

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

SUPLEMENTOS PROTEICOS COM ADIÇÃO DE
LEVEDURA PARA BOVINOS CONSUMINDO FORRAGEM
DE BAIXA QUALIDADE

Autora: Ana Lúcia Teodoro
Orientador: Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco

MARINGÁ
Estado do Paraná
Julho - 2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

SUPLEMENTOS PROTEICOS COM ADIÇÃO DE
LEVEDURA PARA BOVINOS CONSUMINDO FORRAGEM
DE BAIXA QUALIDADE

Autora: Ana Lúcia Teodoro
Orientador: Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco

Tese apresentada, como parte das exigências
para obtenção do título de DOUTOR EM
ZOOTECNIA, no Programa de Pós-
Graduação em Zootecnia da Universidade
Estadual de Maringá - Área de concentração
Produção Animal

MARINGÁ
Estado do Paraná
Julho - 2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR., Brasil)

T314s Teodoro, Ana lúcia
Suplemento proteico com adição de levedura para
bovinos consumindo forragem de baixa qualidade / Ana
Lúcia Teodoro. -- Maringá, 2014.
74 f. : il. color., figs., tabs.

Orientador : Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco.
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de
Maringá, Departamento de Zootecnia, Programa de Pós-
Graduação em Zootecnia, 2014.

1. Bovino - Forragem de baixa qualidade -
Consumo. 2. Bovino - Digestibilidade parcial - Palha
de braquiária. 3. Bovino - Proteína microbiana. 4.
Bovino - Probiótico - Alimentação. 5. Bovino -
Saccharomyces cerevisiae. I. Branco, Antonio
Ferriani, orient. II. Universidade Estadual de
Maringá. Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-
Graduação em Zootecnia. III. Título.

CDD 21.ed.636.085

Zss-2095



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**SUPLEMENTOS PROTEICOS COM ADIÇÃO DE
LEVEDURA PARA BOVINOS CONSUMINDO
FORRAGEM DE BAIXA QUALIDADE**

Autora: Ana Lúcia Teodoro
Orientador: Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco

TITULAÇÃO: Doutora em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal

APROVADA em 28 de julho de 2014.

Prof.^a Dr.^a Magali Soares
dos Santos Pozza

Prof. Dr. Clóves Cabreira Jobim

Rafael Henrique de Tonissi
Buschinelli de Goes

Prof.^a Dr.^a Sandra Galbeiro

Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco
(Orientador)

“O homem não é nada além daquilo que a educação faz dele.”

Immanuel Kant

Aos meus pais,

Ana Aparecida Ribeiro Teodoro e Alberto Silverio Teodoro;

Ao meu companheiro,

Alexandre Ferreira de Freitas...

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus força maior que nos move.

Aos meus pais Ana Aparecida Ribeiro Teodoro e Alberto Silverio Teodoro, pessoas simples que me ensinaram valores pessoais e me incentivaram a estudar sempre.

A toda minha família, que sempre me apoiou para que eu seguisse em frente, especialmente minha avó Josefa Rufina Ribeiro.

Ao meu namorado e grande companheiro Alexandre Ferreira de Freitas, que está ao meu lado, sempre me apoiando para que eu consiga atingir meus objetivos.

A todos meus amigos e companheiros de trabalho, sem vocês com certeza a minha pesquisa não aconteceria, muito obrigada pela ajuda de todos.

Ao meu orientador Professor Doutor Antonio Ferriani Branco.

A todos os professores do Programa de Pós Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá.

A todos os professores que fizeram parte do meu aprendizado sempre, sem a contribuição de vocês seria muito difícil obter o título de Doutor.

A todos os funcionários da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI) e do Laboratório de Nutrição Animal (LANA), pela ajuda e apoio nas minhas pesquisas.

BIOGRAFIA

Ana Lúcia Teodoro, filha de Ana Aparecida Ribeiro Teodoro e Alberto Silverio Teodoro, nascida em Cassilândia, Mato Grosso do Sul, no dia 22 de julho de 1984. Em 2004, ingressou no curso de Zootecnia pela Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul, Unidade de Aquidauana, e no segundo semestre do mesmo ano iniciou os trabalhos com Iniciação Científica sob a orientação do Professor Doutor Marcus Vinicius Morais de Oliveira. No segundo semestre de 2008, participou do processo seletivo para ingresso no mestrado em Zootecnia e em março de 2009 iniciou a Pós-Graduação em Nível Mestrado na Universidade Federal da Grande Dourados, Mato Grosso do Sul, e sob a orientação do Professor Doutor Marcus Vinicius Morais de Oliveira, desenvolveu pesquisa em nutrição de ruminantes com bovinos pantaneiros e defendeu a Dissertação em fevereiro de 2011. No segundo semestre de 2010, participou do processo seletivo para ingresso no Doutorado em Zootecnia na Universidade Estadual de Maringá, e em março de 2011 iniciou os estudos na Pós-Graduação em Nível Doutorado sob a orientação do Professor Doutor Antonio Ferriani Branco desenvolvendo pesquisa sobre o uso de levedura viva na alimentação de bovinos consumindo forragens de baixa qualidade e se submeteu ao exame de qualificação em 25 de junho de 2014 e defesa em 28 de julho de 2014.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
RESUMO	x
ABSTRACT	xii
I – INTRODUÇÃO GERAL	13
1. Aditivos alimentares	15
2. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> na alimentação de ruminantes	16
3. Efeitos da levedura viva sobre a digestibilidade das fibras	18
4. Forragem de baixa qualidade e suplementação proteica	20
REFERÊNCIAS	21
II - OBJETIVO GERAL	26
III - LEVEDURAS EM SUPLEMENTO PROTEICO PARA BOVINOS ALIMENTADOS COM VOLUMOSO DE BAIXA QUALIDADE: CONSUMO, DIGESTIBILIDADE, PARÂMETROS RUMINAIS E SÉRICOS	27
INTRODUÇÃO	29
MATERIAL E MÉTODOS	30
RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
CONCLUSÃO	44
REFERÊNCIAS	44
IV – LEVEDURAS VIVAS EM SUPLEMENTOS PARA BOVINOS ALIMENTADOS COM FORRAGEM DE BAIXA QUALIDADE	51
INTRODUÇÃO	53
MATERIAL E MÉTODOS	54
RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
CONCLUSÃO	63
REFERÊNCIAS	63
V – CONSIDERAÇÕES FINAIS	68
VI – ANEXO I – NORMAS DA REVISTA ACTA SCIENTIARUM. ANIMAL SCIENCES	69

LISTA DE TABELAS

Página

EXPERIMENTO 1

Tabela 1. Ingredientes e composição química das dietas em função da forragem e do suplemento utilizados nas dietas experimentais	31
Tabela 2. Influência dos níveis de levedura viva para bovinos com dieta à base de volumoso de baixa qualidade e suplemento proteico de baixo consumo sobre as características de degradação ruminal, digestão intestinal e total em bovinos holandeses	37
Tabela 3. Influência dos níveis de levedura viva sobre a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) ruminal em bovinos holandeses recebendo dietas à base de volumoso de baixa qualidade e suplemento proteico	39
Tabela 4. Influência dos níveis de levedura viva sobre a produção de proteína microbiana e concentrações séricas de nitrogênio em bovinos holandeses recebendo dietas à base de volumoso de baixa qualidade e suplemento proteico	41
Tabela 5. Valores de potencial hidrogeniônico (pH) e nitrogênio amoniacal (N-NH ₃) e dos seus respectivos pontos críticos mensurados no líquido ruminal de bovinos holandeses recebendo dietas à base de volumoso de baixa qualidade e suplemento proteico acrescido de diferentes níveis de levedura, de zero a 8 horas após a primeira alimentação da manhã.....	43

EXPERIMENTO 2

Tabela 1. Ingredientes e composição química das dietas em função da forragem e do suplemento utilizados nas dietas experimentais	56
Tabela 2. Influência dos níveis de inclusão de levedura viva sobre o consumo e digestibilidade de nutrientes em novilhas recebendo dieta de baixa qualidade.....	59
Tabela 3. Influência dos níveis de inclusão de levedura viva sobre o desempenho de novilhas recebendo dieta de baixa qualidade.....	62

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Modo de ação dos fungos <i>Saccharomyces cerevisiae</i> como aditivos alimentares para ruminantes. Adaptado de Wallace (1994)	14
Figura 2. Modo de ação da levedura viva na degradabilidade da fibra proposto por Chaucheyras-Durand et al. (2012)	19

RESUMO

Foram desenvolvidos dois experimentos na Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI) pertencente à Universidade Estadual de Maringá, no período de junho a outubro de 2012. O experimento 1 foi conduzido para avaliar os efeitos da inclusão de levedura viva em suplemento proteico sobre o consumo de nutrientes, digestibilidade parcial e total de nutrientes, parâmetros de fermentação ruminal, síntese microbiana e parâmetros séricos em bovinos alimentados com forragem de baixa qualidade. Foram utilizados cinco bovinos castrados, da raça Holandesa, com peso corporal médio de 485 ± 60 kg, providos de cânula ruminal e duodenal. O delineamento experimental utilizado foi o Quadrado Latino 5x5. Os animais receberam palha de *Brachiaria humidicola* cv. Llanero à vontade, fornecida três vezes ao dia e suplemento proteico contendo 50% de proteína bruta (PB), fornecido na base de 0,15% do peso corporal/dia. Os tratamentos experimentais foram definidos pela inclusão de 0; 0,2; 0,4; 0,6 e 0,8% de levedura viva (*Saccharomyces cerevisiae* – NCYC 996 – 10 bilhões de UFC/g, LeSaffre[®]) no suplemento proteico. Observou-se diferença ($p < 0,05$) para os dados de fluxo duodenal de MO e CHO com efeito quadrático e desaparecimento ruminal de PB com efeito linear decrescente ($p = 0,04$). Já para fluxo duodenal matéria seca (MS), PB e fibra em detergente neutro (FDN) e para degradação ruminal da matéria orgânica (MO) e dos carboidratos totais (CHO), verificou-se que houve tendência ao efeito linear e quadrático ($p < 0,10$), enquanto para a digestão intestinal da PB se observou tendência ao efeito linear ($p = 0,09$). Para os demais parâmetros avaliados não houve diferença significativa ($p > 0,05$). Os consumos de matéria seca e de nutrientes foram reduzidos em média 3,0% com a inclusão da levedura viva, assim como o fluxo duodenal e o fluxo fecal que foram em média 10,1 e 7,3%, respectivamente, menor. Já os coeficientes de degradabilidade da MS, FDN, MO e CHO aumentaram em média 13,8; 5,8; 11,8 e 8,5% com a inclusão da levedura viva no suplemento proteico. Os coeficientes de digestibilidade total da MS e os nutrientes digestíveis totais (NDT) apresentaram aumento de 4,5% e 4,2%, respectivamente. O experimento 2 foi conduzido para avaliar a influência do uso de leveduras vivas como aditivo sobre consumo, ganho de peso e eficiência alimentar em novilhas recebendo dieta composta por volumoso de baixa qualidade. Foram utilizadas 40 novilhas cruzadas com aproximadamente 18 meses de

idade e peso médio inicial de 247 ± 40 kg, distribuídos em cinco tratamentos em delineamento inteiramente ao acaso. Os animais receberam palha de *Brachiaria humidicola* cv. Llanero à vontade, fornecida três vezes ao dia, e suplemento proteico de baixo consumo contendo 50% de PB. Os tratamentos foram definidos pela inclusão de 0; 0,2%; 0,4%; 0,6% e 0,8% de levedura viva (*Saccharomyces cerevisiae* – NCYC 996 – 10 bilhões de UFC/g, LeSaffre®) no suplemento proteico. Observou-se consumo médio de MS de 6,1 kg/animal/dia, ganho médio diário de 206 g/animal/dia e eficiência alimentar de 0,04 kg/kg, sendo que os animais que receberam o aditivo apresentaram aumento de 5,8% no consumo, 34% no ganho médio diário e 25% na eficiência alimentar em relação ao controle. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos, mas observou-se ganho médio total de 10 kg/animal que receberam o aditivo na dieta, sendo este considerado como ganho satisfatório, uma vez que a dieta era pobre em energia. O uso da levedura viva como aditivo é uma forma de obter ganhos em digestibilidade das fibras nos períodos em que a forragem disponível é de baixa qualidade.

Palavras-chave: consumo, digestibilidade parcial, palha de braquiária, proteína microbiana, probiótico, *Saccharomyces cerevisiae*.

ABSTRACT

Two experiments were carried out at the Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI) in the Universidade Estadual de Maringá, from June to October 2012. The first experiment was conducted to evaluate the use of yeast in a protein supplements and effects on nutrient intake, partial and total nutrient digestibility, ruminal fermentation, microbial synthesis and serum parameters in cattle fed low quality forage. There were used five Holstein steers, with mean body weight of 485 ± 60 kg and implanted with ruminal and duodenal cannulas. The experimental design was a 5x5 Latin square design. The animals received chopped straw of *Brachiaria humidicola* cv. Llanero *ad libitum* and a protein supplement containing 50% crude protein (CP) fed on the basis of 0.15% of body weight. The experimental treatments consisted of yeast inclusion in the protein supplement as following: 0, 0.2, 0.4, 0.6 and 0.8% of yeast (*Saccharomyces cerevisiae* - NCYC 996-10 billion CFU/g, LeSaffre[®]). It was observed a quadratic effect ($p<0.05$) for duodenal flow of organic matter (OM) and total carbohydrates (CHO) and a decreasing linear effect for ruminal degradability of CP ($p=0.04$). For duodenal flow of DM, CP and neutral detergent fiber (NDF) and ruminal degradation of OM and CHO, it was found that there was a linear and quadratic tendency effect ($p<0.10$), while for the intestinal digestion of CP there was only a linear tendency effect ($p=0.09$). All the other parameters evaluated were not influenced by treatments ($p>0.05$). The intake of dry matter and nutrients decreased 3% with the inclusion of yeast as well as duodenal flow and fecal output that were on average 10.1 and 7.3% lower, respectively. The coefficient of degradability for DM, NDF, OM and CHO increased 13.8; 5.8; 11.8 and 8.5% with the inclusion of yeast in the protein supplement. Total tract digestibility of dry matter and total digestible nutrients (TDN) increased 4.5 % and 4.2 %, respectively. The second experiment was conducted to evaluate the use of yeast in a protein supplement for heifers fed low quality forage and its effects on intake, weight gain and feed efficiency. Forty crossbred heifers with approximately 18 months of age and an average initial weight of 247 ± 40 kg were assigned to 5 treatments in a completely randomized design. The animals were fed chopped straw of *Brachiaria humidicola* cv. Llanero *ad libitum* and a protein supplement 50 % CP. Treatments consisted of the use of yeast (*Saccharomyces cerevisiae* - NCYC 996 -10 billion CFU/g, LeSaffre[®]) in the protein supplement as following: 0, 0.2 %, 0.4%, 0.6 % and 0.8 % of inclusion. Dry

matter intake was 6.1 kg animal⁻¹.d⁻¹, average daily gain was 206 g d⁻¹ and feed efficiency of 0.04 kg kg⁻¹. Heifers receiving yeast showed increase of 5.8% on intake, 34% on daily gain and 25% on feed efficiency compared to control, however there was no significant difference (p>0.05) due to treatments. The average gain of 10 kg in heifers receiving yeast in the protein supplement may be considered satisfactory since the diet was based in grass straw. The use of yeast as an additive may improve fiber digestibility in the periods when the available forage is of low quality.

Key words: intake, chopped brachiaria grass, microbial protein, partial digestion, probiotic, *Saccharomyces cerevisiae*.

I – INTRODUÇÃO GERAL

A utilização de modificadores de fermentação ruminal, como os aditivos alimentares, apesar de bastante estudados, ainda causa controvérsias sobre a eficiência destes na melhoria do aproveitamento de nutrientes pelos animais e pelo fato de que nem todos aditivos podem ser utilizados na alimentação animal em virtude de possíveis resíduos que poderão ser encontrados nos produtos, ou ainda pela não adequação do aditivo a dieta utilizada. Desta forma, os probióticos são considerados uma opção promissora para substituir outros aditivos, sendo uma forma simples que pode melhorar a eficiência produtiva do rebanho, sem deixar resíduo no produto final.

Os probióticos de acordo com a FAO são microrganismos vivos, que quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FAO, 2001). Diversos microrganismos são classificados neste grupo, entre eles as leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, que podem ser adicionadas à alimentação de ruminantes com a finalidade de modificar a flora ruminal, potencializando a ação dos microrganismos presente no rúmen e conseqüentemente melhoram a produção animal (WALLACE, 1994; CHAUCHEYRAS-DURAND et al., 2008)

As leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) são fungos cultivados a partir do melaço da cana-de-açúcar. Por causa do seu potencial metabólico é amplamente utilizada na produção de pão, vinho, cerveja, álcool combustível e outros. São microrganismos ricos em proteínas, ácido nucleicos, vitaminas e minerais e por esta razão são considerados fontes alimentares para humanos e animais.

Os primeiros registros do uso de *Saccharomyces cerevisiae* como aditivos para bovinos são do início do século passado. De acordo com Eckles e Williams (1925) as leveduras seriam a fonte de vitamina B para bovinos leiteiros, aumentaria o consumo de

matéria seca e conseqüentemente a produção. Depois de muitos estudos no final do mesmo século, Wallace (1994) afirma que as leveduras auxiliam na manutenção das atividades metabólicas em anaerobiose, porque as bactérias celulolíticas aumentam e a presença do ácido dicarboxílico estimula as bactérias que utilizam o ácido láctico como as pertencentes aos gêneros *Selenomonas* spp, *Anaerovibrio* spp, *Megasphaera* spp e *Propionibacterium* spp, aumentando a estabilidade da fermentação ruminal e a degradabilidade da fibra (Figura 1).



Figura 1. Modo de ação dos fungos *Saccharomyces cerevisiae* como aditivos alimentares para ruminantes. Adaptado de Wallace (1994)

Vários estudos *in vitro* provaram os efeitos da levedura viva como aditivo, entre eles, Sullivan e Martin (1999) observaram maior produção de ácidos graxos de cadeia curta e redução do lactato. Chaucheyras-Durand et al. (2008) publicaram uma vasta

revisão a respeito dos efeitos *in vitro* dos fungos *Saccharomyces cerevisiae* sobre a degradabilidade das fibras e observaram que aumenta a viabilidade dos microrganismos celulolíticos podendo melhorar a digestibilidade das fibras.

Em estudos *in vivo* os efeitos positivos são mais observados com a utilização de bovinos leiteiros alimentados com alta proporção de concentrado, dentre eles, Marden et al. (2008) observaram que o principal efeito seria tamponante e Moallen et al. (2009) verificaram efeitos positivos como maior ingestão de matéria seca e produção de leite e redução da amônia ruminal. Já Bruno et al. (2009) verificaram maior produção leiteira, enquanto Fereli et al. (2010) afirmam que o uso de *Saccharomyces cerevisiae* aumenta a massa microbiana e proporciona maior fluxo de proteína bacteriana.

Os efeitos *in vitro* da levedura viva estão bem claros e são vantajosos, mas *in vivo* ainda é comparado com outros aditivos que são capazes de apresentar melhores ganhos por quilo de matéria seca ingerida. Além disso, estudos *in vivo* sobre o uso de *Saccharomyces cerevisiae* apresentam resultados controversos, que podem estar relacionados com a variedade da estirpe de levedura viva utilizada como foi proposto por Erasmus et al. (1992) e Newbold et al. (1995); ou ainda com a variação de células viáveis presente nos produtos à base de levedura, que podem mudar de acordo com a forma de armazenamento (SULLIVAN; BRADFORD, 2011).

Em razão da capacidade que a levedura viva (*Saccharomyces cerevisiae*) possui em melhorar a digestibilidade da fibra, o seu uso pode ser de grande importância no Brasil em que a produção de bovinos tem como principal alimentação forragens com alta quantidade de fibras. Esses quase sempre são de baixa qualidade por causa das adversidades climáticas, sendo necessária a utilização de suplementos. No entanto, a suplementação energética nem sempre é possível, prejudicando ainda mais o aproveitamento das fibras pelos microrganismos. Beauchemin et al. (2000) explicam que quando a energia é o principal fator limitante no comprometimento da digestão da fibra, o uso de levedura viva como aditivo alimentar para ruminantes pode ser mais eficaz na degradabilidade das fibras.

1. Aditivos alimentares

De acordo com o Ministério da Agricultura os aditivos são substâncias intencionalmente adicionadas ao alimento, com a finalidade de conservar, intensificar ou modificar suas propriedades, desde que não prejudique seu valor nutritivo. Estas

substâncias quando adicionadas a dieta dos animais ruminantes alteram a fermentação ruminal pela modificação das espécies de microrganismos presentes no rúmen.

Diversos aditivos estão disponíveis no mercado para uso em dietas de ruminantes. Entre estes estão os ionóforos como a monensina e a lasalocida, que são moléculas de baixo peso molecular capazes de modificar as populações de microrganismos que atuam na degradação dos alimentos no rúmen. Outros aditivos considerados naturais, como óleos funcionais, própolis e probióticos são usados na produção de ruminantes. Muitos ainda estão em fase de pesquisa, mas diversos produtos já foram disponibilizados ao mercado agropecuário por empresas da área de nutrição animal, e mostram resultados satisfatórios sem efeitos residuais.

Os probióticos são os aditivos alimentares compostos por leveduras ou lactobacilos, classificados pelo FDA (Food and Drug Administration), como Direct Feed Microbials (DFM), que engloba os microrganismos vivos que ocorrem naturalmente, além de bactérias, fungos e leveduras. Estes podem ser capazes de melhorar o ambiente ruminal, fazendo com que os microrganismos tenham maior tempo de sobrevivência no rúmen. Sendo assim, de acordo com Wallace (1994) o uso desses microrganismos vivos, como aditivo na alimentação, faz com que ocorra maior colonização de bactérias nas partes fibrosas do alimento, melhorando a degradação, e conseqüentemente, tendo melhorias na fermentação ruminal, digestibilidade dos nutrientes e desempenho dos animais.

2. *Saccharomyces cerevisiae* na alimentação de ruminantes

Relatou-se pela primeira vez em 1925, o uso de levedura como suplemento para bovinos leiteiros, a hipótese dos pesquisadores é que aumentaria a produção leiteira, por meio da estimulação da glândula mamária. Nesta ocasião, ofereceram 25 g de levedura por kg de leite produzido diariamente. Os autores concluíram que não houve aumento na produção e na qualidade do leite (ECKLES; WILLIAMS, 1925).

Segundo os mesmos autores, a adição da levedura iria aumentar a ingestão de matéria seca por estes animais e conseqüentemente aumentaria a ingestão de nutrientes, não sendo possível provar tal hipótese. No entanto, havia indícios de que essa afirmação poderia ser confirmada, tanto para bovinos de leite quanto de corte, então diversos pesquisadores como Moallen et al. (2009); Bruno et al. (2009); Fereli et al. (2010); Zeoula et al. (2011); Prohmann et al. (2013); Massaro Junior et al. (2013) e outros

continuaram a estudar os efeitos da levedura viva como aditivo, observando resultados positivos ou não e ainda hoje é motivo de discussão.

Em uma meta-análise feita com 157 experimentos, Desnoyers et al. (2009) puderam observar efeitos positivos sobre o uso de levedura viva para ruminantes. Sendo destacados aumento na ingestão de matéria seca, digestibilidade da matéria orgânica, pH ruminal, concentração de ácidos graxos de cadeia curta e redução na concentração de ácido lático. Além disso, mostrou que outros fatores como característica da dieta e idade do animal podem interferir no efeito da suplementação com levedura.

Desde o primeiro registro de utilização de leveduras como aditivo, muitas pesquisas foram realizadas e o isolamento de diversas cepas de levedura viva (*Saccharomyces cerevisiae*) foram feitos. Assim, de acordo com Erasmus et al. (1992) e Newbold et al. (1995) a ação dos produtos à base de levedura viva varia quanto a espécie e cepa, além da quantidade de células viáveis e que as cepas se diferem entre si pela forma de modificar o ambiente ruminal, havendo cepas específicas utilizadas como aditivos para ruminantes; entre as mais utilizadas para bovinos estão as cepas SC1026, CNCM I-1077 e NCYC 996.

Em pesquisas realizadas na última década, Chaucheyras-Durand et al. (2008) afirmam que a inclusão de levedura viva na dieta de ruminantes apresenta benefícios como aumento na digestibilidade dos nutrientes, alterações nas proporções de ácidos graxos de cadeia curta, redução de amônia ruminal e aumento na população de microrganismos ruminais.

De acordo com Moallen et al. (2009), quando se adicionou 1g de levedura viva a cada 4 kg de matéria seca ingerida por bovinos leiteiros, quantificaram aumento do consumo de matéria seca e produção de leite, além de redução de amônia ruminal. Assim como Marden et al. (2008) observaram efeito tamponante e Fereli et al. (2010) o aumento na produção de massa microbiana e maior fluxo de proteína bacteriana.

Já para bovinos de corte, Prohmann et al. (2013) não quantificaram efeitos positivos em ganho de peso diário, mas observaram que o pH ruminal foi maior em animais que receberam suplementação com levedura.

3. Efeitos da levedura viva sobre a digestibilidade das fibras

De acordo com Chaucheyras-Durand et al. (2012) o principal fator envolvido no efeito benéfico de leveduras vivas na digestibilidade fibra é a capacidade das células de levedura viva eliminar o oxigênio e melhorando o ambiente ruminal para outros microrganismos colonizarem e realizarem a degradação de fibras de baixa degradabilidade (Figura 2). Os mesmos autores explicam ainda que, embora o rúmen seja conhecido por ser estritamente anaeróbico, ocorre entrada de oxigênio por meio da alimentação, ingestão de água, ruminação e salivação e a maioria dos microrganismos são altamente sensíveis ao oxigênio.

Para Wallace (1994) a melhora do ambiente ruminal ocorre através de efeitos estimulantes para as bactérias ruminais e sequestro de oxigênio, isso faz com que ocorra maior colonização das fibras pelos microrganismos celulolíticos podendo aumentar a digestibilidade. O ácido dicarboxílico fornecido pelas culturas de leveduras, principalmente o ácido málico favorecem o crescimento de bactérias utilizadoras de ácido lático como as dos gêneros *Selenomonas* spp, *Anaerovibrio* spp, *Megasphaera* spp e *Propionibacterium* spp, evitando as mudanças bruscas de pH. De acordo com Berchielli et al. (2006) os fungos degradam os carboidratos estruturais e atacam os tecidos lignificados, causando o rompimento físico das fibras, facilitando a ação de outros microrganismos celulolíticos e hemicelulolíticos como *Butyrivibrio fibrosolvens*, *Bacteroides succinogenes*, *Ruminococcus albus* e *Ruminococcus flavefaciens*.

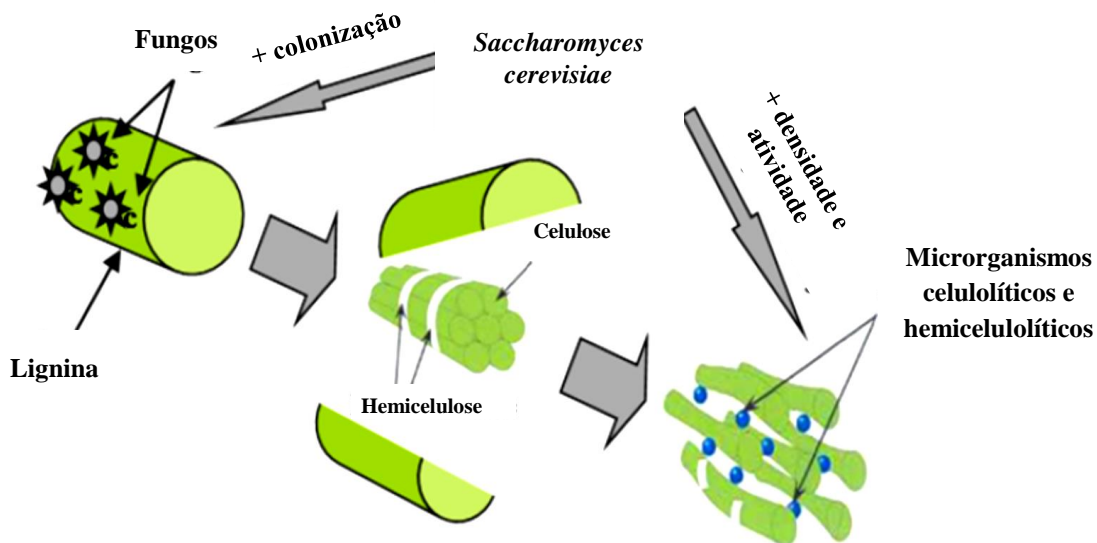


Figura 2. Modo de ação da levedura viva na degradabilidade da fibra proposto por Chaucheyras-Durand et al. (2012)

Embora o modo de ação das leveduras no ambiente ruminal sobre a degradabilidade dos nutrientes, ainda não seja totalmente explicado, as hipóteses sobre os efeitos da suplementação com levedura viva sobre a digestibilidade da fibra não é um fato recente.

Legendre et al. (1957) realizaram pesquisa com bovinos de corte em que se testou a eficiência da *Saccharomyces cerevisiae* sobre a digestibilidade dos nutrientes, considerando dietas de alta fibra de baixa e alta qualidade. Não foi observado diferença para digestibilidade da matéria seca e das fibras. No entanto, houve acréscimo de 4% na digestibilidade das fibras no tratamento constituído de fibra de baixa qualidade acrescido de levedura.

Wiedmeier et al. (1987) estudando os efeitos da suplementação com levedura viva sobre os parâmetros ruminais e digestibilidade dos nutrientes para vacas holandesas recebendo 50% de concentrado, observaram diferença, comprovando que a inclusão de leveduras aumentava a digestibilidade dos carboidratos estruturais.

Com o intuito de provar a ação benéfica das leveduras sobre a digestibilidade das fibras, Plata et al. (1994) observaram que a adição de *Saccharomyces cerevisiae* melhorou a digestão da fibra em detergente neutro para dietas à base de palha de aveia. Assim como Roa et al. (1997) utilizando fonte de fibra de alta qualidade, também quantificou resultados positivos na digestibilidade da fibra em detergente neutro.

De acordo com Guedes et al. (2008) as leveduras podem potencializar a degradação de fibras, quando a alimentação dos animais é composta por fibras de baixa qualidade. Esses autores testaram duas doses *Saccharomyces cerevisiae* (0,3g e 1,0 g/animal/dia) e verificaram que a degradabilidade da fibra em detergente neutro foi maior para os animais que receberam forragem de baixa qualidade acrescida de 1,0 g de levedura viva diariamente. Desta forma, Dias-da-Silva et al. (2010) reforçam que há interação entre a qualidade da forragem e a ação dos aditivos microbianos no rúmen.

4. Forragem de baixa qualidade e suplementação proteica

Em condições tropicais, como as observadas na maior parte do território brasileiro, a produção de bovinos sofre grandes impactos por causa das variações sazonais. Na época da seca as forrageiras apresentam baixa qualidade e baixa produção. Sendo assim a falta de volumoso pode ser suprida de várias formas, como forragem conservada na forma de feno ou silagem, diferindo de pastagem ou ainda pela utilização de resíduos de colheita de semente, sendo que os dois últimos são opções com baixo custo, no entanto, a qualidade desse volumoso é muito baixa.

De acordo com Rosa e Fadel (2001) na busca por alternativas que reduzam os custos da alimentação de ruminantes, os volumosos como as palhadas de culturas anuais de verão e de inverno, os fenos de baixa qualidade resultante do processo de fenação ou do armazenamento inadequado, as silagens de capins passados ou os resíduos da colheita de sementes de plantas forrageiras e do beneficiamento de grãos têm sido cada vez mais utilizados.

Assim, as fontes externas de nutrientes que garantam o desempenho animal ao longo do ano, trazendo sustentabilidade ao sistema são necessárias (HOFFMANN et al., 2014). Considerando que o pasto é a forma mais barata de alimentação de bovinos, mas no período seco tem a qualidade nutritiva reduzida, o suplemento ofertado aos animais tem por finalidade suprir as necessidades nutricionais basais para que não haja grandes perdas de peso corporal.

A utilização da suplementação proteica visa aumentar o consumo de matéria seca e a passagem de maior quantidade de proteína microbiana ao intestino delgado (SILVA et al., 2014). Sendo que, a resposta da suplementação proteica em relação ao aumento do consumo é maior em forrageiras de baixa qualidade do que com forrageiras de alta qualidade. Embora haja aumento no consumo de matéria seca, o desempenho dos

animais dependerá da qualidade da forragem e potencial de crescimento do animal, assim como da quantidade e qualidade do suplemento ofertado (PEREIRA; GUIMARÃES, 2001).

De acordo com Lazzarini et al. (2009) a baixa eficiência de utilização das gramíneas tropicais é pelo espessamento e aumento da lignificação da parede celular, comprometendo assim, a qualidade como alimento para os ruminantes. A digestibilidade decresce e aumenta o tempo de retenção ruminal, reduzindo o consumo voluntário. Desta forma, a suplementação proteica oferece condições para que os microrganismos melhorem a eficiência de utilização dos carboidratos estruturais.

Mesmo que as carências nutricionais sejam várias, de acordo com Orskov (2000) a deficiência proteica é prioritária, já que a baixa proteína faz com que o rúmen fique em condições desfavoráveis para o desenvolvimento dos microrganismos. Assim, a atividade microbiana sobre a degradação das fibras de baixa qualidade é limitada. Desta forma, Lazzarini et al. (2009), estudando a dinâmica de trânsito e a degradação da FDN, concluíram que é necessário que a proteína bruta esteja próximo a 8%, para plena utilização dos carboidratos estruturais e próximo de 11% para que haja aumento significativo no consumo de fibra de baixa qualidade. Observaram ainda que a repleção ruminal é maior quando os níveis de proteína são reduzidos.

Embora a proteína seja limitante na digestibilidade de forrageira de baixa qualidade, é preciso que haja uma fonte de energia para que essa proteína seja utilizada da melhor forma possível, aumentando substrato para a população microbiana e o aumento desta. Desta forma, Moore et al. (1999) afirmam que a proporção entre nutrientes digestíveis totais e proteína bruta é indicador da utilização de nitrogênio no rúmen e que quando esta estiver acima de 7 causa maior ingestão de forragem e maior aproveitamento dos nutrientes.

REFERÊNCIAS

BEAUCHEMIN, K.A.; RODE, L.M.; YANG, W.Z. e NEWBOLD, C.J. Enzymes and direct fed microbials in diets for dairy cows. In: **Proc. Tri-State Dairy Nutrition Conference**. Fort Wayne, Indiana. p.85-96. 2000.

BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V. e OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal, São Paulo, 583p. 2006.

BRUNO, R.G.S.; RUTIGLIANO, H.M.; CERRI, R.L.; ROBINSON, P.H. e SANTOS, J.E.P. Effect of feeding *Saccharomyces cerevisiae* on performance of dairy cows during summer heat stress. **Animal Feed Science and Technology**, v.150, p.175–186, 2009.

CHAUCHEYRAS-DURAND, F.; CHEVAUX, E.; MARTIN, C. e FORANO, E. Use of yeast probiotics in ruminants: effects and mechanisms of action on rumen pH, fibre degradation, and microbiota according to the diet. In: E.C. RIGOBELLO, editor, **Probiotic in animals**. Rijeka, Croácia. 284p. 2012.

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

DESNOYERS, M.; GIGER-REVERDIN, S.; BERTIN, G.; DUVAUX-PONTER, C. e SAUVANT, D. Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 1620-1632, 2009.

DIAS-DA-SILVA, A.; GUEDES, C.; GOMES, M.J.; LOUREIRO, N.; BRÍZIDA, E.; MENA, E. e LOURENÇO, A. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* yeast (CNCM I-1077) on ruminal fermentation and fibre degradation. In: **Proc. NDF 2010, Role of Plant Cell Walls in Dairy Cow Nutrition**, p. 25-38. 2010.

ECKLES, C.H. e WILLIAMS, V.M. Yeast as a supplementary feed for lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 8, n. 2, p. 89-93. 1925.

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

FAO. **Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. Informe de la consulta de expertos FAO/OMS sobre evaluación de las propiedades saludables y nutricionales de los probióticos en los alimentos, incluida la leche en polvo con bacterias vivas del ácido láctico**. Córdoba, Argentina. 52p. 2001.

FERELI, F.; BRANCO, A.F.; JOBIM, C.C.; CONEGLIAN, S.M.; GRANZOTTO, F. e BARRETO, J. C. Monensina sódica e *Saccharomyces cerevisiae* em dietas para

bovinos: fermentação ruminal, digestibilidade dos nutrientes e eficiência de síntese microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.1, p.183-190, 2010.

GUEDES, C.M.; GONÇALVES, D.; RODRIGUES, M.A.M. e DIAS-DA-SILVA, A. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* yeast on ruminal fermentation and fibre degradation of maize silages in cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 145, p.27-40,2008.

HOFFMANN, A.; MORAES, E.H.B.K.; MOUSQUER, C.J.; SIMIONI, T.A.; GOMES, F.J.; FERREIRA, V.B. E SILVA, H.M. Produção de bovinos de corte no sistema de pasto-suplemento no período seco. **Nativa, Sinop**, v. 02, n. 02, p. 119-130, 2014.

LAZZARINI, I.; DETMANN, E.; SAMPAIO, C.B.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; SOUZA, M.A. E OLIVEIRA, F.A. Dinâmicas de trânsito e degradação da fibra em detergente neutro em bovinos alimentados com forragem tropical de baixa qualidade e compostos nitrogenados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.3, p.635-647, 2009.

LEGENDRE, J.R.; TOTUSEK, R. e GALLUP, W.D. Effect of live-cell yeast on nitrogen retention and digestibility of rations by beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.16, p.671-674, 1957.

MARDEN, J.P.; JULIEN, C.; MONTEILS, V.; AUCLAIR, E.; MONCOULON, R. e BAYOURTHE, C. How does live yeast differ from sodium bicarbonate to stabilize ruminal pH in high-yielding dairy cows? **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 9, p.3528–3535, 2008.

MASSARO JUNIOR, F.L.; SILVA, L.D.F.; FORTALEZA, A.P.S.; BERAN, F.H.B.; CASTRO, V.S.; RIBEIRO, E.L.A.; BARBOSA, M.A.A.F.; BUMBIERIS JUNIOR, V.H.; MIZUBUTI, I.Y. e PRADO, O.P.P. Comportamento ingestivo e metabólico de bovinos alimentados com ração contendo probióticos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 6, suplemento 2, p. 4157-4166, 2013.

MOALLEM, U.; LEHRER, H.; LIVSHITZ, L.; ZACHUT, M. e YAKOBY, S. The effects of live yeast supplementation to dairy cows during the hot season on production, feed efficiency, and digestibility. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 1, 2009.

NEWBOLD, C. J.; WALLACE, R. J.; CHEN, X. B. e MCINTOSH, F. M. Different strains of *Saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on ruminal bacterial numbers in vitro and in sheep. **Journal of Animal Science**, v.73, p.1811-1818, 1995.

ORSKOV, E.R. The in situ technique for the estimation of forage degradability in ruminants. In: GIVENS, D.I.; OWEN, E.; AXFORD, R.F.E.; OMED H.M. **Forage evaluation in ruminant nutrition**. New York: CABI Publishing, p.175-188, 2000.

PEREIRA, O.G. e RIBEIRO, K.G. Suplementação de bovinos com forragens conservadas.. In: BITTENCOURT. A.; FERREIRA, A.A.B.; FIGUEIREDO, F.C. **Simpósio de produção de gado de corte**, p. 261-289, 2001.

PLATA, P.F.; MENDOZA, G.D.M.; BÁRCENA-GAMA, J.R. e GONZÁLEZ, S. M. Effect of a yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on neutral detergent fiber digestion in steers fed oat straw based diets. **Animal Feed Science and Technology**, v.49, p.203-210, 1994

PROHMANN, P.E.F.; BRANCO, A.F.; JOBIM, C.C.; CECATO, U.; TEIXEIRA, S.; PARIS, W.; GOES, R.H.T.B.; OLIVEIRA, M.V.M. e GRANZOTO, F. Suplementação e cultura de levedura na alimentação de bezerros de corte em pastagem de aveia e azevém. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, n.4, p.1165-1175, 2013.

ROA, M.L.; BÁRCENA-GAMA, J.R.; GONZÁLEZ, S. M.; MENDOZA, G. M.; ORTEGA, M.E.C. e GARCIA, C. B. Effect of fiber source and yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*¹⁰²⁶) on digestion and the environment in the rumen of cattle. **Animal Feed Science and Technology**, v.64, p.327-336, 1997.

ROSA, B. E FADEL, R. Uso de amônia anidra e de uréia para melhorar o valor alimentício de forragens conservadas. In: JOBIM, C.C.; DAMASCENO, J.C. E SANTOS, G.T. **Simpósio Sobre Produção e Utilização de Forragens Conservadas**. Maringá: UEM/CCA/DZO, 319p, 2001.

SILVA, A.L.; SANTANA JÚNIOR, H.A.; BARBOSA JÚNIOR, M.A.; FIGUEIREDO, C.B.; FERREIRA, A.H.C.; SANTANA, E.O.C.; MACIEL, M.S. Suplementação de bovinos de corte terminados em pastagens tropicais. **Revista eletrônica nutritime**, v.11, n.3, p. 3482- 3493, 2014.

SULLIVAN, H.M. e MARTIN, S.A. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on in vitro mixed ruminal microorganism fermentation. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p.2011–2016, 1999.

SULLIVAN, M. L. e BRADFORD, B. J. Viable cell yield from active dry yeast products and effects of storage temperature and diluent on yeast cell viability. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 1, p.526–531, 2011.

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

WIEDMEIER, R. D.; ARAMBEL, M. J. e WALTERS, J. L. Effect of yeast culture and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on ruminal characteristics and nutrient digestibility. **Journal of Dairy Science**, v.70, p.2063-2068, 1987.

ZEOULA, L.M.; BELEZE, J. R. F.; MAEDA, E. M.; SIMIONI, F.L.; GERON, L.J.V. e RIGOLON, L.P. Levedura ou monensina na dieta de bovinos e bubalinos sobre a fermentação ruminal e eficiência microbiana. **Acta Scientiarum. Animal Science**, v.33, p.379-386, 2011.

II - OBJETIVO GERAL

Avaliar a utilização de leveduras vivas em suplementos proteicos de baixo consumo para bovinos de corte alimentados com forragem de baixa qualidade e seus efeitos sobre digestibilidade parcial e total dos nutrientes, parâmetros ruminais, consumo de matéria seca, desenvolvimento ponderal dos animais (ganho de peso) e eficiência alimentar.

III - LEVEDURAS EM SUPLEMENTO PROTEICO PARA BOVINOS ALIMENTADOS COM VOLUMOSO DE BAIXA QUALIDADE: CONSUMO, DIGESTIBILIDADE, PARÂMETROS RUMINAIS E SÉRICOS

RESUMO: Avaliou-se os efeitos da utilização de levedura viva sobre o consumo de nutrientes, digestibilidade parcial e total de nutrientes, parâmetros de fermentação ruminal, síntese microbiana e parâmetros séricos em bovinos alimentados com forragem de baixa qualidade. Foram utilizados cinco bovinos castrados, da raça Holandesa, com peso corporal médio de 485 ± 60 kg, providos de cânula ruminal e duodenal. O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 5x5. Os animais receberam palha de *Brachiaria humidicola* cv. Llanero à vontade e suplemento proteico contendo 50% de proteína bruta (PB), com diferentes níveis de levedura: 0; 0,2; 0,4; 0,6 e 0,8% de levedura viva (*Saccharomyces cerevisiae* – NCYC 996 – 10 bilhões de UFC/g, LeSaffre®). Não houve diferença ($p > 0,05$) para o consumo de matéria seca e nutrientes. Houve tendência ($p < 0,10$) a redução da concentração de ácido propiônico e aumento da proporção acetato:propionato. Quantificou-se aumento de 6,2% na amônia ruminal e para síntese microbiana, observou-se tendência à resposta linear e quadrática ($p < 0,10$) com redução de 20%. A levedura viva como aditivo melhora a digestibilidade ruminal da matéria orgânica (MO) e dos carboidratos totais (CHO) e altera a proporção de acetato:propionato no rúmen, quando dieta é composta por forragem de baixa qualidade.

PALAVRAS-CHAVE: aditivo microbiano, alta fibra, amônia ruminal, palha de braquiária, proteína microbiana.

III - YEAST IN PROTEIN SUPPLEMENT FOR CATTLE FED WITH LOW QUALITY FORAGE: INTAKE, DIGESTIBILITY AND RUMINAL AND SERUM PARAMETERS

ABSTRACT: It was evaluated the effects of the use of live yeast in protein supplementation on nutrient intake, partial and total nutrient digestibility, ruminal fermentation, microbial synthesis and serum parameters in cattle fed low quality forage. There were used five Holstein steers, with mean body weight of 485 ± 60 kg and implanted with ruminal and duodenal cannulas. The experimental design was a 5x5 Latin Square design. The animals received chopped straw of *Brachiaria humidicola* cv. Llanero *ad libitum* and a protein supplement containing 50% crude protein (CP) fed on the basis of 0.15% of body weight. The experimental treatments consisted of yeast inclusion of yeast in the protein supplement as following: 0, 0.2, 0.4, 0.6 and 0.8% of yeast (*Saccharomyces cerevisiae* - NCYC 996-10 billion CFU/g, LeSaffre[®]). There was no difference ($p > 0.05$) for dry matter intake and nutrient. There was tendency ($p < 0.10$) to reduce the concentration of propionic acid and increasing the proportion acetate: propionate. For ruminal fermentation, there was a 6.2% increase in ruminal ammonia and for microbial protein synthesis is observed linear and quadratic trend reply ($p < 0.10$) with 20% reduction. The yeast as an additive improves ruminal degradability of organic matter (OM) and total carbohydrates (CHO) and modifying the ratio of acetate: propionate in the rumen when the diet is low quality forage.

KEY WORDS: high fiber, microbial additive, microbial protein, ruminal ammonia, straw brachiaria grass.

INTRODUÇÃO

No processo de digestão de alimentos em animais ruminantes, a fermentação realizada pelos microrganismos que habitam o rúmen é o processo mais importante porque melhora a digestibilidade de alimentos de baixa qualidade. O funcionamento desta câmara de fermentação é constantemente modificado, dependendo da dieta utilizada (BERCHIELLI et al., 2006). Além da dieta, as substâncias chamadas de aditivos podem alterar o ambiente ruminal, selecionando microrganismos desejáveis e aumentando o tempo de sobrevivência dos outros microrganismos.

Os aditivos são substâncias adicionadas de forma intencional à dieta, e não alteram as propriedades nutricionais dos alimentos. Há diversos produtos disponíveis no mercado com tal finalidade, mas a procura por aditivos naturais em substituição aos promotores de crescimento e outros antibióticos tem crescido muito (PROHMANN, 2006).

Dentre os aditivos naturais, os probióticos são cada vez mais utilizados, por serem microrganismos vivos que em quantidades adequadas, trazem benefícios ao hospedeiro (FAO, 2001). Esses aditivos são compostos em sua maioria por lactobacilos ou leveduras vivas. Como aditivo, as leveduras são utilizadas em pequenas quantidades, auxiliando a degradação de alimentos pelos microrganismos presentes no rúmen (NEWBOLD et al., 1995, MILLER-WEBSTER et al., 2002)

Vários estudos demonstram que a inclusão das leveduras vivas (*Saccharomyces cerevisiae*) por meio de diferentes suplementos estimula grupos de microrganismos que alteram a atividade ruminal, auxiliando na manutenção das atividades metabólicas em anaerobiose, assim como a utilização do ácido láctico, mantendo o pH ótimo para o crescimento microbiano, e com isso pode aumentar a produção de proteína microbiana e melhorar a degradabilidade ruminal da celulose, resultando em melhores índices produtivos (WALLACE, 1994; PLATA et al., 1994; NEWBOLD et al., 1995; FONTY, CHAUCHEYRAS-DURAND, 2006; CHAUCHEYRAS-DURAND et al., 2012).

Para Marden et al. (2008) e Krizová et al. (2011) o principal modo de ação das leveduras vivas é como tamponante, impedindo o acúmulo de lactato e mantendo o pH do rúmen próximo a neutralidade, melhorando a digestibilidade das fibras, mesmo em dietas com proporções de concentrado elevadas.

As pesquisas sobre a inclusão de leveduras vivas na dieta são realizadas em bovinos leiteiros, recebendo dietas com fibra de alta qualidade e níveis de energia adequados, no entanto, quando a energia é o principal fator limitante no

comprometimento da digestão da fibra, os efeitos dos fungos *Saccharomyces cerevisiae* pode ser mais eficaz na degradabilidade das fibras (BEAUCHEMIN et al., 2000).

Desta forma, objetivou-se com este trabalho, avaliar o uso de leveduras vivas associadas aos suplementos proteicos e seu efeito sobre consumo de nutrientes, digestibilidade parcial e total de nutrientes, parâmetros de fermentação ruminal, síntese microbiana no rúmen e parâmetros séricos em bovinos alimentados com forragem de baixa qualidade.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no setor de Avaliação de Alimentos para Ruminantes da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), localizada no distrito de Iguatemi/PR e as análises químicas foram realizadas no Laboratório de Análise de Alimentos e Nutrição Animais (LANA), do Departamento de Zootecnia, da Universidade Estadual de Maringá/PR.

Foram utilizados cinco bovinos machos castrados, da raça Holandesa, com aproximadamente 36 meses de idade e peso corporal médio de 485 ± 60 kg, providos de cânula ruminal e duodenal. Os animais foram distribuídos em delineamento experimental Quadrado Latino 5x5, com duração de 105 dias. Os animais permaneceram em baias individuais com área útil de $8,75 \text{ m}^2$ (2,5 x 3,5 m), totalmente cobertas com piso de concreto, contendo comedouro individual e bebedouro automático. Manteve-se o manejo de limpeza diária das baias e dos animais para garantir a higiene, o conforto dos animais e a durabilidade das cânulas. Todos os animais foram vacinados e receberam aplicação de anti-helmínticos antes do início do experimento.

Como volumoso foi utilizado palha picada de *Brachiaria humidicola* cv. Llanero à vontade, que era fornecida três vezes ao dia, 08h30min, 12h30min e 16h30min, sendo que a composição da mesma é mostrada na Tabela 1. Essa palha é o resíduo da forragem após colheita de sementes da *Brachiaria* e para que esta fosse oferecida aos animais houve o processo de redução de partícula com uso de implemento acoplado a um trator, desta forma, a maioria das partículas tinham entre 10 e 20 cm, sendo que o material menor de 5 cm foi perdido pelo processo mecanizado de redução de partícula.

Além da palha, os animais receberam suplemento proteico contendo 50% de PB, fornecido diariamente na base de 1,5g/kg de peso corporal (Tabela 1). Formulou-se a

dieta para atender o mínimo exigido de proteína bruta para crescimento microbiano que de acordo com Van Soest (1994) é de 7%. Os tratamentos experimentais consistiram na inclusão de levedura viva (*Saccharomyces cerevisiae* – NCYC 996 – 10 bilhões de UFC/g, LeSaffre®) nos suplementos, nas seguintes doses: 0; 0,2; 0,4; 0,6 e 0,8% de levedura.

De acordo com Sullivan e Bradford (2011) a quantidade de células viáveis em probióticos à base de leveduras vivas pode mudar de acordo com a forma de armazenamento do aditivo. Desta forma, os ingredientes dos suplementos foram misturados a cada cinco dias e armazenado em tambores escuros mantidos em local seco e sem incidência de radiação solar, para que houvesse o mínimo de interferência do ambiente.

Tabela 1. Ingredientes e composição química das dietas em função da forragem e do suplemento utilizados nas dietas experimentais

Item	Levedura viva na dieta (% na MS)				
	0%	0,2%	0,4%	0,6%	0,8%
MS ofertada, kg	9,4	9,4	9,5	9,4	9,3
Forragem	8,7	8,7	8,7	8,7	8,6
Suplemento	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
Composição do suplemento, %					
Milho moído	46,2	46,2	46,2	46,2	46,2
Farelo de trigo	25,0	24,8	24,6	24,4	24,2
Ureia	14,8	14,8	14,8	14,8	14,8
Premix mineral*	14,0	14,0	14,0	14,0	14,0
Levedura	0	0,2	0,4	0,6	0,8
% de nutrientes nas dietas					
	Forragem		Suplemento		Total
MS	84,4		7,1		91,5
PB, %MS	3,2		3,9		7,0
FDNp, %MS	81,2		1,2		82,4
FDA, %MS	44,6		0,5		45,1
Lignina, %MS	6,7		0,1		6,8
EE, %MS	0,3		0,2		0,5
MM, %MS	5,3		2,4		7,7
MO, %MS	86,9		5,4		92,3
CNF ¹ , %MS	2,2		3,3		5,5
CHOT ² , %MS	83,3		4,6		87,9
NDT ³ , %MS	43,7		4,5		48,2

*Cálcio: 11,1%, Cobalto: 21,0 ppm; Cobre: 1.450,0 ppm; Enxofre:12,8%; Fósforo:8,2%; Iodo: 60,0 ppm; Magnésio: 12,2%; Maganês: 2.700,0 ppm; Selênio: 15,0 ppm; Sódio: 7,4%; Zinco: 4.300,0 ppm;

¹Calculado de acordo com Van Soest et al. (1991) $CNF = 100 - [(FDN - FDNp) + Proteína + Extrato etéreo + Matéria mineral]$, em que: $FDNp = FDN$ corrigido para proteína;

²Cálculo de acordo com Sniffen et al. (1992) $CHO = 100 - PB - EE - MM$;

³Estimado de acordo com Weiss (1993) $NDT = 0,98 * (100 - FDNp - PB - MM - EE - 1) + 0,93 * PB + 2,25 * EE + 0,75 * (FDNp - Lig) * [1 - (Lig/FDNp)^{0,667}] - 7$, em que: $FDNp = FDN$ corrigido para proteína, $Lig = Lignina$.

Com a finalidade de quantificar a ingestão de matéria seca e de nutrientes, as sobras foram pesadas e amostradas. Houve sobras apenas de palha, já que o suplemento foi oferecido aos animais em comedouros separados, para que fosse garantido o consumo total deste. Os períodos experimentais tiveram a duração de 21 dias, sendo 7 dias para adaptação, sem adição de leveduras no suplemento, e 14 dias recebendo o tratamento, sendo as coletas realizadas nos últimos cinco dias. Os animais foram pesados a cada início de período experimental para ajustar a oferta de matéria seca diária.

Para determinação do fluxo duodenal e da produção fecal, a partir do 1º dia de cada período experimental todos os animais receberam a dose diária de 20 g de dióxido de titânio, colocado diretamente no rúmen através do orifício da cânula ruminal. Para quantificar a digestibilidade parcial e total da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e carboidratos totais (CHO) foram coletadas amostras de digesta duodenal (300-500 mL) e fezes (50 g), diretamente da ampola retal dos animais. As coletas foram realizadas a partir do 11º dia do período experimental, pelo período total de três dias, em horários diferentes (08:00, 14:00, 20:00, 2:00, 10:00, 16:00, 22:00, 4:00, 12:00, 18:00 e 24:00 h), totalizando 11 amostras de digesta duodenal e 11 amostras de fezes por animal/tratamento/período.

As amostras de alimentos, sobras, digesta duodenal e de fezes foram acondicionadas em sacos plásticos, devidamente etiquetados e congeladas. Posteriormente essas amostras foram secas em estufa de circulação forçada de ar a 55°C até atingir peso constante e moídas individualmente em moinhos de faca, utilizando peneira com crivos de 2 mm para compor amostra composta por animal/tratamento/período, sempre homogeneizadas em quantidades iguais com base no peso seco e uma subamostra foi moída em peneira com crivos de 1 mm, para formar amostras que foram analisadas em laboratório.

As amostras dos alimentos utilizados, de sobras, da digesta duodenal e das fezes foram analisadas para teores de MS, MO, PB e EE (AOAC, 1990) e FDN, FDA e Lignina (VAN SOEST et al., 1991). As amostras de digesta duodenal e de fezes foram analisadas para titânio segundo Myers et al. (2004). Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram obtidos pela equação proposta por Van Soest et al. (1991):

$$CNF = 100 - [(FDN - PIDN) + PB + EE + MM]$$

Em que: CNF – carboidratos não fibrosos; FDN – fibra em detergente neutro; PIDN – proteína do resíduo de detergente neutro; EE – extrato etéreo e MM – matéria mineral.

Os carboidratos totais (CHO) e os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram obtidos conforme recomendações de Sniffen et al. (1992):

$$CHO = 100 - (PB + EE + MM)$$

Onde: CHO – carboidratos totais; PB – proteína bruta; EE – extrato etéreo e MM – matéria mineral.

$$NDT = PBD + FDND + CNFD + (EED * 2,25)$$

Em que: NDT – nutrientes digestíveis totais; PBD – proteína bruta digestível; FDND – fibra em detergente neutro digestível; CNF – carboidratos não fibrosos digestíveis e EED – extrato etéreo digestível.

O NDT estimado foi obtido de acordo com a equação de Weiss (1993):

$$NDT = 0,98 * (100 - FDNp - PB - MM - EE - 1) + 0,93 * PB + 2,25 * EE + 0,75 * (FDNp - Lig) * [1 - (Lig/FDNp)^{0,667}] - 7$$

Em que: NDT – nutrientes digestíveis totais; FDNp – fibra em detergente neutro corrigido para proteína; PB – proteína bruta; MM – matéria mineral; EE – extrato etéreo; Lig – lignina.

No 11° e 14° dias de cada período experimental, 4 horas após a alimentação da manhã e da tarde, respectivamente, foram realizadas coletas de sangue através da punção da veia jugular, em tubos contendo heparina. O plasma foi obtido em centrífuga refrigerada (4°C) a 2500xg por 15 minutos. Determinou-se no plasma as concentrações de ureia, segundo o método diacetil modificado (kits comerciais). A concentração de N ureico no plasma (NUP) foi obtida por meio do produto da concentração da ureia pelo valor 0,466 correspondente ao teor de N na ureia.

Para determinar o potencial hidrogeniônico (pH), a concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) e as concentrações de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no líquido ruminal foram coletadas amostras do fluído ruminal (cerca de 150 mL) via cânula ruminal, a partir do 11° dia do período experimental, pelo período total de três dias, em horários diferentes (08:00, 14:00, 10:00, 16:00, 12:00 h), totalizando 5 coletas por animal/tratamento/período. O pH foi mensurado imediatamente após a coleta e 50 mL de fluído ruminal foram acidificados com 1 mL de ácido sulfúrico (1:1) e armazenados à -20° C, para posterior análise de N-NH₃. A dosagem de N-NH₃ nas amostras de líquido ruminal foi determinada pela técnica colorimétrica de Chaney e Marbach (1962). Para as análises de AGCC armazenou-se aproximadamente 50 mL de líquido ruminal a -20°C para posterior análise.

Os AGCC foram analisados em Cromatógrafo Gasoso (Marca SHIMADZU, modelo GC-2014) com injetor automático modelo AOC - 20i, com temperatura de 200°C. Utilizou-se coluna HP INNOWax - 19091N (30m de comprimento; 0,32mm diâmetro; 0,50µm de filme), com rampa de aquecimento de 80°C/3min até 240°C e detector de Ionização de Chama com temperatura de 250°C. Injetou-se 1µL de líquido ruminal centrifugado e acidificado com 20% de ácido fórmico P.A. 88% e utilizou-se o nitrogênio como gás de arraste com fluxo de 3,18mL/min.

Para determinação da eficiência de síntese microbiana, no último dia de cada período, coletou-se 1,5 kg de conteúdo ruminal que foi homogeneizado com 500 ml de solução salina a 0,9% (NaCl), no liquidificador, e filtrado em quatro camadas de fralda de algodão. O filtrado foi armazenado a -20°C para ser processado de acordo com descrições de Cecava et al. (1990).

A concentração de purinas nas bactérias do rúmen e na digesta duodenal foi determinada pelo procedimento descrito por Ushida et al. (1985), com algumas modificações propostas por Bohnert et al. (1998). O fluxo total de nitrogênio (N) microbiano para o duodeno (g/dia) foi estimado pela divisão da razão entre N bacteriano e purinas no rúmen, pela razão entre N na digesta duodenal e purinas na digesta duodenal, sendo este quociente multiplicado pelo fluxo total individual de N. A eficiência da síntese microbiana aparente (ESMA) foi expressa em g de N microbiano/kg de matéria orgânica degradada no rúmen (MODR) e calculada pela fórmula: $ESMA \text{ (g N/kg de MO)} = N \text{ Microbiano (g/dia)} / MODR \text{ (kg/dia)}$.

O experimento foi conduzido em delineamento experimental Quadrado Latino 5×5 e os dados foram interpretados por análise de regressão, adotou-se $p < 0,05$ como diferença significativa e $0,05 < p < 0,10$ como tendência para todas as análises. O modelo matemático utilizado para a análise foi $Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + T_k + e_{ijk}$, em que: μ = média dos tratamentos; A_i = efeito do animal i , variando de 1 a 5; P_j = efeito do período j , variando de 1 a 5; T_k = efeito do tratamento k , variando de 1 a 5; e_{ijk} = erro aleatório.

Para os dados de pH e concentrações de N-NH₃ no líquido ruminal ajustou-se a equação para pH e outra para N-NH₃ em função do tempo, para cada animal dentro de cada tratamento e período, com as equações foram calculadas para cada animal o tempo transcorrido para atingir o máximo e o mínimo de acidez (pH), assim como as concentrações máximas e mínimas de N-NH₃.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A inclusão da levedura viva nos suplementos proteicos não influenciou significativamente ($p > 0,05$) o consumo de matéria seca (Tabela 2), provavelmente pela alta quantidade de fibra da dieta que limitou a capacidade ingestiva dos animais. A pequena redução, cerca de 3% no consumo de MS, não confirmam os resultados obtidos por Gomes et al. (2011), que verificaram redução no consumo quando adicionaram levedura viva na dieta de bovinos recebendo 60% de volumoso. Diferentemente, em outro experimento, Moya et al. (2009), trabalhando com bovinos holandeses, observaram que a ingestão de MS foi maior em animais que receberam 14 g de levedura/dia, dosagem acima das que foram utilizadas neste experimento.

A qualidade da palha de *Brachiaria humidicola* utilizada no experimento foi muito baixa, diferente da maior parte dos alimentos presentes nas dietas nas quais se observou melhoria no consumo de MS com uso de *Saccharomyces cerevisiae* na dieta (PLATA et al., 1994; CABRERA et al., 2000; PEREIRA et al., 2001; LASCANO et al., 2009; FERELI et al., 2010; FRANÇA, RIGO, 2011; YALÇIN et al., 2011; ZHANG et al., 2013). Isso pode indicar que a limitação física dentro do rúmen produzida por alimentos com elevadas concentrações de FDN, limitando o consumo pelo *fill*, pode eliminar a ação favorável das leveduras vivas sobre o consumo. É importante destacar que os dados de consumo de MS por bovinos que recebem aditivos microbianos na dieta são inconsistentes (KREHBIEL et al., 2003), já que fatores externos como a idade dos animais, composição da alimentação e dose de levedura viva usada (WALLACE, 1994) podem interferir nos efeitos causados pelo aditivo em questão.

De acordo com Dias-da-Silva et al. (2010) quanto menor for a qualidade da fibra, melhor serão os resultados obtidos pelo uso de *Saccharomyces cerevisiae* na dieta de ruminantes, no entanto, nesta pesquisa, não foi possível observar esse efeito positivo no consumo de MO, PB, FDN e CHO pelos animais (Tabela 2).

A literatura não traz registro de dados publicados com experimentos *in vivo*, que tenham estudado níveis de levedura viva e dieta semelhante à utilizada nesta pesquisa. Sugere-se que não houve reposta em relação consumo, provavelmente por causa das características físicas e químicas da dieta, já que a proporção de volumoso foi acima de 90% e o suplemento proteico fornecido permitiu atender apenas as exigências mínimas de proteína bruta dos animais.

Quanto aos dados de fluxo duodenal de matéria seca e nutrientes (Tabela 2), houve efeito linear decrescente e quadrático ($p < 0,05$) para MO e CHO, e tendência para fluxo de MS, PB e FDN. Já para o fluxo fecal não foram observadas diferenças entre os tratamentos ($p > 0,05$). O fluxo duodenal de MS reduziu em média 9,3% e o fluxo fecal de MS 5,5% para os animais que receberam a levedura viva em relação ao tratamento controle. Dados que estão abaixo dos publicados por Lascano et al. (2009) que observaram redução média no fluxo fecal de MS de 7,15% em animais que receberam a suplementação com levedura.

Tabela 2. Influência dos níveis de levedura viva para bovinos com dieta à base de volumoso de baixa qualidade e suplemento proteico de baixo consumo sobre as características de degradação ruminal, digestão intestinal e total em bovinos holandeses

Item	Levedura viva na dieta (% na MS)					EPM	Valor P	
	0%	0,2%	0,4%	0,6%	0,8%		Linear	Quadrática
Consumo, g/dia								
LV ¹	0	1,49	2,97	4,44	5,92	0,43	<0,01	0,94
MS	8330	7997	8179	8062	8108	249,1	0,66	0,72
Forragem	7592	7250	7436	7321	7368	243,0	0,64	0,70
Suplemento	738	747	742	740	740	15,9	0,90	0,88
PB	640	634	634	631	628	13,6	0,89	0,98
FDN	6883	6610	6771	6667	6713	215,2	0,68	0,74
FDA	3735	3585	3667	3621	3638	118,6	0,68	0,73
MO	7674	7362	7553	7422	7487	233,7	0,67	0,73
CHO	7298	6997	7186	7057	7119	223,6	0,67	0,72
Fluxo Duodenal, g/dia								
MS	5228	4625	4637	4788	4915	146,9	0,07	0,09
PB	675	589	599	592	637	18,1	0,06	0,07
FDN	2686	2277	2418	2423	2496	84,2	0,06	0,07
FDA	1756	1578	1532	1623	1613	58,9	0,16	0,20
MO	4316	3762	3744	3886	4099	125,9	0,03	0,04
CHO	3538	3088	3052	3197	3364	107,3	0,03	0,03
Desaparecimento Ruminal, %								
MS	36,16	41,97	42,54	40,65	39,42	1,44	0,15	0,17
PB	-6,87	6,81	5,21	6,19	-1,11	2,66	0,04	0,06
FDN	60,52	65,58	63,94	63,70	62,85	0,80	0,13	0,14
FDA	52,01	56,18	57,49	55,30	55,90	1,27	0,27	0,35
MO	42,82	48,68	49,84	47,75	45,28	1,27	0,06	0,06
CHO	50,78	55,68	57,01	54,85	52,86	1,10	0,06	0,06
Digestão Intestinal, %								
MS	23,16	22,77	19,97	20,02	18,31	1,37	0,71	0,99
PB	60,41	55,99	56,78	54,63	55,12	0,76	0,09	0,26
FDN	1,75	-1,98	1,55	-4,95	-4,95	2,28	0,88	0,90
FDA	-2,31	3,37	-5,88	-8,07	-11,51	2,17	0,97	0,52
MO	17,21	15,78	11,49	12,25	12,94	1,63	0,36	0,51
CHO	7,48	6,77	1,03	2,70	3,46	1,92	0,41	0,54
Fluxo Fecal, g/dia								
MS	4016	3599	3727	3819	4032	144,4	0,28	0,22
PB	267	260	260	269	286	9,2	0,57	0,42
FDN	2624	2338	2390	2530	2635	102,3	0,29	0,23
FDA	1799	1523	1629	1721	1771	59,9	0,20	0,15
MO	3574	3190	3320	3400	3587	131,7	0,28	0,23
CHO	3273	2899	3025	3093	3263	122,2	0,26	0,21
Digestão Total, %								
MS	50,79	55,29	54,37	52,43	50,23	1,43	0,33	0,26
PB	57,38	58,91	59,26	57,29	54,62	1,36	0,50	0,36
FDN	61,18	64,93	64,71	61,97	60,66	1,18	0,31	0,24
FDA	50,63	57,71	55,25	52,08	50,82	1,53	0,27	0,20
MO	52,50	56,95	56,01	54,01	52,07	1,39	0,33	0,26
CHO	54,29	58,88	57,88	56,02	54,20	1,33	0,31	0,25
NDT ² , %	52,18	56,44	55,62	53,59	51,91	1,30	0,32	0,25

¹Levedura (*Saccharomyces cerevisiae* – NCYC 996 – 10 bilhões de UFC/g, LeSaffre®); ² Nutrientes digestíveis totais.

As leveduras auxiliam na manutenção das atividades metabólicas em anaerobiose, com isso melhora a estabilidade da fermentação ruminal e a digestibilidade da fibra (WALLACE, 1994). Os níveis de aditivos utilizados influenciaram ($p < 0,05$) apenas a desaparecimento da PB, e houve tendência ao efeito linear e quadrático ($p < 0,10$) para desaparecimento ruminal de MO e CHO (Tabela 2).

Embora não significativo, o desaparecimento ruminal da MS, MO, FDN, FDA e CHO tiveram acréscimo de 13,8%, 11,8%, 5,8%, 8,1% e 8,5%, respectivamente, para os animais que receberam a levedura viva, indicando que pode ter melhorado o aproveitamento de nutrientes pelos microrganismos ruminais. Esse acréscimo na digestão ruminal pode ser explicado pela ação benéfica das leveduras no ambiente ruminal e pelo aumento da atividade celulolítica que é intensificada quando a dieta é composta por maior quantidade de volumoso (GALIP, 2006).

A digestibilidade intestinal da proteína bruta apresentou tendência ($p < 0,10$) ao efeito linear decrescente (Tabela 2), provavelmente pelo fato de que houve redução na ingestão de proteína e no fluxo de proteína duodenal com a inclusão dos níveis de levedura viva. Para as outras variáveis não se observou qualquer efeito ou tendência significativos na digestibilidade intestinal.

Quanto ao coeficiente de digestibilidade total, não houve diferença ou tendência ($p > 0,10$) (Tabela 2). Porém, para os animais que receberam os tratamentos com levedura, a digestibilidade total da MS, MO, FDN, FDA e CHO apresentou acréscimo de 4,5%, 4,3%, 3,1%, 6,6% e 4,5%, respectivamente. Esse aumento pode ter sido provocado porque houve redução no fluxo fecal de MS, elevando o coeficiente de digestibilidade da MS e nutrientes.

Esse acréscimo na digestibilidade total foi quantificado por vários autores entre eles Fereli et al. (2010), Mousa et al. (2012) e Massaro Junior et al. (2013), no entanto nenhum desses testou o efeito de níveis de adição da levedura viva com alto FDN na dieta, e sim o efeito da levedura viva contra o tratamento controle ou outro aditivo qualquer, com proporções acima de 30% de concentrado.

Não houve efeito significativo ($p > 0,05$) da inclusão de levedura viva sobre a produção total de AGCC (Tabela 3), como foi reportado por Desnoyers et al. (2009), provavelmente pela grande quantidade de fibra e baixa proteína na dieta que limitou o crescimento microbiano e os produtos da fermentação (AGCC), que representam a principal fonte de energia para os ruminantes. De acordo com Kozloski (2009) entre 50 e 70% da energia digestível do alimento vem desta fermentação, assim, a concentração

total de AGCC ruminal pode variar de 60 a 160 milimolar, sendo que a concentração total média de AGCC quantificadas nesta pesquisa esta dentro dessa faixa.

Observou-se tendência linear e quadrática ($p < 0,10$) para as concentrações de ácido propiônico e nas proporções de acetato:propionato (Tabela 3). Houve redução na quantidade de propionato e com isso a proporção acetato:propionato foi aumentada. Essa alteração na proporção dos principais AGCC produzidos no rúmen pode ser explicada porque de acordo com Chaucheyras-Durand et al. (2008) a levedura viva age no ambiente ruminal causando mudanças nas concentrações de ácidos graxos. O ambiente ruminal na presença da levedura viva fica favorável para os microrganismos celulolíticos que produzem maiores quantidades de acetato e menor de propionato e com isso as proporções acetato:propionato são alteradas.

Tabela 3. Influência dos níveis de levedura viva sobre a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) ruminal em bovinos holandeses recebendo dietas à base de volumoso de baixa qualidade e suplemento proteico

Item	Levedura viva na dieta (% na MS)					EPM	Valor P	
	0%	0,2%	0,4%	0,6%	0,8%		Linear	Quadrática
Total AGCC, mmol/L	89,22	87,16	85,63	89,43	93,63	1,44	0,61	0,79
AGCC ruminal, %								
Acetato	72,95	73,15	72,81	72,73	73,13	0,14	0,49	0,34
Propionato	18,60	17,96	18,79	18,42	18,21	0,10	0,09	0,06
Isobutirato	0,47	0,50	0,46	0,47	0,47	0,01	0,54	0,47
Butirato	6,97	7,22	6,94	7,33	7,08	0,06	0,90	0,88
Isovalerato	0,54	0,70	0,54	0,55	0,65	0,02	0,03	0,01
Valerato	0,46	0,46	0,46	0,49	0,47	0,00	0,46	0,29
Proporção A:P	3,93	4,08	3,90	3,95	4,03	0,03	0,09	0,06

Não houve efeito ($p > 0,05$) para a concentração de acetato, isobutirato, butirato e valerato, mas houve efeito linear crescente e quadrático ($p < 0,05$) para as concentrações de isovalerato (Tabela 3), que é um ácido graxo de cadeia ramificada que normalmente é utilizado como substrato para crescimento microbiano. Esses ácidos graxos são fonte de aminoácidos para as bactérias celulolíticas como *Fibrobacter succinogenes* e *Butyrivibrio fibrisolvens*. Embora tenha ocorrido aumento de 13,0% na concentração de isovalerato, a proporção em milimolar é pequena (0,07 milimolar), acredita-se não ser suficiente para alterar a síntese microbiana.

A suplementação com levedura viva pode alterar o metabolismo do nitrogênio em ruminantes, com isso haveria menor concentração de amônia ruminal e maior concentração de bactérias no rúmen (MOALLEN et al., 2009). Porém, não foi possível

observar efeitos significativos ou tendência positiva ($p > 0,10$) sobre o nitrogênio microbiano ruminal ou duodenal.

A eficiência de síntese microbiana aparente média (ESMA) foi de 33,15 gN/kgMO, acima do que reportado por Fereli et al. (2010) que foi de 28,30 gN/kgMO quando trabalharam com uso de aditivos microbianos com pelo menos 70% de concentrado na dieta. Podendo ser explicado pela maior utilização de amônia pelos microrganismos nesta pesquisa, já que de acordo com Kozloski (2009) de 40 a 95% proteína microbiana total pode ser resultado da incorporação da amônia ruminal e a utilização da amônia é maior quando a dieta é composta por quantidade maior de volumoso.

Embora a média de ESMA tenha sido maior do que os apresentados na literatura, houve tendência ao efeito linear e quadrático ($p < 0,10$) com redução da síntese microbiana para os animais que receberam a levedura viva (Tabela 4). A redução média foi de 20% para os animais que receberam os tratamentos que continham levedura. Resultado diferente da literatura, que de acordo com Denev et al. (2007) as concentrações de microrganismos benéficos e atividade microbiana são aumentadas com o uso de levedura, pois a levedura viva tem capacidade de estimular grupos específicos de bactérias e com isso aumentar a síntese proteica. Esses efeitos positivos também foram observados por Miller-Webster et al. (2002) e Fereli et al. (2010).

No entanto, os dados quantificados para nitrogênio ruminal, duodenal e ESMA, diferentes dos apresentados na literatura, podem ser explicados pela baixa proteína e energia da dieta, já que a proteína foi ofertada aos animais apenas para manter exigências mínimas, desta forma, acredita-se que houve limitação do crescimento microbiano, pela falta de substrato para os microrganismos.

Tabela 4. Influência dos níveis de levedura viva sobre a produção de proteína microbiana e concentrações séricas de nitrogênio em bovinos holandeses recebendo dietas à base de volumoso de baixa qualidade e suplemento proteico

Item	Levedura viva na dieta (% na MS)					EPM	Valor P	
	0%	0,2%	0,4%	0,6%	0,8%		Linear	Quadrática
Consumo de N, g/dia	102,4	101,5	101,5	101,0	100,5	2,17	0,89	0,98
N microbiano, %								
Ruminal	7,21	7,24	7,33	7,45	7,25	0,06	0,37	0,44
Duodenal	2,07	2,04	2,07	2,02	2,08	0,02	0,47	0,48
Relação N:Purina								
Ruminal	50,74	49,94	48,99	51,35	50,20	0,43	0,52	0,49
Duodenal	44,85	44,91	44,63	44,09	45,28	0,59	0,46	0,50
Coefficiente de produção microbiana ¹	1,13	1,12	1,10	1,15	1,11	0,02	0,71	0,80
Fluxo duodenal de N microbiano, g/dia	122,4	105,1	105,5	105,6	112,8	4,00	0,14	0,15
MODR ² , kg/dia	3,36	3,60	3,81	3,50	3,38	0,17	0,29	0,27
ESMA ³ , g/kg	39,42	29,59	28,90	33,95	33,90	1,73	0,07	0,08
NUP ⁴ , mg/dL	7,48	7,82	8,11	7,67	7,64	0,33	0,49	0,49

¹Proporção N: Purina Ruminal/ Proporção N: Purina Duodenal

²MODR – matéria orgânica degradada no rúmen;

³ESMA – eficiência de síntese microbiana aparente - g N/kg de MO;

⁴NUP – nitrogênio ureico plasmático

A adição de levedura viva não influenciou ($p>0,05$) o nitrogênio plasmático (Tabela 4), embora Bruno et al. (2009) afirmam que a concentração de nitrogênio no plasma reduz com a ingestão de *Saccharomyces cerevisiae*, sugerindo melhor utilização da proteína da dieta, mas ressaltam que as diferenças nem sempre são significativas. Assim, os dados publicados são controversos, autores como Ding et al. (2008), Dolezal et al. (2011) e Massaro Junior et al. (2013) verificaram redução, já Bagheri et al. (2009), Hristov et al. (2010), Mousa et al. (2012) e Prohmann et al. (2013) observaram acréscimo no nitrogênio plasmático.

Nesta pesquisa, observou-se acréscimo médio de 4,41% para NUP quando se adicionou *Saccharomyces cerevisiae* na dieta, dados que estão acima dos publicados por Hristov et al. (2010), que observaram aumento de 3,5% no NUP e abaixo dos dados de Bagheri et al. (2009) que registraram NUP 6,1% maior.

Já Prohmann et al. (2013) observaram NUP 8,3% maior para animais que receberam suplementação mineral acrescida de levedura viva e 4,8% menor quando acrescentou à suplementação mineral com levedura, a mistura que continha casca de soja, farelo de algodão e milho moído. Sugerindo, que quando a proporção de volumoso na dieta é maior a NUP tende a aumentar, e o contrário também é verdadeiro. Além de que o nitrogênio plasmático é aumentado pela absorção de amônia ruminal que é

proporcional a sua concentração ruminal e aumenta com o aumento do pH (Kozloski, 2009).

A produção de N-NH₃ não foi influenciada ($p>0,05$) pela adição da levedura viva (Tabela 5), assim como na pesquisa realizadas por Massaro Junior et al. (2013). Mesmo sem efeitos significativos, há muitos pesquisadores que confirmam a hipótese de que a adição de levedura viva na dieta de bovinos causa redução no nitrogênio amoniacal ruminal (MOYA et al., 2009; BAGHERI et al., 2009; MOALLEN et al., 2009; HRISTOV et al., 2010; KRIZOVÁ et al., 2011 e MOUSA et al., 2012), por outro lado, outros afirmam que há aumento N-NH₃ ruminal como ocorreu na atual pesquisa (MILLER-WEBSTER et al., 2002; GUEDES et al., 2008; GATTAS et al., 2008).

Embora a maioria dos pesquisadores afirme a redução no N-NH₃, ainda há divergências entre os dados quantificados por diversos deles. O acréscimo na concentração de N-NH₃ ruminal foi de 6,2%, abaixo do que foi quantificado por Miller-Webster et al. (2002) os quais afirmam que a amônia ruminal aumentou aproximadamente 50% com a adição de levedura. Assim, o aumento do nitrogênio amoniacal está relacionado com a baixa eficiência de utilização do nitrogênio da dieta, que também é responsável pelo aumento da concentração de nitrogênio plasmático e pela síntese microbiana. Mesmo que as bactérias celulolíticas utilizam amônia como substrato para crescimento e a concentração de N-NH₃ estava acima do mínimo exigido para o crescimento microbiano (5 mg/dL), é preciso estar associado a uma fonte energética, que neste caso era baixa.

A média de nitrogênio amoniacal foi acima do nível mínimo que é de 5,0 mg/dL (SATTER, SLYTER, 1974) e abaixo da concentração considerada como ideal para o crescimento microbiano que é de 10,0 mg/dL (VAN SOEST, 1994). Os animais que receberam os tratamentos que continham as cepas de *Saccharomyces cerevisiae* apresentaram as maiores concentrações máxima e as menores concentrações mínima de amônia, sendo que o ponto de máximo médio ajustado pela curva foi de 16,78 mg/dL e ocorreu as 02h23min e o ponto mínimo médio foi de 2,17 mg/dL às 07h25min após a primeira alimentação, bem próximo ao horário que os animais receberiam a alimentação da tarde (08h após a alimentação da manhã).

Tabela 5. Valores de potencial hidrogeniônico (pH) e nitrogênio amoniacal (N-NH₃) e dos seus respectivos pontos críticos mensurados no líquido ruminal de bovinos holandeses recebendo dietas à base de volumoso de baixa qualidade e suplemento proteico acrescido de diferentes níveis de levedura, de zero a 8 horas após a primeira alimentação da manhã

Item	Levedura viva na dieta (% na MS)					EPM	Valor <i>P</i>	
	0%	0,2%	0,4%	0,6%	0,8%		Linear	Quadrática
pH								
Média	6,65	6,68	6,71	6,72	6,69	0,03	0,47	0,57
Máximo ¹	6,80	6,87	6,82	6,81	6,82	0,03	0,70	0,66
Ponto máximo	6,78	6,85	6,80	6,81	6,78	0,02	0,62	0,55
Ponto máximo, horas	01:53	02:07	02:10	02:00	02:13	-	-	-
Mínimo ¹	6,54	6,51	6,65	6,62	6,59	0,03	0,35	0,54
Ponto mínimo ²	6,53	6,56	6,64	6,65	6,62	0,03	0,39	0,53
Ponto mínimo, horas ³	06:31	06:37	06:58	06:44	06:46	-	-	-
N-NH ₃								
Média, mg/dL	7,72	7,73	7,56	8,84	8,67	0,39	0,83	0,62
Máxima, mg/dL	16,55	17,25	17,56	18,58	19,19	0,70	0,78	0,93
Ponto máximo, mg/dL ²	15,73	16,23	16,16	17,79	17,97	0,64	0,86	0,85
Ponto máximo, horas ³	02:24	02:25	02:17	02:31	02:17	-	-	-
Mínima, mg/dL	1,89	1,26	1,74	1,58	1,73	0,13	0,46	0,44
Ponto mínimo, mg/dL ²	2,90	1,55	1,24	2,64	2,53	0,47	0,55	0,30
Ponto mínimo, horas ³	07:11	07:32	07:27	07:34	07:19	-	-	-

¹ pH e amônia máximos e mínimos em valores absolutos; ² pontos de máximo e mínimo ajustados através da equação; ³ pontos de máximo e mínimo ajustados pela equação convertidos em horas.

Para os dados de potencial hidrogeniônico (pH) ruminal não houve influência ($p > 0,05$) da adição de levedura viva (Tabela 5). A média de 6,7 está dentro da faixa considerada ideal para a otimização da degradação das fibras pelos microrganismos celulolíticos, que é de 6,5 a 6,8 segundo Orskov (1982), sendo que os animais que receberam os tratamentos com levedura viva tiveram acréscimo de apenas 0,7% no pH ruminal em relação ao tratamento controle, essa semelhança pode ser explicada porque a dieta era rica em fibras e com isso não haveria grandes variações na acidez ruminal.

O aumento do pH ruminal é reportado por muitos autores que testaram os efeitos da levedura, mas na maioria dos casos utilizaram pelo menos 30% de concentrado na dieta experimental, portanto são dietas com maiores flutuações de acidez ruminal. Dentre eles podem-se citar Krizová et al. (2011), Dolezal et al. (2011), Kowalik et al. (2012) e Prohmann et al. (2013), mas nem todos observaram diferença significativa, o que reforça a hipótese de que pode ou não ocorrer redução da acidez. Ao contrário da

maioria dos pesquisadores, Hristov et al. (2010) afirmam aumentar levemente a acidez com a adição da levedura viva.

Os pontos de máximo (mínimo de acidez) e mínimo (máximo de acidez) ajustados pela equação, não foram influenciados pelos tratamentos (Tabela 5), tendo como ponto máximo e mínimo médio de 6,80 e 6,60, respectivamente, sendo o ponto de mínimo acima do que é considerado como acidez prejudicial ao desenvolvimento dos microrganismos que degradam fibra como *Butyrivibrio fibrosolvens*, *Bacteroides succinogenes*, *Ruminococcus albus* e *Ruminococcus flavefaciens* sendo que esses cessam o crescimento em pH menores que 6,0 (KOZLOSKI, 2009). O mínimo e o máximo de acidez foram observados em média 02h17min e 06h43min após a alimentação da manhã.

CONCLUSÃO

A inclusão de leveduras vivas no suplemento proteico para bovinos consumindo forragem de baixa qualidade melhorou a digestão ruminal da proteína, não tendo efeitos sobre outros parâmetros de fermentação ruminal e digestibilidade de nutrientes.

REFERÊNCIAS

- AOAC. **Official methods of analysis**. 15th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, VA. 1990.
- BAGHERI, M; GHORBANI; G.R.; RAHMANI, H.R.; KHORVASH, M.; NILI, N. e SÜDEKUM, K. H. Effect of live yeast and mannan-oligosaccharides on performance of early-lactation holstein dairy cows. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 22, n. 6, p.812 – 818, 2009.
- BEAUCHEMIN, K.A.; RODE, L.M.; YANG, W.Z. e NEWBOLD, C.J. Enzymes and direct fed microbials in diets for dairy cows. In: **Proc. Tri-State Dairy Nutrition Conference**. Fort Wayne, Indiana. p.85-96. 2000.
- BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V. e OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal, São Paulo, 583p. 2006.

BOHNERT, D.W.; LARSON, B.I.; BAUER, M.L.; BRANCO, A. F.; MCLEOD, K. R.; HARMON, D. L. e MITCHELL JUNIOR, G. E. Nutritional evaluation of poultry by-product meal as a protein source for ruminants: Effects on performance and nutrient flow and disappearance in steers. **Journal of Animal Science**, v.76, p.2474-2484, 1998.

BRUNO, R.G.S.; RUTIGLIANO, H.M.; CERRI, R.L.; ROBINSON, P.H. e SANTOS, J.E.P. Effect of feeding *Saccharomyces cerevisiae* on performance of dairy cows during summer heat stress. **Animal Feed Science and Technology**, v.150, p.175–186, 2009.

CABRERA, E.J.I.; MENDONZA, M.G.D.; ARANDA, C.; GARCIA-BOJALIL, C.; BÁRCENA, G.R. e RAMOS, J.J.A. *Saccharomyces cerevisiae* and nitrogenous supplementation in growing steers grazing tropical pastures. **Animal Feed Science and Technology**, v. 85, p.49-55, 2000.

CECAVA, M.J.; MERCHEN, N.R.; GAY, L.C. e BERGER, L. L. Composition of ruminal bacteria harvested from steers as influenced by dietary energy level, feeding frequency, and isolation techniques. **Journal of Dairy Science**, v.73, p.2480-2488, 1990.

CHANEY, A.L. e MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, v.8, p.130-132, 1962.

CHAUCHEYRAS-DURAND, F.; CHEVAUX, E.; MARTIN, C. e FORANO, E. Use of yeast probiotics in ruminants: effects and mechanisms of action on rumen pH, fibre degradation, and microbiota according to the diet. In: E.C. RIGOBELLO, editor, **Probiotic in animals**. Rijeka, Croácia. 284p. 2012.

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

DENEV, S.A.; PEEVA, T.Z.; RADULOVA, P.; STANCHEVA, N.; STAYKOVA, G.; BEEV, G.; TODOROVA, P. e TCHOBANOVA, S. Yeast cultures in ruminant nutrition. **Bulgarian Journal of Agricultural Science**, v.13, 357-374, 2007.

DESNOYERS, M.; GIGER-REVERDIN, S.; BERTIN, G.; DUVAUX-PONTER, C. e SAUVANT, D. Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 1620-1632, 2009.

DIAS-DA-SILVA, A.; GUEDES, C.; GOMES, M.J.; LOUREIRO, N.; BRÍZIDA, E.; MENA, E. e LOURENÇO, A. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* yeast (CNCM I-1077) on ruminal fermentation and fibre degradation. In: **Proc. NDF 2010, Role of Plant Cell Walls in Dairy Cow Nutrition**, p. 25-38. 2010.

DING, J.; ZHOU, Z.M.; REN, L.P. e MENG, Q. X. Effect of monensin and live yeast supplementation on growth performance, nutrient digestibility, carcass characteristics and ruminal fermentation parameters in lambs fed steam-flaked corn-based diets. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 21, n. 4, p. 547 – 554, 2008.

DOLEŽAL, P.; DVOŘÁČEK, J.; DOLEŽAL, J.; CERMÁKOVÁ, J.; ZEMAN, L. e SZWEDZIAK, K. Effect of feeding yeast culture on ruminal fermentation and blood indicators of Holstein dairy cows. **Acta Veterinaria Brno**, v.80, p. 139–145, 2011.

FAO. **Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. Informe de la consulta de expertos FAO/OMS sobre evaluación de las propiedades saludables y nutricionales de los probióticos en los alimentos, incluida la leche en polvo con bacterias vivas del ácido láctico**. Córdoba, Argentina. 52p. 2001.

FERELI, F.; BRANCO, A.F.; JOBIM, C.C.; CONEGLIAN, S.M.; GRANZOTTO, F. e BARRETO, J. C. Monensina sódica e *Saccharomyces cerevisiae* em dietas para bovinos: fermentação ruminal, digestibilidade dos nutrientes e eficiência de síntese microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.1, p.183-190, 2010.

FONTY, G. e CHAUCHEYRAS-DURAND, F. Effects and modes of action of live yeasts in the rumen. **Biologia**, v. 61, n.6, p.741–750. 2006.

FRANÇA, R.A. e RIGO, E.J. Utilização de leveduras vivas (*Saccharomyces cerevisiae*) na nutrição de ruminantes – uma revisão. **FAZU em Revista**, Uberaba, n. 8, p. 187-195, 2011.

GALIP, N. Effects of dietary *Saccharomyces cerevisiae* live yeast culture supplementation on ruminal digestion and protozoa count in rams fed with diets with low or high ratio forage/concentrate. **Revue de Médecine Vétérinaire**, v.157, n.12, p.609-613, 2006.

GATTASS, C.B.A.; MORAIS, M.G.; ABREU, U.G.P.; FRANCO, G. L.; STEIN, J. e LEMPP, B. Efeito da suplementação com cultura de levedura na fermentação ruminal de bovinos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.4, p.711-716, 2008.

GOMES, R.C.; ANTUNES, M.T.; SILVA, S.L. e LEME, P.R. Desempenho e digestibilidade de novilhos zebuínos confinados recebendo leveduras vivas e monensina. **Archivos de Zootecnia**, v. 60, p. 1077-1086. 2011.

GUEDES, C.M.; GONÇALVES, D.; RODRIGUES, M.A.M. e DIAS-DA-SILVA, A. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* yeast on ruminal fermentation and fibre degradation of maize silages in cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 145, p.27-40, 2008.

HRISTOV, A.N.; VARGA, G.; CASSIDY, T.; LONG, M.; HEYLER, K.; KARNATI, S. K. R.; CORL, B.; HOVDE, C. J. e YOON, I. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on ruminal fermentation and nutrient utilization in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 2, p. 682–692, 2010.

KOWALIK, B.; SKOMIAŁ, J.; PAJAŁ, J.J.; TACIAK, M.; MAJEWSKA, M. e BELZECKI, G. Population of ciliates, rumen fermentation indicators and biochemical parameters of blood serum in heifers fed diets supplemented with yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) preparation. **Animal Science Papers and Reports**, v.30, n. 4, p.329-338, 2012.

KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. Santa Maria:UFSM, 2009.

KREHBIEL, C. R.; RUST, S.R.; ZHANG, G. e GILLILAND, S. E. Bacterial direct-fed microbials in ruminant diets: Performance response and mode of action. **Journal of Animal Science**, v. 81(E. Suppl. 2), p.E120–E132, 2003.

KŘIŽOVA, L.; RICHTER, M.; TRINACTY, J.; RÍHA, J. e KUMPRECHTOVÁ, D. The effect of feeding live yeast cultures on ruminal pH and redox potential in dry cows as continuously measured by a new wireless device. **Czech Journal of Animal Science**, v. 56, p.37–45, 2011.

LASCANO, G.J.; ZANTON, G.I.; SUAREZ-MENA, F.X. e HEINRICH, A. J. Effect of limit feeding high- and low-concentrate diets with *Saccharomyces cerevisiae* on digestibility and on dairy heifer growth and first-lactation performance. **Journal of Dairy Science**, v.92, n.10, p. 5100–5110, 2009.

MARDEN, J.P.; JULIEN, C.; MONTEILS, V.; AUCLAIR, E.; MONCOULON, R. e BAYOURTHE, C. How does live yeast differ from sodium bicarbonate to stabilize

ruminal pH in high-yielding dairy cows? **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 9, p.3528–3535, 2008.

MASSARO JUNIOR, F.L.; SILVA, L.D.F.; FORTALEZA, A.P.S.; BERAN, F.H.B.; CASTRO, V.S.; RIBEIRO, E.L.A.; BARBOSA, M.A.A.F.; BUMBIERIS JUNIOR, V.H.; MIZUBUTI, I.Y. e PRADO, O.P.P. Comportamento ingestivo e metabólico de bovinos alimentados com ração contendo probióticos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 6, suplemento 2, p. 4157-4166, 2013.

MILLER-WEBSTER, T.; HOOVER, W.H.; HOLT, M. e NOCEK, J. E. Influence of yeast culture on ruminal microbial metabolism in continuous culture. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 8, 2002.

MOALLEM, U.; LEHRER, H.; LIVSHITZ, L.; ZACHUT, M. e YAKOBY, S. The effects of live yeast supplementation to dairy cows during the hot season on production, feed efficiency, and digestibility. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 1, 2009.

MOUSA, K. M.; EL-MALKY, O. M.; KOMONNA, O.F. e RASHWAN, S.E. Effect of some yeast and minerals on the productive and reproductive performance in ruminants. **Journal of American Science**, v. 8, n. 2, 2012.

MOYA, D.; CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A.; BLANCH, M.; FANDIÑO, J. I.; CASTILLEJOS, L. e YOON, I. Effects of dietary changes and yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on rumen microbial fermentation of Holstein heifers. **Journal of Animal Science**, v.87, p.2874-2881, 2009.

MYERS, W.D.; LUDDEN, P.A.; NAYIGIHUGU, V. e HESS, B. W. Technical note: a procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. **Journal of Animal Science**, v.82, p.179-183, 2004.

NEWBOLD, C. J.; WALLACE, R. J.; CHEN, X. B. e MCINTOSH, F. M. Different strains of *Saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on ruminal bacterial numbers in vitro and in sheep. **Journal of Animal Science**, v.73, p.1811-1818, 1995.

ORSKOV, R.O. **Protein nutrition in ruminants**. London:Academic Press, 155p. 1982.

PEREIRA. E.S.; QUEIROZ, A.C.; PAULINO, M.F.; CECON, P.R.; VALADARES FILHO S.C.; MIRANDA, L. F.; ARRUDA, A.M. V.; FERNANDES, A. M. e CABRAL, L. S. Fontes nitrogenadas e uso de *Saccharomyces cerevisiae* em dietas à

base de cana-de-açúcar para novilhos: consumo, digestibilidade, balanço nitrogenado e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, supl, 2, p. 563-572, 2001.

PLATA, P.F.; MENDOZA, G.D.M.; BÁRCENA-GAMA, J.R. e GONZÁLEZ, S. M. Effect of a yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on neutral detergent fiber digestion in steers fed oat straw based diets. **Animal Feed Science and Technology**, v.49, p.203-210, 1994

PROHMANN, P.E.F. **Suplementação da dieta de bezerros em pastagem consorciada de aveia (*Avena strigosa schreb*) e azevém (*Lolium multiflorum lam*) com ou sem adição de cultura de levedura**. Tese – Doutorado em Zootecnia. Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, 117p. 2006.

PROHMANN, P.E.F.; BRANCO, A.F.; JOBIM, C.C.; CECATO, U.; TEIXEIRA, S.; PARIS, W.; GOES, R.H.T.B.; OLIVEIRA, M.V.M. e GRANZOTO, F. Suplementação e cultura de levedura na alimentação de bezerros de corte em pastagem de aveia e azevém. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, n.4, p.1165-1175, 2013.

SATTER, L.D. e SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial production in vitro. **British Journal of Nutrition**, v.32, n.2, p.199-208, 1974

SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J.; FOX, D. G. e RUSSELL, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 11, p. 3562-3577, 1992.

SULLIVAN, M. L. e BRADFORD, B. J. Viable cell yield from active dry yeast products and effects of storage temperature and diluent on yeast cell viability. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 1, p.526–531, 2011.

USHIDA, K.; LASSALAS, B.; JOUANY, J.P. Determination of assay parameters for RNA analysis in bacterial and duodenal samples by spectrophotometry. Influence of sample treatment and preservation. **Reproduction Nutrition Développement**, v.25, n.6, p. 1037-1046. 1985.

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

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B. e LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583-3597, 1991.

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

WEISS, W.P. Predicting energy values of feeds. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.1802-1811, 1993.

YALÇIN, S; YALÇIN, S; CAN, P.; GÜRDAL, A. O.; BAGCI, C. e ELTAN, Ö. The nutritive value of live yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) and its effect on milk yield, milk composition and some blood parameters of dairy cows. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 24, n. 10, p. 1377 – 1385, 2011.

ZHANG, R.; YOON, I.; ZHU, W. e MAO, S. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on lactation performance and lipopolysaccharide concentration of dairy cows. . **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 26, n.8, p.1137-1143, 2013.

IV – LEVEDURAS VIVAS EM SUPLEMENTOS PARA BOVINOS ALIMENTADOS COM FORRAGEM DE BAIXA QUALIDADE

RESUMO: Avaliou-se os efeitos da levedura viva como aditivo sobre o consumo, o ganho de peso, a eficiência alimentar e a digestibilidade dos nutrientes, em animais recebendo dieta composta por volumoso de baixa qualidade. Utilizou-se 40 novilhas cruzadas de aproximadamente 18 meses de idade, com peso médio inicial de 247±40 kg, distribuídos em cinco tratamentos em Delineamento Inteiramente Casualizado. Os animais receberam palha de *Brachiaria humidicola* cv. Llanero à vontade, e suplemento proteico de baixo consumo com 50% de proteína bruta (PB). Os tratamentos foram definidos pela inclusão de 0; 0,2%; 0,4%; 0,6% e 0,8% de levedura viva (*Saccharomyces cerevisiae* – NCYC 996 – 10 bilhões de UFC/g, LeSaffre®) no suplemento proteico. Observou-se consumo médio de MS de 6,1 kg/animal/dia, ganho médio diário de 206 g/animal/dia e eficiência alimentar de 0,04 kg/kg, sendo que os animais que receberam o aditivo apresentaram aumento de 5,8% no consumo, 34% no ganho médio diário e 25% na eficiência alimentar em relação ao controle. O uso da levedura viva como aditivo é uma forma de obter ganhos nos períodos em que a forragem disponível é de baixa qualidade.

PALAVRAS-CHAVE: alta fibra, fibra em detergente neutro, ingestão de matéria seca, palha de braquiária, probióticos, *Saccharomyces cerevisiae*.

IV - LIVE YEAST IN SUPPLEMENTS FOR CATTLE FED LOW QUALITY FORAGE

ABSTRACT: It was evaluated the effects of the use of yeast as an additive on intake, weight gain and feed efficiency in animals receiving low quality forage. There were used 40 crossbred heifers, approximately 18 months of age, with an average initial weight of 247 ± 40 kg, which were assigned to 5 treatments in delineament completely randomized design. The animals were fed chopped straw of *Brachiaria humidicola* cv.Llanero *ad libitum* and a protein supplement 50 % CP. Treatments consisted of the use of yeast (*Saccharomyces cerevisiae* - NCYC 996 -10 billion CFU/g, LeSaffre®) in the protein supplement as following: 0, 0.2 %, 0.4%, 0.6 % and 0.8 % of inclusion. Dry matter intake was 6.1 kg animal^d⁻¹.d⁻¹ average daily gain was 206 g d⁻¹ and feed efficiency of 0.04 kg kg⁻¹. Heifers receiving yeast showed increase of 5.8% on intake, 34% on daily gain and 25% on feed efficiency compared to control, however there was no significant difference ($p > 0.05$) due to treatments. The use of live yeast as an additive is a way to get gains in the periods when the available forage is of low quality.

Key words: dry matter intake, high fiber, neutral detergent fiber, probiotics, *Saccharomyces cerevisiae*, straw brachiaria grass.

INTRODUÇÃO

Em condições tropicais, como as observadas na maior parte do território brasileiro, produzir carne bovina o ano todo, e ainda manter a qualidade deste produto se torna um desafio para os pecuaristas, principalmente pelos longos períodos de estiagem. Na época da seca as pastagens apresentam baixa qualidade e baixa produção. Muitos pecuaristas adotam práticas adequadas de manejo de pastagem usando o diferimento de pastos para alimentar o rebanho nesse período, mas a qualidade da forrageira ainda será baixa, sendo necessária a utilização de suplementos que possam melhorar o aproveitamento dos nutrientes.

A baixa eficiência de utilização das gramíneas tropicais é pelo espessamento e aumento da lignificação da parede celular, comprometendo assim, a qualidade como alimento para os ruminantes. A digestibilidade decresce e aumenta o tempo de retenção ruminal, reduzindo o consumo voluntário (LAZZARINI et al., 2009). Desta forma, as fontes externas de nutrientes que garantam o desempenho animal ao longo do ano, trazendo sustentabilidade ao sistema são necessárias (HOFFMANN et al., 2014).

Assim, os fatores que regulam a eficiência do aproveitamento de nutrientes pelos animais têm sido cada vez mais discutidos entre os pesquisadores. Dentre eles a inclusão de aditivos nos suplementos proteicos. Estes são utilizados com a função de alterar o processo de fermentação ruminal, no sentido de intensificar a atividade microbiana e aumentar a eficiência produtiva dos ruminantes, reduzindo assim as perdas de peso que são comumente registradas em épocas de seca nos países tropicais como o Brasil.

De acordo com Mourão et al. (2012) face à proibição do uso de muitos promotores de crescimento na alimentação animal, o uso de aditivos considerados naturais está ganhando espaço, e entre eles se destacam os aditivos microbianos como as leveduras. Fato que tem motivado cada vez mais estudos sobre os possíveis efeitos e benefícios à produção animal.

De acordo com Krehbiel et al. (2003) os efeitos da levedura viva sobre o desempenho de bovinos são variáveis. Em algumas pesquisas, observou-se que houve melhora na eficiência alimentar e ganho de peso diário (cerca de 2,5%), com pequena mudança na ingestão de matéria seca. No entanto, o benefício mais listado pelos pesquisadores é a melhoria do ambiente ruminal, já que a levedura viva age como

tamponante, estabilizando o pH ruminal. Além disso, as leveduras vivas são responsáveis pela utilização do oxigênio presente no rúmen, melhorando o crescimento de microrganismos ruminais e, portanto, aumentando a digestibilidade dos nutrientes e fluxo de proteína microbiana (CHAUCHEYRAS-DURAND et al., 2008; MARDEN et al., 2008 ; DESNOYERS et al., 2009).

Pereira et al. (2001) pesquisando os efeitos do uso de *Sacharomyces cerevisiae* em bovinos alimentados com cana-de-açúcar, não observaram influências no consumo de matéria seca e nutrientes. Em revisão sobre uso de probióticos como aditivos na produção de bovinos de corte, Krehbiel et al. (2003) verificaram que em confinamentos o aumento de ganho de peso é cerca de 2,5 a 5% que corresponde de 6 a 7 kg na carcaça e de 2% em eficiência alimentar, embora os dados de consumo de matéria seca ainda sejam controversos. Além desses autores, Prohmann et al. (2013) analisando os efeitos do uso de levedura viva e outros aditivos em suplementos para bovinos jovens mantidos em pastagem, não observaram diferença para ganho de peso.

Ainda há muitas divergências sobre o uso de levedura viva para bovinos de corte. Vários autores falam sobre os efeitos benéficos sobre a digestibilidade da fibra que poderia culminar em maior consumo de matéria seca e ganho de peso como Plata et al. (1994); Mir e Mir (1994); Roa et al. (1997); Cabrera et al. (2000); Pereira et al. (2001); Guedes et al. (2008) e Prohmann et al. (2013), já outros autores mostram resultados positivos sobre ganho de peso e eficiência alimentar como Krehbiel et al. (2003). Assim, o objetivo na condução desta pesquisa foi estudar a inclusão de leveduras vivas em suplementos proteicos de baixo consumo e seus efeitos sobre o consumo, ganho de peso e eficiência alimentar em novilhas alimentadas com volumoso de baixa qualidade.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no setor de Avaliação de Alimentos para Animais Ruminantes da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), localizada no distrito de Iguatemi, e as análises químicas foram realizadas no Laboratório de Análise de Alimentos e Nutrição Animal (LANA), do Departamento de Zootecnia, da Universidade Estadual de Maringá.

Foram utilizadas 40 novilhas cruzadas com aproximadamente 18 meses de idade, sendo 20 animais ½ sangue Nelore x ½ sangue Hereford, e 20 animais ½ sangue Nelore x ½ sangue Red Angus, com peso médio inicial de 247±40 kg, distribuídos em

cinco tratamentos em Delineamento Inteiramente Casualizado. Os animais permaneceram em baias individuais, com piso concretado e dimensões de 6 m² cada, com comedouro individual e um bebedouro para duas baias.

Os animais receberam palha picada de *Brachiaria humidicola* cv. Llanero à vontade, que era fornecida três vezes ao dia, 08h30min, 12h30min e 16h30min, sendo que a composição da mesma é mostrada na Tabela 1. Essa palha é o resíduo da forragem após colheita de sementes da *Brachiaria* e para que esta fosse oferecida aos animais houve um processo de redução de partícula com uso de implemento acoplado a um trator, desta forma, a maioria das partículas tinham entre 10 e 20 cm, sendo que o material menor de 5 cm foi perdido pelo processo mecanizado de redução de partícula.

Além da palha, os animais receberam suplemento proteico contendo 50% de PB, fornecido diariamente na base de 0,15% do peso corporal (Tabela 1). Formulou-se a dieta para atender o mínimo exigido de proteína bruta para crescimento microbiano que de acordo com Van Soest (1994) é de aproximadamente 7%. Os tratamentos experimentais consistiram na inclusão de levedura viva (*Saccharomyces cerevisiae* – NCYC 996 – 10 bilhões de UFC/g, LeSaffre[®]) nos suplementos, nas seguintes doses: 0; 0,2; 0,4; 0,6 e 0,8% de levedura.

De acordo com Sullivan e Bradford (2011) a quantidade de células viáveis em probióticos à base de levedura viva pode mudar de acordo com a forma de armazenamento do aditivo. Desta forma, os ingredientes dos suplementos foram misturados a cada cinco dias e armazenado em tambores escuros mantidos em local seco e sem incidência de radiação solar, para que houvesse o mínimo de interferência do ambiente.

Tabela 1. Ingredientes e composição química das dietas em função da forragem e do suplemento utilizados nas dietas experimentais

Item	Levedura viva na dieta (% na MS)				
	0%	0,2%	0,4%	0,6%	0,8%
MS ofertada, kg	6,5	6,7	7,1	6,7	6,7
Forragem	6,2	6,3	6,8	6,3	6,3
Suplemento	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Composição do suplemento, %					
Milho moído	46,2	46,2	46,2	46,2	46,2
Farelo de trigo	25,0	24,8	24,6	24,4	24,2
Ureia	14,8	14,8	14,8	14,8	14,8
Premix mineral*	14,0	14,0	14,0	14,0	14,0
Levedura	0	0,2	0,4	0,6	0,8
% de nutrientes nas dietas					
	Forragem	Suplemento		Total	
MS	87,0	4,5		91,5	
PB, %MS	3,3	2,5		5,7	
FDNp, %MS	83,7	0,8		84,5	
FDA, %MS	46,0	0,3		46,3	
Lignina, %MS	6,9	0,1		7,0	
EE, %MS	0,3	0,3		0,6	
MM, %MS	5,4	1,5		6,9	
MO, %MS	89,6	3,4		93,0	
CNF ¹ , %MS	2,2	2,1		4,3	
CHOT ² , %MS	85,9	2,9		88,8	
NDT ³ , %MS	45,0	2,9		47,9	

*Cálcio: 11,1%, Cobalto: 21,0 ppm; Cobre: 1.450,0 ppm; Enxofre:12,8%; Fósforo:8,2%; Iodo: 60,0 ppm; Magnésio: 12,2%; Maganês: 2.700,0 ppm; Selênio: 15,0 ppm; Sódio: 7,4%; Zinco: 4.300,0 ppm;

¹Calculado de acordo com Van Soest et al. (1991) $CNF = 100 - [(FDN - FDNp) + Proteína + Extrato etéreo + Matéria mineral]$, em que FDNp=FDN corrigido para proteína;

²Cálculo de acordo com Sniffen et al. (1992) $CHO = 100 - PB - EE - MM$;

³Estimado de acordo com Weiss (1993) $NDT = 0,98 * (100 - FDNp - PB - MM - EE - 1) + 0,93 * PB + 2,25 * EE + 0,75 * (FDNp - Lig) * [1 - (Lig/FDNp)^{0,667}] - 7$, em que FDNp=FDN corrigido para proteína, Lig=Lignina.

O suplemento foi fornecido diariamente na base de 1,5g/kg de peso corporal dos animais, e oferecido em duas refeições diárias em comedouro separado do volumoso, para que houvesse o consumo total do tratamento avaliado. O ajuste individual para fornecimento do suplemento foi realizado após cada pesagem. A duração do experimento foi de 84 dias, com pesagens a cada 28 dias, considerando jejum de sólidos de 14 horas.

Ao longo do experimento foram realizadas amostragens da palha e das sobras de comedouro, observaram-se sobras apenas de volumoso. As sobras foram pesadas diariamente para determinar o consumo de matéria seca. Ao encerrar o período de alimentação foi possível avaliar o efeito da levedura viva sobre o consumo de matéria seca, desenvolvimento ponderal (ganho diário) e eficiência alimentar.

Para determinar a digestibilidade total dos nutrientes foram coletadas amostras de alimentos, sobras e fezes durante cinco dias consecutivos no segundo período experimental. A estimativa de produção fecal foi obtida através da utilização do indicador interno fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), que foi determinando por meio de incubação ruminal *in situ* por 288 horas das amostras de alimentos, sobras e fezes, como foi proposto por Detmann et al. (2012). Assim, estimou-se a produção fecal (PF) de acordo com a equação $PF_{kg/dia} = FDNi_{ingerido} (kg/dia) / \% \text{ de FDNi nas fezes}$. E a digestibilidade aparente (DA) dos nutrientes foi calculada através da equação:

$$DA = \left[\frac{\text{nutriente ingerido} - \text{excretado}}{\text{ingerido}} \right] * 100$$

As amostras dos alimentos, sobras e fezes foram analisadas para teores de MS, MO, PB e EE (AOAC, 1990) e FDN e FDA (VAN SOEST et al., 1991). Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram obtidos pela equação proposta por Van Soest et al. (1991):

$$CNF = 100 - [(FDN - PIDN) + PB + EE + MM]$$

Em que: CNF – carboidratos não fibrosos; FDN – fibra em detergente neutro; PIDN – proteína do resíduo de detergente neutro; EE – extrato etéreo e MM – matéria mineral.

Os carboidratos totais (CHO) e os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram obtidos conforme recomendações de Sniffen et al. (1992):

$$CHO = 100 - (PB + EE + MM)$$

Em que: CHO – carboidratos totais; PB – proteína bruta; EE – extrato etéreo e MM – matéria mineral.

$$NDT = PBD + FDND + CNFD + (EED * 2,25)$$

Em que: NDT – nutrientes digestíveis totais; PBD – proteína bruta digestível; FDND – fibra em detergente neutro digestível; CNF – carboidratos não fibrosos digestíveis e EED – extrato etéreo digestível.

O NDT estimado foi obtido de acordo com a equação de Weiss (1993):

$$NDT = 0,98 * (100 - FDNp - PB - MM - EE - 1) + 0,93 * PB + 2,25 * EE + 0,75 * (FDNp - Lig) * [1 - (Lig/FDNp)^{0,667}] - 7$$

Em que: NDT – nutrientes digestíveis totais; FDN_p – fibra em detergente neutro corrigido para proteína; PB – proteína bruta; MM – matéria mineral; EE – extrato etéreo; Lig – lignina.

A análise dos dados foi realizada com auxílio do Software estatístico SAS, utilizando delineamento inteiramente ao acaso, em que cada animal representa uma unidade experimental. O modelo matemático pode ser representado pela equação $Y_{ij} = \mu + t_i + e_{ij}$, em que: Y_{ij} é a observação feita na parcela para o tratamento i na repetição j ; μ representa a constante inerente a toda parcela; t_i representa o efeito do tratamento i ; e_{ij} é o erro experimental na parcela i, j . Adotou-se o $p < 0,05$ como significativo, e na faixa $0,05 < p < 0,10$ como tendência para todas as análises.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve efeito significativo ($p > 0,05$) do uso de levedura viva sobre o consumo, excreção fecal e digestibilidade aparente dos nutrientes em bovinos recebendo volumoso de baixa qualidade (Tabela 2). Pesquisadores como Cabrera et al. (2000) também não verificaram aumento significativo na digestibilidade dos nutrientes, quando avaliaram o uso de levedura viva para animais mantidos em pastagens tropicais recebendo suplementação diariamente.

Embora não tenha ocorrido efeito significativo, houve melhoria no consumo de nutrientes de 5,6%. Por outro lado, houve aumento de 7,0% na excreção fecal, reduzido a digestibilidade aparente dos nutrientes em 1% para os animais que receberam a levedura viva. No presente estudo, os consumos de MO, FDN e PB foram, respectivamente, 5,9; 6,0 e 4,1% maior para os animais que receberam leveduras vivas, resultados superiores aos obtidos por Pereira et al. (2001) que foram de 1,5; 1,7 e -2,5%, respectivamente, quando os animais receberam cana-de-açúcar como fonte de volumoso e suplementação proteica contendo levedura.

Embora o aumento médio no consumo de FDN e de FDA tenha sido de 6% para os animais que receberam o suplemento acrescido do aditivo, a excreção fecal também foi maior (cerca de 8%), não produzindo efeitos positivos na digestibilidade das fibras, já que o aumento da excreção fecal é inversamente proporcional a digestibilidade dos nutrientes.

O aumento na ingestão de PB de 4,1% para os animais que receberam os tratamentos com o aditivo microbiano, não foi suficiente para aumentar a

digestibilidade da MO, que foi apenas 1% maior em relação ao controle. Podendo ser explicado pela restrição proposital na proteína bruta e energia das dietas experimentais, assim, o crescimento dos microrganismos ruminais, principalmente os celulolíticos e hemicelulolíticos como *Butyrivibrio fibrosolvens*, *Bacteroides succinogenes*, *Ruminococcus albus* e *Ruminococcus flavefaciens*, podem ter sido limitados.

Tabela 2. Influência dos níveis de inclusão de levedura viva sobre o consumo e digestibilidade de nutrientes em novilhas recebendo dieta de baixa qualidade

Item	Levedura viva na dieta (% na MS)					EPM	Valor P		
	0%	0,2%	0,4%	0,6%	0,8%		Linear	Quadrática	
Consumo, g/dia									
MS ¹	5868	6052	6515	6078	6201	113,1	0,38	0,59	
MO ²	5449	5622	6057	5645	5764	105,84	0,19	0,27	
PB ³	361	369	389	373	372	5,64	0,21	0,26	
FDN ⁴	4929	5089	5492	5108	5224	97,35	0,19	0,27	
FDA ⁵	2700	2788	3010	2799	2863	53,43	0,19	0,27	
Excreção fecal*, g/dia									
MS	2891	2996	3178	3156	3052	68,41	0,19	0,28	
MO	2622	2716	2892	2861	2748	61,61	0,16	0,23	
PB	192	190	205	206	204	4,37	0,49	0,73	
FDN	2028	2112	2258	2233	2148	49,37	0,14	0,22	
FDA	1283	1322	1430	1411	1369	31,41	0,17	0,27	
Digestibilidade Aparente, %									
MS	50,72	50,66	51,21	48,25	50,93	0,44	0,55	0,65	
MO	51,87	51,85	52,24	49,49	52,42	0,43	0,45	0,49	
PB	46,85	48,50	47,34	44,71	45,31	0,71	0,82	0,53	
FDN	58,87	58,64	58,85	56,43	59,00	0,39	0,33	0,40	
FDA	52,45	52,75	52,46	49,79	52,35	0,45	0,45	0,61	
NDT ⁶ , %	50,53	50,46	50,69	48,19	50,90	0,41	0,40	0,45	

*Estimativa através do indicador interno fibra em detergente neutro indigestível. Excreção fecal=indicador ingerido/concentração de indicador nas fezes; ¹ Matéria Seca; ² Matéria Orgânica; ³ Proteína Bruta; ⁴ Fibra em detergente neutro; ⁵ Fibra em detergente ácido; ⁶ Nutrientes digestíveis totais calculados de acordo com Sniffen et al. (1992) NDT= PBD+CHOD+2,25*EED, onde PBD- proteína bruta digestível, CHOD- carboidratos totais digestíveis, EED- extrato etéreo digestíveis.

Não houve melhoria nos coeficientes de digestibilidade de FDN e de FDA, fato que pode ter ocorrido como resultado do valor limite de proteína na dieta (6%), da falta de carboidratos de maior fermentação ruminal e do pH ruminal estar na faixa de valores ideais para degradação da fibra, levando a situação em que não ocorreu desafio à ação das leveduras.

Os nutrientes digestíveis totais não foram influenciados pela adição de leveduras vivas na dieta (Tabela 2), discordando de Pereira et al. (2001) que quantificaram aumento de 8,4% no NDT em animais que receberam leveduras vivas na dieta, mas,

destaca-se, esses autores usaram 10 g/animal/dia, quantidade que representa quase 4 vezes o maior consumo observado nesse estudo.

De forma geral os dados de digestibilidade obtidos no presente estudo discordam da literatura. De acordo com Chaucheyras-Durand et al. (2008) a estabilização ruminal causada pela levedura viva resultaria em ganhos de consumo e digestibilidade. França e Rigo (2011) também afirmam que o consumo de aditivos microbianos além de aumentar a ingestão de alimentos resulta em maior disponibilidade de nutrientes para o animal, melhorando a digestibilidade e o desempenho.

De acordo com Moore et al. (1999) a proporção entre o NDT e a PB consumida é de grande importância para os ruminantes, assim estes autores sugerem que quando essa proporção é menor que 7, normalmente ocorre menor aproveitamento das fibras no rúmen. Os dados apresentados aqui mostram o valor de 7,9 para a proporção entre o NDT e a PB, podendo ter contribuído para a falta de proteína disponível no rúmen e não causar mudanças significativas nos parâmetros avaliados.

Para o consumo de matéria seca não houve diferença ($p>0,05$) em relação à adição de levedura viva na dieta de novilhas alimentadas com volumoso de baixa qualidade (Tabela 3). Cabrera et al. (2000) também não observaram diferença na ingestão de matéria seca para novilhos em crescimento, sendo indicado os fatores externos, como disponibilidade de forragem, um limitante para grandes mudanças de consumo. Todavia, neste experimento a oferta de forragem foi para atender o consumo voluntário mantendo sempre sobras de aproximadamente 10%. Os dados sugerem que houve enchimento físico do rúmen em virtude da grande quantidade de fibra presente na dieta de todos os tratamentos, ou ainda, que as características físicas da palha de braquiária (88% de FDN) tenha reduzido a capacidade ingestiva dos animais.

Autores como Plata et al. (1994), Oseguera et al. (1994) e Roa et al. (1997) afirmam que com maiores níveis de fibra de baixa qualidade poderia aumentar os efeitos benéficos da inclusão de levedura. No entanto, os dados publicados, sobre a inclusão de *Saccharomyces cerevisiae* em dietas de bovinos e seus efeitos sobre o consumo de matéria seca são inconsistentes pelos fatores externos, como a idade dos animais e a qualidade da dieta, que podem influenciar a ingestão de alimentos (KREHBIEL et al., 2003).

De acordo com Roa et al. (1997) e Dias-da-Silva et al. (2010) há interação entre as qualidade das fibras e a ação do aditivo composto por cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, podendo resultar em pequeno aumento de ingestão de alimentos. Apesar de

não ter ocorrido diferença significativa, os resultados deste estudo mostram o mesmo, e os animais que receberam o aditivo apresentaram consumo médio 6% maior em relação ao tratamento controle. Cabrera et al. (2000) observaram o valor bem maior para aumento no consumo de matéria seca proveniente da forragem, de aproximadamente 18%. Por outro lado, Moya et al. (2009) utilizando suplementação com 14g/animal/dia de *Saccharomyces cerevisiae* para novilhas holandesas verificaram aumento de apenas 2,9% no consumo de matéria seca.

É importante destacar, que esse incremento na ingestão de MS nem sempre é comprovado estatisticamente em pesquisas isoladas. Porém, a meta-análise realizada por Desnoyers et al. (2009) com dados de 157 experimentos, observou-se tendência ($p < 0,10$) ao aumento no consumo de matéria seca, fato confirmado por Bagheri et al. (2009); Yalçın et al. (2011) e Zhang et al. (2013), quando utilizaram leveduras vivas como aditivo para bovinos leiteiros recebendo pelo menos 30% de concentrado.

Não houve efeito significativo da inclusão de leveduras vivas na dieta para ganho de peso ($p > 0,05$) em novilhas recebendo dietas com volumoso de baixa qualidade e suplemento proteico contendo leveduras vivas (Tabela 3). As leveduras produzem maior estabilidade no meio ruminal (CHAUCHEYRAS-DURAND et al., 2008) podendo levar a ganhos de produção, que não foi observado no presente estudo, provavelmente pelo fato de não ter ocorrido distúrbios na fermentação ruminal, já que a dieta era composta predominantemente por forragem. França e Rigo (2011) destacam também que a suplementação com cepas de *Saccharomyces cerevisiae* pode aumentar o consumo de alimentos e com isso disponibilizar mais nutrientes para o animal, culminando em maior desempenho, fato que também não foi observado no presente estudo.

A grande variação nos resultados obtidos por pesquisadores que estudam os efeitos da adição de leveduras vivas em dietas de bovinos pode ser explicada por fatores como a estirpe utilizada, a natureza da dieta e o estado fisiológico do animal (CHAUCHEYRAS-DURAND et al., 2008). Nesta pesquisa, trabalhou-se com animais jovens de aproximadamente 18 meses, portanto, espera-se que houvesse ganhos significativos, no entanto, por causa do baixo consumo de proteína e carboidratos não fibrosos, estes, podem ter sido limitante para crescimento microbiano e produção de ácidos graxos de cadeia curta que são as principais fontes de aminoácidos e energia para os ruminantes.

Embora os dados de desempenho não tenham mostrado diferenças significativas, pode-se observar que o ganho de peso corporal total para os animais que receberam o

aditivo microbiano foi 36% maior (18,58 vs. 13,63 kg), e quando se considera apenas os animais que receberam o nível de inclusão de 0,8% essa diferença aumenta para 71% (23,38 vs. 13,63 kg). Esses dados estão acima do que foi publicado por Krehbiel et al. (2003), que em revisão de estudos publicados sobre a ação dos aditivos microbianos e seus efeitos sobre o desempenho animal, observaram que os ganhos em peso são cerca de 6 a 7 kg superiores. Porém, Prohmann et al. (2013), trabalhando com suplementação para animais jovens, observaram que houve aumento de apenas 1% no ganho de peso desses animais.

Os aditivos microbianos podem aumentar a eficiência alimentar de ruminantes, já que modificam o ambiente ruminal, favorecendo o crescimento e sobrevivência dos microrganismos (MOALLEN et al., 2009; ZEOULA et al., 2011; YALÇIN et al., 2011; ZHANG et al., 2013). O ganho em peso diário e a eficiência alimentar foram, respectivamente, 34 e 35% maior para os animais que receberam dieta com cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, sendo que os animais que receberam o suplemento proteico contendo 0,8% de inclusão apresentaram maior ganho diário e eficiência alimentar, da ordem de 55% e 61%, respectivamente, quando comparados ao controle.

Os dados quantificados nesta pesquisa estão bem acima dos que foram publicados por Krehbiel et al. (2003) que na média observaram melhoria de 2,5 a 5% para ganho de peso e 2% na eficiência alimentar de animais que receberam aditivos microbianos independente da cepa utilizada, da alimentação e do estado fisiológico dos animais; e abaixo dos que foram registrados por Knorr et al. (2005) que obtiveram acréscimo de 146% no ganho médio diário para os animais que receberam a levedura viva.

Tabela 3. Influência dos níveis de inclusão de levedura viva sobre o desempenho de novilhas recebendo dieta de baixa qualidade

Item	Levedura viva na dieta (% na MS)					EPM	Valor P	
	0%	0,2%	0,4%	0,6%	0,8%		Linear	Quadrática
PC ¹ , kg								
Inicial	244,9	245,1	252,7	250,9	241,2	3,32	0,33	0,30
Final	258,5	263,7	267,5	269,5	262,4	3,60	0,79	0,95
CLV ² , g/dia	0	0,67	1,37	2,05	2,64	0,15	<0,01	0,85
CMS ³ , g/dia	5868	6052	6515	6078	6201	113,1	0,38	0,59
Forragem	5535	5717	6173	5737	5871	110,0	0,38	0,59
Suplemento	333,0	335,6	343,0	341,5	330,4	4,35	0,97	0,86
GMD ⁴ , g/dia	162,2	221,0	175,6	221,9	251,5	21,96	0,80	0,95
GPT ⁵ , kg	13,63	18,56	14,75	17,64	23,38	1,81	0,87	0,55
EA ⁶ , g/kg	26,24	36,08	27,73	35,47	42,32	30,00	0,97	0,75

¹ Peso corporal; ² Consumo de levedura viva (*Saccharomyces cerevisiae* – NCYC 996 – 10 bilhões de UFC/g, LeSaffre®); ³ Consumo de matéria seca; ⁴ Ganho médio diário; ⁵ Ganho de peso total; ⁶ Eficiência alimentar = g de ganho/kg de MS consumida.

O teor de proteína bruta final da dieta, independente do tratamento utilizado, foi em média 6%. Abaixo do teor considerado como ideal para o crescimento microbiano que é de 7% (VAN SOEST, 1994). Assim, mesmo sabendo que quando a proteína ruminal é baixa, e normalmente ocorre a reciclagem dos compostos nitrogenados, que voltam para o rúmen através da saliva, pode-se inferir que o baixo teor de proteína e a falta de energia fermentável, comum em dietas com volumoso de baixa qualidade, limitou o crescimento microbiano. Prejudicando, portanto, a digestibilidade da matéria orgânica e nutrientes.

CONCLUSÃO

O uso da levedura viva não produziu ganhos adicionais ou melhoria na digestibilidade dos nutrientes que se diferenciasse através da estatística, provavelmente pelo baixo teor de proteína nas dietas, além de falta de carboidratos fermentáveis no rúmen.

REFERÊNCIAS

- AOAC. **Official methods of analysis**. 15th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, VA. 1990.
- BAGHERI, M; GHORBANI; G.R.; RAHMANI, H.R.; KHORVASH, M.; NILI, N. e SÜDEKUM, K. H. Effect of live yeast and mannan-oligosaccharides on performance of early-lactation holstein dairy cows. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 22, n. 6, p.812 – 818, 2009.
- CABRERA, E.J.I.; MENDONZA, M.G.D.; ARANDA, C.; GARCIA-BOJALIL, C.; BÁRCENA, G.R. e RAMOS, J.J.A. *Saccharomyces cerevisiae* and nitrogenous supplementation in growing steers grazing tropical pastures. **Animal Feed Science and Technology**, v. 85, p.49-55, 2000.
- CHAUCHEYRAS-DURAND, F.; WALKER, N.D. e BACH, A. Effects of active dry yeasts on the rumen microbial ecosystem: Past, present and future. **Animal Feed Science and Technology**, v.145, p. 5-26, 2008.
- DESNOYERS, M.; GIGER-REVERDIN, S.; BERTIN, G.; DUVAUX-PONTER, C. e SAUVANT, D. Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae*

supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 1620-1632, 2009.

DETMANN, E.; VALENTE, T.N.P. e SAMPAIO, C.B. Avaliação da fibra em detergente neutro indigestível e da fibra em detergente ácido indigestível. In: DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A.C.; BERCHIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; CABRAL, L.S.; PINA, D.S.; LADEIRA, M.M. e AZEVEDO, J.A.G. **Métodos para análise de Alimentos**. Visconde do Rio Branco, MG. Suprema, p.147-163, 2012.

DIAS-DA-SILVA, A.; GUEDES, C.; GOMES, M.J.; LOUREIRO, N.; BRÍZIDA, E.; MENA, E. e LOURENÇO, A. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* yeast (CNCM I-1077) on ruminal fermentation and fibre degradation. In: **Proc. NDF 2010, Role of Plant Cell Walls in Dairy Cow Nutrition**, p. 25-38. 2010.

FRANÇA, R.A. e RIGO, E.J. Utilização de leveduras vivas (*Saccharomyces cerevisiae*) na nutrição de ruminantes – uma revisão. **FAZU em Revista**, Uberaba, n. 8, p. 187-195, 2011.

GOMES, R.C.; ANTUNES, M.T.; SILVA, S.L. e LEME, P.R. Desempenho e digestibilidade de novilhos zebuínos confinados recebendo leveduras vivas e monensina. **Archivos de Zootecnia**, v. 60, p. 1077-1086. 2011.

GUEDES, C.M.; GONÇALVES, D.; RODRIGUES, M.A.M. e DIAS-DA-SILVA, A. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* yeast on ruminal fermentation and fibre degradation of maize silages in cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 145, p.27-40, 2008.

KNORR, M.; PATINO, H.O.; SILVEIRA, A.L.F.; MÜHLBACH, P. R. F.; MALLMANN, G. M. e MEDEIROS, F. S. Desempenho de novilhos suplementados com sais proteinados em pastagem nativa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v.40, n.8, p.783-788, 2005.

KREHBIEL, C. R.; RUST, S.R.; ZHANG, G. e GILLILAND, S. E. Bacterial direct-fed microbials in ruminant diets: Performance response and mode of action. **Journal of Animal Science**, v. 81(E. Suppl. 2), p.E120–E132, 2003.

MARDEN, J.P.; JULIEN, C.; MONTEILS, V.; AUCLAIR, E.; MONCOULON, R. e BAYOURTHE, C. How does live yeast differ from sodium bicarbonate to stabilize

ruminal pH in high-yielding dairy cows? **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 9, p.3528–3535, 2008.

MIR, Z. e MIR, P.S. Effect of the addition of live yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on growth and carcass quality of steers fed high-grain diets and on feed digestibility and in situ degradability. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 72, p. 537-545, 1994.

MOALLEM, U.; LEHRER, H.; LIVSHITZ, L.; ZACHUT, M. e YAKOBY, S. The effects of live yeast supplementation to dairy cows during the hot season on production, feed efficiency, and digestibility. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 1, 2009.

MOORE, J.E.; BRANT, M.H.; KUNKLE, W.E.; HOPKINS, D.I. Effects of supplementation on voluntary forage intake, diet digestibility, and animal performance. **Journal of Animal Science**, v.77, p.122-135, 1999.

MOURÃO, R.C.; PANCOTI, C.G.; FERREIRA, A.L.; VIVENZA, P. A. D.; VALENTINI, P. V.; BORGES, A. L. C. C. e SILVA, R. R. Aditivos alimentares para vacas leiteiras. **Revista eletrônica nutritime**, v.9, n. 05, p. 2011-2040, 2012.

MOYA, D.; CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A.; BLANCH, M.; FANDIÑO, J. I.; CASTILLEJOS, L. e YOON, I. Effects of dietary changes and yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on rumen microbial fermentation of Holstein heifers. **Journal of Animal Science**, v.87, p.2874-2881, 2009.

OSEGUERA, J.A.; MARTÍNEZ, G.D.M.; GAMA, R.B. e MUNOZ, S.S.G. Efecto de la adición de *Saccharomyces cerevisiae* y melaza-urea sobre la digestibilidad in vivo e in situ en dietas para ovinos basados em paja de cártamo. **Veterinaria México**, v.25, n.3, p.221-226, 1994.

PEREIRA, E.S.; QUEIROZ, A.C.; PAULINO, M.F.; CECON, P.R.; VALADARES FILHO S.C., ; MIRANDA, L. F.; ARRUDA, A.M. V.; FERNANDES, A. M. e CABRAL, L. S. Fontes nitrogenadas e uso de *Saccharomyces cerevisiae* em dietas à base de cana-de-açúcar para novilhos: consumo, digestibilidade, balanço nitrogenado e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, supl. 2, p. 563-572, 2001.

PLATA, P.F.; MENDOZA, G.D.M.; BÁRCENA-GAMA, J.R. e GONZÁLEZ, S. M. Effect of a yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on neutral detergent fiber digestion in steers fed oat straw based diets. **Animal Feed Science and Technology**, v.49, p.203-210, 1994

PROHMANN, P.E.F.; BRANCO, A.F.; JOBIM, C.C.; CECATO, U.; TEIXEIRA, S.; PARIS, W.; GOES, R.H.T.B.; OLIVEIRA, M.V.M. e GRANZOTO, F. Suplementação e cultura de levedura na alimentação de bezerros de corte em pastagem de aveia e azevém. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, n.4, p.1165-1175, 2013.

ROA, M.L.; BÁRCENA-GAMA, J.R.; GONZÁLEZ, M.S.; MENDOZA, G. M.; ORTEGA, M.E.C. e GARCIA, C. B. Effect of fiber source and yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*¹⁰²⁶) on digestion and the environment in the rumen of cattle. **Animal Feed Science and Technology**, v.64, p.327-336, 1997.

SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J.; FOX, D. G. e RUSSELL, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 11, p. 3562-3577, 1992.

SULLIVAN, M. L. e BRADFORD, B. J. Viable cell yield from active dry yeast products and effects of storage temperature and diluent on yeast cell viability. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 1, p.526–531, 2011.

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

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B. e LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583-3597, 1991.

WEISS, W.P. Predicting energy values of feeds. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.1802-1811, 1993.

YALÇIN, S; YALÇIN, S; CAN, P.; GÜRDAL, A. O.; BAGCI, C. e ELTAN, Ö. The nutritive value of live yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) and its effect on milk yield, milk composition and some blood parameters of dairy cows. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 24, n. 10, p. 1377 – 1385, 2011.

ZEOULA, L.M.; BELEZE, J. R. F.; MAEDA, E. M.; SIMIONI, F.L.; GERON, L.J.V. e RIGOLON, L.P. Levedura ou monensina na dieta de bovinos e bubalinos sobre a fermentação ruminal e eficiência microbiana. **Acta Scientiarum. Animal Science**, v.33, p.379-386, 2011.

ZHANG, R.; YOON, I.; ZHU, W. e MAO, S. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on lactation performance and lipopolysaccharide concentration of dairy cows. . **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 26, n.8, p.1137-1143, 2013.

V – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sugerem-se novas pesquisas com uso da levedura viva em dietas com grandes proporções de volumosos de baixa qualidade e suplementação proteica de baixo consumo, com a finalidade de caracterizar os microrganismos ruminais e a passagem de compostos resultantes da fermentação microbiana para o intestino.

Quanto aos níveis testados, sugere-se que a quantidade diária de levedura viva a ser consumida pelos animais seja aumentada, com a finalidade de determinar um ponto ótimo de inclusão do aditivo microbiano.

**VI – ANEXO I – NORMAS DA REVISTA ACTA SCIENTIARUM.
ANIMAL SCIENCES**



Diretrizes para Autores

POLÍTICA CONTRA PLÁGIO E MÁIS-CONDUTAS EM PESQUISA

Continuando nossa tradição de excelência, informamos as melhorias editoriais que visam fortalecer a integridade dos artigos publicados por esta revista. Em conformidade com as diretrizes do [COPE](http://publicationethics.org) (*Committee on Publication Ethics*), que visam incentivar a identificação de plágio, más práticas, fraudes, possíveis violações de ética e abertura de processos, indicamos:

1. Os autores devem visitar o website do COPE <http://publicationethics.org>, que contém informações para autores e editores sobre a ética em pesquisa;

2. Antes da submissão, os autores devem seguir os seguintes critérios:

- artigos que contenham aquisição de dados ou análise e interpretação de dados de outras publicações devem referenciá-las de maneira explícita;
- na redação de artigos que contenham uma revisão crítica do conteúdo intelectual de outros autores, estes deverão ser devidamente citados;
- todos os autores devem atender os critérios de autoria inédita do artigo e nenhum dos pesquisadores envolvidos na pesquisa poderá ser omitido da lista de autores;
- a aprovação final do artigo será feita pelos editores e conselho editorial.

3. Para responder aos critérios, serão realizados os seguintes procedimentos:

- a) Os editores avaliarão os manuscritos com o sistema [CrossCheck](#) logo após a submissão. Primeiramente será avaliado o conteúdo textual dos artigos científicos, procurando identificar plágio, submissões duplicadas, manuscritos já publicados e possíveis fraudes em pesquisa;
- b) Com os resultados, cabe aos editores e conselho editorial decidir se o manuscrito será enviado para revisão por pares que também realizarão avaliações;
- c) Após o aceite e antes da publicação, os artigos poderão ser avaliados novamente.

INSTRUÇÕES PARA SUBMISSÃO DE ARTIGOS:

1. *Acta Scientiarum. Animal Sciences* ISSN 1806-2636 (impresso) e ISSN 1807-8672 (on-line), é publicada trimestralmente pela Universidade Estadual de Maringá.
2. A revista publica artigos originais em todas as áreas relevantes da Zootecnia (Produção Animal), incluindo genética e melhoramento, nutrição e digestão, fisiologia e endocrinologia, reprodução e lactação, crescimento, etologia e bem-estar, meio ambiente e instalações, avaliação de alimentos e produção animal.
3. Os autores se obrigam a declarar a cessão de direitos autorais e que seu manuscrito é um trabalho original, e que não está sendo submetido, em parte ou no seu todo, à análise para publicação em outro meio de divulgação científica. Esta declaração encontra-se disponível abaixo.
4. Os dados, idéias, opiniões e conceitos emitidos nos artigos, bem como a exatidão das referências, são de inteira responsabilidade do(s) autor(es). A eventual citação de produtos e marcas comerciais não significa recomendação de seu uso por parte do comitê editorial da revista.
5. Os relatos deverão basear-se nas técnicas mais avançadas e apropriadas à pesquisa. Quando apropriado, deverá ser atestado que a pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética e Biossegurança da instituição.
6. Os artigos submetidos poderão ser em português ou inglês. Se aceitos para publicação será obrigatória a tradução para o inglês.
7. Os artigos serão avaliados por no mínimo três consultores da área de conhecimento da pesquisa, de instituições de ensino e/ou pesquisa nacionais e estrangeiras, de comprovada produção científica. Após as devidas correções e possíveis sugestões, o artigo será aceito se tiver dois pareceres favoráveis e rejeitado quando dois pareceres forem desfavoráveis.
8. Os artigos deverão ser submetidos pela internet acessando este **Portal ACTA**.
9. O conflito de interesses pode ser de natureza pessoal, comercial, política, acadêmica ou financeira. Conflitos de interesses podem ocorrer quando autores, revisores ou editores possuem interesses que podem influenciar na elaboração ou avaliação de manuscritos. Ao submeter o manuscrito, os autores são responsáveis por reconhecer e revelar conflitos financeiros ou de outra natureza que possam ter influenciado o trabalho. Os autores devem identificar no manuscrito todo o apoio financeiro obtido para a execução do trabalho e outras conexões pessoais referentes à realização do

mesmo. O revisor deve informar aos editores quaisquer conflitos de interesse que poderiam influenciar sobre a análise do manuscrito, e deve declarar-se não qualificado para revisá-lo.

10. A revisão de português e a tradução e/ou revisão de língua estrangeira serão de responsabilidade e custeados pelos autores dos artigos aceitos a partir de 2010, mediante comprovação emitida pelos revisores credenciados.

11. Estão listadas abaixo a formatação e outras convenções que deverão ser seguidas:

a) No processo de submissão deverão ser inseridos os nomes completos dos autores (no máximo seis), seus endereços institucionais e o e-mail do autor indicado para correspondência

b) Os artigos deverão ser subdivididos com os seguintes subtítulos: Resumo, Palavras-chave, Abstract, Key words, Introdução, Material e métodos, Resultados e discussão, Conclusão, Agradecimentos (Opcional) e Referências. Esses itens deverão ser em caixa alta e em negrito e não deverão ser numerados.

c) O título, com no máximo vinte palavras, em português e inglês, deverá ser preciso. Também deverá ser fornecido um título resumido com, no máximo, seis palavras, que não estejam citadas no título.

d) O resumo não excedendo 200 palavras, deverá conter informações sucintas sobre o objetivo da pesquisa, os materiais e métodos empregados, os resultados e a conclusão. Até seis palavras-chave deverão ser acrescentadas ao final, tanto do resumo como do abstract, que não estejam citadas no título.

e) Os artigos não deverão exceder 15 páginas digitadas, incluindo figuras, tabelas e referências. Deverão ser escritos em espaço 1,5 linhas e ter suas páginas e linhas numeradas. O trabalho deverá ser editado no MS-Word, ou compatível, utilizando Times New Roman fonte 12.

f) O trabalho deverá ser formatado em A4 e as margens inferior, superior, direita e esquerda deverão ser de 2,5 cm.

g) O arquivo contendo o trabalho que deverá ser anexado (transferido), durante a submissão, não poderá ultrapassar o tamanho de 2MB, bem como, não poderá conter qualquer tipo de identificação de autoria, inclusive na opção propriedades do Word.

h) Tabelas, Figuras e Gráficos deverão ser inseridos no texto, logo depois de citados. As Figuras e as Tabelas deverão ter preferencialmente 7,65 cm de largura, e não deverão ultrapassar 16 cm.

- i) As Figuras digitalizadas deverão ter 300 dpi de resolução e preferencialmente gravados no formato jpg. Ilustrações em cores não serão aceitas para publicação.
- j) Deverá ser adotado o Sistema Internacional (SI) de medidas.
- k) As equações deverão ser editadas utilizando software compatível com o editor de texto.
- l) As variáveis deverão ser identificadas após a equação.
- m) Artigos de Revisão poderão ser publicados mediante convite do Conselho Editorial ou Editor-Chefe da Eduem.
- n) A revista recomenda que oitenta por cento (80%) das referências sejam de artigos listados na base *ISI Web of Knowledge*, *Scopus* ou *SciELO* com menos de 10 anos. Recomenda-se dar preferência as citações de artigos internacionais. Não serão aceitos nas referências citações de dissertações, teses, monografias, anais, resumos, resumos expandidos, jornais, magazines, boletins técnicos e documentos eletrônicos.
- o) As citações deverão seguir os exemplos seguintes que se baseiam na ABNT (NBR 6023, 10520). Citação no texto, usar o sobrenome e ano: Lopes (2005) ou (LOPES, 2005); para dois autores Kevan e Imperatriz-Fonseca (2006) ou (KEVAN; IMPERATRIZ-FONSECA, 2006); três ou mais autores, utilizar o primeiro e após et al. (MENDOZA et al., 2009). Deverão ser organizadas em ordem alfabética, justificado. Listar todos os autores do trabalho. Os títulos dos periódicos deverão ser completos e não abreviados, sem o local de publicação.

MODELOS DE REFERÊNCIAS

Artigos

MENDOZA, F.; VALOUS, N. A.; ALLEN, P.; KENNY, T. A.; WARD, P.; SUN, D.W. Analysis and classification of commercial ham slice images using directional fractal dimension features. **Meat Science**, v. 81, n. 2, p. 313-320, 2009.

CARDOSO, V.; QUEIROZ, A. S.; FRIES, L. A. Estimativa de efeitos genotípicos sobre os desempenhos pré e pós-desmama de populações Hereford x Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 10, p. 1763-1773, 2008.

ÁVILA, C. L. S.; PINTO, J. C.; SUGAWARA, M. S.; SILVA, M. S.; SCHWAN, R. F. L. Qualidade da silagem de cana-de-açúcar inoculada com uma cepa de *Lactobacillus buchneri*. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 30, n. 3, p. 255-261, 2008.

Livros

HUI, Y. H.; NIP, W. K.; ROGERS, R.W.; YOUNG, O. A. **Meat science and applications**. Boca Raton: CRC Press, 2001.

KEVAN, P. G.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. **Pollinating bees: the conservation link between agriculture and nature**. 2nd ed. Brasília, DF: Secretariat for Biodiversity and Forests, 2006.

SOUZA, J. P. de; PEREIRA, L. B. Fatores influenciadores na competitividade da cadeia de carne bovina no Estado do Paraná. In: PRADO, I. N. do; SOUZA, J. P. de (Org.). **Cadeias produtivas: estudos sobre competitividade e coordenação**. Maringá: Eduem, 2007. p. 53-79.

Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. A contribuição é original e inédita e não está sendo avaliada por outra revista.
2. Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word, Open Office ou RTF (desde que não ultrapasse 2MB).
3. Todos os endereços de páginas da Internet, incluídas no texto (Ex: <http://www.eduem.uem.br>) estão ativos e prontos para clicar.
4. O texto está em empaço 1,5; usa uma fonte de 12-pontos Times New Roman; emprega itálico ao invés de sublinhar (exceto em endereços URL); com figuras e tabelas inseridas no texto, e não em seu final. No máximo 15 páginas.
5. O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos em [Diretrizes para Autores](#), na seção Sobre a Revista.
6. A identificação de autoria deste trabalho foi removida do arquivo e da opção propriedades do Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos), conforme instruções disponíveis em [Assegurando a Avaliação por Pares Cega](#).
7. O artigo submetido poderá ser em português ou inglês. Se aceito para publicação será obrigatória a tradução para o inglês