

CAMILA SOARES CUNHA

**LEVEDURA VIVA E LEVEDURA INATIVA AUTOLISADA COMO ADITIVOS
PARA BOVINOS**

Dissertação apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das
exigências do Programa de Pós-Graduação
em Zootecnia, para obtenção do título de
Magister Scientiae

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2012

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

C972L
2012

Cunha, Camila Soares, 1987-

Levedura viva e levedura inativa autolisada como aditivos
para bovinos / Camila Soares Cunha. – Viçosa, MG, 2012.
x, 38f. : il. ; 29cm.

Orientador: Cristina Mattos Veloso

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 33-38

1. Bovino. 2. Leveduras. 3. Acidose. 4. Rúmen.
5. Alimentos - Aditivos. I. Universidade Federal de Viçosa.
II. Título.

CDD 22. ed. 636.20852

CAMILA SOARES CUNHA

**LEVEDURA VIVA E LEVEDURA INATIVA AUTOLISADA COMO ADITIVOS
PARA BOVINOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*

Aprovada em 18 de julho de 2012.

Augusto César de Queiroz
(Coorientador)

Rogério de Paula Lana
(Coorientador)

André Soares de Oliveira

Cristina Mattos Veloso
(Orientadora)

Aos meus pais, Janio e Terezinha, e meu irmão, Bruno, alicerces da minha vida.

Ao Fernando, por todo carinho e companheirismo.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus por todas as oportunidades e graças recebidas em cada dia da minha vida, por sempre me dar força, coragem e determinação.

À Universidade Federal de Viçosa, por vários anos de aprendizado profissional e pessoal e, em especial, ao Departamento de Zootecnia, por todo suporte oferecido durante a realização deste curso.

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

À professora Cristina Mattos Veloso, pela oportunidade, pela excelente orientação, por toda atenção, carinho e confiança. Obrigada por todos os ensinamentos e por ser um exemplo de profissionalismo.

Ao professor Augusto César de Queiroz, pelo aprendizado, confiança e pela excelente contribuição neste trabalho.

Ao professor Rogério de Paula Lana, pelos ensinamentos, contribuições e apoio.

Ao professor Edenio Detmann, por toda ajuda e aprendizado, do início ao fim deste trabalho.

Ao professor Sebastião de Campos Valadares Filho, pelos ensinamentos e pela constante disposição de ajudar.

Ao amigo Mateus Pies Gionbelli, por tudo que me ensinou nos tempos de estagiária, pela amizade e pela ajuda com as análises estatísticas deste trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia, Natanael (Pum), Joécio, Dinei, Zezé, Monteiro, Valdir, Mário, Fernando, Wellington, Marcelo Cardoso, Fernanda, Celeste, Venâncio, Baiano, Mário, Rosana, Seu Jorge, pela ajuda e amizade.

Aos estagiários, Marco Aurélio, Alex, Amanda, Letícia, Yuri, Loren, Gercino, Vinícius, Marco, Leandro, Elias, Fernando, Igor, Mari e Antônio, pela amizade, paciência e ajuda mais que essencial para conclusão deste trabalho.

À equipe de trabalho, Tathy, Pedro, Julio e Léo, por serem prestativos, amigos e ajudarem na condução do experimento.

Aos amigos, Tati, Jéssika, Suellen, Amanda, Lidia, Julimara, Pricila, Marcos, João Paulo, Mateus, Erick, Laura, Luana, Márcia, Luiz Fernando, Poliana, Zanetti, Danilão, Palominha e Stefanie, pela ajuda, apoio, companheirismo e por inúmeros momentos alegres que passamos juntos durante todo o tempo de universidade.

Ao Fernando (meu melhor estagiário), pela ajuda, apoio, pelo carinho, amor e companheirismo. Sou eternamente grata a você!

A todos os meus primos, tios e avós, em especial, ao meu avô Nonô, que sempre torceram e rezaram por mim.

Aos meus pais, Janio e Terezinha, pelo incentivo, amor, carinho, amizade, pelo apoio incondicional, por acreditarem em mim e por todos os ensinamentos. Sem vocês, eu nunca teria conseguido!

Ao meu irmão, Bruno, pela confiança, incentivo e por ser um exemplo da alegria de viver!

A todos vocês, meu Muito Obrigada!

BIOGRAFIA

CAMILA SOARES CUNHA, filha de Janio de Oliveira Cunha e Terezinha de Jesus Soares Cunha, nasceu em Indianópolis, São Paulo, em 04 de junho de 1987.

Ingressou, em maio de 2006, na Universidade Federal de Viçosa, graduando-se em Zootecnia em julho de 2010.

Em agosto de 2010, iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia, concentrando seus estudos na área de Fisiologia da Produção, submetendo-se à defesa de Dissertação no dia 18 de julho de 2012.

SUMÁRIO

Resumo.....	vii
Abstract.....	ix
Introdução.....	1
Material e Métodos	9
Resultados e Discussão	16
Conclusões	33
Referências Bibliográficas	34

RESUMO

CUNHA, Camila Soares, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Julho de 2012. **Levedura viva e levedura inativa autolisada como aditivos para bovinos.** Orientadora: Cristina Mattos Veloso. Coorientadores: Augusto César de Queiroz e Rogério de Paula Lana.

Objetivou-se investigar o efeito da levedura viva e levedura inativa autolisada sobre consumo voluntário, coeficientes de digestibilidade, eficiência de produção de proteína microbiana, características do ambiente ruminal - pH, nitrogênio amoniacal ruminal (NAR), ácidos graxos voláteis (AGV) e balanço de compostos nitrogenados de bovinos alimentados com dietas de alto concentrado. O experimento foi conduzido entre novembro de 2010 e fevereiro de 2011. Foram utilizadas cinco novilhas Nelore, de aproximadamente dois anos de idade, com peso corporal médio inicial de $300 \pm 39,4$ kg, fistuladas no rúmen, distribuídas em delineamento em quadrado latino 5×5 , com cinco tratamentos e cinco períodos com 15 dias de duração. Destes 15 dias, sete foram destinados à adaptação dos animais e os oito dias restantes para realização de coletas de dados e material.. Avaliou-se cinco diferentes aditivos/níveis em uma mesma dieta basal: controle negativo (sem aditivos); controle positivo (bicarbonato de sódio e óxido de magnésio na proporção de 4:1 da matéria seca da dieta); levedura viva na dose de 10 g/animal/dia e levedura inativa autolisada nas doses de 15 e 30 g/animal/dia. As dietas experimentais consistiram de dois concentrados à base de milho e farelo de soja, que diferiam entre si somente pela presença ou não de bicarbonato de sódio e óxido de magnésio, contendo 20% de silagem de milho, base da matéria seca e calculada para proporcionar ganho de peso de 1,2 kg/animal/dia, segundo o NRC (2000). O uso de aditivos não alterou ($P > 0,05$) o consumo de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDN_{cp}), carboidratos não fibrosos (CNF) e nutrientes digestíveis totais (NDT). Somente o coeficiente de digestibilidade (CD) do EE foi influenciado ($P < 0,05$) pelos tratamentos, apresentando maiores valores para os tratamentos controle positivo e levedura autolisada na dose de 30 g/dia; o controle negativo foi o tratamento que apresentou a digestibilidade do EE mais baixa; os tratamentos levedura autolisada na dose de 15 g/dia e levedura viva não diferiram estatisticamente dos anteriores. Os demais CD, CDMS, CDMO, CDPB, CDFDN_{cp}, CDCNF e o teor de NDT não foram afetados ($P > 0,05$) pelos tratamentos. Não foram detectados efeitos ($P > 0,05$) dos

tratamentos sobre o consumo de nitrogênio, excreção fecal de nitrogênio, excreção urinária de nitrogênio, balanço de compostos nitrogenados, eficiência de utilização do nitrogênio em relação ao nitrogênio consumido e ao nitrogênio absorvido e eficiência de produção microbiana. Os tratamentos não influenciaram ($P>0,05$) a média do pH ruminal, a concentração de NAR, a produção total e proporções molares de AGV e a relação acetato:propionato. Os metabólitos sanguíneos avaliados, glicose, creatinina e ureia, não foram influenciados ($P>0,05$) pelos aditivos estudados.

ABSTRACT

CUNHA, Camila Soares, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2012. **Live yeast and inactive yeast autolyzed as additives to cattle.** Adviser: Cristina Mattos Veloso. Co-Advisers: Augusto César de Queiroz and Rogério de Paula Lana.

This study aimed to evaluate the effects of the live yeast and inactive yeast autolyzed on the voluntary intake, digestibility coefficient, efficiency of microbial protein synthesis, characteristics of the ruminal environment - pH, volatile fatty acids (VFA), rumen ammonia nitrogen (RAN), and balance of nitrogen compounds of cattle feed with high concentrate levels. The experiment was carried out from November, 2010 to February, 2011. Five Nellore heifers with $300 \text{ kg} \pm 39.5$ of initial body weight and fitted with rumen cannulae, were used and distributed in a 5×5 Latin square design, with five treatments, five animals and five experimental periods lasting 15 days. These 15 days were divided in seven days to the animal's adaptation and the other eight days were for the collection of data and materials. Five additives/levels in the same basal diet were evaluated, as follow: negative control (without additives); positive control (1% of the diet dry matter of sodium bicarbonate and magnesium oxide in the proportion of 4:1); live yeast (10 g/day); inactive yeast autolyzed in the doses of 15 and 30 g/day. The experimental diets consisted of two concentrates based on corn and soybean meal, that differed only by the presence or absence of sodium bicarbonate and magnesium oxide, containing 20% of corn silage, dry matter basis, and calculated to weight gain of 1.2 kg per animal per day, second NRC (2000). The use of additives didn't alter ($P>0.05$) dry matter intake (DM), and intake of organic matter (OM), crude protein (CP), ether extract (EE), neutral detergent fiber corrected for ash and nitrogenous compounds (NDF_{ap}), non-fiber carbohydrates (NFC) and total digestible nutrients (TDN). Only the EE digestibility coefficient was influenced ($P<0.05$) by the treatments, showing higher values to the treatments positive control and inactive yeast autolyzed in the dose of 30 g/day; the negative control was the treatment that presented the lower EE digestibility coefficient; the treatments inactive yeast autolyzed in the dose of 15 g/day and live yeast didn't differ from the others. The digestibility coefficient of DM, OM, CP, NDF_{ap} , NFC and the content of TDN were not affected ($P>0.05$) by the treatments. Effects were not detected ($P>0.05$) among treatments on the nitrogen intake, fecal nitrogen excretion, urinary excretion of nitrogen, balance of nitrogen compounds, nitrogen utilization efficiency in relation to N intake and to N absorbed and efficiency

of microbial protein synthesis. There were no treatments effects ($P>0.05$) on the ruminal pH average, RAN, total production and molar ratio of VFA and in the ratio acetate:propionate. The evaluated blood metabolites, glucose, creatinin and urea, were not influenced ($P>0.05$) by the studied additives.

INTRODUÇÃO

A crescente demanda por sistemas de produção mais eficientes traz, como consequência, a exigência de maiores produções por unidade de área. Sendo assim, o confinamento de bovinos, tanto para carne, quanto para leite, constitui uma alternativa que, quando implementada com propriedade, se mostra extremamente viável.

Uma das características do confinamento de bovinos é o uso de dietas com elevada concentração energética em detrimento de altas proporções de fibra, visto que este sistema de criação exige consideráveis retornos para compensar o alto investimento inicial e tem por objetivo a otimização do desempenho animal.

Devido à maior densidade nutricional, a quantidade de produto final (carne ou leite) que pode ser produzido por unidade de massa dietética dos concentrados é maior do que da forragem. Por outro lado, os dois grupos de ingredientes apresentam perfil de fermentação distinto no rúmen e, por serem substratos não fibrosos e fibrosos, respectivamente, têm, portanto, diferentes espécies de microrganismos que os degradam e aproveitam. Desta forma, os produtos finais da fermentação de ambos os tipos de alimento serão sintetizados em maior ou menor escala, conforme a proporção dos substratos disponíveis e a fauna fermentadora/utilizadora dos mesmos. Tais produtos finais, produzidos na fermentação, caracterizam os parâmetros de ambiente ruminal mais relevantes em estudos de nutrição, dentre os quais se destacam os ácidos graxos voláteis (AGV), o pH e o nitrogênio amoniacal ruminal (NAR).

A fermentação dos nutrientes no rúmen resulta na produção dos AGV e outros ácidos, como ácido lático. O pH do rúmen oscila dependendo da taxa de fermentação, do tipo de nutrientes fermentados, da saúde da parede do rúmen, da taxa de passagem, entre outros fatores.

Em situações em que se usam dietas com elevada proporção de carboidratos altamente fermentáveis no rúmen, ocorre diminuição das bactérias utilizadoras de lactato (*Megasphaera elsdenii* e *Selenomonas ruminantium*) e aumento daquelas que sintetizam este produto (*Streptococcus bovis* e *Lactobacillus ssp.*), ocorrendo acúmulo não-fisiológico de ácido lático no rúmen e consequente redução do pH ruminal (Owens & Goestch, 1993).

Uma das mais importantes modificações é a alteração dos produtos finais sintetizados pela bactéria *Streptococcus bovis*, que deixa de produzir acetato, etanol e formato, quando cultivada em pH acima de 6,0, para produzir lactato como principal produto final da fermentação, em pH menor que 5,5, sendo este o microrganismo responsável pela maior parte do lactato produzido no rúmen durante a acidose (Asanuma & Hino, 2002).

Dentre os protozoários ciliados, *Dasytricha* e *Isotricha* aumentam a síntese de ácido lático em situações em que a disponibilidade de carboidratos fibrosos é baixa (Slyter, 1976).

Sempre que a quantidade de produtos finais da fermentação é excessiva, a taxa de passagem do rúmen ou a taxa de absorção é inadequada, ou a neutralização com os tamponantes insuficiente, o pH do rúmen diminui. Essa redução do pH conduz, geralmente, a mudanças na população microbiana, na integridade da parede ruminal, na fisiologia e no metabolismo do animal. Quando tal fato acontece, o animal entra em um quadro denominado acidose. Além dos distúrbios de saúde potenciais que a acidose ruminal pode causar, a doença pode, igualmente, impactar na digestão ruminal da fibra (Beauchemin, 2000) e da proteína (Bach *et al.*, 2005) e pode conduzir a um consumo alimentar inadequado (Nocek, 1997), gerando graves danos à produção.

Outras consequências da acidose ruminal podem ser citadas, como redução da salivação, redução da motilidade intestinal, redistribuição da água corporal, mudanças na taxa de remoção de compostos tóxicos pelo corpo e danos ao rúmen, fígado e outros tecidos (Slyter, 1976). Além disso, o crescimento excessivo de algumas bactérias, como *Streptococcus bovis*, causa aumento da viscosidade do fluido ruminal, aumentando as chances de ocorrência de timpanismo espumoso (Cheng *et al.*, 1998).

A causa principal de acidose ruminal é o acúmulo de ácido neste compartimento gástrico. Os tipos de ácidos que podem ser acumulados diferem em sua habilidade de reduzir o pH do rúmen. Por exemplo, o acetato é mais eficaz do que o propionato e o butirato em reduzir o pH ruminal devido ao seu menor valor de pKa, comparado àqueles do propionato e do butirato. Entretanto, essas diferenças são relativamente pequenas, quando comparadas à capacidade acidogênica do ácido láctico, que apresenta pKa de 3,9; lembrando que os AGV têm um pKa aproximado de 4,8. A implicação dessas diferenças é que, quando a fermentação ruminal produz muito ácido láctico, a probabilidade de reduzir o pH do rúmen é muito maior do que quando os produtos finais da fermentação são principalmente os AGV (Bach, 2009).

Além do ácido láctico, alguns compostos tóxicos também estão associados às patologias causadas pela acidose ruminal, como aminas e endotoxinas bacterianas (Nagaraja & Titgemeyer, 2007).

Dentre as aminas, a histamina tem sido estudada como uma das causas da laminite, devido ao seu poder vasodilatador e ao fato de seu acúmulo no rúmen ocorrer justamente em situações de baixo pH (Nagaraja & Titgemeyer, 2007).

A concentração das endotoxinas é maior no fluido ruminal de animais alimentados com dieta de alto grão, o que, provavelmente, está associado às condições de ambiente ruminal criadas por este tipo de alimentação, como, por exemplo, o baixo

pH. Ocorre um aumento na concentração de endotoxinas livres no rúmen, que causa a redução na motilidade retículo-ruminal, agravando o quadro de acidose (Nagaraja & Titgemeyer, 2007).

Com o objetivo de aumentar a produção, seja de carne ou de leite, muitos produtores aumentam, consideravelmente, a participação de concentrados na dieta, chegando a níveis de 80 e, até mesmo, de 90%. Para os animais submetidos a dietas semelhantes a esta, é sabido da necessidade de utilização de algum ingrediente capaz de minimizar a redução do pH, evitando a ocorrência das alterações fisiológicas já citadas.

Dentre estes ingredientes, podem ser citados os tamponantes, como o bicarbonato de sódio, o sesquicarbonato de sódio e o calcário calcítico, ou os alcalinizantes, como o óxido de magnésio, que podem ser utilizados individualmente ou em associação.

Outra alternativa se constitui no uso de leveduras, em suas várias formas. No entanto, há carência, na literatura, de dados práticos sobre a utilização de aditivos que possam responder adequadamente e, além disso, a maioria dos estudos disponíveis não foi conduzida nessas condições de dietas com alta participação de concentrado, o que certamente dificulta o entendimento das respostas.

Denev *et al.* (2007) citam que as respostas produtivas de animais sob suplementação com leveduras podem atingir até 30% de aumento na produção de leite e 20% no ganho do peso. Fortina *et al.* (2011) constataram maior eficiência alimentar quando vacas em lactação foram suplementadas com cultura de levedura inativa.

Vale ressaltar que os efeitos das leveduras, listados na literatura, são bastante inconsistentes. O tipo de cepa, o nível de suplementação, o tipo de forrageira, a relação volumoso:concentrado e o estado fisiológico do animal são fatores que interferem nas

respostas obtidas em bovinos suplementados com leveduras (Williams *et al.*, 1991; Newbold *et al.*, 1994; Wallace, 1996).

Os trabalhos encontrados na literatura são variáveis quanto ao tipo de suplemento utilizado. Em sua maioria, são utilizadas as inúmeras cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, em diferentes meios de cultura, ou somente suas células vivas. Estas diferem basicamente pela quantidade de células viáveis, sendo que, ao suplementar um animal com a levedura viva, provêm-se mais células viáveis do que quando se faz uso das culturas de leveduras. Em relação aos efeitos, em estudo *in vitro*, Lynch & Martin (2002) observaram somente pequenas diferenças entre estes suplementos, sem significado biológico aparente.

Por outro lado, mesmo que em menor frequência, também é testada a capacidade das leveduras mortas, que podem ser autolisadas, autoclavadas ou hidrolisadas, em manter as funções do ambiente ruminal.

A habilidade da levedura ativa (ou viva) em controlar as concentrações de ácido láctico no rúmen foi relatada em animais canulados (Williams *et al.*, 1991) e em incubações de microrganismos do fluido ruminal *in vitro* (Lynch & Martin, 2002; Lila *et al.*, 2004). Essa habilidade pode ser atribuída ao fato de alguma cepa de *Saccharomyces cerevisiae* possuir superioridade em relação ao *Streptococcus bovis* na utilização dos açúcares, conseqüentemente, limitando o volume de ácido láctico produzido (Chaucheyras *et al.*, 1996).

Adicionalmente, outros dois principais modos de ação são amplamente descritos na literatura, para a levedura viva, sendo estes relacionados ao fornecimento de fatores estimulatórios às bactérias do rúmen e à absorção do oxigênio que entra no ambiente ruminal (Martin & Nisbet, 1992).

Os fatores estimulatórios podem ser vitaminas ou os ácidos dicarboxílicos, principalmente o ácido málico, que são fornecidos pelas leveduras e servem como substrato para as bactérias utilizadoras de ácido lático, promovendo o crescimento e a proliferação destes microrganismos, favorecendo sua atividade e, portanto, contribuindo para maior consumo do ácido lático produzido no rúmen, gerando menor flutuação do pH ruminal (Martin & Nisbet, 1992).

O segundo modo de ação é devido à capacidade respiratória da levedura ser elevada em relação à quantidade de oxigênio presente no rúmen. Segundo Newbold *et al.* (1996), pequenas concentrações de oxigênio presentes no alimento e na saliva podem adentrar ao rúmen, apesar de se tratar de um compartimento estritamente anaeróbio. Sendo assim, a grande afinidade das leveduras pelo oxigênio melhora o ambiente ruminal para os microrganismos anaeróbios por intermédio da retirada do oxigênio do meio. Dessa forma, são favorecidos o crescimento e a atividade das bactérias ruminais, principalmente das celulolíticas, com conseqüente melhoria da digestibilidade da matéria seca, em especial da fibra.

Segundo Orskov & Ryle (1990), a degradabilidade da matéria seca e da fibra aumenta quando o pH ruminal é maior que 6,2 e esta faixa de pH pode ser alcançada com a utilização das leveduras, culminando com a melhoria na degradabilidade da matéria seca. Além disso, também podem ser observadas uma melhor utilização da amônia e maiores síntese e fluxo de proteína microbiana para o duodeno, como resultado da maior atividade das bactérias no rúmen. Como conseqüência, o desempenho animal será melhor, visto que todos estes fatores podem levar ao maior consumo de matéria seca e eficiência no metabolismo energético (Newbold *et al.*, 1996; Chaucheyras & Fonty, 2001).

Em trabalhos *in vitro*, foi reportado que as leveduras também são capazes de reduzir a emissão de gás metano e tornar mais eficiente o aproveitamento da energia da dieta. Chaucheyras *et al.* (1995) observaram que, na presença da cultura de leveduras, os hidrogênios livres presentes no rúmen foram, principalmente, utilizados pelas bactérias acidogênicas. O contrário ocorreu na ausência da cultura de leveduras, quando os hidrogênios livres foram preferencialmente utilizados pelas arqueobactérias metanogênicas.

Um dos resultados mais consistentes da suplementação com levedura viva em ruminantes é o aumento do número de células bacterianas ruminais. Wallace & Newbold (1993) e Newbold *et al.* (1996) relataram significativo incremento nas bactérias viáveis no rúmen dos animais suplementados com levedura.

Não apenas as culturas de levedura e as leveduras vivas, mas também outras formas de leveduras têm recebido atenção de pesquisadores. Dentre elas estão as leveduras inativas, sendo a levedura inativa autolisada, utilizada neste estudo, um exemplo. Um dos principais entraves à sua utilização na pecuária é a inconsistência das respostas obtidas nas pesquisas.

Com relação aos mecanismos de ação, a levedura inativa não pode agir no rúmen da mesma forma que a levedura viva, devido à ausência de atividade biológica. Dessa forma, dos três mecanismos descritos acima para a ação da levedura viva, a levedura inativa só atua fornecendo fatores estimulatórios aos microrganismos do rúmen. Ainda assim, acredita-se que a levedura inativa tenha potencial para ser utilizada como aditivo na prevenção da acidose ruminal.

Oeztuerk (2009) testou os efeitos da levedura viva e da levedura inativa autoclavada sobre a fermentação ruminal *in vitro*. Ele concluiu que ambas, levedura viva e autoclavada, aumentaram a produção diária individual e total de AGV e o teor de

nitrogênio amoniacal ruminal (NAR) e não demonstraram efeito sobre a digestibilidade da matéria orgânica. Com relação ao pH, houve uma leve redução (0,03 unidades) no tratamento com levedura autoclavada em comparação com a não utilização de aditivos. Dawson *et al.* (1990), trabalhando com dietas com alto volumoso, não detectaram diferenças entre o tratamento controle (sem leveduras) e o tratamento no qual se utilizou como aditivo a levedura inativa sobre pH ruminal, concentração total e individual de AGV, proporção acetato:propionato e concentração de NAR.

A levedura autolisada pode ser obtida por autodigestão enzimática das proteínas e de outros componentes celulares, ou por meio da utilização de ácidos ou enzimas para hidrolisar a célula (hidrolisados), ou, ainda, por ruptura, usando pressão osmótica e expondo as leveduras a uma solução com elevada concentração de sais (Amorim & Lopes, 2009).

A partir das considerações feitas, a execução deste trabalho teve como objetivo estudar o efeito da levedura viva e levedura inativa autolisada sobre o consumo voluntário, coeficientes de digestibilidade, eficiência de produção de proteína microbiana, características do ambiente ruminal (pH, NAR e AGV) e balanço de compostos nitrogenados de bovinos alimentados com dietas de alto concentrado.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado durante o período de novembro de 2010 a fevereiro de 2011, nas instalações do Laboratório de Animais do Departamento de Zootecnia (DZO) da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

Foram utilizadas cinco novilhas Nelore, de aproximadamente dois anos de idade, com peso vivo médio inicial de $300 \pm 39,4$ kg, originárias de rebanho comercial, fistuladas no rúmen. Os animais foram distribuídos em delimitação em quadrado latino 5x5, com composto por cinco períodos experimentais com 15 dias de duração cada, sendo os primeiros sete dias para adaptação dos animais e o restante para coleta de dados e materiais.

Ao chegar ao local experimental, os animais foram pesados, identificados, alojados em baias individuais, cobertas, com piso de concreto, com área de 6 m²/baia, dotadas de comedouros de alvenaria e bebedouros individuais, e contidos por cabrestos e correntes

Foram avaliados cinco aditivos/níveis em uma mesma dieta basal, como se segue: sem aditivo (controle negativo); bicarbonato de sódio e óxido de magnésio na proporção de 4:1 a 1% da matéria seca da dieta (controle positivo); 10 g/animal/dia de levedura viva; 15 g/animal/dia de levedura inativa autolisada; 30 g/animal/dia de levedura inativa autolisada. As dosagens de levedura utilizadas foram estipuladas conforme recomendação do fabricante.

A dieta total, constituída por silagem de milho e concentrado à base de milho e farelo de soja (Tabela 1), foi fornecida duas vezes ao dia, às 7h00 e às 15h00. A relação volumoso:concentrado utilizada foi de 20:80 (Tabela 2), sendo a dieta calculada para proporcionar ganho de peso de 1,2 kg por animal por dia, segundo o NRC (2000).

Diariamente, foi realizado ajuste do alimento fornecido, calculado de acordo com as sobras, que foram mantidas entre 5 e 10% da alimentação oferecida.

Tabela 1 - Composição química dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais.

Item	Milho silagem	Milho grão moído	Farelo de soja
Matéria seca	236,1	852,3	892,3
Matéria orgânica ¹	949,0	987,1	935,5
Proteína bruta ¹	73,9	90,1	503,8
Extrato etéreo ¹	20,7	31,8	11,9
Fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína ¹	522,2	128,5	103,7
Carboidratos não fibrosos ¹	332,1	736,7	316,1
Matéria mineral ¹	51,0	12,9	64,5

¹ g/Kg MS

Tabela 2 – Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais.

Ingrediente	Sem NaHCO ₃ + MgO		Com NaHCO ₃ + MgO	
	Concentrado	Dieta	Concentrado	Dieta
Milho silagem		20,00		20,00
Milho grão	82,80	66,24	80,97	64,78
Farelo de soja	14,95	11,96	15,53	12,42
Premix mineral	0,02	0,02	0,02	0,02
Calcário	1,00	0,80	1,00	0,80
Bicarbonato de sódio	-	-	0,71	0,57
Óxido de magnésio	-	-	0,18	0,14
Sal comum	0,27	0,22	0,61	0,49
Ureia	0,93	0,74	0,94	0,75
Composição nutricional				
Matéria seca	86,10	0,74	86,30	0,74
Matéria orgânica	96,70	0,96	95,40	0,95
Proteína bruta	17,50	0,15	17,60	0,15
Extrato etéreo	2,80	0,02	2,80	0,02
Fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína	12,20	0,20	12,00	0,20
Carboidratos não fibrosos	65,70	0,59	64,60	0,58
Matéria mineral	3,30	0,04	4,60	0,05

A silagem de milho utilizada, proveniente de um silo de superfície, não apresentou as características desejadas de odor e cor. Isso ocorreu, provavelmente,

devido à entrada de água no silo, visto que o experimento foi conduzido em uma época de grande volume de chuvas. Dessa forma, a silagem apresentou baixo teor de matéria seca, interferindo em sua qualidade.

As leveduras de cana (*Sacharomyces cerevisiae*), viva e inativa, foram infundidas no rúmen imediatamente após o fornecimento da alimentação, pela manhã e à tarde. Para tanto, as quantidades foram previamente pesadas em cartuchos de papel com metade da dose a ser fornecida por dia, para que, após as duas infusões, fosse alcançada a dose diária desejada.

O bicarbonato de sódio e o óxido de magnésio foram misturados ao concentrado no momento da preparação do mesmo.

Do 8º ao 13º dia de cada período, no momento da alimentação, foram feitas amostragens diárias da silagem de milho. Os ingredientes que compõem o concentrado foram amostrados na fábrica de ração, no momento da confecção desta, uma vez por período. Do 9º ao 14º dias, foram amostradas as sobras. Ao final de cada período, foram confeccionadas amostras compostas por animal, que foram acondicionadas em sacos plásticos e congeladas.

Posteriormente, as amostras foram descongeladas e pré-desidratadas em estufa de ventilação forçada a 65 °C, por 72 horas.

A coleta total de fezes foi realizada em três dias alternados, no 9º, 11º e 13º dias, sendo sempre iniciada às 6h00, prolongando-se por 24 horas. Ao final de cada dia, foram amostrados, pesados e pré-desidratados, em estufa de ventilação forçada a 65 °C, por 72 horas, 5% do total defecado por cada animal.

As amostras de alimentos, sobras e fezes foram processadas a 1 mm, em moinho de facas. Todas as amostras, devidamente moídas, foram acondicionadas em frasco plástico com tampa e armazenadas para futuras análises.

As análises químicas de alimentos, sobras e fezes foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do DZO/UFV e compreenderam a avaliação dos teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e matéria mineral (MM), as quais foram realizadas conforme as especificações descritas por Silva & Queiroz (2002). A análise do teor fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e compostos nitrogenados (FDN_{cp}) foi realizada segundo Mertens (2002), utilizando-se α -amilase termoestável e omitindo-se a utilização de sulfito de sódio. A correção para os teores de cinzas e compostos nitrogenados foram realizadas segundo Mertens (2002) e Licitra (1996).

O teor de carboidratos não fibrosos (CNF) foi calculado como proposto por Detmann e Valadares Filho (2010), sendo: $CNF = 100 - \%PB - \%FDN_{cp} - \%EE - \%Cinzas$.

Os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram calculados segundo Weiss (1999), pela seguinte equação: $NDT (\%) = PBd + FDN_{cpd} + CNFd + 2,25 EEd$, em que: PBd = proteína bruta digestível; FDN_{cpd} = fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e compostos nitrogenados; CNFd = carboidratos não fibrosos digestíveis; EEd = extrato etéreo digestível.

Foi determinado o consumo de cada um dos componentes (MS, MO, PB, EE, FDN_{cp} e CNF), em kg/dia e em g/kg de peso corporal/dia (g/kg PV/dia).

As coletas de líquido ruminal e sangue foram realizadas em quatro horários, às 6h00, 12h00, 18h00 e 24h00 do 14º dia de cada período experimental. A amostragem do fluido ruminal foi realizada de forma manual, na interface líquido:sólido deste compartimento.

Para avaliação do pH e concentração de nitrogênio amoniacal ruminal (NAR), realizou-se a filtragem das amostras de fluido ruminal em gaze e a leitura do pH foi

efetuada imediatamente, no líquido ruminal, utilizando-se potenciômetro (pHmetro). Por fim, o pH médio diário foi considerado como a combinação de todos os horários de leitura realizados em um período.

Amostras de 50 mL foram acondicionadas em recipientes plásticos contendo um mL de solução de ácido sulfúrico (1:1), para análise do NAR. A avaliação do teor de NAR foi realizada segundo técnica colorimétrica, descrita conforme Chaney e Marbach (1962). A concentração média diária de NAR foi obtida por meio da média aritmética das concentrações em cada horário de coleta.

Também foi realizada amostragem de líquido ruminal para determinação dos ácidos graxos voláteis (AGV) – acético, propiônico e butírico. Uma alíquota de 10 mL de líquido ruminal foi adicionada a um frasco contendo 10 mL de ácido metafosfórico a 25%, em cada horário de coleta, formando uma amostra composta por período, a qual foi congelada a -20 °C para posterior avaliação do teor de AGV. A análise foi realizada em Cromatógrafo Líquido de Alto Desempenho (HPLC), marca Shimadzu, modelo SPD-10A VP, acoplado a um detector ultravioleta (UV), utilizando-se comprimento de onda de 210 nm.

Os AGV foram separados em uma coluna C 18 (fase reversa), da marca BIORAD (25 cm x 4,5 mm de diâmetro), com fluxo de 0,6 mL/minuto e pressão de 124 Kgf. A fase móvel utilizada foi água em 1% de ácido ortofosfórico. Por fim, foi determinada a relação acetato:propionato.

O sangue foi amostrado, diretamente da veia jugular, em tubos com gel separador e, posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 2500 rpm por 20 minutos. O soro foi acondicionado em *ependorffs* e congelado para posteriores análises de glicose, nitrogênio ureico e creatinina.

As análises dos teores de glicose e creatinina foram realizadas pelo método enzimático colorimétrico e a do teor de ureia pelo método ultravioleta, no aparelho Cobas Mira - Roche® Automático, utilizando kits comerciais da marca Labtest. As concentrações finais foram obtidas pela média aritmética das concentrações observadas nos diferentes horários de coleta.

Foram realizadas, no 15º dia de cada período experimental, coletas *spot* de urina em dois horários, pela manhã e à tarde, sempre imediatamente antes do fornecimento da alimentação, ou seja, às 07h00 e às 15h00.

Após filtragem em três camadas de gaze, alíquotas de 10 mL foram diluídas, imediatamente, em 40 mL de ácido sulfúrico a 0,036 N. O pH destas amostras foi ajustado para valores inferiores a 3, a fim de evitar a destruição bacteriana dos derivados de purina e precipitação do ácido úrico, sendo armazenadas a -20 °C para posteriores análises de nitrogênio total (método de Kjeldahl; Silva & Queiroz, 2002), creatinina, ureia, alantoína e ácido úrico.

A síntese proteica ruminal foi estimada segundo Chen & Gomes (1992).

A estimação da concentração de creatinina foi realizada pelo método enzimático colorimétrico (*kit* comercial Labtest) e utilizada para o cálculo do volume urinário, com base no valor da excreção diária de creatinina (Y, g/dia), estimada pela equação descrita por Silva *et al.* (2012): $Y = 0,0345 \times PC^{0,9491}$.

A avaliação do teor de ácido úrico foi realizada pelo método enzimático colorimétrico, utilizando-se *kit* comercial *In Vitro* e de ureia, pelo método ultravioleta por meio de *kits* comerciais Labtest.

A análise de alantoína foi realizada pelo método colorimétrico, conforme técnica de Fujihara *et al.* (1987), descrita por Chen & Gomes (1992).

As purinas microbianas absorvidas (PA) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas (DP), por intermédio da equação $PA = [DP - (0,301 * PV^{0,75})] / 0,80$, em que 0,80 representa a recuperação urinária de purinas absorvidas no intestino delgado e 0,301 $PC^{0,75}$ a contribuição endógena para a excreção de purina (Barbosa, 2011). O fluxo intestinal de compostos nitrogenados microbianos (Nmic) foi calculado em função das purinas microbianas absorvidas (PA), utilizando-se a equação $Nmic = (70 * PA) / (0,93 \times 0,137 \times 1000)$, em que 70 representa o N nas purinas (mg N/mmol); 0,93, a digestibilidade das purinas microbianas e 0,137, a relação N-RNA:NTotal nas bactérias (Barbosa, 2011).

O balanço de compostos nitrogenados foi estimado pela diferença entre o nitrogênio total ingerido pelos animais e as excreções fecais e urinárias de nitrogênio.

O experimento foi implementado e analisado segundo um delineamento em quadrado latino 5x5, com cinco animais, cinco tratamentos e cinco períodos experimentais.

As variáveis mensuradas foram avaliadas pelo modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + A_j + P_k + \varepsilon_{ijk}$$

em que: Y_{ijk} = variável resposta mensurada no animal j, durante o período k, submetido aos diferentes tipos/níveis de aditivo; μ = constante geral; T_i = efeito do tratamento i, tipos/níveis de aditivo; A_j = efeito do animal j; P_k = efeito do período experimental k; ε_{ijk} = erro aleatório não-observável, pressuposto de distribuição normal.

As análises estatísticas foram realizadas por intermédio do PROC GLM do programa SAS (*Statistical Analyses System*), adotando 5% como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I. Quando verificada diferença estatística entre tratamentos, foi utilizado o teste Tukey ($\alpha = 5\%$) para comparação entre médias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foram observadas diferenças ($P>0,05$) entre os aditivos utilizados para consumo de matéria seca, consumo de matéria orgânica, consumo de proteína bruta, consumo de extrato etéreo, consumo de fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e compostos nitrogenados, consumo de carboidratos não fibrosos e consumo de nutrientes digestíveis totais, expressos em kg/dia e em g/kg de peso corporal/dia (Tabela 3).

Tabela 3 – Consumo de matéria seca (CMS), matéria orgânica (CMO), proteína bruta (CPB), extrato etéreo (CEE), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (CFDN_{cp}), carboidratos não fibrosos (CCNF) e nutrientes digestíveis totais (CNDT), em função dos diferentes aditivos/níveis avaliados

Variável	Tratamento ¹					Valor P	CV (%)
	SA	TA	LV10	LA 15	LA30		
	kg/dia						
CMS	6,05	5,48	5,58	6,04	5,97	0,609	12,5
CMO	5,82	5,2	5,36	5,82	5,75	0,531	12,5
CPB	0,85	0,78	0,79	0,85	0,85	0,65	12,4
CEE	0,16	0,15	0,14	0,16	0,15	0,747	12,1
CFDN _{cp}	1,23	1,11	1,15	1,21	1,19	0,498	10,9
CCNF	3,53	3,00	3,27	3,55	3,51	0,313	13,5
CNDT	4,53	4,06	4,34	4,58	4,55	0,602	12,9
	g/kgPC/dia						
CMS	16,96	15,64	15,85	17,65	17,51	0,520	13,4
CMO	16,32	14,84	15,25	16,99	16,85	0,455	13,5
CPB	2,42	2,24	2,27	2,50	2,51	0,576	13,7
CEE	0,45	0,43	0,42	0,47	0,47	0,630	13,3
CFDN _{cp}	3,49	3,21	3,18	3,53	3,48	0,464	11,4
CCNF	9,86	8,53	9,29	10,39	10,28	0,252	14,3

¹SA: sem aditivo; TA: tamponante e alcalinizante; LV10: levedura viva 10 gramas; LA15: levedura autolisada 15 gramas; LA30: levedura autolisada 30 gramas.

Considerando o peso médio dos animais, o consumo de matéria seca foi baixo. Isto significa que houve seleção do material disponível no cocho, de forma que os animais procuravam comer o volumoso em detrimento do concentrado, na tentativa de ingerir menor quantidade do alimento que causaria algum desconforto. Como a quantidade de silagem fornecida foi pequena e limitada, o consumo total foi baixo. Além disso, como discutido anteriormente, a situação foi agravada pela má qualidade da silagem utilizada.

Com base nos resultados obtidos, pode-se inferir que tanto a levedura autolisada quanto a levedura viva e o bicarbonato de sódio e óxido de magnésio, provavelmente, não foram capazes de promover, no ambiente ruminal, condições favoráveis à adequada digestibilidade da matéria seca, principalmente à digestibilidade da fibra, o que levaria ao conseqüente incremento do consumo de matéria seca. Sendo o consumo relacionado à taxa inicial de digestão da fibra, se não houver melhoria na degradação ruminal deste componente, também não se consegue observar melhora significativa na ingestão de matéria seca.

Contudo, no caso de dietas com elevada proporção de concentrado, a regulação da ingestão de alimentos é basicamente comandada pelo mecanismo energético. Dessa forma, a não observação de efeito dos aditivos sobre o consumo não pode ser explicada somente pela influência da digestibilidade da fibra sobre esta variável. É possível que a dieta oferecida aos animais não tenha sido suficientemente acidogênica (devido à seleção feita pelos animais ao se alimentarem), a ponto de causar maiores conseqüências à digestibilidade da matéria seca e, por conseguinte, ao consumo dos animais.

Resultados encontrados na literatura para consumo voluntário são variáveis. Santos *et al.* (2006) e Fereli *et al.* (2010) não obtiveram respostas sobre o consumo

voluntário ao utilizar leveduras vivas. Já Stella *et al.* (2007), em seu trabalho com cabras lactantes, e Bitencourt (2008), trabalhando com vacas em lactação, observaram que o uso de levedura viva foi capaz de causar incremento no consumo voluntário. Williams *et al.* (1991) também observaram efeito benéfico do uso da cultura de leveduras sobre o consumo voluntário, quando a relação volumoso:concentrado foi 40:60. Com relação ao uso da levedura inativa sobre o consumo voluntário, são escassos os resultados para esta variável, visto que a maioria dos trabalhos científicos foi realizada *in vitro* ou preconizou somente a avaliação de parâmetros ruminais.

Não foi detectada diferença ($P>0,05$) entre os tratamentos para a digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e compostos nitrogenados e carboidratos não fibrosos e para o teor de nutrientes digestíveis totais (Tabela 4).

Tabela 4 – Digestibilidade aparente total da matéria seca (DMS), matéria orgânica (DMO), proteína bruta (DPB), extrato etéreo (DEE), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e compostos nitrogenados (DFDN_{cp}), carboidratos não fibrosos (DCNF) e nutrientes digestíveis totais (NDT) expressos em grama/grama, em função dos diferentes aditivos/níveis avaliados

Variável	Tratamento ¹					Valor P	CV (%)
	SA	TA	LV10	LA 15	LA 30		
DMS	0,76	0,78	0,78	0,76	0,77	0,675	3,9
DMO	0,77	0,79	0,80	0,77	0,78	0,628	3,7
DPB	0,76	0,76	0,74	0,76	0,76	0,934	5,3
DEE	0,76 B	0,83 A	0,80 AB	0,78 AB	0,83 A	0,039	4,3
DFDN _{cp}	0,65	0,68	0,66	0,65	0,62	0,524	8,1
DCNF	0,81	0,82	0,85	0,82	0,83	0,403	3,9
NDT	0,76	0,75	0,79	0,77	0,77	0,434	3,7

Médias, na linha, seguidas por letras maiúsculas diferentes, são diferentes ($P<0,05$) pelo Teste Tukey.

¹SA: sem aditivo; TA:tamponante e alcalizante; LV10: levedura viva 10 gramas; LA15: levedura autolisada 15 gramas; LA30: levedura autolisada 30 gramas.

A digestibilidade do extrato etéreo foi maior ($P < 0,039$) nos tratamentos nos quais foram utilizados aditivos. Os tratamentos tamponante e alcalinizante e levedura autolisada na dose de 30 g/dia resultaram em maiores valores de digestibilidade do extrato etéreo. A não utilização de aditivos conduziu à digestibilidade do extrato etéreo mais baixa. Já os tratamentos levedura autolisada na dose de 15 g/dia e levedura viva não diferiram dos anteriores.

Resultados semelhantes também foram encontrados por Monnerat (2009), durante condução de trabalho utilizando células vivas da levedura *Saccharomyces cerevisiae* e monensina sódica como aditivos e nível baixo (23%) e alto (38%) de amido na dieta. Em seu trabalho, a maior dosagem de levedura (2,5 g/100 kg de peso corporal) conduziu ao maior coeficiente de digestibilidade do extrato etéreo (85,11 *versus* 69,92% no tratamento controle).

As diferenças encontradas na digestibilidade do extrato etéreo não afetaram os teores de NDT devido ao fato de a fração extrato etéreo corresponder a apenas 2% da matéria seca total da dieta.

Fortina *et al.* (2011) avaliaram os efeitos da cultura inativa de *Saccharomyces cerevisiae* sobre a degradabilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), proteína bruta (DIVPB) e fibra em detergente neutro (DIVFDN). Segundo os autores, a levedura inativa levou ao incremento da DIVPB e DIVFDN, mas não influenciou a DIVMS.

Na Tabela 5, estão apresentados os resultados obtidos para consumo de nitrogênio (CN), excreção fecal de nitrogênio (EFN), excreção urinária de nitrogênio (EUN), balanço de compostos nitrogenados (BN), eficiência de utilização do nitrogênio em relação ao nitrogênio consumido (EFUN 1) e ao nitrogênio absorvido (EFUN 2) e eficiência de produção microbiana (EMic). Nenhuma dessas variáveis foi influenciada pelos tratamentos ($P > 0,05$).

Tabela 5 – Consumo de nitrogênio (CN), excreção fecal de nitrogênio (EFN), excreção urinária de nitrogênio (EUN), balanço de compostos nitrogenados (BN), eficiência de utilização do nitrogênio em relação ao nitrogênio consumido (EFUN 1) e absorvido (EFUN 2) e eficiência de produção microbiana (EMic) em função dos aditivos/níveis avaliados

Variável	Tratamento ¹					Valor P	CV (%)
	SA	TA	LV10	LA15	LA30		
CN ²	137,51	125,15	127,60	136,68	136,69	0,6500	12,46
EFN ²	33,61	30,99	33,37	33,81	33,90	0,8339	13,75
EUN ²	47,88	49,44	41,12	48,13	49,33	0,8544	28,66
BN ²	56,02	44,71	53,11	54,74	53,47	0,7427	27,13
EFUN 1 ³	40,00	37,00	44,00	40,00	40,00	0,8624	25,14
EFUN 2 ³	53,00	49,00	60,00	53,00	53,00	0,7212	22,34
EMic ⁴	151,49	172,18	137,15	161,16	160,26	0,7464	26,77

¹SA: sem aditivo; TA: tamponante e alcalinizante; LV10: levedura viva 10 gramas; LA15: levedura autolisada 15 gramas; LA30: levedura autolisada 30 gramas.

² g/dia; ³ porcentagem; ⁴ gPmic /kg NDT.

Considerando que não foram encontradas diferenças no CPB, é condizente que o CN também não tenha sido afetado pelos tratamentos. O mesmo raciocínio pode ser traçado quando se relaciona a DPB e a EFN e EUN. Se a DPB não foi influenciada pelos diferentes tratamentos, é normal que a EFN e EUN também sigam o mesmo padrão de resposta. Assim, a utilização de leveduras na dieta de bovinos não reduziu as perdas de compostos nitrogenados.

Os valores observados para o BN estão dentro de uma faixa considerável para bovinos em crescimento. Entretanto, não existe um valor referência para esta variável, visto que há inúmeras fontes proteicas, com diferentes digestibilidades, além da ampla variação dos teores de proteína bruta utilizados nas dietas (Monnerat, 2009).

Como não foram verificadas diferenças entre os tratamentos, pode-se dizer que a utilização de leveduras como aditivos não ocasionou maior retenção de nitrogênio pelos animais. Desta forma, os resultados apresentados permitem deduzir que a adição de

levedura não é capaz de conduzir a incrementos no ganho de peso pelos animais em situações de produção.

Não foram obtidas respostas significativas com o uso das leveduras para a eficiência do uso do nitrogênio em relação ao nitrogênio consumido ou ao nitrogênio absorvido, provavelmente porque todas as variáveis utilizadas para estimação deste valor (CN, EFN, EUN, CPB e DPB) também não foram afetadas pelos tratamentos. Dessa forma, os aditivos/níveis utilizados não proporcionaram melhor utilização do nitrogênio em relação ao controle.

Sniffen & Robinson (1987) propuseram fatores que exercem influência sobre a EMic. São eles: a massa microbiana e o substrato disponível para fermentação no rúmen, composição e taxa de fermentação do substrato e outros fatores referentes ao ambiente ruminal, como a taxa de passagem.

Os tratamentos não influenciaram a eficiência de produção microbiana. O NRC (2001) propõe o valor de 130 g Pmic/kg NDT consumido para a EMic. Entretanto, em condições tropicais, Valadares Filho *et al.* (2006) encontraram valores de 120 g Pmic/kg NDT consumido.

Os valores obtidos neste trabalho estão acima destas especificações, com média de 156,5 g Pmic/kg de NDT consumido. Não há relatos de que a eficiência de produção microbiana seja aumentada com o uso de leveduras ou com dietas contendo alta proporção de concentrado, mas este resultado, provavelmente, foi encontrado devido ao elevado teor de proteína da dieta. Desta forma, os valores obtidos neste trabalho não estão em concordância com a literatura.

Monnerat (2009) encontrou EMic menor (média de 114 g Pmic/kg NDT) que o valor referência ao estudar os efeitos de monensina sódica e levedura viva como aditivos, utilizando dietas com 87% de concentrado.

As médias diárias de pH e concentração de nitrogênio amoniacal ruminal (NAR) não foram afetadas pelos ($P>0,05$; Tabela 6).

Tabela 6 – Médias, do período de 24 horas, do pH e teor de nitrogênio amoniacal ruminal (NAR) em função dos diferentes aditivos/níveis avaliados

Variável	Tratamento ¹					Valor P	CV (%)
	SA	TA	LV10	LA15	LA30		
pH	6,29	6,2	6,02	6,18	6,01	0,253	3,97
NAR (mg/dL)	11,26	12,57	11,67	12,89	13,01	0,775	20,66

¹SA: sem aditivo; TA: tamponante e alcalinizante; LV10: levedura viva 10 gramas; LA15: levedura autolisada 15 gramas; LA30: levedura autolisada 30 gramas.

O pH médio diário obtido durante este estudo não foi afetado pelos tratamentos, levando à conclusão de que os aditivos utilizados não promoveram aumento do pH ruminal em comparação ao tratamento controle. Entretanto, há que se considerar que os valores obtidos não são valores baixos, capazes de causar problemas relacionados à acidose ruminal nos animais.

A atividade da maioria dos microrganismos ruminais é favorecida por uma faixa de pH que varia de 6 a 7 (Coelho da Silva & Leão, 1979), sendo a atividade máxima atingida com o pH de 6,2, segundo sugestão de Grant & Mertens (1992). Analisando dessa forma, observa-se que o pH médio de todos os tratamentos, inclusive do tratamento controle negativo, estão dentro desta faixa, ou seja, compreendem valores de pH que proporcionam, segundo estes autores, a melhoria da atividade dos microrganismos ruminais.

A ausência de efeito das leveduras sobre o pH ruminal pode ser explicada pelo baixo consumo de matéria seca. Como o consumo foi baixo e houve seleção do material pelos animais, é possível que a dieta ingerida não tenha sido suficientemente acidogênica para acarretar as alterações esperadas, principalmente a drástica redução do pH ruminal, o que levaria a outras consequências negativas, como diminuição do

consumo voluntário e da digestibilidade da matéria seca. Tal fato pode ser confirmado por meio da observação do valor de pH ruminal encontrado para o tratamento controle negativo, no qual nenhuma forma de aditivo foi utilizada durante todo o experimento.

A dieta utilizada, com 80% de concentrado, sendo este composto de cerca de 80% de fubá de milho, finamente moído, foi estrategicamente escolhida a fim de ocasionar maior produção de ácido láctico no rúmen, com conseqüente queda demasiada do pH deste compartimento, o que permitiria o pleno estudo da atividade dos diferentes aditivos/níveis testados. Monnerat (2009) também relatou o mesmo problema, em que a dieta utilizada, mesmo preconizando a grande ingestão de amido, não conduziu a um significativo declínio do pH ruminal. Entretanto, em seu estudo, o uso da levedura na dose de 2,5 g/100 kg PC mostrou-se eficiente em aumentar o pH acima do observado no tratamento controle.

Michalet-Doreau & Morand (1996) observaram aumento significativo do pH ruminal (5,87 *versus* 5,53) de borregos alimentados com 70% de grãos, quando estes foram suplementados com leveduras vivas.

Outra provável explicação é que, durante todo o experimento (75 dias), os animais se adaptaram ao tipo de alimentação que receberam diariamente e, portanto, ao ser realizada a tabulação dos dados, o possível efeito de redução do pH ruminal, ocorrido no início do período experimental, foi diluído pela ausência de efeito nos períodos finais, devido a tal adaptação dos animais.

Muitos pesquisadores também não detectaram alterações no pH ruminal, ao utilizar as diferentes leveduras como aditivo. Lila *et al.* (2004) utilizaram células vivas de duas diferentes cepas de *Saccharomyces cerevisiae* para observar as modificações nos parâmetros ruminais *in vitro* e não obtiveram respostas favoráveis sobre o pH.

Fereli *et al.* (2010) também não encontraram efeito da utilização de *Saccharomyces cerevisiae* no pH do rúmen de bovinos.

Por outro lado, Williams *et al.* (1991) concluíram que a cultura de levedura utilizada em seu estudo foi eficiente em reduzir o lactato e aumentar o pH ruminal de novilhas alimentadas com 50% de feno e 50% de cevada.

Dados sobre a utilização de leveduras inativas, *in vitro* (Oeztuerk *et al.*, 2005; Oeztuerk, 2009) ou *in vivo* (Dawson *et al.*, 1990), são consistentes ao comprovarem a inabilidade deste tipo de suplemento em produzir melhorias significativas no pH ruminal, assim como ocorreu no presente estudo.

Segundo Van Soest (1994), o teor de NAR é produto da degradação das proteínas da dieta no rúmen e da reciclagem de nitrogênio, na forma de ureia, via saliva ou epitélio ruminal. A amônia liberada da degradação da proteína é a principal fonte de nitrogênio utilizada pelos microrganismos do rúmen. O excedente não utilizado pelos microrganismos é absorvido pela parede do rúmen e segue para o fígado, onde será metabolizado em ureia, sendo que esta reação necessita de um gasto energético por parte do animal. Esta ureia, por sua vez, pode ser excretada via urina ou reciclada pela saliva.

Concentrações mínimas de NAR são requeridas para que não haja limitação da síntese microbiana. Valores mínimos que cumprem este requisito têm sido reportados por vários autores. Slyter *et al.* (1979) realizaram um trabalho *in vitro* e concluíram que os microrganismos ruminais precisavam de, no mínimo, 5 mg de NAR/dL de fluido ruminal para exibirem crescimento e síntese microbiana máxima. Um ano mais tarde, Schaefer *et al.* (1980) confirmaram este valor. Leng (1990) mencionou que a concentração de NAR deveria estar abaixo de 10 mg/dL de fluido ruminal para otimizar a digestibilidade da matéria seca, quando se utilizam forragens de baixa qualidade. Mais

tarde, em condições brasileiras, Detmann *et al.* (2010) sugeriram o valor de 8,4 mg de NAR/dL, ao trabalhar com bovinos alimentados com forragens tropicais.

No presente estudo, os aditivos não exerceram influência sobre as concentrações de NAR. Os valores encontrados são maiores que aqueles descritos por Slyter *et al.* (1979), Schaefer *et al.* (1980), Leng (1990) e Detmann *et al.* (2010). Entretanto, somente no trabalho conduzido Slyter *et al.* (1979) é que foi utilizada maior teor de proteína, assim como neste trabalho.

Considerando que a degradação da proteína da dieta é positivamente correlacionada com o teor de NAR, pode-se observar que a ausência de significância entre as médias dos tratamentos para esta variável era esperada, visto que não foram detectadas diferenças estatísticas entre os tratamentos para a DPB.

Doreau & Jouany (1998) não observaram efeito das leveduras sobre a produção de NAR de vacas Holandesas recebendo dietas com 60% de silagem de milho. Esses autores relataram apenas um aumento não significativo, cerca de duas horas após a alimentação. Eles atribuíram esta variação ao aumento na proteólise e deaminação pelos microrganismos, logo após o consumo.

Por outro lado, trabalhando em condições *in vitro*, Oeztuerk (2009) concluiu que leveduras vivas e autoclavadas (inativas) são capazes de aumentar a concentração de NAR, sendo a levedura viva mais eficiente em realizar esta função que a levedura autoclavada. Possível explicação para este fato é dada pela maior capacidade da levedura viva em prover fatores estimulatórios (vitaminas e ácido málico, por exemplo) à atividade proteolítica exercida pelas bactérias ruminais.

O suprimento básico de energia aos ruminantes é feito pelos ácidos graxos voláteis (AGV), sendo o ácido propiônico o mais eficaz nesta função. Não foram encontradas diferenças ($P>0,05$) para a produção total de AGV (Tabela 7).

Tabela 7 – Produção de ácidos graxos voláteis (AGV – mmol/dL) totais e proporções molares dos ácidos acético, propiônico e butírico (mmol/100 mmol) e relação acetato: propionato em função dos diferentes aditivos/níveis avaliados

Variável	Tratamento ¹					Valor P	CV (%)
	SA	TA	LV10	LA15	LA30		
AGV totais	9,97	10,83	10,15	9,68	10,54	0,4975	9,77
Ác. acético	80,78	80,57	78,43	80,58	77,42	0,2902	3,12
Ác. propiônico	18,65	18,74	20,99	18,92	22,00	0,1113	11,41
Ác. butírico	0,57	0,69	0,58	0,50	0,57	0,8290	38,55
Acetato: propionato	4,52	4,40	3,78	4,49	3,53	0,1327	13,99

¹SA: sem aditivo; TA: tamponante e alcalinizante; LV10: levedura viva 10 gramas; LA15: levedura autolisada 15 gramas; LA30: levedura autolisada 30 gramas.

Dawson *et al.* (1990) não detectaram influência da levedura inativa e da levedura viva sobre a produção de AGV. Ao trabalharem com leveduras vivas na alimentação de vacas Holandesas, Doreau & Jouany (1998) não detectaram efeitos deste aditivo sobre a média diária de produção de AGV. Eles observaram aumento transiente cerca de 4 horas após a alimentação. Os autores consideram que muitos pesquisadores não encontram consequências do uso de leveduras sobre a produção total de AGV, quando trabalham com médias diárias, devido a este efeito transitório da *Saccharomyces cerevisiae*, o que pode ter ocorrido ao se analisar os dados do presente estudo. Em adição, a conclusão desenhada pelos autores é de que as leveduras não são capazes de modificar consideravelmente o ecossistema e metabolismo dos microrganismos ruminais.

A concentração dos ácidos orgânicos, no rúmen, é influenciada por diversos fatores, dentre eles a taxa de passagem, taxa de produção e absorção pelo epitélio ruminal de determinado metabólito, além da utilização deste por outros microrganismos ou transformação em outros produtos. Todos estes fatores dificultam a quantificação precisa das concentrações isoladas de cada AGV. A expressão destes valores em função do total de AGV quantificados é uma forma de minimizar este problema. Sendo assim,

a avaliação das proporções molares de cada ácido torna-se mais adequada nos estudos em nutrição de ruminantes (Valadares Filho & Pina, 2011).

As proporções molares de ácidos acético, propiônico e butírico não foram influenciadas pelos tratamentos ($P>0,05$). Michalet-Doreau & Morand (1996) não verificaram diferença entre as proporções molares de ácidos acético, propiônico e butírico com a adição de cultura de leveduras na alimentação dos animais, durante a adaptação às dietas com alto concentrado, assim como ocorrido no presente trabalho, para todos os aditivos/níveis utilizados.

As proporções molares entre os ácidos acético, propiônico e butírico variam conforme a dieta, ou seja, conforme o tipo de substratos disponíveis no rúmen para fermentação pelos microrganismos. De acordo com Bergman (1990), a relação entre estes ácidos varia de 75:15:10 a 40:40:20. Na presença de substratos celulósicos, ocorre maior produção de ácido acético, culminando em proporções próximas a 75:15:10. Todavia, quando amido e outros carboidratos altamente solúveis chegam em maior quantidade ao rúmen, esta relação tende a ser alterada, com elevação da participação do ácido propiônico entre os produtos finais da fermentação ruminal. Desta forma, as relações molares entre os AGV passam a estar mais próximas de 40:40:20.

No presente estudo, foram utilizadas dietas com alta quantidade de amido e carboidratos solúveis e, no entanto, as relações observadas ficaram mais próximas àquelas obtidas quando se tem maior concentração de carboidratos fibrosos na dieta, o que é, em parte, resultado do baixo consumo de matéria seca e da seleção, por parte dos animais, do alimento volumoso. A proporção molar média encontrada foi de 79,56:19,86:0,58. Dessa forma, observa-se que a proporção molar de ácido acético foi muito mais alta do que o esperado para o tipo de dieta utilizada, a de ácido propiônico

ficou em um patamar abaixo do esperado e a de ácido butírico foi demasiadamente reduzida.

Sendo o pH ruminal diretamente influenciado pelas quantidades dos substratos fibrosos e não-fibrosos que são fermentados no rúmen, as relações molares dos produtos da fermentação também são consequência direta desta variável. Em pH 6,2 (Tabela 6), as proporções molares de ácidos acético e propiônico são, normalmente, valores próximos a 70 e 20, respectivamente (Owens & Goetsch, 1993). Considerando estas informações, observa-se que apenas a proporção obtida neste estudo para o ácido acético está um pouco elevada.

Existem, no rúmen, reações de interconversão entre acetato e butirato. Em um estudo com ovinos, 60% do carbono do butirato estavam em equilíbrio com 20% do carbono do acetato (Valadares Filho & Pina, 2011). A partir disto, pode-se pensar que as condições de ambiente ruminal dos animais durante este experimento favoreceram as reações de interconversão entre estes AGV, reduzindo a proporção de ácido butírico e aumentando a de ácido acético. Contudo, as alterações observadas nas médias obtidas no presente trabalho foram elevadas demais para que somente este fenômeno possa explicar o acontecido.

Ainda, segundo Nussio *et al.* (2011), as concentrações absolutas dos AGV variam de acordo com as regiões do rúmen em que as amostras são colhidas. Conforme estes autores, a concentração de ácido acético geralmente é superior no líquido associado à massa flutuante que no líquido livre procedente do saco ventral do rúmen. Durante o período experimental, pode ter sido realizada a amostragem do fluido ruminal correspondente a esta faixa em que as concentrações de ácido acético são maiores.

Não foi constatada ($P>0,05$) influência dos aditivos sobre a relação acetato:propionato. Esta, por sua vez, mostrou-se muito elevada em todos os

tratamentos como consequência da elevada concentração de ácido acético e da baixa concentração de ácido propiônico encontradas no fluido ruminal.

Williams *et al.* (1991) observaram, em seu trabalho, que a cultura de *Saccharomyces cerevisiae* levou à redução da relação acetato:propionato, quando comparada ao tratamento controle.

Oeztuerk (2009) verificou, em estudo realizado *in vitro*, resultados contrários àqueles observados no presente estudo. Em seu trabalho, tanto a levedura viva quanto a levedura autoclavada foram capazes de aumentar a produção total e individual de AGV. Contudo, a produção de propionato foi maior para o tratamento que recebeu levedura viva, em comparação com a levedura inativa, com consequente redução da relação acetato:propionato para estes tratamentos.

A composição bioquímica do sangue é um parâmetro utilizado para avaliação da condição de saúde dos animais, refletindo transtornos metabólicos ou desafios nutricionais ou fisiológicos enfrentados pelos mesmos (González & Scheffer, 2003). As variáveis sanguíneas analisadas neste trabalho (glicose, creatinina e ureia) não foram afetadas ($P>0,05$) pelos diferentes tratamentos (Tabela 8).

Os níveis de glicose podem estar relacionados a problemas na homeostase do animal, mas as variações nestes níveis são difíceis de diagnosticar, devido aos eficientes mecanismos homeostáticos do organismo (González & Scheffer, 2003). Segundo González & Silva (2006) os valores normais de glicose sanguínea para bovinos variam de 45 a 75 mg/dL, estando as médias encontradas neste trabalho dentro desta faixa de normalidade.

O ácido propiônico é o principal precursor utilizado para síntese de glicose no fígado de ruminantes. Como era esperado aumento da produção deste AGV no rúmen, esperava-se que a concentração sanguínea de glicose também fosse aumentada. Mas,

este aumento do propionato não foi constatado, sendo, desta forma, condizente a não observação de influência dos tratamentos sobre os teores sanguíneos de glicose.

Tabela 8 – Médias e coeficiente de variação (CV) das concentrações sanguíneas de glicose, creatinina e ureia, em função dos diferentes aditivos/níveis avaliados

Variável	Tratamento ¹					Valor P	CV (%)
	SA	TA	LV10	LA15	LA30		
Glicose (mg/dL)	68,60	74,05	71,25	74,70	72,05	0,1204	4,98
Creatinina (mg/dL)	1,46	1,38	1,33	1,36	1,35	0,1122	5,35
Ureia (mg/dL)	38,92	35,05	36,49	39,57	39,20	0,879	21,34

¹SA: sem aditivo; TA: tamponante e alcalinizante; LV10: levedura viva 10 gramas; LA15: levedura autolisada 15 gramas; LA30: levedura autolisada 30 gramas.

Os teores de creatinina refletem a taxa de filtração renal e, quando estão altos, indicam problemas na funcionalidade dos rins (González & Scheffer, 2003). As médias obtidas neste trabalho para as concentrações de creatinina no sangue não foram afetadas pelos tratamentos e encontram-se dentro da faixa estabelecida por González & Silva (2006), entre 1 e 2 mg/dL.

A concentração de nitrogênio ureico no soro (NUS) apresenta correlação positiva com o consumo de compostos nitrogenados (Valadares *et al.*, 1997; Valadares *et al.*, 1999). Assim, fica clara a importância de se avaliar o teor sérico deste metabólito para que se possa inferir sobre a ocorrência de perdas proteicas, evitando prejuízos econômicos e reduzindo o impacto ambiental causado pelos sistemas de produção (Pessoa *et al.*, 2009).

Piva *et al.* (1993), Doreau & Jouany (1998) e Santos *et al.* (2006) não relataram efeito da suplementação com cultura de leveduras para vacas em lactação sobre a concentração de glicose e NUS. Bitencourt (2008) não verificou efeito da utilização de levedura como aditivo para vacas leiteiras sobre o NUS. Os dados publicados sobre o

uso de leveduras inativas não avaliaram os metabólitos sanguíneos, principalmente porque a maioria dos trabalhos foram conduzidos *in vitro*.

Vários autores (Arambel & Kent, 1990; Williams, 1991; Doreau & Jouany, 1998) concluíram que a ação benéfica das leveduras sobre consumo, digestibilidade e estabilização do ambiente ruminal (redução da concentração de lactato e aumento do pH) são mais pronunciadas em condições que desafiam o animal, seja por estresse calórico, ou por meio de dietas ricas em energia ou outras situações em que há comprometimento da celulólise.

Considerando estas informações, um dos motivos pelos quais não foi verificado efeito benéfico das leveduras pode ter sido a falta desta situação desafiante, já que, conforme fora explicado, a dieta não foi capaz de conduzir ao desenvolvimento de distúrbios significativos no ambiente ruminal.

É importante salientar, ainda, que, como citado anteriormente, os efeitos dos diferentes tipos de leveduras são altamente dependentes de vários fatores relacionados ao animal, ao tipo de alimentação e manejo alimentar e a características intrínsecas de cada cepa de levedura. Dessa forma, este conjunto de fatores atuantes sobre as respostas obtidas no presente trabalho levou a resultados não favoráveis ao uso de leveduras.

CONCLUSÕES

A utilização de levedura viva ou levedura inativa autolisada não é recomendada por não aumentar o consumo voluntário e a digestibilidade dos componentes nutricionais, não melhorar a eficiência de produção microbiana, não reduzir as perdas de compostos nitrogenados, além de não causar melhorias efetivas sobre as características do ambiente ruminal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMORIM, H.V.; LOPES, M.L. Tecnologia sobre processamento de leveduras vivas e inativas e seus derivados: conceitos básicos. In: CONGRESSO INTERNACIONAL SOBRE USO DA LEVEDURA NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 1., 2009. Campinas, SP. **Anais...** Campinas, SP: CBNA, 2009. p. 5-20.

ARAMBEL, M.J.; KENT, B.A. Effect of yeast culture on nutrient digestibility and milk yield response in early to midlactation dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.73, p.1560-1563, 1990.

ASANUMA, N.; HINO, T. Regulation of fermentation in a ruminal bacterium, *Streptococcus bovis*, with special reference to rumen acidosis. **Animal Science Journal**, v.73, p. 313-325, 2002.

BACH, A.; CALSAMIGLIA, S.; STERN, M.D. Nitrogen metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.88 (E. Suppl.): E9-E21, 2005.

BACH, A. Etiologia do pH ruminal e possíveis medidas para reduzir a incidência de acidose ruminal subaguda (SARA). In: CONGRESSO INTERNACIONAL SOBRE USO DA LEVEDURA NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, I., 2009. Campinas, SP. **Anais...** Campinas, SP: CBNA, 2009. p.99-116.

BARBOSA, A.M.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Endogenous fraction and urinary recovery of purine derivatives obtained by different methods in Nelore cattle. **Journal of Animal Science**, v.89, n.2, p.510-519, 2011.

BEAUCHEMIN, K.A. Managing rumen fermentation in barley-based diets: balance between high production and acidosis. **Advances in Dairy Technology**, v.12, p.109-125, 2000.

BERGMAN, E.N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. **Physiology Review**, v.10, n.2, p.567-589, 1990.

BITENCOURT, L.L. **Desempenho e eficiência alimentar de vacas leiteiras suplementadas com levedura viva**. 2008. 70 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2008.

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

CHAUCHEYRAS, F.; FONTY, G. Establishment of cellulolytic bacteria and development of fermentative activities in the rumen of gnotobiotically-reared lambs receiving the microbial additive *Saccharomyces cerevisiae*. CNCM I-1077. **Reprod. Nutr. Dev.**, v.41, p.57-68, 2001.

CHAUCHEYRAS, F.; FONTY, G.; BERTIN, G. Effects of a strain of *Saccharomyces cerevisiae* (Levucell SC), a microbial additive for ruminants, on lactate metabolism *in vitro*. **Canadian Journal of Microbiology**, v.42, p.927-933, 1996.

CHAUCHEYRAS, F.; FONTY, G.; BERTIN, G.; GOUET, P. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* cells of zoospore germination, growth, and cellulolytic activity of the rumen anaerobic fungus, *Neocallimastix frontalis* MCH3. **Curr. Microbiol.** 31:201-205, 1995.

CHEN, X.B.; GOMES, M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives - an overview of technical details. **International feed research unit**. Aberdeen Rowett Research Institute, (Occasional publication). 1992. 21p.

CHENG, K.J.; McALLISTER, T. A.; POPP, J. D. et al. A review of bloat in feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v.76, p.299–308, 1998.

COELHO DA SILVA, J.F.; LEÃO, M.I. **Fundamentos de nutrição dos ruminantes**. Piracicaba: Livrocere, 1979. 380p.

DAWSON, K.A.; NEWMAN, K.E.; BOLING, J.A. Effects of microbial supplements containing yeast and lactobacilli on roughage-fed ruminal microbial activities. **Journal of Animal Science**, v.68, p. 3392-3398, 1990.

DENEV, S.A; PEEVA, T.; RADULOVA, P. et al. Yeast cultures in ruminant nutrition. **Bulgarian Journal of Agricultural Science**, v. 13, p. 357-374, 2007.

DETMANN, E.; PAULINO, M.F; VALADARES FILHO, S.C. Otimização do uso dos recursos forrageiros basais. In: Simpósio Brasileiro de Gado de Corte, 7, 2010, Viçosa. **Anais...** Viçosa: DZO-UFV, 2010 p. 191-240.

DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. On the estimation of non-fibrous carbohydrates in feeds and diets, **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.4, p.980-984, 2010.

DOREAU, M.; JOUANY, J.P. Effect of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on nutrient digestion in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 3214-3221, 1998.

FERELI, F.; BRANCO, A.F.; JOBIM, C.C. et al. 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.

FORTINA, L.M.; BATTAGLINI, F.; OPSI, S. et al. Effects of inactivated yeast culture on rumen fermentation and performance of mid-lactation of dairy cows. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 10, n.5, p. 577 – 580, 2011.

FUJIHARA, T.; ORSKOV, E. R.; REEDS, P. J. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Journal of Agricultural Science**, v.109, n.1., p.7-12, 1987.

GRANT, R.J.; MERTENS, D.R. Influence of butter pH and raw corn starch addition on *in vitro* fiber digestion kinetics. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.10, p.2762-2768, 1992.

GONZÁLEZ, F.H.D.; SILVA, S.C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 2ª edição. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2006.

GONZÁLEZ, F.H.D; SCHEFFER, J.F.S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: González, F.H.D; Campos, R. (eds.): I Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil. **Anais...** Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p. 73-89, 2003.

LENG, R.A. Factors affecting the utilization of “poor-quality” forages by ruminants particularly under tropical conditions. **Nutritional Research and Review**, v.3, n.1, p. 277, 1990.

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

LILA, Z.A.; MOHAMED, T.; YASUI, T. Effects of a twin strain of *Saccharomyces cerevisiae* live cells on mixed ruminal microorganism fermentation *in vitro*. **Journal of Animal Science**, v. 82, p.1847-1854, 2004.

LYNCH, H.A.; MARTIN, S.A. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* culture and *Saccharomyces cerevisiae* live cells on *in vitro* mixed ruminal microorganism fermentation. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.2603-2608, 2002.

MARTIN, S.A.; NISBET, D.J. Symposium: direct-fed microbials and rumen fermentation. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.6, p.1736-1744, 1992.

MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beaker or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.85, p.1217-1240, 2002.

MICHALET-DOREAU, B.; MORAND, D. Effect of yeast culture, *Saccharomyces cerevisiae*, on ruminal fermentation during adaptation to high-concentrate feeding. **Ann. Zootech**, v. 45, Suppl, 337, 1996.

MONNERAT, J.P.I.S. **Saccharomyces cerevisiae e monensina sódica em dietas de alto concentrado para bovinos**. 2009. 58 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2009.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7th.ed. Washington, DC: National Academy Press, 2001. 362p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrients requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: 2000. 242p.

NEWBOLD, C.J.; WALLACE, R.J.; McINTOSH, F.M. The effect of yeast culture on ruminal fermentation. 2. The stimulation of ruminal bacteria by *Saccharomyces cerevisiae* related to the respiratory activity of the yeast. **Journal of Animal Science**, 1994.

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

NOCEK, J.E.. Bovine acidosis: Implication on laminitis. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p.1005-1028, 1997.

NUSSIO, L.G.; CAMPOS, F.P.; LIMA, M.L.M. Metabolismo de carboidratos estruturais. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.V. (Eds). **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2011. p. 193 – 238.

OEZTUERK, H. Effect of live and autoclaved yeast cultures on ruminal fermentation *in vitro*. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v.18, p.142-159, 2009.

OEZTUERK, H.; SCHROEDER, B.; BAYERBACH, M.; BREVES, G. Influence of Living and autoclaved yeasts of *Saccharomyces boulardii* on *in vitro* ruminal microbial metabolism. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 2594 – 2600, 2005.

ORSKOV, E.R.; RYLE, M. **Energy nutrition in ruminants**. London: Elsevier, 1990. 149 p.

OWENS, F.N.; GOETSCH, A.L. Fermentación ruminal. In: CHURCH, D.C. **El ruminante, fisiología digestiva y nutrición**. ed. Acríbia, Zaragoza, Espanha, p.159-190, 1993.

PESSOA, A.S.P.; LEÃO, M.I.; FERREIRA, M.A. *et al.* Balanço de compostos nitrogenados e produção de proteína microbiana em novilhas leiteiras alimentadas com palma forrageira, bagaço de cana-de-açúcar e uréia associados a diferentes suplementos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n.5, p. 941-947, 2009.

PIVA, G.; BELLADONNA, S.; FUSCONI, G.; SICBALDI, F. Effects of yeast on dairy cow performance, ruminal fermentation, blood components, and milk manufacturing properties. **Journal of Dairy Science**, v.76, p. 2717-2722, 1993.

SANTOS, F.A.P.; CARMO, C.A.; MARTINEZ, J.C. *et al.* Desempenho de vacas em lactação recebendo diferentes teores de amido total, acrescidas ou não de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n. 4, p. 1568 – 1575, 2006.

SANTOS, G.T.; CAVALIERI, F.L.B; MODESTO, E.C. Recentes avanços em nitrogênio não proteico na nutrição de vacas leiteiras. In: SINLEITE – NOVOS CONCEITOS EM NUTRIÇÃO, 2.; 2001, Lavras. **Anais...** Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2001, p. 225-248.

SCHAEFER, D.M.; DAVIS, C.L.; BRYANT, M.P. Minireview: the effect of ionophores on ruminal fermentation. **Journal of Dairy Science**, v.63, n.8, p.1263 – 1280, 1980.

SILVA, L.F.C e; VALADARES FILHO, S.C; CHIZZOTTI, M.L. *et al.* Creatinine excretion and relationship with body weight of Nellore cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n.3, p.807-810, 2012.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3.ed. Viçosa: UFV, 2002. 235p.

SLYTER, L.L.; SATTER, L.D; DINIUS, D.A. Effect of ruminal ammonia concentration on nitrogen utilization by steers. **Journal of Animal Science**, v.48, n.5, p. 906 – 912, 1979.

SLYTER, L.L. Influence of acidosis on rumen function. **Journal of Animal Science**, v.43, p.910, 1976.

SNIFFEN, C.J.; ROBINSON, P.H. Microbial growth and flow as influenced by dietary manipulations. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.20, p.425-441, 1987.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM – SAS. **SAS/STAT user's guide**. v.2, 4.ed, Cary: 1989. 846p.

STELLA, A.V; PARATTE, R.; VALNEGRI, L. *et al.* Effect of administration of live *Saccharomyces cerevisiae* on milk production, milk composition, blood metabolites, and faecal flora in early lactating dairy goats. **Small Ruminant Research**, v. 67, p. 7 - 13, 2007.

VALADARES, R.F.D.; BRODERICK, G.A.; VALADARES FILHO, S.C. *et al.* Effect of replacing alfafa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.12, p.2686-2696, 1999.

VALADARES, R.F.D.; GONÇALVES, L.C.; SAMPAIO, I.B. *et al.* Níveis de proteína em dietas de bovinos. 4. Concentrações de uréia plasmática e excreções de ureia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1270-1278, 1997.

VALADARES FILHO, S.C.; MAGALHÃES, K.A.; ROCHA JR., V.R. *et al.* **Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos**. 2.ed. Viçosa, MG: Gráfica Suprema, 2006. 329p.

VALADARES FILHO, S.C.; PINA, D.S. Fermentação ruminal. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.V. 2ª edição. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2011. p. 161 – 191.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. 2nd.ed. Ithaca, NY:Comstock Publishing Associates, 1994. 476p.

WALLACE, R.J.; NEWBOLD, C.J. Rumen fermentation and its manipulation: the development of yeast cultures as feed additives. In: Lyons, T.P. (Ed). **Biotechnology in the Feed Industry**. Alltech Publications, Nicholasville, USA, p.173-192, 1993.

WALLACE, R.J.; NEWBOLD, C.J. Probiotics for ruminants. In: FULLER, R. (Ed.). **Probiotics, the scientific basis**. London. Chapman and Hall, p. 317-353, 1994.

WALLACE, R.J. The mode of action of yeast culture in modifying rumen fermentatin. In: BIOTECHNOLOGY IN FEED INDUSTRY. **Anais...** Nottingham: Alltech Inc., University Press, 1996. p.217-232.

WEISS, W.P. Energy prediction equations for ruminant feeds. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 61, 1999, **Proceedings...** Ithaca: Cornell University, p.176-185. 1999.

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