,45	●
	Min								
R.Cond ⁵	103	90	101	98	4,7	0,62	0,11	0,32	

¹ EPM = Erro padrão das médias. ² Valores de probabilidade para os efeitos e suas interações: F = Forragem, L = Levedura, S = semana. ³ $P < 0,10$ para * forragem x semana, + levedura x semana, ● forragem x levedura x semana. Efeito de semana $< 0,01$. ⁴ Ingestão + ruminação. ⁵ Refeição condicionada = tempo da primeira refeição após o fornecimento matinal da dieta.

A suplementação com levedura aumentou o tempo gasto com ingestão e ruminação (Min/d) no feno de Tifton, e reduziu no feno de Aveia. Apesar do feno de Tifton ter apresentado 10% mais partículas longas em relação ao feno de Aveia (Tabela 1), essa maior proporção de partículas longas não parece ter causado a mudança no tempo gasto com

ingestão e ruminação (min/dia). Bach, Iglesias e Devant (2007) e Devries e Chevaux (2014) não observaram efeito da levedura sobre o tempo gasto com ingestão. No entanto, Devries e Chevaux (2014) verificaram que o tamanho das refeições e o intervalo entre elas, eram menores quando os animais recebiam levedura viva, e isso implicava em um maior número de refeições por dia. Estes autores sugerem que essa mudança na padronização das refeições, seja um efeito secundário das leveduras vivas, já que estas apresentam potencial para estabilizar o pH ruminal e a fermentação. Assim, um padrão de fermentação mais estável poderia resultar em retorno mais rápido ao cocho para se alimentarem. Embora os produtos finais da fermentação e cinética ruminal não tenham sido medidos neste estudo, é provável que a suplementação com levedura viva tenha provocado algum efeito no ambiente ruminal, capaz de atuar no tempo gasto com ingestão, quando a gramínea tropical foi utilizada.

A refeição condicionada tendeu a ser menor nas dietas com suplementação de levedura (Tabela 5), quando comparada com as dietas controle (94 vs. 104 min). Este dado sugere que a levedura pode ter alterado a aceitabilidade da dieta, ou provocado algum estímulo pós-ingestivo (PROVENZA, 1996), que fez com que os animais tendessem a reduzir o consumo na primeira refeição.

A suplementação com levedura tendeu ($P=10$) a estimular a população de protozoário na dieta com feno de tifton e inibir na dieta com feno de aveia (Tabela 6). Geralmente, o aumento do número de protozoários no rúmen está associado a uma maior digestibilidade da dieta.

A levedura não foi capaz de promover mudanças no pH ruminal. Pesquisadores têm estudado a levedura pela sua capacidade em manter o pH ruminal mais estável, sobretudo, em dietas com alto potencial fermentativo. No entanto, são poucos e contraditórios os seus efeitos em dietas de alta forragem. Possenti et al. (2008), trabalhando com dietas de alta forragem, contendo dois níveis de feno de leucena e feno de gramíneas, associado ou não à levedura, observaram que o pH ruminal foi mais estável na ausência da levedura. O pH ruminal, medido 12 horas após a alimentação matinal, foi menor para os animais que receberam feno de aveia (Tabela 6). Em rações a base de forragens, o pH do líquido ruminal oscila entre 6,2 e 7,0.

Tabela 6 Protozoário, pH e amônia no fluido ruminal, relação entre alantoína e creatinina na urina, nitrogênio ureico no plasma (NUP) de novilhas mestiças alimentadas com feno de Aveia (A) ou feno Tifton (T), suplementadas (L) ou não com levedura viva

	A	AL	T	TL	EPM ¹	F ²	L	F x L
Protozoário, x10 ⁴ /mL	54	42	49	53	4,6	0,53	0,35	0,10
pH ruminal	5,9	5,9	6,1	6,1	0,08	0,03	0,99	0,83
Amônia, mg/dL	4,8	5,1	6,9	6,2	0,46	<0,01	0,64	0,30
Alantoína:Creatinina	1,11 ^{ab}	0,94 ^b	1,00 ^b	1,23 ^a	0,045	0,05	0,51	<0,01
NUP, mg/dL	11,4	11,6	13,5	13,2	0,703	0,01	0,91	0,70

¹EPM = Erro padrão das médias. ²Valores de probabilidade para os efeitos e suas interações: F = Forragem, L = Levedura. $P < 0,01$ para a interação entre forragem e tempo, $P = 0,64$ para a interação entre levedura e tempo, $P = 0,66$ para interação entre forragem, levedura e tempo.

Os valores médios encontrados para as dietas com feno de aveia e feno de tifton apresentam-se abaixo do limite inferior (5,9 vs 6,1), respectivamente. Vale ressaltar, que as amostras de fluido ruminal foram

coletadas em apenas um tempo, horário que corresponde a maior concentração dos ácidos graxos voláteis.

Também não foi observado resposta da suplementação com levedura sobre o metabolismo de compostos nitrogenados, já que não houve efeito sobre a concentração de amônia no líquido ruminal e nitrogênio ureico no plasma (NUP). Nesse estudo, a concentração de amônia variou de acordo com o tipo de forragem, onde a dieta com a gramínea tropical apresentou maior valor de amônia ruminal quando comparada às dietas com gramínea temperada, média de 6,55 vs. 4,95 mg/dL, respectivamente. Esta diferença pode ser atribuída às diferenças quantitativas entre os constituintes da parede celular do feno de tifton e de aveia, bem como às diferenças na taxa de degradação e/ou na disponibilidade da proteína. Gramíneas temperadas apresentarem altos teores de compostos nitrogenados solúveis, que são rapidamente fermentados no rúmen, no entanto, falhas no processamento ou estocagem, podem afetar esta disponibilidade. É provável que a proteína do feno de aveia tenha sido menos disponível em função dos maiores teores de nitrogênio na forma de nitrogênio insolúvel em detergente (NIDN) e em detergente ácido (NIDA). O nitrogênio na forma de NIDA é praticamente indigestível, e geralmente está associado à lignina e outros compostos de difícil degradação (LICITRA; HERNANDEZ; VAN SOEST, 1996).

O valor médio observado para NUP está entre os valores de 11 e 13 mg/dL. Níveis NUP entre 11 e 15 mg/dL foram associados às altas taxas de ganho para novilhos em fase de recria, segundo Byers e Moxon (1980), citado por Hammond (1997). E segundo estes mesmos autores,

concentrações inferiores a 7 mg/dL indicaria uma deficiência da proteína dietética em relação ao consumo de energia digestível. Alguns estudos têm relatado efeito positivo da levedura sobre a captação de amônia, e que esta pode ser utilizada para melhorar a síntese e/ou a eficiência microbiana, promovendo assim, um aumento no fluxo de aminoácidos pós-ruminal, com efeito positivo sobre o desempenho animal (WILLIAMS; NEWBOLD, 1990). No entanto, nesse estudo, não foi possível observar efeito da levedura sobre as concentrações de amônia no rúmen.

A suplementação com levedura viva aumentou a síntese de proteína microbiana no rúmen quando o feno de tifton foi utilizado (Tabela 6), e o seu valor médio foi semelhante ao observado na dieta feno de aveia. A produção microbiana pode ser medida a partir da quantidade consumida de energia, de matéria orgânica ou de carboidratos fermentados no rúmen. Apesar do consumo de matéria orgânica digestível e de matéria orgânica não FDN ter sido numericamente maior para os animais que consumiam tifton e levedura, não foi observado efeito estatístico para estas variáveis, houve apenas efeito para forragem, como já mencionado anteriormente.

A concentração de NUP, medida ao longo do tempo, foi significativamente maior nas novilhas alimentadas com feno de tifton (Figura 1). É possível observar que esta diferença ocorreu a partir de 12 horas após alimentação matinal. Os maiores valores encontrados para NUP foram observados 9 horas após a primeira refeição para ambas as forragens.

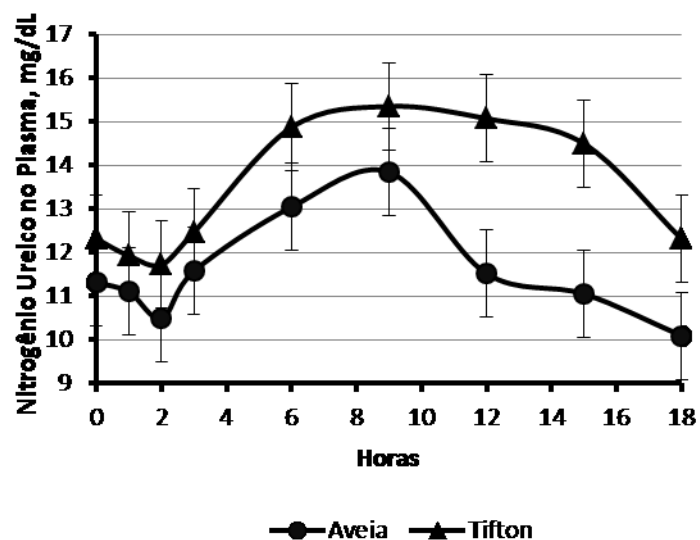


Figura 1 Nitrogênio ureico no plasma de novilhas alimentadas com feno de Aveia ou feno de Tifton. $P < 0,01$

O padrão de consumo foi afetado quando houve aumento brusco no teor de amido dietético (Tabela 7). A suplementação com levedura tendeu a reduzi a proporção da ingestão diária no período da manhã, e aumentou no período da tarde, quando a gramínea temperada foi utilizada. Também houve alteração no padrão de consumo no horário da tarde no dia após o desafio de amido.

Tabela 7 Proporção do consumo diário por novilhas mestiças alimentadas com feno de Aveia (A) ou feno de Tifton (T), suplementadas (L) ou não com levedura viva

	A	AL	T	TL	EPM ¹	F ²	L	F x L
	% do oferecido							
Pré desafio de amido								
Consumo de MS, kg/d	5,90	5,40	5,65	5,54	0,316	0,87	0,34	0,53
Manhã ³	39,4	37,9	41,9	38,0	2,75	0,65	0,33	0,64
Tarde ⁴	44,4	49,7	43,1	46,2	3,27	0,47	0,21	0,74
Noite ⁵	16,2	12,4	15,0	15,8	3,57	0,75	0,67	0,51
Desafio de amido								
Consumo de MS, kg/d	5,35	5,38	5,28	5,17	0,213	0,52	0,84	0,74
Manhã ³	50,8 ^a	44,7 ^{ab}	41,2 ^b	43,8 ^{ab}	2,10	0,02	0,41	0,05
Tarde ⁴	29,7 ^b	39,8 ^a	44,6 ^a	41,7 ^a	2,58	<0,01	0,28	<0,01
Noite ⁵	19,5	15,5	14,2	14,5	2,51	0,13	0,66	0,25
Pós desafio de amido								
Consumo de MS, kg/d	5,94	5,71	5,51	6,00	0,335	0,83	0,69	0,28
Manhã ³	44,7	47,6	48,1	45,3	2,44	0,83	0,96	0,25
Tarde ⁴	36,8	31,9	30,5	35,9	2,65	0,68	0,93	0,06
Noite ⁵	18,5	20,5	21,4	18,8	3,16	0,85	0,91	0,46

¹EPM = Erro padrão das médias. ²Valores de probabilidade para os efeitos e suas interações: F = Forragem, L = Levedura. ³7:00 a 13:00h, ⁴13:00 a 19:00h, ⁵19:00 a 7:00h. ⁶AL = feno de aveia + levedura; A = Feno de aveia; TL = Feno de tifton + levedura; T = Feno de tifton.

A levedura reduziu numericamente a ingestão na dieta com aveia e aumentou na dieta com Tifton. Não foi observado nenhum efeito sobre o consumo de matéria seca (kg/d) durante o desafio de amido.

A suplementação com levedura afetou a seleção de partículas médias (8-19mm) no período matinal no dia anterior ao desafio de amido (Tabela 8).

Tabela 8 Índice de seleção de partícula de novilhas mestiças alimentadas com feno de aveia (A) ou feno de tifton (T), suplementadas (L) ou não com levedura viva no intervalo de 07:00 – 13:00h

	A	AL	T	TL	EPM ¹	F ²	L	F x L
	Observado/Predito ³ , %							
Pré desafio de amido								
>19mm ⁴	110	97	101	105	4,7	0,93	0,40	0,08
8-19mm ⁴	109 ^a	101 ^{ab}	65 ^c	80 ^b ^c	5,7	<0,01	0,55	0,05
<8mm ⁴	97 ^a	89 ^{ab}	64 ^b	79 ^{ab}	7,5	<0,01	0,69	0,13
Desafio de amido								
>19mm ⁴	105	102	107	104	5,3	0,70	0,59	0,97
8-19mm ⁴	102	98	60	101	8,3	<0,01	0,66	0,39
<8mm ⁴	98	91	81	70	7,4	0,01	0,22	0,76
Pós desafio de amido								
>19mm ⁴	113	103	106	105	5,9	0,70	0,32	0,48
8-19mm ⁴	89	72	82	87	8,0	0,59	0,47	0,20
<8mm ⁴	93	69	98	95	7,9	0,06	0,11	0,19

¹ EPM = Erro padrão das médias. ²Valores de probabilidade para os efeitos e suas interações: F = Forragem, L = Levedura. ³ <100% = rejeição, >100% = consumo preferencial, 100% = ausência de seleção. ⁴ Diâmetro dos orifícios nas peneiras do separador de partículas da Penn State.

As novilhas alimentadas com feno de aveia selecionaram a favor de partículas médias e contra partículas pequenas, enquanto que as novilhas alimentadas com feno de Tifton selecionaram contra partículas médias e pequenas. Houve uma tendência em levedura influenciar a seleção de partículas na dieta feno de aveia, onde novilhas suplementadas selecionaram menos partículas médias.

4 CONCLUSÕES

Em dietas de alta forragem e baixa qualidade, a suplementação com levedura não melhorou a digestibilidade da fibra em detergente neutro. Entretanto, levedura teve efeito negativo sobre o consumo, ganho de peso e eficiência alimentar de novilhas consumindo feno de aveia, e efeito positivo sobre o consumo de matéria seca e a síntese de proteína microbiana de novilhas consumindo feno de tifton.

LIVE YEAST IN HIGH FORAGE DIETS FOR HEIFERS

ABSTRACT

Low quality forage result in lower fermentation rates and negatively affect ruminant productivity. This justifies the use of feeding strategies capable of improving the exploitation of this type of forage by the animals. Live yeast can improve the efficiency of resources applied to animal feed. We evaluated the effect of yeast over performance and digestibility of dairy heifers fed with low quality and high diet inclusion, tropical or temperate forage. The heifers were individually fed in tie stall. We fed 36 hybrid heifers (initial weight of 144 ± 70 kg) a standardizing diet for 12 days and, subsequently, were treated for 126 days with co-variable adjustment in randomized blocks design. The treatments were arranged in 2x2 factorial scheme with two types of hay (Tifton or oat) and yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) or control. A mixture of soy, mineral premix and 10 g of yeast (2×10^{10} c.f.u. of live cells) was offered daily and before the hay to guarantee total intake. Diet proportion (%DM) was of 91.5% of forage and 7.4% of soybean meal. The supplementation with yeast increased dry matter intake of the diet with Tifton hay (5.0 vs. 4.6 kg, $P=0.05$). The oat hay treatment provided higher gain than the treatment with Tifton hay (0.44 vs 0.29 kg) and higher efficiency (0.10 vs 0.07, $P<0.01$). The yeast induced height gain in the treatment with Tifton hay (117 vs 121, $P<0.02$). The digestibility of DM, OM and NDF ($P<0.01$). The supplementation with yeast tended to reduce the time of the first meal ($P=0.11$). Intake rate (kg/min) was higher in the treatment with Tifton hay (91 vs 80). Yeast stimulated the synthesis of microbial protein for Tifton hay (1.23 vs 1.00, $P<0.01$). The pH ruminal ammonia presented higher values with Tifton hay (average of 6.1 and 6.5, respectively). Yeast changed the digestive pattern when using oat hay, presenting higher intake in the afternoon ($P<0.01$) and lower in the morning ($P<0.05$). The treatments with Tifton induced higher rejection of fine particles ($P=0.01$). The diets with high forage and low quality, the supplementation with yeast did not improve digestibility of neutral detergent fiber. However, yeast presented a negative effect over intake, weight gain and feed efficiency of heifers fed oat hay and positive effects over intake of dry matter and the synthesis of microbial protein of heifers fed Tifton hay.

Keywords: *Saccharomyces cerevisiae*. Live yeast. Fiber. Performance. Heifers.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**: volume 1. 15. ed. Virgínia: AOC, 1990. 1117 p.
- BACH, A.; IGLESIAS, C.; DEVANT, M. Daily rumen pH pattern of loose house dairy cattle as affected by feeding pattern and live yeast supplementation. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 136, n. 1-2, p. 146-153, July 2007.
- BYERS, F. M.; MOXON, A. L. Protein and selenium levels for growing and finishing beef cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 50, n. 6, p. 1136-1144, July 1980.
- CASALI, A. O. et al. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos in situ. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, n. 2, p. 335-342, Feb. 2008.
- CHAUCHEYRAS-DURAND, F.; WALKERA, N. D.; BACH, A. Effects of active dry yeast on the rumen microbial ecosystem: Past, present and future. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 145, n. 1-4, p. 5-26, Aug. 2008.
- CHEN, X. B.; GOMES, J. **Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives**: an overview of the technical details. Bucksburn: Rowett Research Institute, 1995. 22 p.
- DEHORITY, B. A. Evaluation of subsampling and fixation procedures used for counting rumen ciliate protozoa. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 48, n. 1, p. 182-185, July 1984.
- DESNOYERS, M. et al. Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 4, p. 1620-1632, Apr. 2009.

DEVRIES, T. J.; CHEVAUX, E. Modification of the feeding behavior of dairy cows through live yeast supplementation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, n. 10, p. 6499-6510, Aug. 2014.

DISCHE, Z. General colors reactions. In: WHISTLER, R. L.; WOLFRAM, M. L. (Ed.). **Carbohydrate chemistry**. New York: Academic Press, 1962. p. 477-512.

ERASMUS, L. J.; BOTHA, P. M.; KISTNER, A. Effect of yeast culture upplement on production, rumen fermentation, and duodenal nitrogen flow in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, n. 11, p. 3056-3065, Nov. 1992.

HAMMOND, A. C. Update on BUN and MUN as a guide for protein supplementation in cattle. In: ANNUAL FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 8., 1997, Gainesville. **Proceedings...** Gainesville: University of Florida, 1997. p. 45-54.

LAMMERS, B. P.; BUCKMASTER, D. R.; HEINRICHS, A. J. A simple method for the analysis of particle sizes of forage and total mixed rations. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 79, n. 5, p. 922-928, May 1996.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T. M.; VAN SOEST, P. J. Stantardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.57, n.4, 347-358, Mar. 1996.

LITTELL, R. C. et al. **SAS[®] for mixed models**. 2 ed. Cary: SAS Instituti, 2006. 662 p.

LONCKE, C. et al. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-1077 supplementation on zootechnical performances and feeding behavior of dairy bull calves during growing period. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 90, n. 3, p. 589, 2012. Suplemento.

OLIVEIRA, B. M. L. et al. Suplementação de vacas leiteiras com *Saccharomyces cerevisiae* cepa KA500. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 62, n. 5, p. 1174-1182, out. 2010.

OLSON, K. C. et al. Influence of yeast culture supplementation and advancing season on steers grazing mixedgrass prairie in the northern great plains: I. dietary composition, intake, and in situ disappearance. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, n. 8, p. 2149-2157, Aug. 1994.

POPPY, G. D. et al. A meta-analysis of the effects of feeding yeast culture produced by anaerobic fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* on milk production of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 95, n. 10, p. 6027-6041, Oct. 2012.

POSSENTI, R. A. et al. Efeitos de dietas contendo *Leucaena leucocephala* e *Saccharomyces cerevisiae* sobre a fermentação ruminal e a emissão de gás metano em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, n. 8, p. 1509-1516, Aug. 2008.

ROSEMBERGER, G. **Exame clínico dos bovinos**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 419 p.

SANTOS, J. E. P.; GRECO, L. F. Levedura viva e cultivo de leveduras em dietas de bovinos leiteiros. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL EM FORMULAÇÃO DE DIETAS PARA O GADO DE LEITE, 2012, Lavras. **Anais...** Lavras: Suprema Gráfica e Editora, 2012. p. 9-33.

TILLEY, J. M. A.; TERRY, R. A. A two stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. **Journal of the British Grassland Society**, Hurler, v. 18, n. 2, p. 104-111, June 1963.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476 p.

WALLACE, R. J.; NEWBOLD, C. J. **Microbial feed additives for ruminants**. 2. ed. London: Chapman and Hall, 1992. 317 p.

WARNER, A. C. I. Enumeration of rumen micro-organisms. **Journal of General Microbiology**, Spencers Wood, v. 28, n. 1, p. 119-128, July 1962.

WILLIAMS, P. E. V. et al. Effects of the inclusion of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae* plus growth medium) in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, n. 7, p. 3016-3026, Nov. 1991.

WILLIAMS, P. E. V.; NEWBOLD, C. J. Rumen probiosis: the effects of novel microorganisms on rumen fermentation and ruminant productivity. In: HARESIGN, W.; COLE, D. J. A. (Ed.). **Recent advances in animal nutrition**. London: Butterworths, 1990. p. 211-227.

WILSON, J. R.; BROWN, R. H.; WINDHAM, W. R. Influence of leaf anatomy on drymatter digestibility of C3, C4, and C3/C4 intermediate types of Panicum species. **Crop Science**, Madison, v. 23, n. 1, p. 141-146, Jan. 1983.