

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

ANY CARLA ZOLET

**UTILIZAÇÃO DE LEVEDURA (*SACCHAROMYCES CEREVISIAE*) EM
GRAMÍNEAS TEMPERADAS CONSORCIADA COM TREVO VESICULOSO NA
PRODUÇÃO DE GÁS IN VITRO**

**DOIS VIZINHOS
2022**

ANY CARLA ZOLET

**UTILIZAÇÃO DE LEVEDURA (*SACCHAROMYCES CEREVISIAE*) EM
GRAMÍNEAS TEMPERADAS CONSORCIADA COM TREVO VESICULOSO NA
PRODUÇÃO DE GÁS IN VITRO**

**Use of yeast (*saccharomyces cerevisiae*) in seasoned grassy consortium
with vesiculose clover in in vitro gas production**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Zootecnia – Área de Concentração: Produção e Nutrição Animal.

Orientadora: Prof. Dra. Magali Floriano da Silveira

**DOIS VIZINHOS
2022**



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

Esta licença permite download e compartilhamento do trabalho desde que sejam atribuídos créditos ao (s) autor (es), sem a possibilidade de alterá-lo ou utilizá-lo para fins comerciais. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

18/10/22, 14:51



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Dois Vizinhos



ANY CARLA ZOLET

UTILIZAÇÃO DE LEVEDURA (*SACCHAROMYCES CEREVISIAE*) EM GRAMÍNEAS TEMPERADAS CONSORCIADA COM LEGUMINOSA NA PRODUÇÃO DE GÁS IN VITRO

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre Em Zootecnia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Produção Animal.

Data de aprovação: 31 de Janeiro de 2022

Prof.a Denise Adelaide Gomes Elejalde, Doutorado - Autônomo

Prof Lucas Ghedin Ghizzi, Doutorado - Coasul - Cooperativa Agroindustrial

Prof Vicente De Paulo Macedo, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 31/01/2022.

**Dedico a Deus, por ter me concedido forças e sabedoria para
enfrentar meus desafios e não desistir.**

AGRADECIMENTOS

Ao meu amado Deus, que presenteia-me com cada novo dia, sei que és aquele em que posso confiar.

À minha querida família, que mesmo com tantas dificuldades me proporcionaram a melhor educação que alguém pode receber, pois estes ensinamentos levarei por toda a minha vida e à minha geração.

À minha mãe Assunta Conte Zolet, maior presente que recebi do papai do céu, um exemplo de mulher, quão grande é minha admiração pela senhora, exemplo de pessoa humilde, batalhadora, honesta, e acima de tudo, exemplo de mãe!

Ao meu pai Claudécir Zolet, seu coração é imenso e sei de todas suas qualidades, mesmo embora um pouco cabeça dura, soube demonstrar de sua maneira o amor e carinho pela sua família.

As minhas irmãs Stéfany Carol Zolet e Mariany Luiza Zolet, que mesmo do jeito delas sempre me ajudam em minha caminhada.

A instituição e ao corpo docente da UTFPR – Campus Dois Vizinhos, por sempre estar buscando repassar o conhecimento da melhor forma possível, para sermos profissionais melhores.

A minha orientadora Magali Floriano Silveira, por todo conhecimento, ajuda, pelos puxões de orelha, sem você não chegaria aqui.

A estagiária do laboratório Fabiane Schlichmann, por toda ajuda no período de coletas.

A todos meus amigos e amigas que de uma forma ou outra me apoiaram, incentivaram e estiveram ao meu lado para realizar mais esta conquista.

RESUMO

A utilização de aditivos nas dietas de ruminantes está sendo cada vez mais estudados, visando os benefícios que eles proporcionam na fermentação ruminal. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da adição de *Saccharomyces cerevisiae* na produção de $\text{NH}_3\text{-N}$, AGV e na digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) de gramíneas temperadas consorciadas com leguminosa. O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Alimentos da UTFPR - Dois Vizinhos durante os meses de setembro de 2020 a julho de 2021. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos e três repetições. Os tratamentos foram analisados pela técnica semiautomatizada de produção de gases *in vitro*. O inóculo ruminal foi obtido de dois bovinos machos canulados no rúmen. As leituras de pressão e de volume de gás foram realizadas nos tempos 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 12, 18, 24, 48, 72 e 96 horas após o material ter sido incubado. As leituras de volume estão expressas em mL $0,1 \text{ g}^{-1}$ de MS incubada. Não foi observado efeito ($P > 0,05$) da levedura sobre a DIVMS. Para os níveis de concentrações de $\text{NH}_3\text{-N}$, AGV não houve efeito ($P > 0,05$), com a adição da levedura. O pH manteve-se estável e sem alterações ($P > 0,05$) com o uso da levedura na dieta. Concluímos que dietas a base de forragens de boa qualidade o uso da levedura não influencia na microbiota ruminal.

Palavras chave: aditivo; levedura; digestibilidade; fermentação ruminal.

ABSTRACT

The use of additives in ruminant diets is being increasingly studied, aiming at the benefits they provide in ruminal fermentation. Thus, the objective of this work was to evaluate whether or not the addition of *Saccharomyces cerevisiae* in diets of oat+ryegrass, oat+ryegrass+vesicular clover, influences the production of NH₃-N, VFA and in vitro dry matter digestibility (DIVMS). The experiment was carried out at the Food Analysis Laboratory of UTFPR- Dois Vizinhos during the months of September 2020 to July 2021. The experimental design is completely randomized with six treatments and four replications. The treatments were analyzed by the semi-automated in vitro gas production technique. Ruminal inoculum was obtained from two rumen-cannulated male cattle. Pressure and gas volume readings were taken at times 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 12, 18, 24, 48, 72 and 96 hours after the material was incubated. Volume readings are expressed as 0.1 g⁻¹ mL of incubated MS. We did not obtain significant values in DIVMS when using yeast in the diet. For the levels of concentrations of NH₃-N, AGV there were no significant results ($P < 0.05$) with the addition of yeast. The pH remained stable and unchanged with the use of yeast in the diet. We conclude that diets based on good quality forages, the use of yeast does not influence the ruminal microbiota.

Keywords: additives; yeasts; digestibility; rumen fermentation.

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 - Composição bromatológica (g kg^{-1}) das amostras de forragem...	24
Tabela 02 - Valores de pH, e concentrações (mg/dl) de $\text{NH}_3\text{-N}$ e ácidos graxos voláteis, do inóculo ruminal in vitro	25
Tabela 03 - Produção de gás in vitro.....	29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Porcentagem
μmol	Micromol
AGCC	Ácidos graxos de cadeia curta
AGV'S	Ácidos graxos voláteis
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
DIVMS	Digestibilidade in vitro da matéria seca
DI	Decilitro
FDN	Fibra em detergente neutro
g	Gramas
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
ha	Hectare
Kg	Quilograma
L	Lag time
MAPA	Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento
mg	Miligrama
min	Minuto
ml	Mililitro
mm	Milímetro
MS	Matéria seca
NDT	Nutrientes digestíveis totais
NH ₃ -N	Nitrogênio amoniacal
NO ₂	Dióxido de nitrogênio
°C	Graus célsius
PB	Proteína bruta
pH	Potencial hidrogênio
UFC/g	Unidades formadoras de colônia por grama
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	OBJETIVOS	12
2.1	Objetivo Geral	12
2.2	Objetivos Específicos.....	12
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	13
3.1	Produção Animal No Brasil.....	13
3.2	Gramíneas na Nutrição Animal.....	13
3.2.1	Aveia (Avena strigosa Schreb).....	14
3.2.2	Azevém (Lolium multiflorum Lam).....	14
3.3	Leguminosas na Nutrição Animal	16
3.3.1	Trevo Vesiculoso (Trifolium vesiculosum).....	17
3.4	Aditivos na Nutrição de Ruminantes.....	17
3.5	Inclusão de Leveduras na Nutrição de Ruminantes	18
3.6	pH Ruminal	19
3.7	Consumo de Oxigênio	19
3.8	Metabolismo de Nitrogênio	20
3.9	Ácidos Graxos de Cadeia Curta	21
4	MATERIAL E MÉTODOS	22
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
5.1	Parâmetros de pH, amônia e AGVS.....	25
5.2	pH.....	25
5.3	Amônia.....	27
5.4	AGVS.....	28
5.5	Produção de gás in vitro	29
6	CONCLUSÕES.....	32
	REFERÊNCIAS	33

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, o Brasil possui maior rebanho bovino comercial do mundo, cerca de 213 milhões de cabeça, que representam 13% do total. Mesmo apresentando índices produtivos e econômicos elevados, muitos pontos ainda necessitam serem melhorados, para assim possibilitar o reconhecimento como pecuária desenvolvida (ABIEC, 2020). O melhor conhecimento sobre as exigências nutricionais das diferentes categorias animais ainda precisa ser estudado, pois a eficiência no manejo alimentar dos animais pode gerar grandes impactos econômicos. O conhecimento nutricional permite a adoção de técnicas que possibilitem alcançar maior eficiência alimentar e econômica (MEDEIROS *et al.* 2015).

Para o aumento de produtividade, tornou-se necessário o fornecimento de dietas com altos níveis de energia, devido a intensificação da pecuária, visando a obtenção de maiores índices produtivos, a partir da inclusão de altos níveis de grãos ou concentrados para o atendimento das exigências nutricionais como de proteína, vitaminas, minerais e energia (SARTORI, 2016).

Entretanto, esse manejo nutricional provoca uma alteração no pH ruminal, baixando seu nível, o qual pode desencadear desordens metabólicas se este for acentuado ou prolongado (BERCHIELLI *et al.* 2011). O sistema de produção a pasto com a utilização de gramíneas e leguminosas visa melhorar a produtividade animal, como também reduzir contaminação ambiental, diminuindo a emissão do gás metano pelos animais (PUCHALA *et al.* 2005).

A inclusão de aditivos na nutrição de bovinos tem por objetivo melhorar o desempenho produtivo atuando principalmente sobre os parâmetros ruminais, melhorando a atividade microbiana e como consequência, aumentando a sua eficiência digestiva, sendo assim uma boa alternativa para ser utilizada no sistema de produção a pasto. Porém, existem algumas restrições impostas por alguns países quanto ao uso de hormônios e substâncias antimicrobianas, restrições estas, justificadas pela preocupação em não desenvolver populações microbianas resistentes, o que fez com que a busca por aditivos alternativos ganhasse espaço na nutrição animal (MARAIS *et al.* 2011).

A inclusão de microrganismos vivos denominados de aditivos probióticos, destacando-se as leveduras em especial da espécie *Saccharomyces cerevisiae*, que promovem o consumo do oxigênio presente no ambiente ruminal, estimulam também o crescimento microbiano, principalmente das bactérias consumidoras de ácido láctico, diminuindo os riscos da ocorrência de acidose, tornando o ambiente favorável ao desenvolvimento dos microrganismos, especialmente os consumidores de celulose, potencializando as taxas de degradação da fibra (MCALLISTER *et al.* 2011). A utilização das leveduras está relacionada também ao aumento da competição entre bactérias acetonogênicas e metanogênicas, ocasionando assim à redução da produção de metano no rúmen.

Estudos estão sendo realizados com a inclusão de leveduras sobre seus efeitos na microbiota ruminal e no desempenho animal, porém a maioria destes são utilizados de dietas em que os animais são submetidos a suplementação energética e proteica e volumoso sendo a base de silagem. Estudos com dietas a base de gramíneas temperadas e leguminosas, com a inclusão de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* ainda são escassos na literatura.

Desse modo, com este trabalho objetiva-se, avaliar o efeito da adição de leveduras sobre a produção de gás *in vitro*, produção de AGV em dietas com gramíneas temperadas e em consórcio com leguminosa.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da adição de leveduras sobre a produção de gás *in vitro*, parâmetros fermentativos ruminais, e produção de AGV'S em teste com gramíneas temperadas e em consórcio com a leguminosa.

2.2 Objetivos Específicos

- Verificar se a inclusão de levedura influencia na digestibilidade *in vitro* da MS de gramíneas em consórcio com a leguminosa.
- Avaliar se a adição de levedura na dieta de gramíneas temperadas e em consórcio com a leguminosa, influencia na proporção de propionato.
- Avaliar se a inclusão de levedura na dieta de gramíneas temperadas e em consórcio com a leguminosa, interfere na produção de ácidos graxos voláteis.
- Verificar se a utilização de leguminosa na dieta tem resultados semelhantes as dietas com uso de leveduras.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Produção Animal No Brasil

Com o objetivo de atender as exigências nutricionais dos animais, é importante oferecer na dieta os nutrientes essenciais, como o fornecimento de água, energia, aminoácidos, vitaminas, minerais e aditivos (MOREIRA *et al.* 2010), aliado a isso, oferecer condições de manejo, ambiente, sanidade e até mesmo uma dieta balanceada de acordo com cada fase de criação.

De acordo com últimos dados, o setor agropecuário brasileiro apresentou grande evolução na área utilizada para produção nas últimas décadas, chegando a 350 milhões de hectares (há), dos quais, aproximadamente 172 milhões são utilizados para pastagens, mesmo havendo redução de 20 milhões da área de pastagem entre 1990 e 2015 (IBGE,2018). Por outro lado, através da modernização e manejo adequado, a produtividade tem apresentado aumento significativo neste mesmo período.

Cerca de 93% do rebanho bovino brasileiro está representada pela produção a pasto, em grandes extensões, porém, com baixa qualidade das áreas utilizadas e baixo valor nutritivo do alimento oferecido aos animais (TERRA *et al.* 2019).

3.2 Gramíneas na Nutrição Animal

O principal componente nas dietas dos ruminantes que é a fonte de alimentação mais econômica utilizada nos sistemas pecuários são as forrageiras, devido melhor custo/benefício está baseado na utilização de volumoso de alto valor nutricional. Porém, fatores como disponibilidade hídrica, fertilidade do solo, manejo, luminosidade e temperatura podem interferir na produtividade dos pastos (SKONIESKI *et al.* 2011). Para o desenvolvimento das gramíneas, o principal mineral que pode ser limitante do crescimento é o nitrogênio, como encontra-se em baixas concentrações no solo e pouco disponível para a planta.

Como alternativa para reduzir o período crítico de forragens, períodos de seca, ocorre o uso de pastagens cultivadas de estação fria e as espécies que mais são utilizadas entre as gramíneas é a aveia (*Avena strigosa* S.) e o azevém (*Lolium*

multiflorum Lam), solteiras ou consorciadas, uma vez que apresentam alta produção e qualidade da forragem.

De acordo com Carvalho *et al.* (2010), apesar de apresentarem elevado potencial produtivo, as pastagens anuais como aveia e azevém apresentam ciclo curto de utilização, geralmente de 100 a 120 dias e nesse período passam por rápidas mudanças estruturais que alteram significativamente seus valores nutricionais. A variação na estrutura entre o início e o final do ciclo resulta em mudanças também no desempenho dos animais, mesmo assim, a média de desempenho em todo o período apresenta bons resultados.

3.2.1 Aveia (*Avena strigosa Schreb*)

Com temperaturas baixas e geadas em algumas regiões durante o período de inverno, ocorre diminuição da disponibilidade e qualidade das pastagens. A utilização de pastagens anuais torna-se fundamental para suprir essa deficiência alimentar, como também é utilizada na rotação de cultura de verão no sistema lavoura pecuária (LUPATINI *et al.* 2013).

A aveia preta (*Avena strigosa Schreb*), é uma gramínea anual muito utilizada como alimento para os animais. Possui boa rusticidade, excelente capacidade de perfilhamento e produção de massa verde, resistente a pragas e doenças e bom valor nutritivo. Além do uso na alimentação animal, também utilizada como melhoradora de condições físicas, químicas e sanitárias de solo (PORTAS e VECHI, 2020).

Para PITTA (2009), avaliando diferentes estágios da cultura da aveia preta, observou teores médios de 19,1% PB, 71,1% NDT e 51,9% de FDN. Já Soares *et al.* (2013), obtiveram média de 22,2% de PB, sendo que os maiores teores foram encontrados no estágio inicial de desenvolvimento da planta.

3.2.2 Azevém (*Lolium multiflorum Lam*)

Com as mudanças no setor agropecuário, busca-se a intensificação da utilização das áreas de pastagens, através de sistemas de produção mais estáveis e as pastagens de inverno passam a ter papel fundamental nesse sistema. Dessa

forma, o azevém (*Lolium multiflorum* Lam.) é uma das espécies mais utilizadas, com boa adaptação as diferentes condições climáticas, capacidade de cultivo isolado ou consorciado, boas características quantitativas e qualitativas e também boa resposta a doses de nitrogênio (ASSMANN *et al.* 2004; PELLEGRINI *et al.* 2010).

Avaliando os teores de proteína bruta durante o ciclo de desenvolvimento da azevém, Pellegrini *et al.* (2010), observaram comportamento quadrático nos períodos de avaliação, com média de 21,32%. Para Rocha *et al.* (2007), também observado por Marchesan *et al.* (2015), obtendo efeito quadrático na proteína bruta com azevém cultivar Barjumbo.

Durante o ciclo de crescimento da azevém, a estrutura da planta sofre modificações, alterando as proporções de lâminas foliares e colmos, conseqüentemente, altera os nutrientes disponíveis ao animal, ocorrendo diminuição dos nutrientes desejáveis à medida que se aproxima do florescimento.

Para Marchesan *et al.* (2015), o cultivar de azevém Barjumbo cultivado solteiro apresentou melhores teores de proteína bruta (24,9% PB), quando comparado a consorciação com a cultivar comum ou com aveia preta, que segundo os autores, esta superioridade nos teores de PB é justificada pela maior proporção de folhas dessa espécie.

Além da possibilidade de consorciação com aveia, o azevém também é uma das gramíneas mais consorciadas com leguminosas, como por exemplo o trevo vesiculoso (*Trifolium vesiculosum*), (BARCELLOS *et al.* 2008). Uma das características que intensificam a utilização do azevém é a capacidade de ressemeadura natural, auxiliando os produtores na diminuição dos custos, por não ser necessário a aquisição de sementes (COSTA *et al.* 2013).

Por suas características nutricionais, boa adaptação as condições climáticas, rusticidade, boa resposta a aplicação de nitrogênio e consorciação, o azevém torna-se uma gramínea de grande importância tanto a produção de bovinos de corte, como também na bovinocultura de leite.

3.3 Leguminosas na Nutrição Animal

Por apresentarem alto valor nutricional e capacidade de fixação simbiótica de nitrogênio, as leguminosas tornam-se uma alternativa eficiente na alimentação dos animais, aumentando a quantidade e a qualidade da forragem fornecida, despertando o interesse de produtores que seguem os avanços tecnológicos e buscam redução de custos de produção (MACEDO *et al.* 2014).

Para Terra *et al.* (2019), além do ganho nos animais, a utilização das leguminosas forrageiras podem contribuir com o meio ambiente, através da fixação biológica de nitrogênio e a interação simbiótica com bactérias, as leguminosas possuem a capacidade de captar o nitrogênio atmosférico e pelo complexo enzimático chamado de nitrogenase, na associação com bactérias, e disponibiliza este nutriente para o crescimento das plantas, reduzindo a emissão de NO₂ e também pela menor emissão de metano pelos animais em função do melhor desempenho animal (MOREIRA *et al.* 2010).

Utilizadas na produção animal, as leguminosas forrageiras podem apresentar na maioria das espécies, maior teor de proteína bruta, menor percentual de parede celular e melhor digestibilidade da matéria seca em mesmo estágio de desenvolvimento vegetativo e condições de cultivo quando comparada com as gramíneas (BARCELLOS *et al.* 2008).

A disponibilidade das leguminosas forrageiras no sistema de produção dos animais pode ser de forma isolada de pastejo, como também consorciada com espécies gramíneas, possibilitando na consorciação a maior disponibilidade de nitrogênio para as gramíneas, refletindo em maior produção de pastagem, maior capacidade de lotação por área e também no ganho dos animais (STIVARI *et al.* 2011).

O consórcio entre leguminosas e gramíneas nas pastagens, tornam o sistema de produção de bovinos mais sustentável, ocorrendo crescimento desta alternativa nos últimos anos principalmente em regiões tropicais (USCHER *et al.* 2014). A proporção de leguminosas de 20 a 45% na consorciação, observando a compatibilidade entre as mesmas, potencializa o efeito da consorciação nos teores de FDN, diversidade de espécies forrageiras e na nutrição animal (ANDRADE *et al.* 2015).

3.3.1 Trevo Vesiculoso (*Trifolium vesiculosum*)

A utilização de leguminosas no sistema de produção animal proporciona vantagens desde a melhoria da fertilidade do solo, através da fixação de nitrogênio, resultando na melhoria da quantidade e qualidade da forragem, seja espécies cultivadas ou mesmo naturais. Uma das leguminosas forrageiras de grande utilização é o trevo vesiculoso.

O trevo vesiculoso (*Trifolium vesiculosum*), é uma espécie de inverno, que através de seu uso auxilia em melhorias no sistema agropastoril, com grande rendimento e qualidade da forragem, possui boa produção de sementes que superam outras leguminosas de clima temperado (COELHO *et al.* 2002). Também possui grande dormência das sementes, o que resulta em boa perenidade das áreas quando bem manejadas, possibilitando seu uso no sistema lavoura pecuária.

Para Bevilaqua e Olanda (2010), esta leguminosa pode ser utilizada como forrageira para pastejo como também para produção de feno. Podendo ser utilizada na consorciação ou solteiro, apresentando baixo risco de timpanismo. Da mesma forma Coelho (2014), relata que o trevo vesiculoso pode também ser cultivado em consorciação com aveia preta ou azevém, apresentando bons resultados nessa consorciação.

Avaliando o trevo vesiculoso, através da adubação fosfatada, Bevilaqua e Olanda (2015), observaram valores de 26,9 e de 30,1% de proteína bruta com duas variedades utilizadas, mostrando que esta leguminosa apresenta boa resposta a aplicação deste mineral. Também apresentando teores de nutrientes digestíveis totais (NDT) de 76,4%, com estes parâmetros, caracterizam como um alimento de bom valor nutricional e boa aceitação pelos animais.

3.4 Aditivos na Nutrição de Ruminantes

Em busca de melhorar a eficiência na utilização dos nutrientes da dieta de ruminantes, os usos de aditivos apresentam-se como um dos principais mecanismos para amenizar as perdas energéticas e proteicas, e em algumas situações, evitando também distúrbios no ambiente ruminal.

Atualmente no mercado vários aditivos capazes de influenciar nos componentes do metabolismo ruminal estão disponíveis, como por exemplo, aditivos microbianos, ionóforos, tamponantes, extratos naturais como taninos, saponinas, óleos essenciais, óleos funcionais entre outros. Com as exigências do mercado consumidor europeu relacionado a segurança alimentar, surgiram algumas restrições com o uso de ionóforos, induzindo a pesquisas sobre os compostos naturais e seu potencial de uso em dietas de ruminantes.

Dentro do contexto, dos microrganismos vivos denominados de aditivos probióticos, destacam-se as leveduras, em especial as da espécie *Saccharomyces cerevisiae*, que promovem o consumo do oxigênio presente no ambiente ruminal, estimulam também o crescimento microbiano, principalmente das bactérias consumidoras de ácido láctico, diminuindo os riscos da ocorrência de acidose, tornando o ambiente favorável ao desenvolvimento dos microrganismos, especialmente os consumidores de celulose, potencializando as taxas de degradação da fibra (MCALLISTER *et al.* 2011).

Com isso foram desenvolvidos produtos à base de leveduras, com inúmeras cepas e diferentes com características em relação a UFC/g, o que contribuiu para os diversos materiais encontrados no mercado.

3.5 Inclusão de Leveduras na Nutrição de Ruminantes

Em 1974 Lund, demonstrou em estudos que as leveduras são encontradas naturalmente no ambiente ruminal, identificando nove espécies, porém, a *Saccharomyces cerevisiae* não se encontra entre estas (SARTORI, 2016). Arambel & Tung (1987), comprovam em condições *in vitro*, que a temperatura e a composição química do fluido ruminal influenciam diretamente no seu crescimento (SARTORI, 2016). A taxa de crescimento do fungo é reduzida, devido o pH ruminal apresentar-se próximo de 6,5 e para que o desenvolvimento da *Saccharomyces cerevisiae* seja favorável o pH deve estar próximo de 4,5 (NICODEMO, 2001).

Contudo, mesmo que o ambiente ruminal não seja o mais apropriado para o seu desenvolvimento, a utilização das leveduras está ligada com o seu próprio metabolismo, assim, tendo efeitos dentro do rúmen. Segundo Denev *et al.* (2007), a atividade metabólica da levedura é a que resulta no benefício da sua utilização,

ressaltando que somente leveduras vivas conseguem de fato atuar no ambiente ruminal, pois seu mecanismo de ação está diretamente ligado com a sua respiração.

3.6 pH Ruminal

O pH ruminal quando em homeostasia, encontra-se em torno de 6,5 a 6,8. Com a intensificação da pecuária em busca de melhores resultados tornou-se necessário a inclusão de dietas concentradas com valores energéticos maiores que podem fazer com que o pH se encontre com valores menores que 5,8, devido a fermentação microbiana desencadear o acúmulo de ácido lático.

Panchal *et al.* (1984), relatam que as leveduras não necessitam do lactato para seu crescimento, mas sua utilização estimulam o crescimento de bactérias fermentadoras de lactato, diminuindo assim por vez a quantidade desse substrato no fluido ruminal, proporcionando um ambiente mais favorável para bactérias celulolíticas e melhor degradabilidade da fibra (PINLOCHE *et al.* 2013).

Dentre as bactérias fermentadoras de lactato destaca-se principalmente a *Selenomonas ruminantium*, que por sua vez é estimulada pela presença de *S. cerevisiae* no meio ruminal. A ação de redução de lactato pode ser relacionada também com a competição da levedura e de outras bactérias ruminais na utilização dos carboidratos solúveis (CHAUCHEYRAS *et al.* 1995).

3.7 Consumo de Oxigênio

O ambiente ruminal é essencialmente anaeróbico, mas o oxigênio pode entrar no rúmen através de alimentos e da saliva. Esse oxigênio presente no rúmen torna-se tóxico para as bactérias anaeróbicas, ocasionando a redução na adesão das bactérias celulolíticas à celulose (NICODEMO, 2001). Para este mesmo autor, por apresentarem afinidade pelo oxigênio as leveduras da espécie *S. cerevisiae*, melhoram as condições do rúmen e beneficiam os demais microrganismos ruminais.

Estudos realizados por Barford e Hall (1979), demonstraram que a capacidade de utilização do oxigênio pela *S. cerevisiae* é superior aos níveis de

oxigênio presente no fluido ruminal, os resultados da captação de oxigênio pela *S. cerevisiae* são de 200 a 300 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$, isso mesmo em quantidades pequenas de sua inclusão.

Miranda *et al.* (1996) e Arakaki *et al.* (2000), relatam em seus estudos que a suplementação com leveduras tem efeito sobre a população de microorganismos do rúmen, encontrando aumento da população de protozoários.

Segundo Arakaki *et al.* (2000), em seus estudos com a inclusão de *Saccharomyces cerevisiae* obtiveram um aumento de *Dasytricha* e *Isotricha*, sendo que estas são capazes de consumir o oxigênio presente no rúmen. Dessa forma, as leveduras auxiliam diretamente ou indiretamente o consumo de oxigênio, diminuindo o potencial redox do meio ruminal (KRIZOVÁ *et al.* 2011; PINLOCHE *et al.* 2013), favorecendo a atividade da microflora ruminal e o crescimento ecológico (FRANÇA e RIGO, 2011).

3.8 Metabolismo de Nitrogênio

O metabolismo do nitrogênio no rúmen com a inclusão de dietas com leveduras ainda não está claramente elucidado. Dawson (2002), em seus estudos encontrou reduções nos níveis de amônia e aumento no número de microrganismos. O que supõe-se que o nitrogênio amoniacal encontrado no ambiente ruminal está sendo utilizado para o crescimento microbiano, ocorrendo aumento na eficiência microbiana e aumentando o fluxo de aminoácidos para o intestino delgado (ERASMUS *et al.* 1992).

Em estudos realizado por Carro *et al.* (1992), não observaram aumento do fluxo de proteína microbiana, porém, relataram efeitos positivos na síntese de proteína microbiana. Monnerat *et al.* (2013), relatam que não obtiveram diferenças na eficiência microbiana e nas concentrações de amônia. A alteração na síntese microbiana com suplementação de *S. cerevisiae* é influenciada diretamente na composição da dieta (OLSON *et al.* 1994; MONNERAT *et al.* 2013).

3.9 Ácidos Graxos de Cadeia Curta

Com diversos efeitos das leveduras no ambiente ruminal, supõem-se que a mesma ocasiona alterações na produção de AGCC. Wiedmeier *et al.* (1987), obtiveram em seus estudos, aumento entre acetato e o propionato no fluido ruminal, obtendo também um aumento da digestibilidade da fibra.

Monnerat *et al.* (2013), relataram em seus estudos alterações na produção de AGCC e na relação de acetato:propionato quando avaliados em dietas contendo diferentes níveis de amido, porém a adição de leveduras não alterou a produção de AGCC e a relação entre estes. Vyas *et al.* (2014), também não encontraram em seus estudos alterações com a inclusão de leveduras na dieta de novilhas de corte com 50% de volumoso e concentrado sobre a produção total de AGCC e na relação de acetato:propionato.

Por outro lado, Hinman *et al.* (1998), observaram redução na relação acetato:propionato com pesquisa com a inclusão de leveduras. Gomes *et al.* (2010) não observaram alterações na relação de acetato:propionato nas duas primeiras horas após a alimentação, mas em intervalos de 4 e 6 horas a relação de acetato:propionato teve redução nos animais que receberam levedura.

De acordo com Van Soest (1994), a diminuição da produção de metano pelas leis estequiométricas de equilíbrio químico, ocorre aumentando as concentrações de propionato. Quando a relação acetato:propionato diminui, a produção de metano também é reduzida, com isso, ocorre melhor aproveitamento de energia pelos bovinos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Alimentos da UTFPR- Dois Vizinhos entre os meses de setembro de 2020 a julho de 2021. Foi adicionado ou não levedura (*Saccaromyces cerevisiae*) às amostras de pasto. As amostras foram obtidas de forrageiras oriundas de um experimento com bovinos de corte mantidos nos seguintes tratamentos: aveia+azevém, aveia+azevém+trevo vesiculoso. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em um esquema fatorial 2 x 2 (levedura x leguminosa) com três repetições e quatro períodos.

As pastagens foram implementadas através do sistema de plantio direto, sobre resíduo de lavoura de milho entre abril e maio de 2020. Utilizando 80 kg de semente de aveia, 40 kg de semente de azevém e 30 kg de semente de trevo vesiculoso por ha, em conjunto com a adubação de base de 300 kg de NPK da fórmula 10-18-20, distribuídos na linha. Durante o experimento foram realizadas adubações de cobertura, utilizando-se 100 kg há⁻¹ de ureia, parcelada em três aplicações. O experimento foi conduzido em quatro períodos de 21 dias, as amostras do pasto foram coletadas entre os dias 17 e 18 de cada período experimental, utilizando-se a técnica de dupla amostragem (WILM, 1944).

As amostras do pasto, aproximadamente 500 g, foram pré-secas em estufa de circulação forçada de ar a uma temperatura de 55 °C por 72 horas e após moídas em moinho tipo Willey com peneira de 1 mm e enviadas para o Laboratório de Análise de Alimentos para a realização da digestão in vitro gás para avaliar a produção de NH₃-N, AGV.

Os tratamentos foram analisados pela técnica semiautomatizada de produção de gases in vitro (Maurício *et al.*, 1999). Realizou-se três corridas, sendo que as amostras das dietas foram incubadas em duplicatas em cada corrida, incluindo frascos sem amostras (brancos). Aproximadamente 0,5g de amostra foi incubada, adicionando –se 0,0001g de levedura nos tratamentos com a inclusão, esta quantidade foi adaptada a partir da recomendação da empresa de 4g animal dia, anaerobicamente a 39°C com 50ml de fluido ruminal tamponado (relação tampão/fluido de 8:2), em frascos de vidro (capacidade de 160ml) vedados com tampas de borracha(Theodorou, *et al.*, (1994) O preparo do meio de cultura foi

realizado de acordo com Goering e Van Soest, (1970). O preparo do inóculo ruminal e da incubação seguiram as recomendações de Hall e Mertens, (2008).

O inóculo ruminal foi obtido de dois bovinos machos e fistulados (Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA UTFPR, protocolo nº 2014-008), castrados, da raça Jersey, com \pm 500 kg de peso vivo, mantidos em pastagem e suplementados durante, no mínimo 14 dias, com 2 kg de concentrado previamente formulado, conforme recomendações de Abreu *et al.* (2014). O equipamento para aferir a pressão e o volume de gás é semelhante ao descrito por Malafaia *et al.* (1998a) com algumas modificações (Abreu *et al.*, 2014). As leituras de pressão e de volume foram realizadas nos tempos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 18, 24, 36, 48, 72 e 96 horas após o material ter sido incubado. As leituras de volume foram expressas em mL 0,1 g⁻¹ de MS incubada.

Amostras de 50 mL foram coletadas dos frascos às 24 e 48 h após a incubação. O pH foi determinado imediatamente, utilizando o potenciômetro digital (pHmetros Technos). Uma alíquota foi centrifugada e 9 mL foram acidificadas com 1 mL de H₂SO₄ 20%, e posteriormente congelada. Outra alíquota de 20 mL foi centrifugada e o sobrenadante, passado em filtro de seringa, e congelado para posterior análise dos ácidos graxos voláteis (AGVs). As concentrações de AGVs foram determinadas por HPLC, utilizando a coluna BIO-RAD Aminex HPX-87H operando a 50 °C em modo isocrático com fluxo de 0.6mL/min e fase móvel composta de água acidificada com ácido sulfúrico (0.01 mol/L) e volume de injeção de 20 microlitros.

O teor de matéria seca (MS) foi obtido por secagem em estufa a 105° C, durante, pelo ao menos, oito horas; o teor de matéria mineral (MM), por queima em mufla a 600oC, por quatro horas (Método 967.03; AOAC, 1998) e teor de matéria orgânica foi estimado pela equação 100-MM. O N total foi obtido pelo método de Kjeldahl (método 984.13, AOAC, 1995); extrato etéreo por extração com éter a 90oC por meio do extrator de gordura XT4 Ankom®; fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram determinados pelo analisador de fibra Ankom 2000, utilizando as soluções de FDN e FDA preparadas por metodologia proposta por Van Soest (1991) e descritas por Silva e Queiroz (2002); lignina (LDA) determinada por Robertson & Van Soest (1981); N insolúvel em detergente neutro (NDIN) e em detergente ácido (NIDA) segundo Licitra *et al.*

(1996); digestibilidade in vitro da MS (DIVMS) das amostras do pasto foi determinada por método adaptado de Tilley e Terry (1963). Aproximadamente 0,25g de amostra previamente secas e moídas foram pesadas em filtros F57, os quais foram selados e incubados anaerobicamente em jarros de vidro contendo líquido ruminal e solução tampão (proporção de 4:1), a 39°C em banho-maria durante 48h, com agitação lenta, utilizando uma Incubadora Artificial

Os dados coletados foram submetidos à análise de variância e teste F em nível de 5 % de significância, utilizando o programa estatístico SAS (2001).

Tabela 01 - Composição bromatológica (g kg⁻¹) das amostras de forragem

Item	Forrageiras ¹	
	AvAz	AvAzTre
MS	865	86,5
MO	864	87,2
PB	249	24,3
FDN	536	54,3
FDA	272	27,1
DIVMS	837	80,1

¹ AvAz= pasto de aveia e azevém consorciados; AvAzTre= pasto de aveia, azevém e trevo vesiculoso em consórcio.

Fonte: Autor (2021)

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Parâmetros de pH, amônia e AGVS.

Tabela 02 - Valores de pH, e concentrações (mg/dl) de NH₃-N e ácidos graxos voláteis, do inóculo ruminal in vitro.

	Tempo de Incubação	Av Az	Av Az Lev	AvAz Trevo	AvAz Trevo Lev	EP	Leg	Lev	Leg*Lev
pH	24	6,76	6,74	6,77	6,79	0,04	0,4506	0,8579	0,6193
	48	6,53	6,56	6,71	6,68	0,11	0,3498	0,9150	0,9195
N-NH ₃	24	13,13	13,91	13,80	13,40	1,11	0,9457	0,8729	0,5982
	48	9,36	7,84	8,46	8,83	0,84	0,9601	0,5065	0,2730
Ac.	24	2,01	2,29	1,90	1,90	0,18	0,7952	0,9450	0,6353
	48	2,83	2,87	2,66	2,86	0,17	0,6096	0,4964	0,6419
Acético	24	0,52	0,57	0,47	0,44	0,05	0,0974	0,8485	0,4524
	48	0,90	0,90	0,85	0,90	0,06	0,6704	0,6735	0,6539
Propiônico	24	0,22	0,23	0,22	0,20	0,03	0,7952	0,9450	0,6353
	48	0,32	0,33	0,35	0,34	0,05	0,7285	0,9808	0,9024

¹EP = erro padrão da média

Fonte: Autor (2021)

O processo de fermentação ruminal, converte os carboidratos (estruturais e não estruturais) em ácidos graxos de cadeia curta, sendo em maior quantidade o acético, butírico e propiônico (DUKES & SWENSON, 1997). Estes são fontes de energia para os ruminantes, e a produção de NH₃ está relacionada na síntese de proteína. Porém esse processo de fermentação também produz NO₃, CO₂, CH₄ e H₂, que são compostos inadequados para o animal e a microbiota ruminal (CHURCH, 1993).

5.2 pH

Os valores médios do pH variaram entre 6,76 e 6,79 no período de 24 h sendo em média um pH 6,74. Já nas avaliações de 48 h o pH diminuiu e ficou em média de 6,62. Valores apresentados na tabela 2 não foram significativos (P<0,05) em relação aos tratamentos com a dieta controle.

De acordo com Van Soest (1982), pH com níveis adequados para uma boa manutenção ruminal encontram-se entre 6,0 e 7,0. Já Silveira *et al.* (2006), relatam

que para atuação adequada das bactérias fibrolíticas e protozoários é necessário pH ruminal entre 6,2 e 6,8. Já bactérias amilolíticas necessitam de pH na faixa entre 5,5 e 5,8 (FURLAN *et al.* 2006).

Furlan *et al.* (2006), o pH ideal é entre 5,5 e 7,0, pois relatam que o pH ruminal afeta diretamente a degradação dos alimentos de forma diferenciada. Neste trabalho obtivemos pH em média de 6,74 (24 h) e 6,62 (48 h), dados estes dentro dos níveis relatados pela literatura citada.

Os ruminantes por sua vez mantem equilíbrio do pH através da saliva, sendo rica em bicarbonato de sódio, possuindo pH de 8,1. A secreção da saliva depende muito da dieta fornecida ao animal, dietas ricas em fibras induzem maior secreção de saliva (BERCHIELLI *et al.* 2006). Segundo Valadares Filho e Pina (2006), as dietas com inclusão inferior a 40% de forragem, interferem reduzindo a produção de saliva e diminuem o crescimento da flora microbiana.

Neste trabalho foram utilizadas forragens de qualidade, um dos fatores que influenciaram a não alteração de pH. Estudos realizados por Pedreira *et al.* (2004) e Primavesi *et al.* (2004), não encontraram alterações no pH com dietas a base de volumosos.

Rodrigues (2017) quando comparou diferentes tratamentos utilizando leguminosas, não obteve diferença de pH entre os tratamentos, sendo o pH médio de 6,8. Resultado este semelhante ao trabalho realizado quando incluso leguminosa na dieta, pH médio de 6,7, e no tratamento com levedura e trevo o pH médio foi de 6,72.

Estudos realizados com animais suplementados com levedura adicionada a ração proporcionou valores médio de pH ruminal de 6,11, o que demonstrou capacidade desse aditivo estabilizar o ambiente ruminal em dietas com quantidades elevadas de concentrado (PROHMAN *et al.* 2013)

Gattas *et al.* (2008) fornecendo levedura na dieta de bovinos de corte, não encontraram alterações no pH ruminal. Zeola *et al.* (2011), também não obtiveram efeito no pH ruminal de vacas holandesas suplementadas com levedura, obtendo um valor médio de 6,4.

Bakr *et al.* (2015), avaliaram a inclusão de levedura na dieta de vacas no período de transição e obteve redução nos valores de pH em relação ao grupo

controle, 7,03 e 7,22 respectivamente, sendo um pH favorável, quando relacionado a problemas com acidose no pós-parto.

5.3 Amônia

A concentração de N-NH₃ não diferiu entre os tratamentos e a dieta controle ($P < 0,05$), variando os resultados entre 13,13 a 13,91 mg/dl nas 24 horas e 7,84 a 9,36 mg/dl nas 48 horas. Rodrigues (2017), avaliando dietas somente com leguminosas obteve valores diferentes, em que o valor máximo foi de 7,03 mg/dl.

Segundo Van Soest (1954), a concentração ótima de N-NH₃ é de 10 mg/dl. Para Satter e Spyer (1974), os níveis ideais devem estar acima de 5 mg/dl. Os resultados encontrados neste estudo, demonstram que todos os tratamentos são capazes de suprir a demanda de N-NH₃, inclusive o tratamento controle.

Franzolim *et al.* (2004), não obtiveram resultados significativos nos níveis médios de amônia ruminal em dietas com feno de gramínea e suplementação com levedura. Khalif e Khorshd (2006), relatam que a suplementação de leveduras aos ruminantes pode aumentar a proporção de digestão das fibras, segundo Hirsov *et al.*, (2010), a suplementação com leveduras pode estimular o desenvolvimento das bactérias fibrolíticas no rumen, estas por sua vez possuem alta preferência por amônia, com isso pode se melhorar a utilização no N-NH₃ e reduzir a sua produção.

Zeoula *et al.* (2011), não observaram diferença nas concentrações de amônia ruminal entre os tratamentos com adição de levedura na suplementação de vacas holandesas. Resultado semelhante ao de Gattas, *et al.* (2008), que também não encontraram mudanças no N-NH₃ ruminal com medias de 8,81 e 12,5 mg/dl respectivamente.

Bakr *et al.* (2015), em seus estudos com vacas no período de transição obtiveram 12,99 mg/dl nos valores de concentração de amônia com a adição de leveduras na dieta.

Oliveira (2017), em estudos comparando diferentes dietas com inclusão de leveduras na dieta de bovinos Nelore, também não observaram diferença nas concentrações de nitrogênio amoniacal (N-NH₃). Os valores encontrados foram de 9,66 mg/dl sem levedura e 9 mg/dl com levedura. Valores semelhantes aos dados encontrados no presente trabalho.

Os aminoácidos são compostos essenciais para os animais, a população microbiana tem papel fundamental nesse fornecimento. Os microorganismos do rumem produzem aproximadamente 50% da exigência dos aminoácidos, o restante é recomendado fornecer via dieta na forma de proteína verdadeira (SEO *et al.* 2013).

Segundo Detmann *et al.* (2014), bovinos alimentados com pastagens tropicais e suplementação obtém eficiência máxima na utilização de nitrogênio quando os níveis são de 6,30 mg de NH₃ ruminal/dl.

De acordo com Chedthong e Wanapat, (2010), amônia em excesso no ambiente celular interfere na gliconeogênese, que por sua vez bloqueia ciclo de Krebs, afetando diretamente na produção de ATP.

5.4 AGVS

Segundo Oliveira, (2005), a produção de AGVS no rúmen, está diretamente correlacionada com a composição e apresentação física da dieta e a frequência e consumo da mesma. Bergman, (1990), a natureza do alimento interfere diretamente as concentrações de AGV'S.

Bergman, (1990), relata que a proporção molar de acetato, propionato e butirato podem variar quando é alterado a proporção de volumoso: concentrado da dieta de 75:15:10 para 40:40:20. De acordo com Mota, *et al.*, (2010), a maior proporção de acetato é oriunda da degradação da celulose e hemicelulose, a degradação dos carboidratos solúveis (amido e açúcares), aumenta a produção de propionato, que por sua vez diminuiu a produção de acetato e butirato.

Estudo realizado por Black (1990), demonstrou que a produção de AGVs quando o animal alimenta-se somente de forragens é de acetato:73, propionato:20, butirato:7, já animais alimentados com forragens e concentrado é de 60:30:10 e dietas com alto valor de concentrado 50:40:10.

Neste trabalho as concentrações de acetato, propionato e butirato, não foram influenciados ($P > 0,05$) em função dos tratamentos utilizados. Gattas, *et al.*, (2008), também não encontraram diferença nas concentrações ruminais molares de acetato, butirato, propionato e AGVS totais, quando utilizou suplementação de levedura na dieta.

Segundo Giger – Reverdin, *et al.* (1996), a inclusão de levedura na dieta proporciona aumento na quantidade dos AGVS totais tanto in vitro como in vivo, de acordo com autor isso ocorre em virtude de leveduras vivas produzirem vitaminas, aminoácidos e nucleotídeos que estimulam o crescimento e a atividade microbiana. Porém no estudo realizado não obtivemos resultado significativo quando inclusão de levedura.

Estudos conduzidos por Garcia *et al.* (2000) e Lila, *et al.* (2004), com diferentes condições e dietas, relataram aumento na produção dos ácidos acéticos, butírico e propiônico, quando adicionado levedura na dieta. Porém pesquisas realizadas por Mc Grimn, *et al.* (2004); Knorr, *et al.* (2004), com inclusão de levedura na dieta não encontraram diferença na produção de AGV do rúmen.

5.5 Produção de gás in vitro

O volume final de produção de gás (S), (h-1) e lag time (L) produzidos pelos tratamentos com levedura e leguminosa, não diferiram ($P>0,05$) do tratamento controle (Tabela 3).

Tabela 03 – Produção de gás in vitro

Tratamentos	Volume máximo (Y, mL)	Taxa de produção de gás (S), (h-1)	Lag time (L), (h)
AVAZ	209,2	0,027	4,29
AVAZ+LEV	205,0	0,025	5,24
AVAZTREVO	207,3	0,024	5,40
AVAZTREVO+LEV	197,8	0,025	4,98

($P>0,05$)

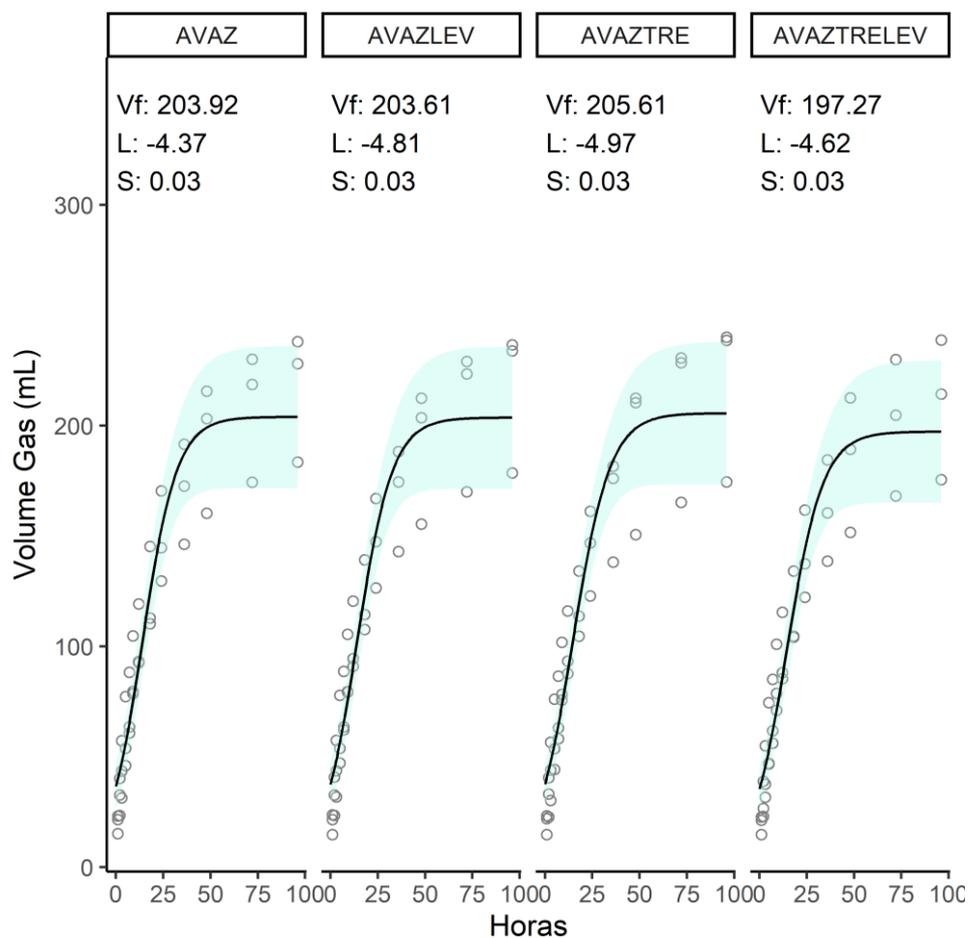
Fonte: Autor (2021)

De acordo com Campos, *et al.*, (2001), estudos de produção de gás in vitro, realiza uma estimativa do valor nutricional dos alimentos ou dietas, através da fermentação ruminal simulada pela técnica, esses valores são correlacionados entre a curva cumulativa de produção de gás e valores da digestão do alimento.

O volume máximo obtido foi de 209,2 ml no tratamento de aveia e azevém, o menor valor foi encontrado no consórcio de aveia azevém e trevo com a adição da levedura, 197,8 ml ambos tiveram produção de gás semelhantes, 0,027 e 0,0025 respectivamente, em um tempo de 04:29 hs e 04:98 hs.

Mirceia, (2020), em seus estudos com o uso de levedura na dieta, encontrou valores de 0,069 h⁻¹ na taxa de digestão com latência de 2,5 horas. Dados⁶ semelhantes encontrados no presente estudo.

Figura 1 – Produção de gás a partir da incubação in vitro das amostras de aveia+azevém (AVAZ), aveia+azevém com levedura (AVAZLEV), aveia+azevém+trevo (AVAZTRE) e aveia+azevém+trevo com levedura (AVAZTRELEV) com líquido ruminal. Dados apresentados como medição em tempo real do gás total produzido com mL/g de MS.



Fonte: Autor (2021)

A figura 1, representa a produção de gás das 0 horas até as 96 horas após incubação, é possível perceber que não houve diferença significativa entre os tratamentos e que a produção foi semelhante do início ao fim do processo.

Segundo Sallam, *et al.* (2010), a maior velocidade de produção de gás nos tempos iniciais está relacionada com a energia dos microrganismos na fermentação dos carboidratos não fibrosos nas primeiras horas de incubação. De acordo com Flachowski e Lebzien, (2012), quanto mais rápido ocorrer a fermentação ruminal maior será o consumo e o aproveitamento do alimento.

Sousa, *et al.* (2014), encontraram melhor digestibilidade da fibra e mudanças na fermentação ruminal e, animais alimentados com silagem de cana de açúcar, diferentes níveis de concentrado e adição de levedura.

Estudos realizados por Souza, *et al.* (2015), em novilhos mantidos em sistema de pastejo gramíneas tropicais, demonstram que a suplementação com *S. Cerevisiae*, aumenta a digestibilidade da fibra de forragem.

De acordo com Wallace, (1994), leveduras tendem a favorecer aumento no número total de bactérias ruminais. Bitencourt, *et al.* (2011), em seus estudos observaram melhoria na digestibilidade da fibra em dietas com adição de leveduras.

Os tratamentos utilizados no presente trabalho são a base de gramíneas tropicais, com DIVMS de 83,73 e 80,12, no tratamento aveia e azevém e aveia, azevém e trevo, FDN 53,64 e 54,28 respectivamente. Esses resultados demonstram que foi utilizado material de boa qualidade para incubação, não interferindo assim o uso de leveduras na dieta.

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos demonstram que a utilização de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*), em dietas a base de forragens de boa qualidade não interferem na fermentação ruminal, e a interação entre o consorcio de aveia, azevém e leguminosa também não apresentaram resultados significativos em comparação com a dieta controle aveia e azevém.

REFERÊNCIAS

ABDALLA, A.L.; LONGO, C.; HUMMEL, J. *et al.* Effects of tanniniferous plants on in vitro enteric methane and other rumen fermentation products. **GREENHOUSE GASES AND ANIMAL AGRICULTURE CONFERENCE**, 3., 2007, Christchurch. Australian Journal of Experimental Agriculture. East Melbourne: CSIRO, 2008. v. 48. Abdalla *et al.* 2007: 3GGAA

ABREU, M. L. C.; VIEIRA, R. A. M.; ROCHA, N. S.; ARAUJO, R. P.; GLÓRIA, L. S.; FERNANDES, A. M.; LACERDA, P. D. AND JÚNIOR, A. G. 2014. CLITORIA TERNATEA L. as a potential high quality forage legume. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.27, p.169–178.

ANDRADE, C. M. S.; ASSIS, G. M. L.; FERREIRA, A. S. Eficiência de longo prazo da consorciação entre gramíneas e leguminosas em pastagens tropicais. **Congresso Brasileiro de Zootecnia**, Fortaleza, 31 p. 2015.

ARAKAKI, L.C. *et al.* The effects of feeding monensin and yeast cultures, alone or in combination, on the concentration and generic composition of rumen protozoa in steers fed on low-quality pastures supplemented with increasing levels of concentrate. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.84, p.121-127, 2000.

ARAMBEL, M.J.; TUNG, R.S. Effect of yeasts on the rumen ecosystem. **XIX RUMEN FUNCTION CONFERENCE**, 9., 1987, Chicago, IL. Chicago, 1987.

ASSMANN, A.; PELISSARI, A.; MORAES, A. *et al.* Produção de gado de corte e acúmulo de matéria seca em sistema de integração lavoura-pecuária em presença e ausência de trevo branco e nitrogênio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.1, p.37-44, 2004.

BARCELLOS, A. O.; RAMOS, A. K. B.; VILELA, L. *et al.* Sustentabilidade da produção animal baseada em pastagens consorciadas e no emprego de leguminosas exclusivas, na forma de banco de proteína, nos trópicos brasileiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.51-67, 2008.

BARFORD, J.P.; HALL, R.J. An examination of the crabtree effect in *Saccharomyces cerevisiae*: the role of respiratory adaptation. **Journal of General Microbiology**, London, v.114, p.267-275, 1979.

BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006.

BERCHIELLI, T.T. *et al.*, **Nutrição de Ruminantes**. 2.ed. Jaboticabal: Funep. 2011. 616 p.

BERGMAN, E. N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. **Physiological Reviews**, 70:567, 1990.

BEVILAQUA, G. A. P.; OLANDA, R. B. de **Sistemas ecológicos de cultivo de trevo vesiculoso visando a produção de forragem e de sementes**. 2010. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2010_4/trevo/index.htm>. Acesso em: 10/8/2020.

BEVILAQUA, G. A. P.; OLANDA, R. B. Desempenho de trevo vesiculoso em sistema agrícola ecológico. **Revista brasileira de agroecologia**. Pág. 92 a 99. 2015.

BLACK, J.L. Nutrition of the grazing ruminant. **Proc. NewZel. Soc. Prod.**, 50: 07-27, 1990.

CARRO, M.D.; LEBZIEN, P.; ROHR, K. Effects of yeast culture on rumen fermentation, digestibility and duodenal flow in dairy cows fed a silage based diet. **Livestock Production Science**, Roma, v.32, p.219-229, 1992.

CARVALHO, P. C. F.; ROCHA, L. M.; BAGGIO, C.; MACARI, S.; KUNRATH, T. R.; MORAES, A. Característica produtiva e estrutural de pastos mistos de aveia e azevém manejados em quatro alturas sob lotação contínua. **Revista Brasileira de Zootecnia**., v.39, n.9, p.1857-1865, 2010.

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

CHERDTHONG, A.; WANAPAT, M. Development of urea products as rumen slowrelease feed for ruminant production: A review. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 4, n. 8, p. 2232–2241, 2010.

CHURCH, D. C. **The ruminant animal, digestive physiology and nutrition**. Englewood Cliffs, N.J: Prentice Hall, 1993. 564 p.

COELHO, R. A. T. **Leguminosas no planejamento forrageiro para a região noroeste do estado do rio grande do sul.** Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 77 p. 2014.

COELHO, R. W., RODRIGUES, R. C.; REIS, J. C. L. **Rendimento de forragem e composição bromatológica de quatro leguminosas de estação fria.** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, (Embrapa Clima Temperado. Comunicado Técnico,78). 2002.

COSTA, O. S. D. Importância do azevém anual (*Lolium multiflorum* Lam.) em sistema de integração lavoura-pecuária. In: III Simpósio de Sustentabilidade e Ciência Animal. Universidade de São Paulo, **Anais...**São Paulo, 2013.

DAWSON, K.A. Not just bread and beer: new applications for yeast and yeast products in human health and nutrition. In: **NUTRITIONAL biotechnology in the feed and food industry.** Nottingham: Nottingham University Press, 2002. p. 225-232.

DENEV, S.A. *et al.* Yeast cultures ruminant nutrition. **Bulgarian Journal of Agricultural Science**, Sófia, n.13, p.357-374, 2007.

DUKES, H. H.; SWENSON, M. J. 1977. **Fisiologia de los animals domesticos.** Funciones vegetativas. Madrid: Aguilar p. 1054.

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

FERELI, F. *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.

FRANÇA, R.A.; 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.

FRANZOLIN, R.; COSTA, F. A. A.; FERNANDES, L. B. Avaliação do uso de aditivos em dietas de bovinos zebuínos. In: **REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE**

BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. Anais... Campo Grande: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2004. (CDROM).

FURLAN, R. L.; MACARI, M.; FARIA FILHO, D. E. Anatomia e fisiologia do trato gastrointestinal. *In: Nutrição de Ruminantes*, Jaboticabal: Funep, 583p.2006.

GARCIA, C.C.G.; MENDONZA, M.G.D; GONZÁLES, M.S. *et al.* Effect of a yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) and monensin on ruminal fermentation and digestion in sheep. **Animal Feed Science Technology**, v.83, p.165-170, 2000.

GATTAS, C.B.A.; MORAIS, M.G.; ABREU, U.G.P. *et al.* Efeito da suplementação com cultura de levedura na fermentação ruminal de bovinos de corte. **Rev. Bras. Zootec.**, v.37, p.711- 716, 2008.

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

GIGER-REVERDIN, S.; BEZAULT, N.; SAUVANT, D. Effects of a probiotic yeast in lactating ruminants: interaction with dietary nitrogen level. **Animal Feed Science and Technology**, v.63, p.149-162, 1996.

GOERING, H. K.; VAN SOEST, P. J. Forage fiber analysis: apparatus reagents, procedures and some applications. **Agricultural Handbook**, 379. Washington, D.C. 1970.

GOMES, R.C. *et al.* Leveduras vivas e monensina em dietas de alto concentrado para bovinos: parâmetros ruminais e degradabilidade "in situ". **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.11, n.1, p.202-216, 2010.

HALL, M. B.; MERTENS, D. R. Technical note: effect of sample Processing procedures on measurement of starch in corn silage and corn grain. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, n.12, p. 4830-4833, 2008.

HINMAN, D.D.; SORENSEN, S.J.; MOMONT, P.A. Effect of yeast culture on steer performance, apparent diet digestibility, and carcass measurements when used in a barley and potato finishing diet. **The Professional Animal Scientist**, Champaign, v.14, p.173-177, 1998.

HRISTOV, A. N., VARGA, G., CASSIDY, T., LONG, M., HEYLER, K., KARNATI, S. K., R. & YOON, I. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation production ruminal fermentation and nutrient utilization in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.93, n. 2, p. 682-692, 2010.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística-Censo agropecuário – Pesquisa pecuária municipal. IBGE. (2018). <<https://censo2020.ibge.gov.br/2012-agencia-de-noticias/noticias/25483-rebanho-bovino-reduz-em-2018-em-ano-marcado-por-altas-no-abate-e-exportacao.html>> Acesso em: 08 Set. 2020.

KNORR, M.; PATINO, H. O.; MEDEIROS, F.S. Efeito de diferentes níveis de nitrogênio não protéico em sais proteinados no pH e na concentração de amônia ruminal de bovinos alimentados com feno de baixa qualidade. *In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA*, 41., 2004, Campo Grande. Anais... Campo Grande: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2004.

KRIZOVA, L. *et al.* The effect of feeding live yeast cultures on ruminal pH and redox potential in dry cows as continuously measured by a new wireless device. **Journal of Animal Science**, Praha, v.56, n.1, p.37-45, 2011.

LILA, Z.A.; MOHAMMED, N.; YASUI, T. *et al.* 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.

LUND, A. *et al.* Yeast and moulds in the bovine rumen. **Journal of General Microbiology**, London, v.81, p.453-462, 1974.

LUPATINI, G. C.; RESTLE, J.; VAZ, R. Z.; ALEXANDRE, V. V.; ROSO, C.; VAZ, F. N. Produção de bovinos de corte em pastagem de aveia preta e azevém submetida à adubação nitrogenada. **Cie. Anim. Bras.**, Goiânia, v.14, n.2, p. 164-171, abr./jun. 2013.

LUSCHER, A.; MUELLER-HARVEY, I.; SOUSSANA, J. F.; REES, R. M.; PEYRAND, J. L. Potencial of legume-based grassland-livestock systems in Europe: a review. **Grass and Forage Science**, vol. 69, n. 2, p. 206-228.

MACEDO, M. C. M.; ZIMMER, A. H.; KICHEL, A. N.; ALMEIDA, R. G. DE & ARAUJO, A. R. Degradação de Pastagens: alternativas de recuperação e renovação, e formas de mitigação. *In: Anais de Congresso*, Ribeirão Preto, SP, Embrapa Gado de Corte. p. 158–181. 2014.

MALAFAIA, P.A.M.; VALADARES FILHO, S.C.; VIEIRA, R.A.M. *et al.* Cinética ruminal de alguns alimentos investigada por técnicas gravimétricas e metabólicas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, p.370-380, 1998.

MARCHESAN, R.; PARIS, W.; TONION, R.; MARTINELLO, C.; MOLINETE, M. L.; PAULA F. L. M.; ROCHA, R. Valor nutricional de cultivares de azevém consorciados ou não com aveia sob dois resíduos de pastejo. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v.14, n.3, p.254-263, 2015.

MAURÍCIO, R.M., MOULD, F.L., DHANOA, M.S. A semi-automated in vitro gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. **Animal Feed Science and Technology**, v.79, p.321-330, 1999.

McALLISTER, T.A. *et al.* Review: the use of direct fed microbials to mitigate pathogens and enhance production in cattle. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v.91, p.193-211, 2011.

McGINN, S.N.; BEAUCHEMIN, K.A.; COATES, T. *et al.* Methane emissions from beef cattle: effects of monensin, sunflower oil, enzymes, yeast, and fumaric acid. **Journal of Animal Science**, v.82, p.3346-3356, 2004.

MEDEIROS, S.R.; GOMES, R.C.; BUNGENSTAB, D.J. **Nutrição de bovinos de corte: fundamentos e aplicações**. 1.ed. Brasília: Embrapa Gado de Corte. 176 p. 2015.

MONNERAT, J.P.I.S. *et al.* Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and monensin on digestion, ruminal parameters, and balance of nitrogenous compounds of beef cattle fed diets with different starch concentrations. **Tropical Animal Health and Production**, Edinburgh, v.45, p.1251-1257, 2013.

MOREIRA, F. M. S.; SILVA, K.; NÓBREGA, R. S. A. & CARVALHO, F.– Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, vol. 1, n. 2, p. 74-99. 2010.

MOTA, M. F.; VILELA, D.; Santos, G. T.; ELYAS, A. C. W.; LOPES, F. C. F.; VERNEQUE, R. S.; PAIVA, P. C. A.; PINTO NETO, A. P. Parâmetros ruminais de vacas leiteiras mantidas em pastagem tropical. **Archivos de Zootecnia**, 59 (226): 217- 224, 2010.

NICODEMO, M.L.F. **Uso de aditivos na dieta de bovinos de corte**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2001, 54p. (Documentos / Embrapa Gado de Corte, ISSN 1517-3747; 106).

OLIVEIRA, L.O.F. **Estudos de desempenho e consumo, dinâmica ruminal de fase líquida e sólida e digestibilidade in situ do capim *Brachiaria brizantha* CV. Marandu, em bovinos de corte suplementados com proteínados durante a estação seca do ano**. Belo Horizonte, MG: Universidade Federal de Minas Gerais, 2005. 93p.

OLIVEIRA, V. S.; SANTANA NETO, J. A.; VALENÇA, R. L. Características químicas e fisiológicas da fermentação ruminal de bovinos em pastejo – revisão de literatura. **Revista eletrônica de Medicina Veterinária**. n. 20, 2013.

OLSON, K.C. *et al.* Influence of yeast culture supplementation and advancing season on steers grazing mixed-grass prairie in the northern great plains: II. Ruminal fermentation, site of digestion, and microbial efficiency. **Journal Animal of Science**, Champaign, v.72, p.2158-2170, 1994.

PANCHAL, C.J. *et al.* Susceptibility of *Saccharomyces cerevisiae* spp. and *Schwanniomyces* spp. to the aminoglycoside antibiotic G418. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.47, n.5, p.1164-1166, 1984.

PEDREIRA, S. M. **Estimativa da produção de metano de origem animal por bovinos tendo como base a utilização de alimentos volumosos: utilização da metodologia do gás traçador hexafluoreto de enxofre (SF₆)**. 2004. 136f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

PELLEGRINI, L. G.; MONTEIRO, A. L. G.; NEUMANN, M.; MORAES, A.; PELLEGRINI, A. C. R. S.; LUSTOSA, S. B. C. Produção e qualidade de azevém-anual submetido a adubação nitrogenada sob pastejo por cordeiros. **R. Bras. Zootec.**, v.39, n.9, p.1894-1904, 2010.

PINLOCHE, E. *et al.* The effects of a probiotic yeast on the bacterial diversity and population structure in the rumen of cattle. **Plos One**, San Francisco, v.8, n.7, 2013.

PINLOCHE, E. *et al.* The effects of a probiotic yeast on the bacterial diversity and population structure in the rumen of cattle. **PLoS ONE**, v. 8, n. 7, p. 1–10, 2013.

PITTA, C. S. R. **Produção animal e vegetal em trigo duplo propósito com diferentes durações de pastejo**. 2009. 82f. Dissertação (Mestrado em Agronomia-Produção Vegetal) – Curso de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, PR.

PORTAS, A. A.; VECHI, V. A. de **Aveia preta - boa para a agricultura, boa para a pecuária**. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2007_4/AveiaPreta/index.htm>. Acesso em: 9/8/2020.

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.; GRANZOTO, T. Suplementação e cultura de levedura na alimentação de bezerros de corte em pastagem de aveia e azevém. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária**, Belo Horizonte, v. 65, n. 4, 2013.

PUCHALA, R.; MIN, R. B.; GOETSCH, A. L. *et al.* The effect of a condensed tannin-containing forage on methane emission by goats. **Journal of Animal Science**, v.83, p.182-186, 2005.

ROCHA, M. G.; PEREIRA, L. E. T.; SCARAVELLI, L. F. B. *et al.* Produção e qualidade de forragem da mistura de aveia e azevém sob dois métodos de estabelecimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.1, p.7-15, 2007.

SANTOS, G. C. L.; NETO, S. G.; BEZERRA, L. R.; MEDEIROS, N. Uso de tortas na alimentação de vacas leiteiras: uma revisão. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research** . vol. 3, n. 1, p.89-113, jan./mar. ISSN 2595-573X. 2020.

SARTORI, E. D. **Uso de Levedura na Alimentação de Bovinos de Corte: Uma Revisão Sistemática-Metanálise**. Porto Alegre, 78p. 2016. Dissertação apresentada como requisito para obtenção do grau de Mestre em Zootecnia -Área de concentração Produção Animal.

SATTER, L. D., SLYTER, L. L. 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial production in vitro. **Br. J. Nutr.**, 32(2):199-208

SEO, J. K. *et al.* Effects of synchronicity of carbohydrate and protein degradation on rumen fermentation characteristics and microbial protein synthesis. **Asian Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 26, n. 3, p. 358–365, 2013.

SILVEIRA, M. F.; KOZLOSKI, G. V.; BRONDANI, I. L.; ALVES FILHO, D. C.; RESTLE, J.; LEITE, D. T.; METZ, P. A. M.; SILVEIRA, S. R. L. Ganho de peso vivo e fermentação ruminal em novilhos mantidos em pastagem cultivada de clima temperado e recebendo diferentes suplementos. **Ciência Rural**, v.36, n.3, 2006.

SKONIESKI, F. R.; VIÉGAS, J.; BERMUDEZ, R. F.; NÖRNBERG, J. L.; ZIECH, M. F.; COSTA, O. A. D.; MEINERZ, G. R. Composição botânica e estrutural e valor nutricional de pastagens de azevém consorciadas. **R. Bras. Zootec.**, v.40, n.3, p.550-556, 2011.

SOARES, A. B.; PIN, E. A.; POSSENTI, J. C. Valor nutritivo de plantas forrageiras anuais de inverno em quatro épocas de semeadura. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.43, n.1, p.120-125, jan, 2013.

STIVARI, T. S. S.; MONTEIRO, A. L. G.; DE PAULA, E. F. E.; FERNANDES, S. R.; SOUZA, D. F.; GILAVERTÉ, S. Leguminosas na alimentação de ovinos: possibilidades de uso e resposta animal. **PUBVET**, Londrina, V. 5, N. 32, Ed. 179, Art. 1209, 2011.

TAFERNABERRI, J. V.; DALL'AGNOL, M.; MONTARDO, D. P.; PEREIRA, E. A.; PERES, É. R.; LEÃO, M. L. Avaliação agronômica de linhagens de aveia-branca em duas regiões fisiográficas do Rio Grande do Sul. **R. Bras. Zootec.**, v.41, n.1, p.41-51, 2012.

TERRA, A. B. C.; FLORENTINO, L. A. REZENDE, A. V.; SILVA, N. C. D. Leguminosas forrageiras na recuperação de pastagens no Brasil. **Revista de Ciências Agrárias**, 42(2): 305-313, 2019.

THEODOROU, M.K.; WILLIAMS, B.A.; DHANOA, M.S. *et al.* A simple gas production using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.48, p.185-197, 1994.

VALADARES FILHO, S. C.; PINA, D. S. **Fermentação Ruminal**. IN: Nutrição de Ruminantes. Jaboticabal: Funep, 583p.2006.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. Corvalis: O. & B. Books, 1982.

VAN SOEST, Peter J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Cornell university press, 1994.

VYAS, D. *et al.* The effects of active dried and killed dried yeast on subacute ruminal acidosis, ruminal fermentation, and nutrient digestibility in beef heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 92, p. 724-732, 2014.

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

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

WILM, H.G.; COSTELLO, D.F.; KLIPPLE, G.E. Estimating forage yield by the double-sampling methods. **Journal of American Society of Agronomy**, v.36, p.194-203, 1944.

ZEOULA, L.M.; BELEZE, J.R.F.; MAEDA, E.M. *et al.* Levedura ou monensina na dieta de bovinos e bubalinos sobre a fermentação ruminal e eficiência microbiana. **Acta Sci. Ani. Sci.**, v.33, p.379-386, 2011.