

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ  
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**JÉSSICA GABI DESSBESELL**

**UTILIZAÇÃO DE BLEND DE ENZIMAS E LEVEDURA NA ALIMENTAÇÃO DE  
BOVINOS LEITEIROS**

**Marechal Cândido Rondon**

**2020**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ  
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**JÉSSICA GABI DESSBESELL**

**UTILIZAÇÃO DE BLEND DE ENZIMAS E LEVEDURA NA ALIMENTAÇÃO DE  
BOVINOS LEITEIROS**

Dissertação de Mestrado apresentada, como parte das exigências para a obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - na Área de Concentração: Produção e Nutrição Animal.

Orientadora: Profª Drª Maximiliane Alavarse Zambom  
Coorientador: Prof. Dr. Eriton Egidio Lisboa Valente

**Marechal Cândido Rondon**

**2020**

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Dessbesell, Jéssica Gabi

Utilização de blend de enzimas e levedura na alimentação de bovinos leiteiros / Jéssica Gabi Dessbesell;

orientador(a), Maximiliane Alavarse Zambom;

coorientador(a), Eriton Egidio Lisboa Valente, 2020.

63 f.

Dissertação (mestrado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus Marechal Cândido Rondon, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2020.

1. Zootecnia. 2. Ruminantes. 3. Aditivos. 4. Produção.  
I. Alavarse Zambom, Maximiliane . II. Lisboa Valente, Eriton Egidio . III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ  
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

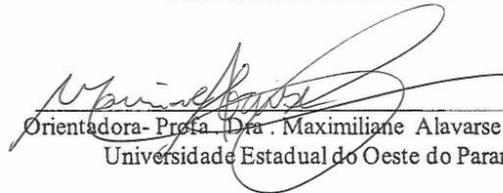
JÉSSICA GABI DESSBESELL

UTILIZAÇÃO DE BLEND DE ENZIMAS E LEVEDURA NA ALIMENTAÇÃO DE  
BOVINOS LEITEIROS

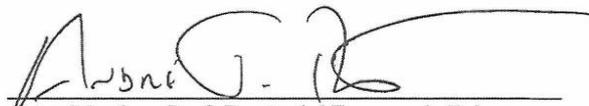
Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná como requisito parcial  
do Programa de Pós-Graduação stricto sensu em Zootecnia para obtenção do título de Mestre  
em Zootecnia

Marechal Cândido Rondon, 24/09/2020

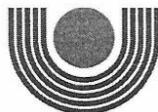
BANCA EXAMINADORA

  
Orientadora- Profa. Dra. Maximiliane Alavarse Zambom  
Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Coorientador- Prof. Dr. Eriton Egidio Lisboa Valente  
Universidade Estadual do Oeste do Paraná

  
Membro- Prof. Dr. André Fonseca de Brito  
University of New Hampshire

  
Membro- Dra. Andressa Faccenda  
Doutora em Zootecnia



**unioeste**

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46

Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>

Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000

Marechal Cândido Rondon - PR.



**PARANÁ**

GOVERNO DO ESTADO

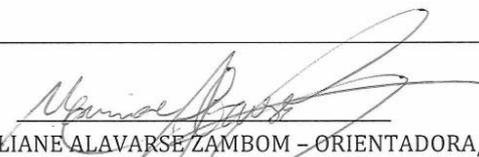
### PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

#### DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

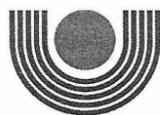
Eu, **PROF.<sup>a</sup> DR.<sup>a</sup> MAXIMILIANE ALAVARSE ZAMBOM**, declaro como **ORIENTADORA** que presidi os trabalhos de defesa à **distância, de forma síncrona e por videoconferência**, da Banca Examinadora de Defesa de Dissertação da candidata **Jéssica Gabi Dessbesell**, aluna de Mestrado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, a apresentação e a arguição dos membros da banca examinadora, **formalizo como Orientadora**, para fins de registro, por meio desta declaração, a decisão da banca examinadora de que a candidata foi considerada **APROVADA** na banca realizada em 24/09/2020, com o trabalho intitulado **“Utilização de blend de enzimas e levedura na alimentação de bovinos leiteiros”**.

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

  
**PROF.<sup>a</sup> DR.<sup>a</sup> MAXIMILIANE ALAVARSE ZAMBOM** – ORIENTADORA/PRESIDENTE  
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) / *Campus* de Mal. Cândido Rondon  
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia

*Modelo 2 – Para orientador(a) da Banca Examinadora de Programa de Pós-graduação da UNIOESTE*



**unioeste**

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46

Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>

Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000

Marechal Cândido Rondon - PR.



**PARANÁ**

GOVERNO DO ESTADO

### PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

#### DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE Mestrado REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

Eu, **Prof. Dr. Ériton Egidio Lisboa Valente**, declaro que **participei à distância, de forma síncrona e por videoconferência**, da Banca Examinadora de Defesa de Dissertação da candidata **Jéssica Gabi Dessbesell**, aluna de Mestrado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, apresentado e a arguição realizada, **formalizo como Coorientador (sem direito a voto conforme § 4º do Art. 60 da Resolução nº 078/2016-CEPE)** para fins de registro, por meio desta declaração, minha decisão de que a candidata pode ser considerada **APROVADA** na banca realizada em 24/09/2020, com o trabalho intitulado **“Utilização de blend de enzimas e levedura na alimentação de bovinos leiteiros”**.

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

Prof. Dr. ÉRITON EGÍDIO LISBOA VALENTE

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) / *Campus* de Mal. Cândido Rondon



Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46  
Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>  
Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000  
Marechal Cândido Rondon - PR.



### PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

#### DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE MESTRADO REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

Eu, Prof. Ph.D. André Fonseca de Brito, declaro que participei à distância, de forma síncrona e por videoconferência, da Banca Examinadora de Defesa de Dissertação da candidata **Jéssica Gabi Dessbesell**, aluna de Mestrado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, apresentado e a arguição realizada, **formalizo como membro externo**, para fins de registro, por meio desta declaração, minha decisão de que a candidata pode ser considerada **APROVADA** na banca realizada em 24/09/2020, com o trabalho intitulado **"Utilização de blend de enzimas e levedura na alimentação de bovinos leiteiros"**.

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

PROF. Ph.D. ANDRÉ FONSECA DE BRITO  
University of New Hampshire



Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46  
Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>  
Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000  
Marechal Cândido Rondon - PR.



**PARANÁ**

GOVERNO DO ESTADO

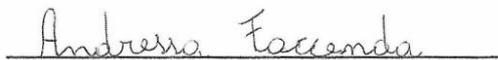
### PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

#### DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE MESTRADO REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

Eu, **Dr.<sup>a</sup> Andressa Faccenda**, declaro que participei à distância, de forma síncrona e por videoconferência, da Banca Examinadora de Defesa de Dissertação da candidata **Jéssica Gabi Dessbesell**, aluna de Mestrado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, apresentado e a arguição realizada, **formalizo como membro externo**, para fins de registro, por meio desta declaração, minha decisão de que a candidata pode ser considerada **APROVADA** na banca realizada em 24/09/2020, com o trabalho intitulado **“Utilização de blend de enzimas e levedura na alimentação de bovinos leiteiros”**.

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):



DR.<sup>a</sup> ANDRESSA FACCENDA

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) / Campus de Mal. Cândido Rondon  
Pós-Doutoranda pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia

*A Deus, por sempre estar comigo e me iluminar.*

*Ao meu Marido, **Rodrigo Cesar dos Reis Tinini**, por todo apoio, amizade, dedicação, ajuda, incentivo e principalmente Amor único, sincero e verdadeiro, e que sempre esteve ao meu lado em todas as etapas.*

*Aos meus amigos do grupo de pesquisa **QUALHADA**<sup>(R)</sup> que sempre se mantiveram ao meu lado me dando apoio e auxílio em todas as etapas.*

*A Professora e Amiga **Maximiliane Alavarse Zambom** por acreditar no meu potencial e auxiliar em toda a pesquisa.*

*A toda minha família pela Confiança e Amor. Ao Bartolomeu por ser meu fiel companheiro. E a todos meus amigos, pela ajuda e por acreditarem em mim.*

**Dedico**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre se fazer presente e perseverante em minha vida, iluminando-me e protegendo.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná, pela disponibilidade de realização deste trabalho, por ser fonte de conhecimento e difusora de pesquisa.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maximiliane Alavarse Zambom, pela amizade, orientação, paciência, ensinamentos, parceria profissional e, principalmente, por ter acreditado em mim e no meu trabalho. Ao professor Dr.<sup>a</sup> Eriton Egidio Lisboa Valente, pela coorientação e pelas contribuições no desenvolvimento deste trabalho.

A CAPES pelo suporte financeiro, apoio à pesquisa no Brasil e no exterior, código de Financiamento 001.

Ao Paulo Henrique Morsch, secretário do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UNIOESTE, pela dedicação, disponibilidade e respeito sempre.

Aos amigos do grupo QUALHADA<sup>(R)</sup> que me auxiliaram nas escalas de trabalho, análises laboratoriais, enfim toda e qualquer ajuda prestada, meu muito obrigada.

## UTILIZAÇÃO DE BLEND DE ENZIMAS E LEVEDURA NA ALIMENTAÇÃO DE BOVINOS LEITEIROS

O objetivo do trabalho foi avaliar a utilização de blend de enzimas e blend de levedura na alimentação de bovinos leiteiros. Foram utilizadas nove vacas da raça Holandês com 84,77 ( $\pm$  21,25) dias de lactação, peso corporal de 616,22 ( $\pm$  60,64) kg e produção inicial de 30,44 ( $\pm$  3,16) kg de leite por dia. Foram analisados os parâmetros de ingestão e digestibilidade da matéria seca (MS) e dos nutrientes, síntese microbiana, metabólitos sanguíneos e produção e composição do leite. Além das vacas em lactação, foram utilizados seis bovinos machos castrados, da raça Jersey, portadores de cânula ruminal (780,83  $\pm$  44,16 kg) com aproximadamente nove anos de idade. Foram analisados os parâmetros de ingestão e digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes, parâmetros ruminais e produção cumulativa de gás *in vitro*. Distribuídos em duplo quadrado latino 3x3. O experimento teve duração de 63 dias. A dieta foi composta por 50% de silagem de milho e 50% de concentrado, sendo este dividido em três tratamentos: 1) testemunha; 2) blend de enzimas; 3) blend de leveduras. Para as vacas em lactação, a utilização de blend de enzimas e blend de leveduras não alterou a ingestão de MS e dos demais nutrientes, tal como a digestibilidade da MS e dos nutrientes, houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos para o nitrogênio ureico do leite, a dieta com a inclusão do blend de levedura teve maior concentração (17,75 mg/dL) e as vacas alimentadas com inclusão de blend de enzimas demonstraram menor concentração (15,18 mg/dL). A produção de leite foi maior para os animais que receberam a dieta com a adição do blend de leveduras, tal como as concentrações de ureia sanguínea. No experimento com os bovinos canulados, não se verificou efeito dos tratamentos ( $p > 0,05$ ) para produção cumulativa de gás *in vitro*, assim como para as concentrações de nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>), obtendo-se o ponto de máximo (37,08 mg dL<sup>-1</sup>) 2:00 horas após a alimentação matutina e o ponto de mínimo (14,66 mg dL<sup>-1</sup>) 8:00 horas após a alimentação matutina. Sendo assim, a adição de 200 g de blend de enzimas e 2 kg de blend de leveduras por tonelada de ração concentrada, na alimentação de bovinos canulados não altera a ingestão e digestibilidade da MS e dos nutrientes e os parâmetros de fermentação ruminal. Para as vacas, a utilização do Blend de leveduras aumentou a produção de leite, assim como o nitrogênio ureico do sangue e do leite.

**Palavras-Chave:** aditivos, rúmen, microrganismos, nutrição.

## **USE OF ENZYME BLEND AND YEAST IN THE FOOD OF DAIRY COW**

The objective of this assignment was to evaluate the use of enzyme blends and yeast blends in the feeding of dairy cattle. We used nine Holstein cows with 84.77 ( $\pm$  21.25) days of lactation, body weight of 616.22 ( $\pm$  60.64) kg and initial production of 30.44 ( $\pm$  3.16) kg of milk daily. The parameters of intake and digestibility of dry matter (DM) and nutrients, microbial synthesis, blood metabolites and milk production and composition were analyzed. In addition to lactating cows, six male castrated bovines of the Jersey breed, with ruminal cannula (780.83  $\pm$  44.16 kg), with approximately nine years of age, were used. We analyzed the parameters of intake and digestibility of dry matter and nutrients, ruminal parameters and cumulative gas production in vitro. Distributed in double 3x3 Latin square, the experiment lasted 63 days. The diet consisted of 50% corn silage and 50% concentrated, which was divided into three treatments: 1) control; 2) enzymes blend; 3) yeast blend. For lactating cows, the use of enzyme blend and yeast blend did not change the intake of DM and other nutrients, such as the digestibility of DM and nutrients, there was a significant difference ( $p > 0.05$ ) between treatments for milk urea nitrogen, the diet with the inclusion of the yeast blend had a higher concentration (17.75 mg / dL) and the cows fed with the inclusion of enzyme blend showed lower concentration (15.18 mg / dL). Milk production was higher for the animals that received the diet with the addition of the yeast blend, such as blood urea concentrations. In the experiment with cannulated cattle there was no effect of treatments ( $p > 0.05$ ) for cumulative production of gas in vitro, as well as for ammoniacal nitrogen concentrations (N-NH<sub>3</sub>), obtaining the maximum point (37.08 mg dL<sup>-1</sup>) 2:00 hours after morning feeding and the minimum point (14.66 mg dL<sup>-1</sup>) 8:00 hours after morning feeding. Thus, the addition of 200 g of enzyme blend and 2 kg of yeast blend per ton of concentrated ration, in the feed of cannulated cattle does not change the intake and digestibility of DM and nutrients and rumen fermentation parameters. For cows, the use of yeast blend increased milk production, as well as blood and milk urea nitrogen.

**Keywords:** additives, rumen, microorganisms, nutrition

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	10
<b>2.1 Aditivos</b> .....	11
<b>2.2 Enzimas e Metabolismo Ruminal</b> .....	12
<b>2.3 Leveduras e Metabolismo Ruminal</b> .....	14
<b>2.4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	17
<b>3.0 BLEND DE ENZIMAS OU BLEND DE LEVEDURAS NA ALIMENTAÇÃO DE VACAS EM LACTAÇÃO</b> .....	23
<b>3.1 Introdução</b> .....	25
<b>3.2 Material e Métodos</b> .....	25
<b>3.3 Resultados</b> .....	30
<b>3.4 Discussão</b> .....	35
<b>3.6 Referências Bibliográficas</b> .....	38
<b>4. CONSUMO E DIGESTIBILIDADE DA MATÉRIA SECA E DOS NUTRIENTES E PARÂMETROS DE FERMENTAÇÃO RUMINAL DE BOVINOS RECEBENDO DIETAS COM ADIÇÃO DE BLEND DE ENZIMAS OU BLEND DE LEVEDURAS</b> .....	43
<b>4.1 Introdução</b> .....	45
<b>4.2 Materiais e Métodos</b> .....	46
<b>4.3 Resultados</b> .....	50
<b>4.4 Conclusão</b> .....	59
<b>4.6 Referências</b> .....	59
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	64

## 1 INTRODUÇÃO

A evolução na produção e qualidade do leite está ligada a eficiência alimentar dos animais. Por meio das pesquisas técnicas, o incremento da produção, melhoria na qualidade físico-química e nutricional do leite, estão sendo aprimoradas (LIMA, 2015). Os impulsionadores do crescimento da produção de leite incluem a otimização dos sistemas de produção de leite, melhoria da saúde animal, melhoria da eficiência alimentar, bem como uma melhor genética (FAO, 2020).

A pecuária é uma atividade que busca o aumento da eficiência alimentar e, com isso, alcança a redução dos gastos com a alimentação animal. Um dos meios que viabilizam essa redução de gastos é o uso de aditivos associados à dieta dos bovinos, que promovem aumento dos ganhos diários e redução do consumo, além de influenciar de forma positiva a fisiologia e sanidade animal (LIMA, 2015).

O estado nutricional de vacas leiteiras pode ser melhorado por meio da otimização das funções do rúmen, que pode ser alcançada de várias maneiras: controle da acidose metabólica e ruminal, pH ruminal, aumento do fluxo duodenal de proteínas não degradadas da dieta e proteínas microbianas e aumento do suprimento de energia. Uma gama de compostos, incluindo tampões, antibióticos, enzimas, ácidos dicarboxílicos, leveduras vivas e extratos vegetais, foram investigados como possíveis aditivos alimentares na tentativa de atingir esses objetivos (JOUANY, 2006).

As leveduras são comumente usadas em todo o mundo para inclusão em dietas de animais de produção. Pensa-se que os produtos de levedura afetam a população microbiana ruminal, causando mudanças na produção de AGV que resultam no aumento da produção de leite, bem como um aumento nos rendimentos de gordura e proteína do leite de vacas leiteiras em lactação (ERASMUS et al., 1992 ; PUTNAM et al., 1997 ). Outro aditivo muito utilizado em dietas para ruminantes são as enzimas exógenas, as quais apresentam efeitos benéficos na alimentação, desempenho e produção em animais ruminantes (SUJANI & SERESINHE, 2015).

A hipótese do trabalho é que a utilização dos aditivos, sendo eles blend de enzimas e blend de levedura, melhorem a eficiência dos parâmetros leiteiros e ruminais. Assim, o objetivo do estudo foi avaliar o efeito da inclusão de blend de enzimas ou blend de leveduras na dieta de vacas em lactação e machos castrados canulados avaliando os fatores de digestibilidade, consumo, produção, parâmetros sanguíneos e ruminais.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Aditivos

Aditivos alimentares são amplamente utilizados em dietas de ruminantes com o intuito de modular o metabolismo ruminal e melhorar a utilização de nutrientes e o desempenho dos animais (MOHAMMED et al., 2018). A utilização de aditivos gera melhorias significativas na produção animal, mas sua utilização só deve ser feita quando existir uma real possibilidade de melhoria produtiva, com consequente retorno financeiro, não podendo ser utilizado para encobrir falhas no manejo (NETO, 2011).

A legislação possui a Instrução Normativa 13/04 (alterada pela Instrução Normativa nº 44/15) que trata do regulamento técnico destinado aos aditivos utilizados à alimentação animal. A citada Instrução Normativa define aditivo como “substância, micro-organismo ou produto formulado, adicionado intencionalmente aos alimentos fornecidos aos animais, não é utilizado normalmente como ingrediente, podendo ter ou não valor nutritivo, que melhore as características dos alimentos destinados à alimentação animal, melhore o desempenho dos animais sadios ou atenda às necessidades nutricionais” (MAPA, 2016).

Os aditivos podem ser classificados como tecnológicos, sensoriais, nutricionais e zootécnicos. Conforme a normativa, os aditivos devem ser empregados na quantidade estritamente necessária à obtenção do efeito desejado. Consistindo em obrigatoriedade o cumprimento das condições e das restrições que se tenham imposto no registro referentes à comercialização, utilização ou manipulação do aditivo ou dos produtos que o contenha (MAPA, 2016).

Os aditivos presentes nos alimentos podem ser classificados como naturais ou artificiais. Os naturais são os obtidos diretamente do alimento, já os artificiais são aqueles produzidos pelo homem. Sua ocorrência pode ser intencional ou acidental. Os intencionais são aqueles adicionados aos alimentos ou à ração propositadamente (PASSOS, 2018).

Os acidentais são os que aparecem nos alimentos acidentalmente, como os resíduos de agrotóxicos ou contaminação proveniente do processamento da matéria-prima. Os aditivos intencionalmente adicionados aos alimentos têm funções nutritivas, conservar ou modificar as propriedades químicas e físicas dos alimentos, medicar os animais, ou ainda intensificar o processo ao valor nutricional da dieta (PASSOS, 2018).

O principal objetivo do uso de aditivos em dietas para ruminantes é evitar distúrbios e perturbações da flora ruminal, especialmente associados ao consumo de concentrados de alta energia para sustentar alta produtividade em sistemas intensivos de produção de leite e carne.

## 2.2 Enzimas e Metabolismo Ruminal

As enzimas exógenas utilizadas na nutrição de ruminantes podem ser caracterizadas em três principais categorias como enzimas fibrolíticas, amilolíticas e proteolíticas (SUJANI & SERESINHE, 2015). As enzimas exógenas destinadas a alimentação animal, podem ser compostas por várias combinações, sendo que até celulasas e hemicelulasas podem possuir atividade secundária como proteases, amilases e pectinases (MCALLISTER et al., 2001).

As enzimas que são mais utilizadas pela indústria de origem microbiana são provenientes, sobretudo, de quatro espécies de bactérias (*Bacillus subtilis*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum* e *Streptococcus faecium spp.*) e três espécies de fungos (*Aspergillus oryzae*, *Trichoderma reesei* e *Saccharomyces cerevisiae*) (MUIRHEAD, 1996). A forma de uso das enzimas é relativamente maior no setor de nutrição animal (POLIZELI, 2008). As primeiras tentativas de pesquisa sobre a dieta de ruminantes suplementada com enzimas exógenas têm um longa e considerável história ocorrida na década de 1960, principalmente as amilolíticas (MCCARTHY et al., 2013) e proteolíticas (VERA et al., 2012).

Com os recentes avanços na biotecnologia, o custo de produção reduzido de enzimas e produtos enzimáticos comerciais melhores definidos, levou os pesquisadores a revisar o potencial de enzimas exógenas para melhorar a utilização de alimentos em ruminantes. Recentemente, várias pesquisas demonstraram os efeitos benéficos de suplementar dietas de ruminantes com enzimas exógenas. Trabalhos com enzima fibrolítica exógena obtiveram melhorias na digestibilidade das fibras e, conseqüentemente, na eficiência de utilização da alimentação em ruminantes *in vitro* (RODRIGUES et al., 2008; MURAD et al., 2009; AZZAZ, 2009), *in vivo* (JALILVAND et al., 2008; KRUEGER et al., 2008; ARRIOLA et al., 2011) e *in situ*, enquanto outros estudos (ELWAKEEL et al., 2007; MILLER et al., 2008) não relataram diferenças significativas na digestibilidade e no desempenho com suplementação enzimática.

Com os esforços dos pesquisadores, o uso de enzimas exógenas para melhorar a qualidade e a digestibilidade dos alimentos para ruminantes tende a oferecer benefícios práticos, mesmo que haja alguns problemas, como o modo de ação das enzimas, sinergismo entre enzimas exógenas e microflora do rúmen, adequado método de aplicação e dosagem ideal a ser especificada de maneira mais precisa (SUJANI & SERESINHE, 2015).

As enzimas proteolíticas são classificadas de acordo com sua reação catalizadora, podendo ser considerada exopeptidases ou endopeptidases. Exopeptidases são responsáveis pela quebra das ligações peptídicas que são próximas aos grupos amino e carboxílico

terminal das proteínas. As endopeptidases agem promovendo a lise das ligações distantes dos grupos amino ou carboxílicos terminais (RAO et al., 1998).

Os estudos focados nos efeitos de enzimas proteolíticas na alimentação de vacas em lactação ainda são escassos, sendo que os principais estudos focam nas enzimas fibrolíticas e seus efeitos sobre a digestibilidade da fibra.

Enzimas proteolíticas apresentam melhora da digestibilidade do amido (PETERS et al., 2007; YOUNG et al., 2012), devido ao fato de agirem sobre a matriz proteica dos grânulos de amido, sendo responsáveis por hidrolisar as cadeias complexas de polipeptídeos e assim liberando os compostos de menor peso molecular, resultando em um número maior de sítios de ação, para atuação dos microrganismos do rúmen (SIMPSON, 2001). Sendo assim, a barreira físico-química na digestão do amido promovido pela matriz proteica pode ser reduzida (OWENS et al., 1986).

As enzimas no rúmen podem atuar diretamente nos alimentos ou estimular a digestão indiretamente por potencializar as atividades das enzimas microbianas (MCALLISTER et al., 2001), possibilitando o sinergismo entre enzimas exógenas e microbianas (MORGAVI et al., 2000). Há evidências que o uso de enzima proteolítica exógena aumentou a digestibilidade de matéria seca, matéria orgânica, fibra em detergente ácido (FDA) e fibra em detergente neutro (FDN) de vacas leiteiras, embora o consumo diminuiu inesperadamente (EUN & BEAUCHEMIN, 2005).

Sendo assim, estudos comprovam que produtos enzimáticos contendo xilanases, esterases e proteases mostraram-se eficazes em estimular a degradação *in vitro* do feno de alfafa (NSEREKO et al., 2000; COLOMBATTO et al., 2003). Melhorias na digestibilidade *in vitro* da FDN e FDA da palha de arroz também foram observadas com a aplicação de xilanase e celulase (EUN et al., 2006).

Alguns estudos mostraram que a adição de enzimas aumentou a digestibilidade dos nutrientes e aumentou a produção de leite de animais leiteiros em cerca de 5 a 25% (KHATTAB et al., 2011; KHOLIF et al., 2012; ROJO et al., 2015), mas outros mostraram poucos efeitos no desempenho animal (SUTTON et al., 2003).

Resultados inconsistentes podem ser devidos às espécies animais, atividade enzimática, taxa de aplicação, composição enzimática, estágio da lactação, modo e tempo de entrega de enzimas, atividade ruminal e estabilidade de enzimas, especificidade de alimentação de enzimas e dieta alimentada aos animais. Apesar disso, produtos enzimáticos são cada vez mais utilizados na indústria animal para melhorar a digestão e o desempenho animal.

Ainda são grandes as incógnitas a serem exploradas quanto à inclusão de enzimas exógenas na dieta de ruminantes. Enzimas exógenas podem promover melhorias na cinética ruminal (ELGHANDOUR et al., 2013) e na digestibilidade de nutrientes (YANG et al., 2011; TANG et al., 2008), e pode permitir a manipulação de produtos finais da fermentação (TRICARICO et al., 2005; 2008) sem alterar a composição da dieta que está sendo alimentada.

### **2.3 Leveduras e Metabolismo Ruminal**

Leveduras são microrganismos unicelulares que fermentam carboidratos e reproduzem por brotação (BARRERA et al.; 2019). A maioria dos produtos comerciais à base de leveduras contém uma mistura de proporções variadas de células vivas de *Saccharomyces cerevisiae* e células mortas. Os produtos com predominância de células vivas são vendidos como leveduras vivas, enquanto os que contêm células mortas com o meio de crescimento são vendidos como culturas de leveduras (NEWBOLD, 2006). Leveduras secas ativas são mais comumente usadas na fabricação de pão e na produção de bebidas alcoólicas. No entanto, o uso de levedura probiótica em dietas de ruminantes tornou-se uma prática comum para melhorar a eficiência alimentar (MOALLEM et al., 2009).

As proteínas da levedura têm um alto valor nutricional, caracterizado por um perfil equilibrado de aminoácidos com alto teor de lisina e treonina, o que lhe confere um potencial extraordinário para uso como suplemento de dietas para animais, uma vez que elas podem ser deficientes nesses aminoácidos (GUTIÉRREZ et al., 2008).

Suplementação de levedura às dietas para bovinos leiteiros é uma prática comum devido aos potenciais efeitos benéficos sobre a produção de leite e seus componentes (POPPY et al., 2012). Por conta da crescente preocupação com o uso de antibióticos e outros promotores de crescimento na indústria de ração animal, aumentou-se o interesse nos efeitos dos aditivos de ração microbiana no desempenho animal. A suplementação com levedura é utilizada há mais de seis décadas (AYAD, et al., 2013).

A capacidade da levedura de melhorar o ambiente redutor no rúmen poderia auxiliar no crescimento de populações bacterianas celulolíticas e consumidoras de lactato, auxiliando consequentemente na estabilização do rúmen e aumentando a capacidade deste em digerir fibras (MARDEN et al., 2008). Dada a complexa composição dos alimentos para ruminantes, o fermento vivo pode alterar o equilíbrio das comunidades microbianas do rúmen e sua atividade (FONTY e CHAUCHEYRAS-DURAND, 2006). Foi demonstrado que a suplementação de levedura viva para ruminantes aumenta a digestibilidade dos nutrientes

(LASCANO et al., 2009), diminui a produção de metano ( MOALLEM et al., 2009) e aumenta o desempenho em vacas leiteiras (NEWBOLD e RODE, 2006).

Os resultados dos estudos com a utilização de leveduras na alimentação animal ainda são distintos. YUAN et al. (2015) não encontraram efeito na produção de leite, contraditoriamente a NOCEK et al. (2011) que observaram um aumento no rendimento de leite usando cultura de levedura mais levedura enzimática hidrolisada de *Saccharomyces cerevisiae*.

PIVA et al (1993) indicam que inúmeros fatores podem afetar a resposta dos animais a suplementação com a levedura, assim como o estágio de lactação, a forrageira ofertada, o manejo alimentar e a porcentagem de concentrado/volumoso na dieta.

*Saccharomyces cerevisiae* é a principal levedura utilizada, tendo a capacidade de alterar a fermentação ruminal e promover avanços no desempenho animal (BRUNO et al., 2009). As leveduras vivas são encontradas no rúmen naturalmente, entretanto as melhores condições para sua proliferação acontecem em ambiente aeróbio (HRISTOV et al., 2010), com uma temperatura média de 25°C e pH de 4,5 (LEICESTER et al., 2016; NICODEMO, 2001). Sendo assim, o rúmen em suas condições normais não é favorável para o crescimento desses microrganismos. Tendo baixa capacidade de conservar-se viáveis por mais de 24 horas, há a necessidade de uma suplementação diária constante (BITENCOURT et al., 2011; LEICESTER et al., 2016).

A suplementação de levedura aos ruminantes pode aumentar a proporção de digestão das fibras (KHOLIF & KHORSHEH, 2006). BEAUCHEMIN et al. (2003) relataram que a adição de levedura melhora o desenvolvimento de bactérias consumidoras de lactato no rúmen impedindo, assim, a acumulação de lactato e a queda do pH ruminal. Ressaltando também que a levedura estimula bactérias celulolíticas no rúmen, aumentando a digestão de fibras e o fluxo de proteínas microbianas do rúmen (NEWBOLD et al. 1996; JOUANY e MORGAVI, 2007).

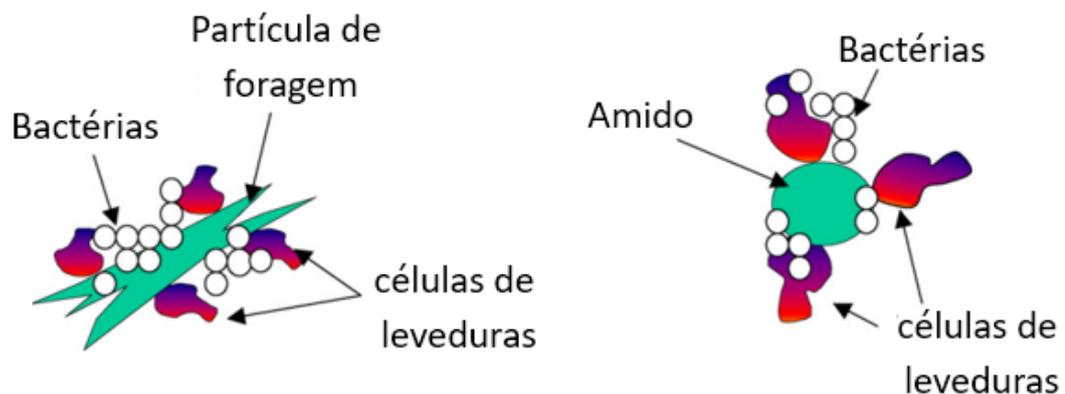
Além disso, foi relatado por que o uso de leveduras pode ser utilizado para melhorar a ingestão de alimentos e a produção de leite em vacas leiteiras (AYAD et al, 2013).

MARRERO (2005) e CASTILLO-CASTILLO *et al* (2016) mostraram que a suplementação rica em leveduras melhorou as condições favoráveis ao uso de matéria seca pelos microrganismos ruminais. Esses resultados corroboram a abordagem de que, quando certos microrganismos são depositados em um novo habitat com nutrientes, eles sobrevivem e podem usar parte dos recursos do ambiente em que foram depositados. Nesse caso, as leveduras usam o pouco oxigênio existente no rúmen e favorecem as condições de

anaerobiose que facilitam ou potencializam o crescimento de outros microrganismos anaeróbicos como as bactérias celulolíticas (NEWBOLD et al., 1996). Outro mecanismo de ação proposto é que as culturas de leveduras fornecem vitaminas (especificamente tiamina), glucanos, manano-proteínas e ácidos orgânicos, que estimulam o crescimento de microrganismos que digerem fibras e usam ácido lático (CHAUCHEYRAS et al., 1995; NISBET et al., 1991; OEZTUERK et al., 2005).

Um efeito adicional é que as culturas de leveduras são ricas em ácidos orgânicos (principalmente ácido málico) que estimulam o crescimento de *Selenomonas ruminantium*. Essa bactéria ruminal consome o ácido lático produzido no rúmen e, portanto, contribui para a estabilização do pH no rúmen, o que favorece o crescimento de microrganismos celulolíticos (NISBET et al., 1991). As leveduras também produzem mudanças na flora bacteriana por competição e estímulo ao crescimento, aumentando o crescimento e a atividade das populações acetogênicas que competem com as metanogênicas pelo uso do hidrogênio metabólico (CHAUCHEYRAS et al., 1995). Isso diminui a perda de energia no animal e o efeito negativo do gás metano no meio ambiente (GAMO et al., 2002).

Leveduras são aeróbicas e não podem sobreviver por muito tempo em um ambiente anaeróbico como o rúmen. JOUANY (2001) propôs um modelo original para explicar como as células de levedura podem interagir com outros micróbios em uma “estrutura de microconsórcio” (Figura 1).



**Figura 1.** Estrutura de microconsórcio (JOUANY, 2006).

As células de levedura podem usar o oxigênio localizado dentro e imediatamente ao redor de partículas sólidas; a anaerobiose é melhorada beneficiando, assim, bactérias estreitamente associadas a leveduras em uma 'estrutura de microconsórcio' (JOUANY, 2006).

As leveduras são aeróbicas e não podem sobreviver em um ambiente anaeróbico, como o rúmen, e é por isso que precisam ser fornecidas continuamente na dieta dos ruminantes. No entanto, traços de oxigênio estão presentes no microambiente ao redor das partículas sólidas que acabam de ser ingeridas. Isso explica por que a maioria das células vivas de levedura é atraída pela matriz sólida imediatamente após a ingestão, enquanto suas concentrações permanecem baixas na fase líquida da digesta do rúmen (JOUANY et al., 1991).

As células de levedura vivas, portanto, usam oxigênio para metabolizar os açúcares e pequenos oligossacarídeos solubilizados a partir das partículas da ração ou produzidos por bactérias amilolíticas ligadas aos grãos de amido. Eles produzem etanol, glicerol, peptídeos e aminoácidos como produtos finais, que são então utilizados por outras bactérias associadas a leveduras.

Durante a última década, os mecanismos de ação dos probióticos de leveduras no crescimento e nas atividades das comunidades microbianas do rúmen têm sido extensivamente estudados, pelo menos para algumas linhagens de *S. cerevisiae*. Mesmo que a pesquisa certamente tenha contribuído com o aumento da credibilidade desses probióticos para uso na nutrição de ruminantes, ainda há muito a ser feito para explicar melhor os efeitos das leveduras vivas nos processos digestivos (FONTY, & CHAUCHEYRAS, 2006).

## 2.4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXANDRATOS, NIKOS; BRUINSMA, JELLE. World agriculture towards 2030/2050: the 2012 revision. 2012.
- ARRIOLA, K.G., S.C. KIM, C.R. Effect of fibrolytic enzyme application to low-and high-concentrate diets on the performance of lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 2, p. 832-841, 2011.
- AYAD, M. A., BENALLOU, B., SAIM, M. S., SMADI, M. A., & MEZIANE, T. Impact of feeding yeast culture on milk yield, milk components, and blood components in Algerian dairy herds. **J. Veterinar. Sci. Technol**, v. 4, n. 135, p. 2, 2013.
- AZZAZ, H. H. **Effect of cellulytic enzymes addition to diets on the productive performance of lactating goats**. 2009. Tese de Doutorado. M. Sc. Thesis, Faculty of Agriculture, Cairo University, Egypt.
- BARRERA, OSCAR RUIZ; SALINAS-CHAVIRA, JAIME; CASTILLO, YAMICELA CASTILLO. Yeasts as Dietary Additives to Manipulate Ruminal Fermentation: Effect on Nutrient Utilization and Productive Performance of Ruminants. In: **Yeasts in Biotechnology**. IntechOpen, 2019.

- BEAUCHEMIN, K. A., YANG, W. Z., MORGAVI, D. P., GHORBANI, G. R., KAUTZ, W., & LEEDLE, J. A. Z. Effects of bacterial direct-fed microbials and yeast on site and extent of digestion, blood chemistry, and subclinical ruminal acidosis in feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v. 81, n. 6, p. 1628-1640, 2003.
- BITENCOURT, L. L., SILVA, J. R. M., OLIVEIRA, B. M. L. D., DIAS JÚNIOR, G. S., LOPES, F., SIÉCOLA JÚNIOR, S. & PEREIRA, M. N. Diet digestibility and performance of dairy cows supplemented with live yeast. **Scientia Agricola**, v. 68, n. 3, p. 301-307, 2011.
- BRUNO, R. G., RUTIGLIANO, H. M., CERRI, R. L., ROBINSON, P. H., & SANTOS, J. E. Effect of feeding *Saccharomyces cerevisiae* on performance of dairy cows during summer heat stress. **Animal Feed Science and Technology**, v. 150, n. 3-4, p. 175-186, 2009.
- CASTILLO-CASTILLO, Y., RUIZ-BARRERA, O., BURROLA-BARRAZA, M. E., MARRERO-RODRIGUEZ, Y., SALINAS-CHAVIRA, J., ANGULO-MONTOYA, C. & CAMARILLO, J. Isolation and characterization of yeasts from fermented apple bagasse as additives for ruminant feeding. **Brazilian journal of microbiology**, v. 47, n. 4, p. 889-895, 2016.
- CHAUCHEYRAS F, FONTY G, BERTIN G, GOUET P. Effects of live *Saccharomyces cerevisiae* cells on zoospore germination, growth, and cellulolytic activity of the rumen anaerobic fungus, *Neocallimastix frontalis* MCH3. **Current Microbiology**, v. 31, n. 4, p. 201-205, 1995.
- ELWAKEEL, E. A., TITGEMEYER, E. C., JOHNSON, B. J., ARMENDARIZ, C. K., & SHIRLEY, J. E. Fibrolytic enzymes to increase the nutritive value of dairy feedstuffs. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 11, p. 5226-5236, 2007.
- ERASMUS, LJ; BOTHA, PM; KISTNER, A. Efeito do suplemento de cultura de levedura na produção, fermentação ruminal e fluxo de nitrogênio duodenal em vacas leiteiras. **Journal of Dairy Science** , v. 75, n. 11, pág. 3056-3065, 1992.
- EUN, J.-S.; BEAUCHEMIN, K. A. Effects of a proteolytic feed enzyme on intake, digestion, ruminal fermentation, and milk production. *Journal of dairy science*, v. 88, n. 6, p. 2140-2153, 2005.
- FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION – FAO. 2020. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/ca8861en/Dairy.pdf>>. Acesso em: 18 de agosto, 2020.
- HRISTOV, A. N., VARGA, G., CASSIDY, T., LONG, M., HEYLER, K., KARNATI, S. K. R. & YOON, I. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on ruminal fermentation and nutrient utilization in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 2, p. 682-692, 2010.
- JALILVAND, G., NASERIAN, A., KEBREAB, E., ODONGO, N. E., VALIZADEH, R., SHAHROODI, F. E. & FRANCE, J. Rumen degradation kinetics of alfalfa hay, maize silage

- and wheat straw treated with fibrolytic enzymes. **Archivos de zootecnia**, v. 57, n. 218, p. 155-164, 2008.
- JOUANY, J. P. A new look at yeast cultures as probiotics for ruminants. **Feed Mix**, v. 9, n. 6, p. 17-19, 2001.
- JOUANY, J. P., FONTY, G., LASSALAS, B., DORÉ, J., GOUET, P., & BERTIN, G.. Effect of live yeast cultures on feed degradation in the rumen as assessed by in vitro measurements. In: **Abstracts of the 21st Biennial Conference on Rumen Function, Chicago. Agricultural Research Service, US Department of Agriculture, Ithaca, NY**. 1991. p. 7.
- JOUANY, J.-P. Optimizing rumen functions in the close-up transition period and early lactation to drive dry matter intake and energy balance in cows. **Animal reproduction science**, v. 96, n. 3-4, p. 250-264, 2006.
- JOUANY, J.-P.; MORGAVI, D. P. Use of ‘natural’ products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production. **Animal**, v. 1, n. 10, p. 1443-1466, 2007.
- KHATTAB, H. M., GADO, H. M., KHOLIF, A. E., MANSOUR, A. M., & KHOLIF, A. M. The potential of feeding goats sun dried rumen contents with or without bacterial inoculums as replacement for berseem clover and the effects on milk production and animal health. **International Journal of Dairy Science**, v. 6, n. 5, p. 267-277, 2011.
- KHOLIF S.M., GADO H., MORSY T.A., E L - BORDENY N., ABEDO A.A. Influence of exogenous enzymes on nutrient digestibility, blood composition, milk production and its composition as well as milk fatty acids profile in dairy buffaloes. **Egyptian Journal of Nutrition and Feeds**, v. 15, p. 13-22, 2012.
- KHOLIF, S. M.; KHORSHEED, M. M. Effect of yeast or selenized yeast supplementation to rations on the productive performance of lactating buffaloes. **Egyptian Journal of Nutrition and Feeds**, v. 9, p. 193-205, 2006.
- KRUEGER, N. A., ADESOGAN, A. T., STAPLES, C. R., KRUEGER, W. K., KIM, S. C., LITTELL, R. C., & SOLLENBERGER, L. E. Effect of method of applying fibrolytic enzymes or ammonia to Bermudagrass hay on feed intake, digestion, and growth of beef steers. **Journal of Animal Science**, v. 86, n. 4, p. 882-889, 2008.
- LASCANO, G. J., ZANTON, G. I., SUAREZ-MENA, F. X., & HEINRICHS, A. J. Effect of limit feeding high-and low-concentrate diets with *Saccharomyces cerevisiae* on digestibility and on dairy heifer growth and first-lactation performance. **Journal of dairy science**, v. 92, n. 10, p. 5100-5110, 2009.
- LEICESTER, H.C.W., ROBINSON, P.H., ERASMUS, L.J. Effects of two yeast based direct fed microbials on performance of high producing dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 215, p. 58-72, 2016.

- LIMA, Fabíola Espíndola Ortega de et al. Óleo de copaíba (Copaifera sp.) como aditivo para bovinos suplementados a pasto. 2015.
- 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, n. 10, p. 2603-2608, 2002.
- MARDEN, J. P., JULIEN, C., MONTEILS, V., AUCLAIR, E., MONCOULON, R., & BAYOURTHE, C. How does live yeast differ from sodium bicarbonate to stabilize ruminal pH in high-yielding dairy cows?. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 9, p. 3528-3535, 2008.
- MARRERO, Yoandra. Las levaduras como mejoradoras de la fermentación ruminal de dietas con alto contenido de fibra. **La Habana, Cuba**, p. 6, 2005.
- MCALLISTER, T. A., HRISTOV, A. N., BEAUCHEMIN, K. A., RODE, L. M., & CHENG, K. J. Enzymes in ruminant diets. **Enzymes in farm animal nutrition**, p. 273-298, 2001.
- MCCARTHY, M. M., ENGSTROM, M. A., AZEM, E., & GRESSLEY, T. F. The effect of an exogenous amylase on performance and total-tract digestibility in lactating dairy cows fed a high-byproduct diet. **Journal of dairy science**, v. 96, n. 5, p. 3075-3084, 2013.
- MILLER, D. R., GRANZIN, B. C., ELLIOTT, R., & NORTON, B. W. Effects of an exogenous enzyme, Roxazyme® G2 Liquid, on milk production in pasture fed dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 145, n. 1-4, p. 194-208, 2008.
- MOALLEM, U., LEHRER, H., LIVSHITZ, L., ZACHUT, M., & YAKOBY, S. The effects of live yeast supplementation to dairy cows during the hot season on production, feed efficiency, and digestibility. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 1, p. 343-351, 2009.
- MORAIS, A.; VANDRESEN, Janaina. República Federativa do Brasil: origem histórica e a influência da Federação norte-americana no sistema brasileiro. **Acta Scientiarum. Human and Social Sciences**, v. 25, n. 1, p. 185-191, 2003.
- MUIRHEAD, S. **Direct-fed Microbial, Enzyme & Forage Additive Compendium**. Miller Publishing Company, 1998.
- MURAD, H.H., M.A. HANFY, A.M. KHOLIF, M.H. ABDEL GAWAD AND H.A. MURAD. Effect of cellulases supplementation to some low quality roughages on digestion and milk production by lactating goats. **J Biol Chem Environ Sci**, v. 4, p. 791-809, 2009.
- NEVES NETO, J. T. Extratos de plantas como manipuladores da fermentação ruminal: potenciais substitutos aos ionóforos. 2011. Revisão de literatura (Pós-Graduação em Ciência Animal). Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
- NEWBOLD, C. JAMES; RODE, L. M. Dietary additives to control methanogenesis in the rumen. In: **International congress series**. Elsevier, 2006. p. 138-147.

- NEWBOLD, C. JAMES; RODE, L. M. Dietary additives to control methanogenesis in the rumen. In: **International congress series**. Elsevier, 2006. p. 138-147.
- NEWBOLD, Charles James; 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, n. 2, p. 249-261, 1996.
- NEWBOLD, CHARLES JAMES; 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, n. 2, p. 249-261, 1996.
- NISBET, D. J.; MARTIN, S. A. Effect of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on lactate utilization by the ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. **Journal of Animal Science**, v. 69, n. 11, p. 4628-4633, 1991.
- NOCEK, J. E.; HOLT, M. G.; OPPY, J. Effects of supplementation with yeast culture and enzymatically hydrolyzed yeast on performance of early lactation dairy cattle. **Journal of dairy science**, v. 94, n. 8, p. 4046-4056, 2011.
- OEZTUERK, H., SCHROEDER, B., BEYERBACH, M., & BREVES, G. Influence of living and autoclaved yeasts of *Saccharomyces boulardii* on in vitro ruminal microbial metabolism. **Journal of dairy science**, v. 88, n. 7, p. 2594-2600, 2005.
- PASSOS, Ricardo Alexandre Silva. **Nutrição animal: conceitos elementares**. São Paulo: Érica, 2018.
- 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.
- POLIZELI, M. L. T. M., RIZZATTI, A. C. S., MONTI, R., TERENCEZI, H. F., JORGE, J. A., & AMORIM, D. S. Xylanases from fungi: properties and industrial applications. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 67, n. 5, p. 577-591, 2005.
- PUTNAM, DE et al. Efeito da cultura de levedura na dieta de vacas leiteiras em início de lactação sobre a fermentação ruminal e a passagem de frações de nitrogênio e aminoácidos para o intestino delgado. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 2, p. 374-384, 1997.
- RAI, M. K. (Ed.) *Mycotechnology: Current Trends and Future Prospects*. New Delhi: I.K. International Publisher. p.82-108. 2008
- RAMÍREZ, L. A. G., & RAVE, A. D. J. G. Determinación de proteína total de *Candida utilis* y *Sacharomyces cerevisiae* en bagazo de caña. **Revista Lasallista de Investigación**, v. 5, n. 1, p. 61-64, 2008.
- RODRIGUES, M. A. M., PINTO, P., BEZERRA, R. M. F., DIAS, A. A., GUEDES, C. V. M.,

- CARDOSO, V. M. G. & SEQUEIRA, C. A. Effect of enzyme extracts isolated from white-rot fungi on chemical composition and in vitro digestibility of wheat straw. **Animal Feed Science and Technology**, v. 141, n. 3-4, p. 326-338, 2008.
- ROJO, Rolando et al. Influence of cellulase addition to dairy goat diets on digestion and fermentation, milk production and fatty acid content. **The Journal of Agricultural Science**, v. 153, n. 8, p. 1514-1523, 2015.
- SUJANI, S.; SERESINHE, R. T. Exogenous enzymes in ruminant nutrition: A review. **Asian Journal of Animal Sciences**, v. 9, n. 3, p. 85-99, 2015.
- TANG, S.X.; TAYO, G.O.; TAN, Z.L.; SUN, Z.H.; SHEN, L.X.; ZHOU, C.S.; XIAO, W.J.; REN, G.P.; HAN, X.F.; SHEN, S.B. Effects of yeast culture and fibrolytic enzyme supplementation on in vitro fermentation characteristics of lowquality cereal straws. **Journal of Animal Science**, v.86, p.1164-1172, 2008.
- TRICARICO, J.M.; JOHNSTON, J.D.; DAWSON, K.A. Dietary supplementation of ruminant diets with an *Aspergillus oryzae*  $\alpha$ -amylase. **Animal Feed Science and Technology**, v.145, p.136-150, 2008.
- TRICARICO, J.M.; JOHNSTON, J.D.; DAWSON, K.A.; HANSON, K.C.; MCLEOD, K.R.; HARMON, D.L. The effects of an *Aspergillus oryzae* extract containing alpha-amylase activity on ruminal fermentation and milk production in lactating Holstein cows. **Animal Science**, v.81, p.365-374, 2005.
- VERA, J.M., A.H. SMITH, D.R. ZOBELL, A.J. YOUNG AND J.S. EUN. Effects of an exogenous proteolytic enzyme on growth performance of beef steers and in vitro ruminal fermentation in continuous cultures. **The Professional Animal Scientist**, v. 28, n. 4, p. 452-463, 2012.
- YUAN, K., LIANG, T., MUCKEY, M.B., MENDONÇA, L.G.B., HULBERT, L.E., ELROD, C.C. AND BRADFORD, B.J. Yeast product supplementation modulated feeding behavior and metabolism in transition dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 98, n. 1, p. 532-540, 2015.

### **3.0 BLEND DE ENZIMAS OU LEVEDURAS NA ALIMENTAÇÃO DE VACAS EM LACTAÇÃO**

**Resumo:** O objetivo do estudo foi avaliar o efeito da inclusão de blend de enzima ou blend de leveduras na dieta de vacas em lactação sobre a ingestão e digestibilidade da matéria seca (MS) e dos nutrientes, síntese de proteína microbiana, metabólitos sanguíneos e produção e composição do leite. Foram utilizadas nove vacas da raça Holandês, com 84,77 ( $\pm$  21,25) dias de lactação, peso corporal de 616,22 ( $\pm$  60,64) kg e produção inicial de 30,44 ( $\pm$  3,16) kg de leite por dia. O experimento teve duração de 63 dias. A dieta foi composta por 50:50 relação volumoso:concentrado, sendo composto por três tratamentos sendo esses: 1) Testemunha; 2) blend de enzimas; 3) blend de leveduras. Foram analisados os parâmetros de ingestão e digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes, síntese de proteína microbiana, metabólitos sanguíneos e produção e composição do leite. Os tratamentos testados foram distribuídos em um triplo quadrado latino 3 x 3. A utilização de blend de enzimas e blend de levedura não alterou a ingestão de MS e dos demais nutrientes assim como não demonstrou efeito sobre a digestibilidade da MS e dos nutrientes. Houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos para o nitrogênio ureico do leite, a dieta com a inclusão do blend de levedura gerou maior concentração (17,75 mg/dL) e as vacas alimentadas com blend de enzimas demonstraram menor valor (15,18 mg/dL). A utilização do blend de leveduras na dieta de vacas em lactação aumenta a produção de leite diária, o nitrogênio ureico no leite e a concentração de ureia sanguínea.

**Palavras-Chave:** aditivos, nutricional, produção, ruminantes.

## **BLEND OF ENZYMES OR YEASTS IN FEEDING LACTATING COWS**

The objective of the study was to evaluate the effect of including an enzyme blend or yeast blend in the diet of lactating cows on the intake and digestibility of dry matter (DM) and nutrients, microbial protein synthesis, blood metabolites and production and composition of milk. Nine Holstein cows were used, with 84.77 ( $\pm$  21.25) days of lactation, body weight of 616.22 ( $\pm$  60.64) kg and initial production of 30.44 ( $\pm$  3.16) kg of milk a day. The experiment lasted 63 days. The diet consisted of 50:50 roughage: concentrated ration, consisting of three treatments, the following: 1) control; 2) blend of enzymes; 3) yeast blend. We analyzed the parameters of intake and digestibility of dry matter and nutrients, microbial protein synthesis, blood metabolites and milk production and composition. The tested treatments were distributed in a 3 x 3 Latin triple square. The use of enzyme blend and yeast blend did not change the intake of DM and other nutrients, nor did it show any effect on the digestibility of DM and nutrients. There was a significant difference ( $p > 0.05$ ) between the treatments for urea nitrogen in milk, the diet with the inclusion of the yeast blend generated a higher concentration (17.75 mg / dL) and the cows fed with enzyme blend showed less value (15.18 mg / dL). The use of the yeast blend in the diet of lactating cows increases daily milk production, urea nitrogen in milk or blood urea concentration.

**Keywords:** additives, nutritional, production, ruminants.

### 3.1 Introdução

A utilização de aditivos na alimentação de bovinos leiteiros vem se intensificando nos últimos anos. Os aditivos enzimáticos auxiliam o processo digestivo melhorando a digestibilidade dos nutrientes presentes na dieta. No entanto, não possuem função nutricional direta (CHAMPE & HARVERY, 1989). Os aditivos devem ser vistos como aprimoramentos de bons programas de alimentação e não devem ser considerados como substitutos de rações equilibradas e boas práticas de alimentação (MOHAMMED et al., 2018).

As enzimas possuem uma alta especificidade por um substrato, porém cada enzima degrada o substrato dependendo dos sítios específicos de reação (RAVINDRAN, 2013). A maioria dos estudos tem focado na eficácia de enzimas fibrolíticas que contêm principalmente endoglucanase, atividades de xilanase e exoglucanase, enquanto enzimas como proteases não foram extensivamente pesquisadas (EUN e BEAUCHEMIN, 2005).

Além do uso de enzimas como aditivos, a suplementação com leveduras estimula o desenvolvimento das bactérias celulolíticas, propiciando um melhor substrato para o crescimento destas bactérias (CALLAWAY et al., 1997). Leveduras podem estimular as bactérias que consomem o ácido lático produzido no rúmen, contribuindo para modular o pH no rúmen, reduzindo os riscos de acidose, colaborando significativamente para a redução da produção de metano no rúmen (BARREIRA et al., 2019). Esses aditivos alimentares têm sido incorporados aos alimentos dos animais com o propósito de melhorar o seu desempenho e com isso a sua rentabilidade. Os dados indicam que a suplementação de levedura à dieta de ruminantes pode melhorar o ganho de peso e a ingestão de alimentos, digestão e quantidade de bactérias ruminais e pH ruminal. Além disso, acentua os padrões de ácidos graxos voláteis e influencia a absorção de alguns minerais (MOHAMMED et al., 2018).

Dessa maneira, a hipótese é que a utilização do blend de enzimas e do blend de levedura melhore a digestibilidade dos alimentos e aumente a produção de leite. Assim, o objetivo do estudo foi avaliar o efeito da inclusão de enzima proteolítica ou blend de leveduras na dieta de vacas em lactação sobre a ingestão e digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes, síntese de proteína microbiana, metabólitos sanguíneos e produção e composição do leite.

### 3.2 Material e Métodos

O protocolo de experimentação animal foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso

Animal da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE; N°23/2019). O experimento foi conduzido na fazenda experimental da UNIOESTE localizada a 24°31'55.3" latitude Sul, 54°01'08.0" longitude Oeste e 392 metros de altitude.

Foram utilizadas nove vacas da raça Holandês, com 84,77 ( $\pm$  21,25) dias de lactação, peso corporal de 616,22 ( $\pm$  60,64) kg e produção inicial de 30,44 ( $\pm$  3,16) kg de leite por dia. O experimento teve duração de 63 dias, sendo composto por três períodos experimentais de 21 dias (14 dias de adaptação e sete dias de coletas). Para a distribuição dos animais, adotou-se o delineamento experimental em triplo quadrado latino (3x3), com três animais e três tratamentos.

Como fonte de volumoso, foi utilizada a silagem de milho e, como fonte de concentrado, uma mistura com milho moído, farelo de soja, suplemento mineral e tamponante (Tabela 1). O aditivo blend de levedura é composto por levedura autolisada de panificação, levedura autolisada de cervejaria, levedura inativada, levedura seca de cana de açúcar e complexo selênio aminoácido. O blend de enzimas é composto por levedura de cana-de-açúcar inativada e desidratada, farelo de algaroba, protease, celulase, xilanase e betaglucanase. Os aditivos foram adicionados nas doses de 2,00 kg de blend de levedura por tonelada de concentrado e de 0,20 kg de blend de enzimas por tonelada de concentrado conforme recomendação da empresa.

As dietas foram calculadas de acordo com o NRC (2001) para atender às exigências nutricionais de vacas da raça Holandês com peso médio de 600 kg, com 100 dias de lactação e produção diária de 30 kg de leite contendo 3,5% de gordura (Tabela 2).

A dieta foi composta por uma relação volumoso:concentrado de 50:50. Os tratamentos testados foram:

- Testemunha (silagem de milho + concentrado);
- Blend de enzimas (silagem de milho + concentrado + blend de enzimas)
- Blend de leveduras (silagem de milho + concentrado + blend de leveduras).

Os animais permaneceram alojados em estábulo tipo tie-stall (4 m<sup>2</sup>), com água *ad libitum* e alimentação individual durante o dia e, à noite, ficavam em um piquete próximo às instalações (200 m<sup>2</sup>), desprovido de alimento, para descanso. O arraçãoamento foi realizado duas vezes ao dia (às 6h20min e 16h20min) nas proporções de 70% e 30%, respectivamente, do total de MS fornecida. As sobras dos alimentos oferecidos no cocho foram pesadas diariamente e ajustadas a fim de proporcionar sobras entre 5-10%, como garantia do consumo voluntário.

Durante os sete dias de coleta de cada período experimental, a ingestão de alimentos foi mensurada, individualmente, pela pesagem da quantidade ofertada e de suas respectivas sobras. Amostras diárias dos alimentos fornecidos e das sobras foram coletadas e congeladas. Para a avaliação da digestibilidade, do 15° ao 20° dia do período experimental, foram coletadas amostras de fezes diretamente do reto, seguindo a distribuição: 15° dia (8h), 16° dia (10h), 17° dia (12h), 18° dia (14h), 19° dia (16h), 20° dia (18h).

Tabela 1. Composição química, digestibilidade *in vitro* da matéria seca e fracionamento de carboidratos e proteína dos ingredientes das dietas experimentais.

Composição (g/kg)	Silagem de Milho	Farelo de Soja	Milho moído
Matéria seca	284,53	839,24	828,39
Matéria mineral	54,21	78,47	41,21
Extrato etéreo	26,85	15,19	51,35
Proteína bruta (PB)	76,01	472,25	73,04
FDN <sup>1</sup>	506,74	180,12	121,17
FDA <sup>2</sup>	332,74	127,40	68,90
Carboidratos totais (CT)	842,93	434,09	793,18
Carboidrato não fibrosos	336,19	253,98	672,01
NDT estimado <sup>3</sup>	707,42	810,79	814,10
DIVMS <sup>4</sup>	685,37	921,38	969,22
Fracionamento de carboidratos (g/kg de CT)			
A+ B1	447,30	640,22	871,90
B2	445,85	185,68	52,89
C	106,86	174,10	75,17
Fracionamento de proteínas (g/kg de PB)			
A	641,07	172,09	201,35
B1	53,48	47,30	63,11
B2	89,20	725,59	572,99
B3	35,52	24,45	92,68
C	180,70	30,57	69,87

<sup>1</sup>FDN: Fibra Insolúvel em Detergente Neutro; <sup>2</sup>FDA: Fibra Insolúvel em Detergente Acido. <sup>3</sup>NDT: Nutrientes digestíveis totais estimados segundo Cappelle et al. (2001); <sup>4</sup>Digestibilidade *in vitro* da Matéria Seca.

As amostras foram analisadas para os teores de MS (método 934.01), MM (método 938.08), proteína bruta (PB; método 981.10) e extrato etéreo (método 920.85) segundo AOAC (1990) e fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) segundo Van Soest et al. (1991). A matéria orgânica (MO) foi calculada pela diferença da MS e MM. Os teores de carboidratos totais (CT) e carboidratos não fibrosos (CNF) foram estimados com base nas equações propostas pelo NRC (2001). Os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram estimados por Cappelle et al. (2001). O teor de lignina foi determinado conforme metodologia de Van Soest e Wine (1968).

Para a digestibilidade in vitro da MS, foi utilizada a técnica descrita por Tilley e Terry (1963) adaptada por Holden (1999), com dois estágios de incubação. O fracionamento de carboidratos e proteína foram determinados de acordo com as metodologias descritas por Sniffen et al. (1992) e Licitra et al. (1996), respectivamente.

Tabela 2. Ingredientes e composição química das dietas experimentais em g/kg de matéria seca

Ingredientes	Concentrado
Silagem de milho	500,00
Farelo de soja	194,50
Milho moído	280,50
Calcário	5,50
Suplemento mineral <sup>1</sup>	12,00
Tamponante <sup>2</sup>	7,50
Composição bromatológica	
	Concentrado
MS	537,85
MM <sup>2</sup>	45,58
EE <sup>3</sup>	30,78
PB <sup>4</sup>	150,34
FDN <sup>5</sup>	322,38
CT <sup>6</sup>	739,94
CNF <sup>7</sup>	417,55
NDT estimado <sup>8</sup>	739,76

<sup>1</sup>Composição química (quantidades g/kg do produto): Ca - 160 g, P - 90 g, Co - 60 mg, Mg - 1,1 g, Mn - 200 mg, Zn - 480 mg, Se - 3,3 mg, I - 8 mg, S - 12 g (produto comercial); <sup>2</sup>Composição Ca - 98g Mg - 115g Na - 134g BHT - 300 mg.; <sup>1</sup>Matéria Seca; <sup>2</sup>MO: Matéria Mineral; <sup>3</sup>EE: Extrato Etéreo; <sup>4</sup>PB: Proteína Bruta; <sup>5</sup>FDN: Fibra Insolúvel em Detergente Neutro; <sup>6</sup>CT: Carboidratos Totais; <sup>7</sup>CNF: Carboidratos Não Fibrosos; <sup>8</sup>NDT: 81,41 - (0,60 \* (%FDA \* 0,08)).

Para estimativa da excreção fecal diária, foi utilizada como indicador interno a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), analisada nas amostras do alimento fornecido, sobras e fezes por intermédio de incubação in situ (COCHRAN et al., 1986). A FDNi foi obtida como descrito por Casali et al. (2008) com incubação ruminal por 240 horas e posterior análise de FDN.

Os animais foram ordenhados duas vezes ao dia, às 6:00 e 16:00 horas. A produção de leite (PL) diária das vacas foi registrada durante o período de coleta de dados, com auxílio de medidores de fluxo de leite acoplados ao equipamento de ordenha. A eficiência de produção de leite (EPL) foi obtida pela produção média de leite de cada vaca dividido pela ingestão média de MS em cada período experimental.

A PL, corrigida para 3,5% de gordura, foi calculada pela equação descrita por Sklan et

al. (1992). A amostragem de leite para as análises químicas foi realizada no 15° e 16° dias de cada período experimental. A amostra de leite individual de cada animal foi composta pela ordenha da manhã (60%) e da tarde (40%), totalizando duas amostras por animal por período. O material coletado foi acondicionado em frascos de polietileno contendo conservante Bromopol® (2-bromo-2-nitropopano-1,3-diol) e encaminhado para a Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH), para análise dos teores de proteína, gordura, lactose, sólidos totais e nitrogênio ureico do leite (NUL).

Foram realizadas duas coletas de urina *spot*, quatro horas após a alimentação matinal (10:30 horas) no 15° e 16° dias dos períodos experimentais. Imediatamente após a coleta, foi realizada a aferição do pH urinário, posteriormente foram coletadas uma alíquota de 10 mL de urina, filtrada e diluída com 40 mL de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4 - 0,036 N$ ) para determinação das concentrações urinárias de alantoína e ácido úrico e outra alíquota de 50 mL de urina para a determinação de creatinina (CHEN & GOMES, 1992).

Para determinação da excreção de purinas totais (PT) (mmol/dia), procedeu-se a soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretadas na urina e da alantoína no leite (CHEN & GOMES, 1992), determinadas por meio de “kits” comerciais Analisa®, sendo as leituras realizadas em espectrofotômetro (Shimadzu modelo UV-1 601). Para determinação da alantoína do leite, procedeu-se a coleta com as amostras enviadas para as análises de composição, sendo desproteínizado utilizando cinco mL de solução de ácido tricloroacético à 25%, posteriormente filtrado em papel-filtro qualitativo e armazenado a  $-20^{\circ}C$ .

As purinas microbianas absorvidas (PA) (mmol/dia) foram estimadas a partir da excreção de purinas totais (mmol/dia), conforme modelo proposto por VERBIC et al. (1990). A estimativa do fluxo intestinal de nitrogênio microbiano ( $g\ NM/dia$ ) foi determinada por meio da equação proposta por CHEN e GOMES (1992), a partir da quantidade de purinas absorvidas (mmol/dia).

A determinação dos metabólitos sanguíneos foi realizada no 18° dia experimental, realizando-se duas coletas por animal (jejum e quatro horas após a alimentação matutina), utilizando-se tubos vacutainer seco com ativador de coágulo de quatro mL, por meio punção da veia coccígea. As amostras coletadas foram centrifugadas a 3.500 rpm por 15 minutos para a retirada do soro, o qual foi transferido para eppendorfs e refrigerados para posteriores análises. Foram determinadas as concentrações de colesterol, triglicerídeos, glicose, creatinina, ureia e das enzimas alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), gamaglutamiltransferase (GGT) e fosfatase alcalina (ALP), a partir de “kits” comerciais específicos, utilizando-se um espectrofotômetro de calibração automática com

leitura de alta performance Elitech EL 200 (FLEXOR EL200, LITech Group, Paris, France).

As variáveis dependentes foram analisadas como um desenho de triplo quadrado latino  $3 \times 3$ , com efeitos fixos do período e tratamento e efeito aleatório de animal.

O modelo estatístico utilizado para o quadrado latino foi:

$$Y_{ijkl} = \mu + Q_i + A_j + P_k + T_l + E_{ijkl}$$

Em que:

$Y_{ijkl}$  = Observação relativa ao  $i$ -ésimo quadrado, ao  $j$ -ésimo animal e ao  $k$ -ésimo período ao  $l$ -ésimo tratamento.

$\mu$  = Média geral;

$Q_i$  = Efeito correspondente ao  $i$ -ésimo quadrado;

$A_j$  = Efeito correspondente ao  $j$ -ésimo animal;

$P_k$  = Efeito correspondente ao  $k$ -ésimo período;

$T_l$  = Efeito correspondente ao  $l$ -ésimo tratamento;

$E_{ijkl}$  = Erro aleatório associado ao  $i$ -ésimo quadrado,  $j$ -ésimo animal,  $k$ -ésimo período e  $l$ -ésimo tratamento.

As médias e os erros padrões foram determinados usando a instrução LSMEANS, bem como as diferenças dos quadrados médios foram determinadas usando a instrução PDIFF. Todas as análises estatísticas foram realizadas em SAS (versão 9.3, SAS Institute Inc., Cary, NC) usando o procedimento MIXED. Quando houve diferença estatística, o teste de Tukey foi utilizado para fornecer comparações múltiplas. As diferenças foram declaradas quando  $P < 0,05$ .

### 3.3 Resultados

A utilização do blend de enzimas e blend de levedura não alterou a ingestão de MS e dos demais nutrientes (Tabela 3).

Tabela 3. Ingestão diária de matéria seca e dos demais nutrientes em vacas da raça holandesa em lactação alimentados com adição de blend de enzimas ou blend de leveduras na ração

Variáveis	Tratamento			<i>p</i> -valor	EPM
	Testemunha	Blend de enzimas	Blend de levedura		
PC (kg)	646,44	648,33	656,11	0,388	17,622
IMS (kg/dia)	20,27	20,88	20,65	0,208	0,474
IMS (%PC)	3,14	3,24	3,16	0,408	0,078

IMO (kg/dia)	18,74	19,36	19,14	0,168	0,361
IEE (kg/dia)	0,52	0,54	0,55	0,118	0,040
IPB (kg/dia)	3,51	3,62	3,56	0,201	0,141
IFDN (%PC)	1,10	1,15	1,11	0,308	0,020
IFDN (g/kg PC <sup>0,75</sup> )	41,56	41,42	39,83	0,818	3,754
ICT (kg/dia)	14,70	15,19	15,02	0,182	0,209
ICNF (kg/dia)	7,57	7,77	7,73	0,268	0,166
INDT (kg/dia)	12,80	13,2	13,20	0,172	0,485

EPM: Erro Padrão da Média; IMS: Ingestão de Matéria Seca; IMO: Ingestão de Matéria Orgânica; IEE: Ingestão de Extrato Etéreo; IPB: Ingestão de Proteína Bruta; IFDN: Ingestão de Fibra em Detergente Neutro; ICT: Ingestão de Carboidratos Totais; ICNF: Ingestão de Carboidratos Não Fibrosos; INDT: Ingestão de Nutrientes Digestíveis. EPM = Erro padrão da média

Os dados de digestibilidade dos nutrientes estão apresentados na Tabela 4. A digestibilidade dos nutrientes se assemelhou nos três tratamentos, sem diferença significativa entre eles.

Tabela 4. Digestibilidade aparente da matéria seca e dos nutrientes (g/kg de MS) de vacas da raça holandesa em lactação alimentados com adição de blend de enzimas ou blend de leveduras na ração.

Variáveis	Tratamento			<i>p</i> -valor	EPM
	Testemunha	Blend de enzimas	Blend de levedura		
DMS	619,32	617,65	619,80	0,989	26,274
DMO	635,75	636,22	637,79	0,990	26,857
DEE	574,27	565,24	585,97	0,578	52,880
DPB	674,01	692,52	672,79	0,507	29,948
DFDN	415,66	414,28	398,35	0,818	37,546
DCT	629,44	626,06	634,02	0,893	25,594
DCNF	831,62	833,11	856,49	0,506	16,548
NDT calc	633,32	633,53	636,97	0,880	15,628

EPM: Erro Padrão da Média; DMS: Digestibilidade da Matéria Seca; DMO: Digestibilidade da Matéria Orgânica; DEE: Digestibilidade do Extrato Etéreo; DPB: Digestibilidade da Proteína Bruta; DFDN: Digestibilidade da Fibra Insolúvel em Detergente Neutro; DCT: Digestibilidade dos Carboidratos Totais; DCNF: Digestibilidade dos Carboidratos Não Fibrosos; NDT calc.: Nutrientes Digestíveis Totais calculado:  $NDT = (PBd + CHOd) + 2,25(EEd)$ . Médias seguidas de letras distintas diferem entre si ( $P > 0,05$ ) pelo teste de Tukey. EPM = Erro padrão da média

A produção de leite dos animais que receberam o blend de levedura na dieta foi maior ( $p < 0,05$ ) que nos animais que receberam a dieta testemunha ou a dieta com o blend de enzimas (Tabela 5).

Tabela 5 - Produção e composição do leite de vacas da raça holandesa em lactação com adição de Blend de Enzimas ou blend de leveduras na ração

Variáveis	Tratamentos			<i>p</i> -valor	EPM
	Testemunha	Blend de enzimas	Blend de levedura		
PL (kg/dia)	31,46 <sup>b</sup>	31,61 <sup>b</sup>	33,03 <sup>a</sup>	0,018	1,14
PLCG (kg/dia)	30,76	31,23	32,85	0,118	0,93
EPL	1,36	1,37	1,40	0,420	0,07
Gord (%)	3,40	3,45	3,49	0,721	0,17
Prot (%)	3,27	3,28	3,32	0,273	0,09
Lact (%)	4,68	4,71	4,72	0,448	0,06
ST (%)	12,27	12,35	12,45	0,413	0,23
NUL (mg/dL)	16,63 <sup>ab</sup>	15,18 <sup>b</sup>	17,75 <sup>a</sup>	0,028	0,90
CCS LOG	2,43	2,30	2,29	0,815	0,21
CBT (x1000 UFC/mL)	124,61	115,72	48,11	0,347	86,91

EPM: Erro Padrão da Média; PL: Produção de Leite; PLCG: Produção de Leite Corrigida 3,5% de gordura; EPL: Eficiência de Produção de Leite; Gord: Gordura; Prot: Proteína; Lact: Lactose; ST: Sólidos Totais; NUL: Nitrogênio Ureico do Leite. Médias seguidas de letras distintas diferem entre si ( $P > 0,05$ ) pelo teste de Tukey. EPM = Erro padrão da média

Houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos para o NUL, sendo que, a dieta com a inclusão do blend de levedura teve maior concentração (17,75 mg/dL) e as vacas alimentadas com inclusão de blend de enzimas demonstraram menor concentração (15,18 mg/dL). Os teores de gordura, proteína, lactose e sólidos totais do leite não variaram entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ).

As excreções dos derivados de purina (Tabela 6) não apresentaram efeito ( $p > 0,05$ ) sobre os tratamentos, tanto para as excreções quanto para as purinas microbianas, produção microbiana e pH urinário.

As concentrações séricas das enzimas (ALT, AST, ALP e GGT) e os teores de colesterol, creatinina, glicose e triglicerídeos não apresentaram efeito entre os tratamentos (Tabela 7). Não houve efeito ( $p > 0,05$ ) das dietas experimentais sobre a concentração sérica de glicose e de triglicerídeos. Entretanto, houve redução ( $p \leq 0,05$ ) dos níveis de glicose, triglicerídeos e creatinina na corrente sanguínea na coleta realizada quatro horas após a primeira alimentação (56,30, 9,06 e 0,96 mg/dL) no tocante à coleta em jejum (68,11 e 10,92 mg/dL), respectivamente (Tabela 7). Para as concentrações de colesterol não se verificou efeito de tempo ( $p > 0,05$ ).

Tabela 6. Excreções de derivados de purinas e síntese microbiana de vacas holandesas em lactação com adição de Blend de Enzimas ou Blend de Leveduras na ração.

Variável	Tratamento			<i>p</i> -valor	EPM
	Testemunha	Blend de Enzimas	Blend de Levedura		
Excreções (mmol/dia)					
Alantoína da urina	217,80	233,93	220,47	0,59	11,215
Alantoína do leite	36,62	37,30	38,03	0,67	1,096
Ácido úrico da urina	25,87	22,04	26,94	0,76	4,96
Purinas totais	280,29	293,42	285,44	0,74	11,43
Purinas Microbianas (mmol/dia)					
Purinas absorvidas	271,76	286,74	277,16	0,746	13,42
Produção Microbiana (g/dia)					
N-microbiano	197,58	208,47	201,51	0,746	9,76
PB-Microbiana	1234,9	1302,94	1259,42	0,746	60,99
pH urinário					
pH da urina	7,808	7,796	7,842	0,690	0,07

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si ( $P > 0,05$ ) pelo teste de Tukey. EPM = Erro padrão da média

As concentrações de ureia sanguínea apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos, sendo que as maiores concentrações foram para os tratamentos com adição de blend de enzimas (5,7805 mmol/L) e blend de levedura (5,7861 mmol/L).

Tabela 7. Metabólito sanguíneos de vacas da raça Holandesa em lactação alimentadas blend de levedura ou blend de enzimas, e valores antes e depois da alimentação

Variáveis	Tratamentos			Horas		Tratamento	Tempo	Tratamento x Tempo	EPM
	Testemunha	Blend de enzimas	Blend de levedura	0	4				
Concentrações séricas (U/mL)			<i>p-valor</i>						
ALAT	20,36	20,82	21,40	20,37	21,35	0,348	0,085	0,758	1,265
ASAT	60,36	58,28	60,10	58,72	60,43	0,543	0,349	0,809	2,989
FAL	96,31	102,19	96,26	97,43	99,08	0,458	0,738	0,215	13,356
GGT	22,22	23,27	21,42	21,03	23,58	0,514	0,013	0,096	2,082
Concentrações séricas (mg/dL)			<i>p-valor</i>						
Colesterol	108,95	113,43	111,71	110,72	112,01	0,500	0,661	0,836	7,102
Creatinina	0,95	1,05	1,03	1,06	0,96	0,178	<0,01	0,689	0,043
Glicose	62,79	60,14	63,69	68,11	56,30	0,291	<0,01	0,818	1,914
Triglicerídeos	10,02	9,36	10,57	10,92	9,06	0,133	<0,01	0,227	0,561
Concentrações Séricas (mmol/L)			<i>p-valor</i>						
Ureia	5,21 b	5,780 a	5,78 a	5,50	6,05	0,020	0,013	0,769	0,320

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si ( $P>0,05$ ) pelo teste de Tukey. EPM: Erro Padrão da Média; ALAT: Alanina Aminotransferase; ASAT: Aspartato Aminotransferase; FAL: Fosfatase alcalina; GGT: gama-glutamil transferase

### 3.4 Discussão

A ingestão de MS não foi modificada pela ação da blend de enzimas e do blend de leveduras. A atividade enzimática depende estritamente do tipo de alimento, assim como a especificidade do aditivo enzimático deve ser considerada em especial o método apropriado de aplicação (Hvelplund et al., 2009). Sutton et al. (2003) estudando a aplicação de enzimas fibrolíticas relataram respostas favoráveis quando a enzima foi adicionada à mistura da dieta total, possivelmente devido ao aumento da ingestão de MO digerível. Entretanto, não encontraram efeito significativo quando a enzima foi aplicada ao concentrado ou infundida diretamente no rúmen. Resultados semelhantes ao deste estudo foram relatados por Kumar et al. (2010) que, ao suplementar 0,25 g/animal/dia de levedura na dieta de bezerros de búfalo, não observaram efeito no consumo de ração, assim como Piva e colaboradores (1993) que avaliaram a suplementação de levedura em bovinos leiteiros.

Os demais parâmetros de ingestão avaliados (MO, EE, PB, FDN, CT, CNF e NDT) não tiveram efeitos sobre a inclusão dos aditivos. Eun and Beauchemin (2005) avaliaram os efeitos da enzima proteolítica em vacas lactantes e observaram como resultado a diminuição da ingestão de nutrientes. Mesmo que a adição de enzima proteolítica à dieta tenha diminuído a ingestão de alimentos, a digestibilidade total do MS, MO, FDN e hemicelulose aumentou.

A digestibilidade da MS, assim como dos outros nutrientes, não foi influenciada pelo uso da blend de enzimas ou blend de levedura. Peng e Gallagher (1994) avaliaram o uso da dose de 5,0 g/animal/dia de *Saccharomyces cerevisiae* em ovelhas, sendo que os tratamentos com e sem o uso de levedura no concentrado não apresentaram diferenças significativas na digestibilidade *in vivo* da MS, FDA, N e MS *in vitro*. Kholif e Khorshed não encontraram diferenças na digestão de MS com a adição de leveduras em búfalas lactantes depois de 24 e 48 horas.

Salem et al. (2013) avaliando os efeitos de um mix de enzimas exógenas na digestibilidade dos nutrientes em novilhos de corte, observaram que a digestibilidade da PB e MO teve um aumento devido à suplementação. Colombatto et al. (2007) concluíram, trabalhando com um produto enzimático com potencial atividade de xilanase, que o efeito da enzima exógena foi mais pronunciado em pH com valores mais próximos da neutralidade, implicando que a digestibilidade de enzimas exógenas pode ser afetada pelo pH ruminal.

As enzimas exógenas têm uma relação sinérgica com a microbiota ruminal, aumentando a aderência das bactérias ao substrato. Todavia, a quantidade de enzimas pode definir a sua ativação com grandes quantidades podendo competir com a microbiota epifítica

por locais de ligação (MORGAVI et al., 2000), sendo assim responsável pela falta de efeitos ou até mesmo efeito negativo a suplementação de enzimas.

De acordo com Mohammed et al. (2018), as leveduras podem agir sobre um certo grau de viabilidade ruminal, com a possibilidade de alteração na fermentação e populações de micróbios do rúmen. Entretanto, no trabalho proposto a utilização tanto do blend de levedura quanto do blend de enzimas não demonstrou influência sobre a digestibilidade dos alimentos.

O uso do blend de leveduras na dieta de vacas em lactação aumentou ( $p < 0,05$ ) a produção de leite. Para Santos et al. (2006), a utilização de leveduras na alimentação de vacas leiteiras apresenta resultados variáveis, como o aumento na produção de leite e alterações na composição do leite.

Resultados positivos também foram observados por Ayad et al. (2013), os quais analisaram a curva de produção de leite e evidenciaram que o pico de lactação de vacas alimentadas com *Saccharomyces cerevisiae* se estende por mais tempo do que as vacas controle (4 semanas versus 3 semanas, respectivamente). Esse efeito positivo da levedura na persistência do pico de lactação também é mencionado por Wohlt et al. (1991).

Conforme Bitencourt (2008), a suplementação com leveduras faz com que ocorra um acréscimo no número total de bactérias ruminais, este acréscimo na população bacteriana pode ser capaz de induzir ganhos na digestão da fibra e, conseqüentemente, aumento de produção de leite. Khattab et al. (2010) trabalhando com diferentes aditivos na alimentação de búfalas em lactação verificaram aumento na produção dos animais que receberam 10 g de levedura por dia.

A utilização do blend de enzimas não apresentou diferença significativa para a produção de leite em relação ao tratamento testemunha. Shearer (2018) notou, ao examinar os efeitos de enzimas amilolíticas e proteolíticas exógenas sobre o desempenho de vacas em lactação, que a adição de enzimas exógenas manteve o desempenho da lactação comparado às vacas não suplementadas. Outros autores que encontraram resultados similares foram Silva et al. (2016) que, ao avaliarem a utilização de enzima fibrolítica exógena em dietas para vacas em lactação, identificaram uma melhora na relação de acetato:propionato no rúmen nas dietas com adição de enzima.

No tocante à composição do leite, não houve diferença entre os tratamentos, exceto para o NUL, o qual foi maior para os animais que receberam a dieta com o blend de leveduras e menor nos animais que receberam a dieta com a enzima proteolítica, sendo que em todos os tratamentos as concentrações ficaram dentro dos parâmetros aceitáveis.

A degradação microbiana da proteína dietética pode causar um aumento na concentração de amônia ruminal que, devido ao transporte de amônia ruminal para o sangue e a subsequente conversão de amônia sanguínea em ureia pelo fígado, é seguido por um aumento no plasma e, devido à difusão entre o leite e o sangue, no NUL. Contudo, dietas com uma fração de carboidratos altamente degradáveis podem resultar em uma diminuição da amônia ruminal imediatamente após a alimentação, porque a proteína degradada e a amônia ruminal são utilizadas para a síntese de proteína microbiana (SPEK et al., 2012).

A suplementação de levedura pode melhorar o desenvolvimento das bactérias fibrolíticas do rúmen que possuem uma alta preferência por amônia e, com isso, melhorar a utilização do nitrogênio amoniacal e reduzir sua produção (HRISTOV et al., 2010).

Com a inclusão de blend de enzimas ou blend de levedura no concentrado da dieta de vacas em lactação, não foi observado efeito sobre as excreções de derivados de purinas e síntese microbiana. Salem et al. (2013) perceberam, ao avaliar os efeitos de enzimas exógenas na dieta de novilhos de corte, um aumento na concentração de alantóina urinária ( $p < 0,04$ ) com a adição de enzimas, enquanto o ácido úrico não foi afetado em novilhos, sendo que o total de derivados de purina foi maior ( $p < 0,04$ ) em novilhos com a suplementados de enzima.

Neste estudo, avaliou-se o impacto da suplementação com blend de levedura ou blend de enzimas em alguns parâmetros bioquímicos do sangue, como ALT, ASAT, FAL e GGT os quais não apresentaram diferença significativa entre tratamentos. Além desses, as concentrações de colesterol, creatinina, glicose, triglicerídeos e nível de ureia no plasma sanguíneo não foram alterados. Sendo que apenas a concentração de ureia teve efeito positivo com a inclusão de aditivos. A avaliação do plasma sanguíneo e das atividades séricas das enzimas é de extrema importância para monitorar as doenças subclínicas que podem acometer as vacas leiteiras no pós-parto (STOJEVIĆ et al., 2005; SAMANC et al., 2011), assim como são biomarcadores de lesão hepática (GHOURI et al., 2010). Para Piva et al. (1993), os níveis de glicose, colesterol, ureia, proteína total e albumina do plasma sanguíneo não foram afetados pela suplementação com levedura.

As maiores concentrações de ureia sanguínea nas dietas contendo blend de levedura e de blend de enzimas demonstraram menor energia disponível para que os microrganismos do rúmen transformassem a amônia ruminal em proteína microbiana. Dessa forma, o excesso de amônia é convertido em ureia e parte é excretada na forma de nitrogênio ureico por meio do leite (Santos e Pedroso, 2011). Além disso, Garcia et al. (2017) descreveram que a concentração de ureia no sangue pode se elevar pela superalimentação, ou seja, pela alta

ingestão de proteína. Assim, o processo que induz maior degradação de proteínas pode resultar em um aumento da ureia no sangue. Trabalhos demonstram um aumento da ureia após a suplementação da ração com *Saccharomyces cerevisiae* em vacas leiteiras (IWANSKA et al., 1999 e Onifade e Babatunde 1996). Entretanto, alguns estudos relatam que a ureia foi levemente reduzida em vacas leiteiras suplementadas com leveduras no meio da lactação (PIVA et al., 1993).

Arif et al. (2018) trabalhando com enzima fibrolítica não observaram alteração no nitrogênio e na glicose e na ureia no sangue, além destes também encontraram valores semelhante Varlyakov et al. (2010) e Wahyuni et al. (2012).

Os resultados encontrados neste estudo podem ser devidos ao estágio de lactação, estratégia de alimentação, condições ambientais, composição da dieta, tipo de forragem, concentração da dose de levedura e levedura utilizada na alimentação. Alguns pesquisadores (ARAMBEL e KENT, 1990; MOALLEM et al., 2009) relataram que o uso de levedura pode ser mais eficaz sob estresse do que em condições normais. Assim como o aproveitamento para uso da enzima vai depender de diversas condições, incluindo umidade, temperatura, pH, concentração de enzimas e do tipo de substrato (AEHLE, 2004).

### 3.5 Conclusão

A inclusão do blend de leveduras aumentou mais de um quilograma a produção de leite diária na dieta de vacas em lactação em relação aos demais tratamentos. As concentrações de ureia no leite e sanguínea foram afetadas pela inclusão dos aditivos. No entanto, para ingestão e digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes, síntese microbiana não se obteve diferença significativa dos resultados entre os tratamentos.

### 3.6 Referências Bibliográficas

- AEHLE, W. (Ed.). **Enzymes in industry: production and applications**. John Wiley & Sons, 2007.
- 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, n. 6, p. 1560-1563, 1990.
- ARIF, M., AL-SAGHEER, A. A., SALEM, A. Z. M. et al. Influence of exogenous fibrolytic enzymes on milk production efficiency and nutrient utilization in early lactating buffaloes fed diets with two proportions of oat silage to concentrate ratios. **Livestock science**, v. 219, p. 29-34, 2019.

- AYAD, M. A., BENALLOU, B., SAIM, M. S. et al. Impact of feeding yeast culture on milk yield, milk components, and blood components in Algerian dairy herds. **J. Veterinar. Sci. Technol**, v. 4, n. 135, p. 2, 2013.
- BARRERA, Oscar Ruiz; SALINAS-CHAVIRA, Jaime; CASTILLO, Yamicela Castillo. Yeasts as Dietary Additives to Manipulate Ruminant Fermentation: Effect on Nutrient Utilization and Productive Performance of Ruminants. In: **Yeasts in Biotechnology**. IntechOpen, 2019.
- BITENCOURT, L. L. **Desempenho e eficiência alimentar de vacas leiteiras suplementadas com levedura viva**. 2008. 58f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.
- CALLAWAY, T. R., Martin, S. A., Wampler, J. L., Hill, N. S., & Hill, G. M. Malate content of forage varieties commonly fed to cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 8, p. 1651-1655, 1997.
- CAPPELLE, E.R.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, J.F.C. et al. Estimativas do valor energético a partir de características químicas e bromatológicas dos alimentos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 6, p. 1837-1856, 2001.
- CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos in situ. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 2, p. 335-342, 2008.
- CHAMPE, P.C.; HARVEY, R.A. Enzimas. In: *Bioquímica Ilustrada*, 2. ed. São Paulo: **Artes médicas**, 1989. 446p. p53-66.
- 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 the technical details**. Rowett Research Institute, 1992.
- CHIZZOTTI, M.L.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Consumo, digestibilidade e excreção de ureia e derivados de purinas em vacas de diferentes níveis de produção de leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 1, p. 138-146, 2007.
- COCHRAN, R.C.; ADAMS, D.C.; WALLACE, J.D. et al. Predicting digestibility of different diets with internal markers: evaluation of four potential markers. **Journal of Animal Science**, v. 63, n. 5, p. 1476-1483, 1986.
- COLOMBATTO, D., MOULD, F.L., BHAT, M.K. et al. Influence of exogenous fibrolytic enzyme level and incubation pH on the in vitro ruminal fermentation of alfalfa stems. **Animal Feed Science and Technology**, v. 137, n. 1-2, p. 150-162, 2007.
- DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.
- EUN, J.-S.; BEAUCHEMIN, K. A. Effects of a proteolytic feed enzyme on intake, digestion, ruminal fermentation, and milk production. **Journal of dairy science**, v. 88, n. 6, p. 2140-2153, 2005.
- GARCÍA, A. I. M.; PÉREZ, A. A.; RUIZ, D. R. Y. Uso de subproductos agroindustriales en la

- alimentación del caprino lechero (y II). **Albéitar: publicación veterinaria independiente**, n. 209, p. 36-38, 2017.
- GHOURI, N.; PREISS, D.; SATTAR, N. Liver enzymes, nonalcoholic fatty liver disease, and incident cardiovascular disease: a narrative review and clinical perspective of prospective data. **Hepatology**, v. 52, n. 3, p. 1156-1161, 2010.
- HOLDEN, L. A. Comparison of methods of in vitro dry matter digestibility for ten feeds. **Journal of dairy science**, v. 82, n. 8, p. 1791-1794, 1999.
- PENG, H. H.; GALLAGHER, J. R. The effects of yeast supplement on digestibility of low quality roughage fed to sheep. In: **PROCEEDINGS-AUSTRALIAN SOCIETY OF ANIMAL PRODUCTION**. AUSTRALIAN SOCIETY OF ANIMAL PRODUCTION, 1994. p. 398-398.
- HVELPLUND, T., WEISBJERG, M. R., HINDRICHSEN, I. K., et al. The effect of adding exogenous enzymes at ensiling on nutrient availability in different forages. In: **Proceedings of the TSAP Conference**. 2009. p. 1-7.
- IWAŃSKA, S., STRUSIŃSKA, D., ZALEWSKI, W. et al. The effect of *Saccharomyces cerevisiae*1026 used alone or with vitamin-mineral premix on milk yield and milk composition in dairy cows. **Acta Veterinaria Hungarica**, v. 47, n. 1, p. 41-52, 1999.
- KHOLIF, S. M.; KHORSHEED, M. M. Effect of yeast or selenized yeast supplementation to rations on the productive performance of lactating buffaloes. **Egyptian Journal of Nutrition and Feeds**, v. 9, p. 193-205, 2006.
- KUMAR D. S., RAMA P. J., RAGHAVA R. E. et al. Effect of yeast culture supplementation on nutrient utilization in Graded Murrah buffalo bull calves. **Cellulose**, v. 38, n. 13.0, p. 13.0, 2010.
- 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, n. 4, p. 347-358, 1996.
- MOALLEM, U., LEHRER H., LIVSHITZ L. et al. The effects of live yeast supplementation to dairy cows during the hot season on production, feed efficiency, and digestibility. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 1, p. 343-351, 2009.
- MOHAMMED, S. F.; MAHMOOD, F. A.; ABAS, E. R. A review on effects of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as feed additives in ruminants performance. **Journal of Entomology and Zoology Studies**; n. 6, v. 2, p.629-635 2018.
- MORGAVI, D. P.; BEAUCHEMIN, K. A.; NSEREKO, V. L. et al. Synergy between ruminal fibrolytic enzymes and enzymes from *Trichoderma longibrachiatum*. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1310–1321, 2000.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. Seventh revised edition, Washington D.C.: National Academy Press, 360p.
- ONIFADE, A. A.; BABATUNDE, G. M. Supplemental value of dried yeast in a high-fibre diet for broiler chicks. **Animal Feed Science and Technology**, v. 62, n. 2-4, p. 91-96, 1996.

- PIVA G, BELLADONNA S, FUSCONI G. et al. Effects of yeast on dairy cow performance, ruminal fermentation, blood components, and milk manufacturing properties. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 9, p. 2717-2722, 1993.
- RAVINDRAM, V. Feed enzymes: the science, practice, and metabolic realities. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 22, p. 628-636, 2013.
- SALEM, A. Z. M., GADO, H. M., COLOMBATTO, D., & ELGHANDOUR, M. M. Y. Effects of exogenous enzymes on nutrient digestibility, ruminal fermentation and growth performance in beef steers. **Livestock Science**, v. 154, n. 1-3, p. 69-73, 2013.
- SAMANC, H.; DANIJELA, K.; STOJIĆ, V.; DRAGICA, S.; VUJANAC, I.; PRODANOVIĆ, R.; SLAVICA, B.K. Application of the metabolic profile in the prediction and diagnosis of fatty liver in Holstein cows. **Acta Veterinaria** (Beograd). 61(5-6):543-553. 2011.
- SANTOS, F.A.P., MENDONÇA, A.P. Metabolismo de proteínas. In: BERCHIELLI, T.T; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de ruminantes**. 2. ed. São Paulo: FAPESP/FUNEP. p.265- 297. 2011
- SANTOS, F. A. P., CARMO, C. D. A., MARTINEZ, J. C. et al. M. M. Desempenho de vacas em lactação recebendo dietas com diferentes teores de amido total, acrescidas ou não de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1568-1575, 2006.
- SAS INSTITUTE. 2009. SAS PROPRIETARY SOFTWARE, RELEASE 9.2. SAS INST. INC., CARY, N.C.
- SHEARER, L. K.. Effects of Exogenous Amylase and Protease on Ruminal Metabolism, Nutrient Digestibility, Ruman Microbiome, and Lactation Performance of Dairy Cows Fed Freshly Ensiled Corn Silage Based Diets. 2018.
- SILVA, T. H.; TAKIYA, C.S.; VENDRAMINI, T.H.A. et al. Effects of dietary fibrolytic enzymes on chewing time, ruminal fermentation, and performance of mid-lactating dairy cows. **Journal Animal Feed Science and Technology**, v. 221, p. 35–43, 2016
- SKLAN, D.; ASHKENNAZI, R.; BRAUN, A. et al. Fatty acids, calcium soaps of fatty acids, and cottonseeds fed to high yielding cows. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.2463-2472, 1992.
- SNIFFEN, C. J., O'CONNOR, J. D., VAN SOEST, P. J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of animal science**, v. 70, n. 11, p. 3562-3577, 1992.
- SPEK, J. W. et al. A review of factors influencing milk urea concentration and its relationship with urinary urea excretion in lactating dairy cattle. **The Journal of Agricultural Science**, v. 151, n. 3, p. 407-423, 2013.
- STOJEVIĆ, Z., PIRŠLJIN, J., MILINKOVIĆ-TUR, S. et al. Activities of AST, ALT and GGT in clinically healthy dairy cows during lactation and in the dry period. **Veterinarski arhiv**, v. 75, n. 1, p. 67-73, 2005.
- SUTTON, J. D., PHIPPS, R. H., BEEVER, D. E. et al. Effect of method of application of a

- fibrolytic enzyme product on digestive processes and milk production in Holstein-Friesian cows. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 2, p. 546-556, 2003.
- TAKIYA, C. S. **Enzima amilolítica exógena na alimentação de vacas em lactação**. 2016. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- TILLEY, J. M. A.; TERRY, R. A. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. **Grass and forage science**, v. 18, n. 2, p. 104-111, 1963.
- VAN SOEST, P. J., & WINE, R. H. Determination of lignin and cellulose in acid-detergent fiber with permanganate. **Journal of the association of official analytical chemists**, v. 51, p. 780-785, 1968.
- VAN SOEST, P. J., ROBERTSON, J. B., & LEWIS, B. A. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.
- VARLYAKOV, I., N. GRIGOROVA, and T. SLAVOV. Effect of Hostazym C100 on growth performance and some hematological and ethological indexes of yearling rams. **Bulg. J. Agri. Sci**, v. 16, p. 659-664, 2010.
- VERBIC, J., CHEN, X. B., MACLEOD, N. A. et al. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **The Journal of Agricultural Science**, v. 114, n. 3, p. 243-248, 1990.
- WAHYUNI, R. D., NGAMPONGSAI, W., WATTANACHANT, C. et al. Effects of enzyme levels in total mixed ration containing oil palm frond silage on intake, rumen fermentation, and growth performance of male goat. **Songklanakarín J. Sci. Technol**, v. 34, n. 4, p. 353-360, 2012.
- WOHLT, J. E.; FINKELSTEIN, A. D.; CHUNG, C. H. Yeast Culture to Improve Intake, Nutrient Digestibility, and Performance by Dairy Cattle During Early Lactation1. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 4, p. 1395-1400, 1991.

#### **4. CONSUMO E DIGESTIBILIDADE DA MATÉRIA SECA E DOS NUTRIENTES E PARÂMETROS DE FERMENTAÇÃO RUMINAL DE BOVINOS RECEBENDO DIETAS COM ADIÇÃO DE BLEND DE ENZIMAS OU BLEND DE LEVEDURAS**

**Resumo:** Aditivos alimentares são amplamente utilizados em dietas de ruminantes que modulam o metabolismo ruminal, o que acaba melhorando a utilização de nutrientes e o desempenho animal. Objetivou-se avaliar o efeito da adição de blend de enzimas e blend de levedura sobre a ingestão e digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes e parâmetros ruminais de bovinos. Foram utilizados seis bovinos machos castrados, da raça Jersey, portadores de cânula ruminal ( $780,83 \pm 44,16$  kg) com aproximadamente nove anos de idade, distribuídos em duplo quadrado latino  $3 \times 3$ . O experimento teve duração de 63 dias. A dieta foi composta por 50% de silagem de milho e 50% de concentrado, sendo este dividido em três tratamentos: Testemunha; Blend de Enzimas; Blend de Leveduras. Foram analisados os parâmetros de ingestão e digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes, parâmetros ruminais e produção cumulativa de gás *in vitro*. A adição de blend de enzimas ou blend de levedura não alterou a ingestão da MS e dos nutrientes. Os valores de pH ruminal não foram modificados em função dos tratamentos ( $P > 0,05$ ), tal como as concentrações de nitrogênio amoniacal. Estimou-se o ponto de máximo e mínimo de  $N-NH_3$  (37,08 e 14,66 mg/dL), respectivamente, decorridos 2:00 e 8:00 horas após a alimentação matutina. A adição de 200 g de blend de Enzimas e 2 kg de blend de levedura por tonelada de ração concentrada, na alimentação de bovinos canulados não alterou a ingestão e digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes e os parâmetros de fermentação ruminal.

**Palavras-Chaves:** aditivos, digestão, nutrição, produção de gás, ruminantes.

## **CONSUMPTION AND DIGESTIBILITY OF DRY MATTER AND NUTRIENTS AND RUMINAL FERMENTATION PARAMETERS OF CATTLE RECEIVING DIETS WITH ADDITION OF BLEND OF ENZYMES OR BLEND OF YEAST**

**Abstract:** Food additives are widely used in ruminant diets that modulate ruminal metabolism, which ends up improving nutrient utilization and animal performance. The objective was to evaluate the effect of adding enzyme blends and yeast blends on the intake and digestibility of dry matter and nutrients and ruminal parameters of cattle. Six castrated male bovine, of the Jersey breed, with ruminal cannula ( $780.83 \pm 44.16$  kg), with approximately nine years of age, were distributed in a double 3x3 Latin square. The experiment lasted 63 days. The diet consisted of 50% corn silage and 50% concentrated, which was divided into three treatments: Control; Enzyme Blend; Yeast Blend. We analyzed the parameters of intake and digestibility of dry matter and nutrients, ruminal parameters and cumulative gas production in vitro. The addition of an enzyme blend or yeast blend did not change the intake of DM and nutrients. The ruminal pH values were not modified due to the treatments ( $P > 0.05$ ), nor were the concentrations of ammoniacal nitrogen. The maximum and minimum point of N-NH<sub>3</sub> (37.08 and 14.66 mg / dL), respectively, was estimated 2:00 and 8:00 hours after morning feeding. The addition of 200 g of Enzyme blend and 2 kg of yeast blend per ton of concentrated ration, in the feed of cannulated cattle did not change the intake and digestibility of dry matter and nutrients and rumen fermentation parameters.

Keywords: additives, digestion, nutrition, gas production, ruminants.

## 4.1 Introdução

Aditivos alimentares são amplamente utilizados em dietas de ruminantes, com o objetivo de modular o metabolismo ruminal, o que acaba melhorando a utilização de nutrientes e o desempenho animal (Mohammed et al., 2018).

Conforme Callaway et al. (1997), a suplementação com leveduras na dieta dos ruminantes estimula o crescimento das bactérias celulolíticas no rúmen, favorecendo um local mais propício para o crescimento destas bactérias, por meio do aumento das concentrações de ácidos orgânicos, vitaminas do complexo B e aminoácidos.

Segundo Willians et al. (1991) e Dan et al. (2000), os efeitos da utilização de leveduras para os parâmetros ruminais são principalmente os valores de pH, as concentrações de N amoniacal ( $N-NH_3$ ) e ácidos graxos voláteis, produção de metano (Soder et al., 1998) além da microflora ruminal e das taxas de degradação da fibra.

As leveduras são responsáveis por fornecer vitaminas, que auxiliam o crescimento de fungos no rúmen (Jouany, 2001). A capacidade de diferentes cepas de *Saccharomyces cerevisiae* estimularem a contagem viável de bactérias no rúmen parece estar relacionada à sua capacidade de remover oxigênio de líquido do rúmen (Chaucheyras et al., 1995). Além da suplementação de leveduras na alimentação de ruminantes, o uso de enzimas exógenas também vem se tornando frequente, pois as enzimas no rúmen podem agir diretamente sobre os alimentos e ainda potencializando as atividades das enzimas microbianas melhorando assim a digestão (McAllister et al., 2001), sendo provável haver sinergismo entre enzimas exógenas e microbianas (Morgavi et al., 2000).

Uma variedade de fatores, como a atividade específica das enzimas, modo e nível de aplicação, bem como o tipo de animal e sua dieta, podem afetar a eficácia da enzima (McAllister e Cheng, 1996; Beauchemin et al., 2004). A utilização de enzimas na alimentação direta demonstrou um aumento na colonização microbiana dos alimentos, aumentando o número de bactérias fibrolíticas ruminais (MORGAVI et al., 2004; NSEREKO et al., 2002).

Dessa maneira, a hipótese é que a adição de blend de enzimas ou blend de leveduras altere a fermentação ruminal, melhorando a digestibilidade dos nutrientes. Objetivou-se avaliar o efeito da adição de blend de enzimas ou blend de leveduras sobre a ingestão e digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes e parâmetros de fermentação ruminal de bovinos.

## 4.2 Materiais e Métodos

O experimento foi realizado na fazenda experimental da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE) localizada a 24°31'55.3" latitude Sul, 54°01'08.0" longitude Oeste com 392 metros de altitude. Todos os procedimentos experimentais para a utilização dos animais foram submetidos à avaliação e previamente aprovados pelo Comitê de Ética no Uso dos Animais (CEUA) da UNIOESTE (N°23/2019).

Foram utilizados seis bovinos machos castrados, da raça Jersey, portadores de cânula ruminal ( $780,83 \pm 44,16$  kg) com aproximadamente nove anos de idade, distribuídos em duplo quadrado latino 3x3. O experimento teve duração de 63 dias sendo composto por três períodos experimentais de 21 dias, sendo 14 dias destinados à adaptação dos animais e sete para as coletas de dados.

Os animais permaneceram alojados em estábulo tipo tie-stall, com água *ad libitum* e alimentação individual durante o dia e, à noite, permaneciam em um piquete próximo às instalações, desprovido de alimento, para descanso. O arraçoamento foi realizado duas vezes ao dia (às 6h20min e 16h20min) nas proporções de 70% e 30%, respectivamente, do total de matéria seca fornecida. As sobras alimentares oferecidas no cocho foram pesadas diariamente para ajuste da quantidade de ração fornecida, em 1,2% de ingestão de matéria seca em relação ao peso corporal.

Durante os sete dias de coleta de cada período experimental, a ingestão de alimentos foi mensurada, individualmente, pela pesagem da quantidade ofertada e de suas respectivas sobras. Amostras diárias dos alimentos fornecidos e das sobras foram coletadas e congeladas. Para a avaliação da digestibilidade, no 15° ao 20° dia do período experimental, foram coletadas amostras de fezes diretamente do reto, seguindo a distribuição: 15° dia (8h), 16° dia (10h), 17° dia (12h), 18° dia (14h), 19° dia (16h) e 20° dia (18h).

Após as amostras de alimentos, sobras e fezes foram secas em estufa com ventilação forçada (55°C – 72 h), processadas em moinho do tipo Willey (1 mm) realizado um pool composto das amostras de cada alimento, sobras e fezes por animal/período, para posteriores análises da composição química. A estimativa do peso corporal dos animais foi realizada no início e final de cada período.

Como fontes de volumoso, a silagem de milho e, como fonte concentrada, uma mistura com milho moído, farelo de soja, suplemento mineral e tamponante (Tabela 1).

Tabela 1. Composição, digestibilidade in vitro da matéria seca e fracionamento de carboidratos e proteína dos ingredientes das dietas experimentais em g/kg de MS

Composição	Silagem de milho	Farelo de joja	Milho moído
Matéria seca	284,53	839,24	828,39
Matéria mineral	54,21	78,47	41,21
Extrato etereo	26,85	15,19	51,35
Proteína bruta	76,01	472,25	73,04
FDN <sup>1</sup>	506,74	180,12	121,17
FDA <sup>2</sup>	332,74	127,40	68,90
Carboidratos totais	842,93	434,09	793,18
Carboidrato não fibrosos	336,19	253,98	672,01
NDT Estimado <sup>3</sup>	707,42	810,79	814,10
DIVMS <sup>4</sup>	685,37	921,38	969,22
Fracionamento de carboidratos (g/kg de CT)			
A+ B1	447,30	640,22	871,90
B2	445,85	185,68	52,89
C	106,86	174,10	75,17
Fracionamento de proteínas (g/kg)			
A	641,07	172,09	201,35
B1	53,48	47,30	63,11
B2	89,20	725,59	572,99
B3	35,52	24,45	92,68
C	180,70	30,57	69,87

<sup>1</sup>FDN: Fibra Insolúvel em Detergente Neutro; <sup>2</sup>FDA: Fibra Insolúvel em Detergente Acido. <sup>3</sup>NDT: Nutrientes digestíveis totais estimados segundo Cappelle et al. (2001); <sup>4</sup> Digestibilidade in vitro da Matéria Seca.

O aditivo blend de levedura é composto por levedura autolisada de panificação, levedura autolisada de cervejaria, levedura inativada, levedura seca de cana-de-açúcar e complexo selênio aminoácido. O blend de enzimas é composto por levedura de cana-de-açúcar inativada e desidratada, farelo de algaroba, protease, celulase, xilanase betaglucanase. Os aditivos foram adicionados nas doses de 2,00 kg de blend de levedura por tonelada de concentrado e de 0,20 kg de blend de enzimas por tonelada de concentrado.

A dieta dos animais foi balanceada de acordo com as exigências nutricionais para a manutenção dos bovinos, conforme recomendações do NRC (2001). As dietas experimentais (Tabela 2) foram formuladas na relação 50:50 (volumoso:concentrado).

- Testemunha (silagem de milho + concentrado);
- Blend de enzimas (silagem de milho + concentrado + blend de enzimas)
- Blend de leveduras (silagem de milho + concentrado + blend de leveduras).

Tabela 2. Ingredientes e composição química das dietas experimentais em g/kg de matéria seca

Ingredientes	Concentrado
Silagem de milho	500,00
Farelo de soja	194,50
Milho	280,50
Calcário	5,50
Suplemento mineral <sup>1</sup>	12,00
Tamponante <sup>2</sup>	7,50
Composição bromatológica	
	Concentrado
MS	537,85
MM <sup>2</sup>	45,58
EE <sup>3</sup>	30,78
PB <sup>4</sup>	150,34
FDN <sup>5</sup>	322,38
CT <sup>6</sup>	739,94
CNF <sup>7</sup>	417,55
NDT Estimado <sup>8</sup>	739,76

<sup>1</sup>Composição química (quantidades g/kg do produto): Ca - 160 g, P - 90 g, Co - 60 mg, Mg - 1,1 g, Mn - 200 mg, Zn - 480 mg, Se - 3,3 mg, I - 8 mg, S - 12 g (produto comercial); <sup>2</sup>Composição Ca - 98g Mg - 115g Na - 134g BHT - 300 mg.; <sup>3</sup>Matéria Seca; <sup>4</sup>MO: Matéria Mineral; <sup>5</sup>EE: Extrato Etéreo; <sup>6</sup>PB: Proteína Bruta; <sup>7</sup>FDN: Fibra Insolúvel em Detergente Neutro; <sup>8</sup>CT: Carboidratos Totais; <sup>7</sup>CNF: Carboidratos Não Fibrosos; <sup>8</sup>NDT: 81,41 - (0,60 \* (%FDA \* 0,08)).

As amostras foram analisadas para os teores de MS (método 934.01), cinzas (CZ; método 938.08), proteína bruta (PB; método 981.10) e extrato etéreo (EE; método 920.85) segundo AOAC (1990) e fibra em detergente neutro (FDN), segundo Van Soest et al. (1991). A matéria orgânica (MO) foi calculada pela diferença da MS e CZ. Os teores de carboidratos totais (CT) e carboidratos não fibrosos (CNF) foram estimados conforme as equações propostas pelo NRC (2001). Os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram estimados com base em Cappelle et al. (2001).

Para a digestibilidade in vitro da MS, foi utilizada a técnica descrita por Tilley e Terry (1963) adaptada por Holden (1999), com dois estágios de incubação. O fracionamento de carboidratos e proteína foi determinado de acordo com as metodologias descritas por Sniffen et al. (1992) e Licitra et al. (1996), respectivamente.

Para a estimativa da excreção fecal diária, foi utilizada como indicador interno a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), estimada nas amostras do alimento fornecido, sobras e composição fecal por intermédio de incubação in situ (COCHRAN et al., 1986). A FDNi foi obtida como descrito por Casali et al. (2008) com incubação ruminal por 240 horas e posterior análise de FDN.

Para a determinação do potencial hidrogeniônico (pH) e do nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>), foram realizadas coletas de amostras do líquido ruminal no 18º dia experimental, via cânula ruminal, nas porções dorsal, ventral e central do rúmen, nos seguintes horários: 0 (jejum), 2, 4, 6 e 8 horas após a alimentação da manhã. Posteriormente, as amostras foram filtradas em compressas de gases aferindo-se o pH com auxílio de um peagâmetro digital. Para a determinação do N-NH<sub>3</sub>, foi adicionado um mL de ácido sulfúrico (1:1) em 50 mL de amostra do líquido ruminal, armazenados a -20°C para posterior análise das concentrações do N-NH<sub>3</sub> amoniacal, por meio da destilação em (KOH) 2N, conforme técnica descrita por Fenner (1965) adaptada por Vieira et al. (1980).

Para a mensuração da produção de gás *in vitro*, foi utilizado o sistema de produção de gás ANKOM® RFS (Ankom Technology Corp., Macedon, NY, EUA), contendo 12 módulos, determinada durante 48 horas, equipado com transponders sem fio (ANKOM, 2012). Doze recipientes de 250 mL, sendo 11 com amostras contendo de 0,5 g e um sendo o branco, foram adicionados 25 mL de inóculo preparado pela mistura de fluido ruminal obtido de bois da raça Jersey canulados no rúmen sendo adicionada em cada frasco de vidro destinado a produção de gás, estes aspergidos com CO<sub>2</sub> e vedados com módulos de digestão e 100 mL de solução de A+B ajustados para pH 6,8 (MARTEN e BARNES, 1980). Os dados foram coletados a cada 10 min e os dados de pressão foram convertidos de in/psi para ml de gás/100 mg de MS.

Foram feitos os ajustes pelo modelo logístico não linear descrito a partir do algoritmo de Gauss-Newton implementado no PROC NLIN do SAS 9.3 (versão 9.3, SAS Institute Inc., Cary, NC) e de acordo com o modelo de Schofield et al. (1994) como segue:

$$V = (A / (1 + \exp(2 + 4 * B * (C - T))) + (D / (1 + \exp(2 + 4 * E * (C - T))))$$

Em que V é o volume acumulado; A (mL) é o volume de gás oriundo da fração de rápida digestão (CNF); B (%/h) é a taxa de degradação da fração de rápida digestão (CNF); C é a latência ou tempo de colonização em horas; T (h) é o tempo de incubação; D (mL) é o volume de gás da fração de lenta degradação (B2); E (%/h), taxa de degradação da fração B2.

Para a análise estatística, os dados foram testados para a normalidade, utilizando-se o teste Shapiro-Wilk. Para a produção de gases *in vitro*, realizou-se um delineamento de blocos ao acaso (incubações), sendo realizados três blocos com duas repetições para cada tratamento em cada bloco. O modelo experimental utilizado para a produção de gases *in vitro* foi:

$$y_{ij} = \mu + T_i + b_j + e_{ij}$$

Sendo Y<sub>ij</sub>= variável dependente; μ= média; T<sub>i</sub>= efeito fixo do tratamento (i= Testemunha; Blend de Leveduras; Blend de Enzima); b<sub>j</sub>= efeito aleatório de bloco (1 a 3); e

$\epsilon_{ij}$ = erro residual.

Os dados de consumo e digestibilidade foram analisados utilizando-se o procedimento MIXED do SAS (Statistical Analysis System, versão 9,2). O modelo matemático utilizado no experimento com os bovinos canulados foi:

$$\Gamma_{ijkl} = \mu + T_i + P_j + A_k + Q_l + \epsilon_{ijkl}$$

Em que,  $\gamma_{ijkl}$ = observação,  $\mu$ = média,  $t_i$ = efeito fixo do tratamento ( $i$ = Testemunha; Blende de Leveduras; Blend de Enzima),  $p_j$ =efeito aleatório de período ( $j=1$  a 3),  $a_k$ =efeito aleatório de animal ( $k= 1$  a 3)  $q_l$ =efeito aleatório do quadrado latino e  $\epsilon_{ijkl}$ = erro residual.

Para a avaliação de N-NH<sub>3</sub> e pH, foram realizadas análises de medidas repetidas no tempo, sendo incluído no modelo o efeito fixo de tempo e sua interação com o tratamento de acordo com o modelo:

$$Y_{ijklm}: \mu + A_i + P_j + T_k + H_l + Q_m + TH_{kl} + \epsilon_{ijklm}$$

Em que,  $Y_{ijk}$ : Variável dependente para o  $i$ -ésimo animal, ao  $j$ -ésimo período e ao  $k$ -ésimo tratamento;  $\mu$ : Média geral;  $A_i$ : Efeito correspondente ao  $i$ -ésimo animal;  $P_j$ : Efeito correspondente ao  $j$ -ésimo período;  $T_k$ : Efeito correspondente ao  $k$ -ésimo tratamento;  $H_l$ : Efeito correspondente ao  $l$ -ésimo tempo;  $TH_{kl}$ : Efeito da interação entre tratamento e tempo;  $Q_m$ : Efeito correspondente ao quadrado latino;  $\epsilon_{ijklm}$ : Erro aleatório associado ao  $i$ -ésimo animal,  $j$ -ésimo período,  $k$ -ésimo tratamento,  $l$ -ésimo tempo e  $m$ -quadrado. Os meios de mínimos quadrados e os erros que seguem um certo padrão foram determinados usando a instrução LSMEANS, assim como as diferenças dos mínimos quadrados foram determinadas usando a instrução PDIF.

Quando houve diferença estatística, o teste de Tukey foi utilizado para fornecer comparações múltiplas. As diferenças foram declaradas quando  $P < 0,05$ .

Os valores de  $P$  para efeitos lineares e quadráticos, quando utilizados, foram analisados por meio de regressão feita pelo procedimento REG DO SAS (versão 9.3, SAS Institute Inc., Cary, NC).

### 4.3 Resultados

A adição de Blend de Enzima ou Blend de levedura não alterou a ingestão da MS e dos nutrientes (Tabela 3), sendo que os três tratamentos se assemelharam nas taxas de ingestão de MS, EE, PB, FDN, CT, CNF e NDT.

**Tabela 3.** Ingestão diária de matéria seca e dos nutrientes de bovinos alimentados com adição de blend de enzima ou blend de leveduras na ração

Variáveis	Tratamento	p-valor
-----------	------------	---------

	Testemunha	Blend de enzima	Blend de leved	Tratamento	EPM
PC (kg)	800,17	791,67	796,33	0,674	9,406
IMS (kg/dia)	8,70	8,73	8,67	0,858	0,115
IMS (%PC)	1,08	1,09	1,09	0,110	0,0174
IMO (kg/dia)	8,05	8,0	8,10	0,852	0,128
IEE (kg/dia)	0,22	0,22	0,23	0,197	0,0158
IPB (kg/dia)	1,48	1,48	1,47	0,957	0,0300
IFDN (%PC)	0,39	0,39	0,39	0,265	0,0025
IFDN (g/kg PC <sup>0,75</sup> )	66,10	65,84	64,67	0,551	1,976
ICT (kg/dia)	6,34	6,34	6,38	0,802	0,111
ICNF (kg/dia)	3,22	3,23	3,24	0,944	0,113
INDT (kg/dia)	6,38	6,38	6,40	0,961	0,147

<sup>1</sup>EPM: Erro Padrão da Média; <sup>2,3</sup>IMS: Ingestão de Matéria Seca; <sup>4</sup>IMO: Ingestão de Matéria Orgânica; <sup>5</sup>IEE: Ingestão de Extrato Etéreo; <sup>6</sup>IPB: Ingestão de Proteína Bruta; <sup>7,8</sup>IFDN: Ingestão de Fibra em Detergente Neutro; <sup>9</sup>ICT: Ingestão de Carboidratos Totais; <sup>10</sup>ICNF: Ingestão de Carboidratos Não Fibrosos; <sup>11</sup>INDT: Ingestão de Nutrientes Digestíveis. Médias seguidas de letras distintas diferem entre si (P>0,05) pelo teste de Tukey. EPM = Erro padrão da média

A utilização dos aditivos na dieta dos bovinos não alterou (P>0,05) a digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes (Tabela 4).

**Tabela 4.** Digestibilidade aparente da matéria seca e dos nutrientes (g kg<sup>-1</sup> de MS) de bovinos alimentados com adição de blend de enzima ou blend de leveduras na ração

Variáveis	Tratamento			<i>p</i> -valor	EPM
	Testemunha	Blend de enzimas	Blend de leveduras		
DMS	738,26	731,07	736,40	0,688	20,395
DMO	772,21	766,30	770,84	0,672	17,997
DEE	793,43	803,92	797,89	0,621	22,030
DPB	838,57	842,22	829,46	0,624	25,089
DFDN	661,04	658,45	646,71	0,551	19,761
DCT	820,57	821,31	816,88	0,561	11,712
DCNF	975,43	978,9	981,84	0,724	6,682
NDT calc	733,75	735,74	733,34	0,525	8,210

<sup>1</sup>EPM: Erro Padrão da Média; <sup>2</sup>DMS: Digestibilidade da Matéria Seca; <sup>3</sup>DMO: Digestibilidade da Matéria Orgânica; <sup>4</sup>DEE: Digestibilidade do Extrato Etéreo; <sup>5</sup>DPB: Digestibilidade da Proteína Bruta; <sup>6</sup>DFDN: Digestibilidade da Fibra Insolúvel em Detergente Neutro; <sup>7</sup>DCT: Digestibilidade dos Carboidratos Totais; <sup>8</sup>DCNF: Digestibilidade dos Carboidratos Não Fibrosos; <sup>9</sup>NDT calc.: Nutrientes Digestíveis Totais calculado: NDT=(PBd+CHOd)+2,25(EEd). Médias seguidas de letras distintas diferem entre si (P>0,05) pelo teste de Tukey. EPM = Erro padrão da média

As concentrações de acetato, propionato, butirato e lactato, além da relação

acetato:propionato do líquido ruminal dos bovinos, não foram influenciados ( $P>0,05$ ) em função dos tratamentos utilizados (Tabela 5).

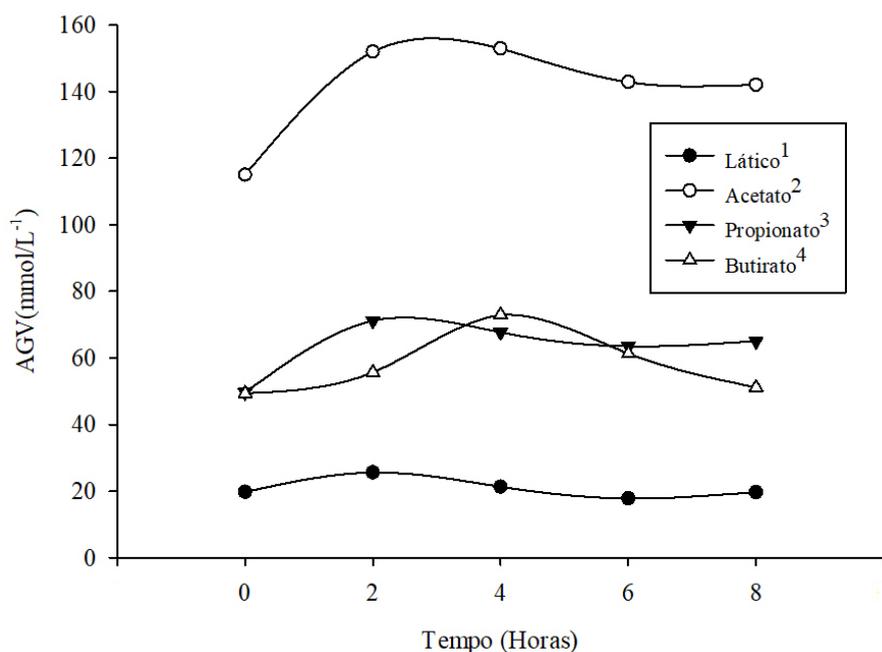
**Tabela 5.** Ácidos graxos voláteis, potencial hidrogeniônico e nitrogênio amoniacal do fluido ruminal de bovinos alimentados com adição de blend de enzima ou blend de leveduras na ração

Variáveis	Tratamento			p-valor	EPM
	Testemunha	Blend de Enzima	Blend de Levedura		
AGV`s totais (mmol/L)	282,150	282,940	285,110	0,971	10,842
Acetato (%)	49,885	50,710	50,020	0,816	1,260
Propionato (%)	22,164	22,840	22,208	0,781	0,895
Butirato (%)	20,279	18,704	20,753	0,556	1,427
Lático (%)	7,668	7,744	7,017	0,228	0,357
Acetato:Propionato	2,369	2,239	2,273	0,427	0,097
pH ruminal	6,192	6,214	6,172	0,665	0,060
N-NH <sub>3</sub> (mg/dL)	23,7969	24,8163	23,6863	0,547	0,798

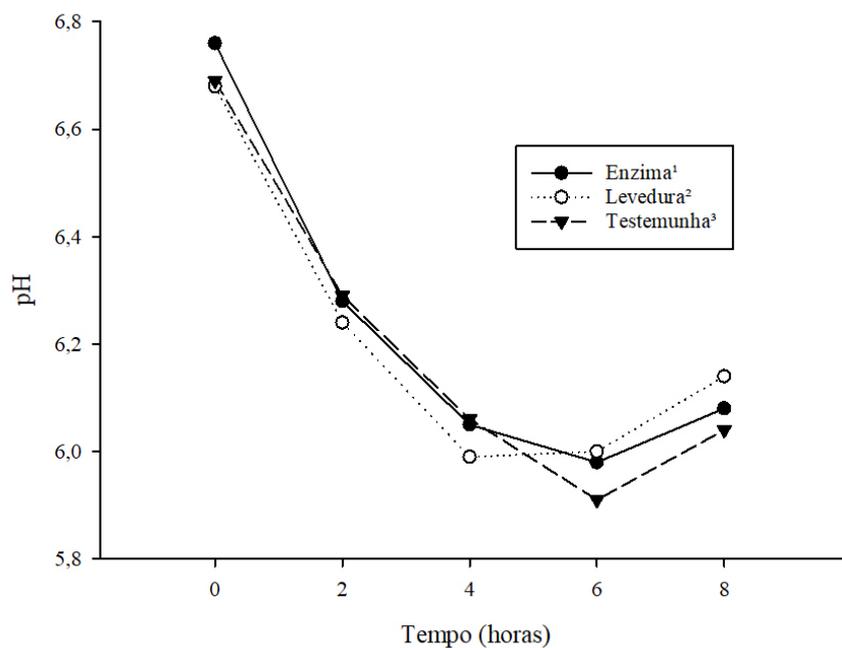
EPM: Erro Padrão da Média;

Em função do tempo de coleta do conteúdo ruminal, os teores de acetato, propionato e butirato, além da razão acetato:propionato apresentaram comportamento quadrático (Figura 1).

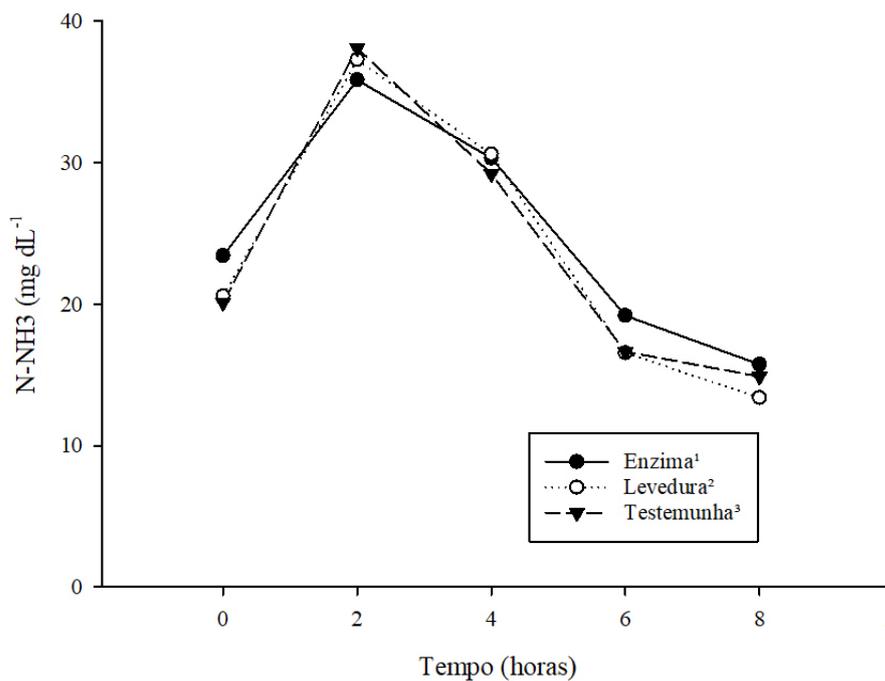
Os valores de pH (Figura 2) não foram influenciados pelos tratamentos ( $P>0,05$ ). A adição de blend de enzimas ou blend de leveduras na dieta não modificou ( $P>0,05$ ) as concentrações de nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) (Figura 3).



**Figura 1.** Concentração dos ácidos graxos voláteis do fluido ruminal de bovinos em função do tempo após a alimentação.  $Y^1= 21.40597 +0.62863 x -0.12843x^2$   $R^2=0.29$ ;  $Y^2= 119.64029 +14.62121x -1.54696x^2$   $R^2=0.78$ ;  $Y^3= 52.98671 + 6.99299 x - 0.73004x^2$   $R^2=0.63$ ;  $Y^4= 47.42006 +9.31284x -1.10714x^2$   $R^2=0.78$ .



**Figura 2.** Potencial hidrogeniônico (pH) do fluido ruminal bovinos alimentados com adição de blend de enzima ou blend de leveduras na ração em função do tempo após a alimentação.  $Y^1= 6.75057 -0.27157 x + 0.02357x^2$   $R^2=0.99$ ;  $Y^2= 6.69686 -0.24686x + 0.02036x^2$   $R^2=0.99$ ;  $Y^3=6.67686 -0.26886x + 0.02536x^2$   $R^2=0.99$ .



**Figura 3.** Concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) do fluido ruminal de bovinos em função do tempo após a alimentação.  $Y^1 = 25.97657 + 3.73893x - 0.66768x^2$ ;  $Y^2 = 24.01629 + 4.56771x - 0.77071x^2$   $Y^3 = 23.97314 + 4.97636x - 0.84161x^2$

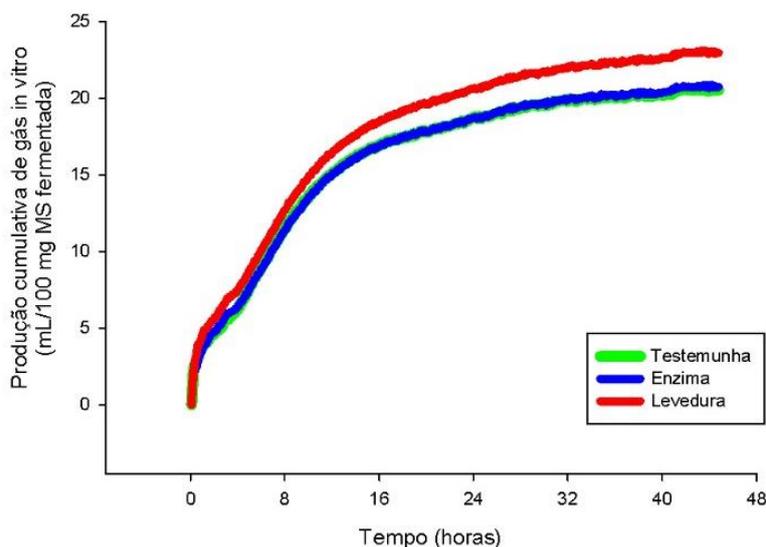
No tocante à produção cumulativa de gás *in vitro* (Tabela 6), não se verificou efeito dos tratamentos ( $p > 0,05$ ) para a fração A (carboidratos de rápida degradação), fração B (taxa de degradação em horas), fração C (tempo de colonização dos microrganismos (lag time)), tal como para as frações D (volume de gás da fração de lenta degradação), E (taxa de degradação da fração D) e A+D (Volume total de gás produzido).

**Tabela 6.** Produção cumulativa de gás *in vitro* (mL/100 mg MS fermentada) das dietas completas

Parâmetros cinéticos	Dietas			P'-valor	EPM
	Testemunha	Blend de Enzima	Blend de Levedura		
A (mL) <sup>1</sup>	13,53	11,49	11,92	0,747	1,941
B (/h) <sup>2</sup>	0,07	0,17	0,10	0,486	0,054
C (h) <sup>3</sup>	0,42	0,40	0,69	0,867	0,494
D (mL) <sup>4</sup>	7,15	13,11	10,76	0,082	1,519
E (/h) <sup>5</sup>	0,02	0,02	0,03	0,582	0,004
A+D (mL) <sup>6</sup>	20,69	24,61	22,69	0,242	1,454

A<sup>1</sup>: volume de gás produzido pelos carboidratos não fibrosos (CNF); B<sup>2</sup>: taxa de degradação dos CNF; C<sup>3</sup> é a latência ou tempo de colonização em horas; D<sup>4</sup> (mL) é o volume de gás da fração de lenta degradação; E<sup>5</sup> (/h), taxa de degradação da fração D; A+D<sup>6</sup> Volume total de gás produzido. Médias seguidas de letras distintas diferem entre si ( $P > 0,05$ ) pelo teste de Tukey. EPM = Erro padrão da média

As curvas de produção acumulativa de gás das dietas completas de cada tratamento estão apresentadas na Figura 4.



**Figura 4.** Curvas da produção acumulativa de gás das dietas completas de cada tratamento.

## Discussão

A inclusão de blend de enzimas não influenciou na ingestão de MS e dos nutrientes avaliados, sendo que esses resultados corroboram com os resultados encontrados por Hristov et al. (2000), os quais avaliaram os efeitos do fornecimento de doses crescentes de enzimas degradadoras de polissacarídeos exógenos e não observaram diferenças significativas na ingestão dos nutrientes. Além de Salem et al. (2011), que avaliaram o uso de enzimas exógenas na alimentação de cabras e cordeiros, não foram evidenciados efeitos na ingestão de MS e dos nutrientes.

O uso do blend de leveduras na dieta dos ruminantes não diferiu na ingestão, sendo que a ingestão de nutrientes elevada normalmente está associada às melhorias na digestibilidade da fibra (ABD EL-GHANI, 2004). Bruno et al. (2009) testando a dose de 30 g/dia de *Saccharomyces cerevisiae* sobre desempenho de vacas leiteiras durante o estresse térmico do verão, observou resultados similares ao deste trabalho, não obteve diferença entre os tratamentos testados para os níveis de ingestão dos nutrientes. Resultados distintos foram encontrados por Dann et al. (2000) que estudaram os efeitos da levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) na ingestão pré-parto e pós-parto de vacas da raça Jersey, o qual observaram diferença significativa ( $P > 0,05$ ) com doses de 60 g/ dia do produto seco.

A utilização da blend de enzimas ou blend de leveduras não alterou a digestibilidade da proteína, bem como de nenhum dos nutrientes avaliados. A ausência de efeito com o uso de aditivos pode estar relacionada com a dose, ou maneira como foi disponibilizada aos animais. Williams et al. (1991) verificaram que a inclusão de levedura nas dietas de ruminantes aumentou a digestibilidade de MS do feno incubado no rúmen de novilhos alimentados com ração mista de feno e cevada após 12h. No entanto, após 24h, a degradação foi semelhante em todos os grupos de tratamento. Carro et al. (1992) verificaram que a cultura de leveduras não tem efeito significativo na degradabilidade da MS e FDN em dietas com médio e baixo concentrado, mas, ao suplementar dietas com alto concentrado, resultou em uma digestibilidade significativamente maior de MS e FDN.

Outros estudos (AHN e KIM, 2003; PETERS et al., 2010; REDDISH e KUNG, 2007; MILLER et al., 2008) mostraram os mesmos resultados que os verificados neste trabalho com a adição de enzimas exógenas como aditivo alimentar, não observando melhora na digestibilidade dos nutrientes.

Vera et al. (2012) avaliando o desempenho de novilhos em crescimento, alimentados

com adição de enzima proteolítica exógena, não observaram diferença significativa entre os tratamentos para digestibilidades dos nutrientes. Cagle et al. (2020) perceberam, ao avaliar o uso de levedura viva em bovinos canulados, que com a adição de 10g/ animal/dia, o tratamento afetou a taxa de degradação dos nutrientes. Alguns trabalhos encontraram resultados distintos, tais como Miller et al. (2002) que observaram efeitos de duas culturas diferentes de leveduras no metabolismo ruminal utilizando a dose de 57 g/dia obtendo resultados relacionados à digestibilidade da MS, a qual teve aumento em relação ao tratamento controle. No entanto, os demais nutrientes não demonstraram efeito sobre os tratamentos.

Eun e Beauchemin (2005) relataram que a adição de blend de enzima melhorou a degradação *in vitro* do feno de alfafa, mas não para a silagem de alfafa. A aplicação direta de enzimas fibrolíticas exógenas por meio da cânula ruminal a cordeiros alimentados com feno de capim-guiné não afetou a ingestão, bem como a digestão ruminal e total do trato (AVELLANEDA et al., 2009).

Salem et al. (2011) notaram, ao avaliar o uso de uma enzima exógena comercial em cabras e ovelhas, que a digestibilidade da MS melhorou com a adição dessa enzima. O aumento na digestibilidade dos nutrientes por adição de enzimas ocorreu, provavelmente, devido aos efeitos benéficos da enzima sobre a hidrólise das fibras e atividade de fermentação ruminal melhorando, assim, a atividade dos microrganismos ruminais (GADO et al., 2006, 2009 e 2011).

Para o pH ruminal, não se verificou variação entre os tratamentos ( $P>0,05$ ). Vários são os fatores que influenciam no efeito da suplementação com cultura de levedura em bovinos, sendo os principais a proporção volumoso:concentrado e o tipo de forrageira (WILLIAMS et al., 1991; ADAMS et al., 1995), além do nível de suplementação e período que o animal se encontra (WALLACE, 1996). Desnoyers et al. (2009) realizaram uma meta-análise avaliando 110 artigos e 157 experimentos notando o efeito da interação entre o fornecimento de levedura e as variações entre os experimentos, observando que quanto maior a proporção de concentrado na dieta e maior o consumo de matéria seca, melhor será o efeito positivo da adição de levedura no controle do pH ruminal.

É possível concluir que o efeito de modificação ruminal não foi suficiente para que possíveis variações entre os tratamentos fossem detectadas. Resultados análogos foram obtidos por Pereira et al. (2001) que, em novilhos Holandês-Zebu suplementados com 10 g de cultura de levedura/animal/dia e dietas à base de cana-de-açúcar recebendo de 11% a 17% de concentrado na MS, também não observaram mudanças no pH do líquido ruminal. A

utilização de levedura na dieta de bovinos tem sido destacada por conservar o pH mais estável no rúmen e por promover o crescimento de bactérias celulolíticas (MERTEN e ELY, 1982; ØRSKOV e RYLE, 1990).

Eun e Beauchemin (2005) observaram, ao avaliar o uso de enzima proteolítica em ruminantes, que o pH ruminal médio foi reduzido quando a enzima proteolítica foi adicionada a uma dieta baixa em forragem, provavelmente devido ao aumento da degradação da forragem e do concentrado, mas não houve efeito da enzima no pH do rúmen quando as vacas foram alimentadas com dietas com alta forragem. Assim, as observações estudo proposto são compatíveis com os resultados encontrados na literatura por outros autores que trabalharam com a adição de enzimas exógenas na alimentação de ruminantes (PETERS et al. 2010; KRAUSE et al. 1998).

As concentrações de N são importante fonte de informação sobre o ambiente ruminal sendo utilizadas para determinar a estabilidade da produção, absorção e utilização de amônia pelos microrganismos (SILVEIRA et al., 2009). Peters et al. (2010) identificaram, ao avaliar o uso de uma enzima exógena na alimentação de vacas de leite, que a concentração ruminal de N-NH<sub>3</sub> foi maior nas vacas alimentadas com a dieta controle do que naquelas alimentadas com a dieta enzimática em todos os tempos de amostragem. Segundo Nolan e Dobos (2005), o pico de N-NH<sub>3</sub> acontece de duas a quatro horas após a alimentação, sendo determinado pela degradabilidade da proteína bruta dietética.

Para que ocorra um acréscimo da digestão ruminal da matéria seca, o nível de amônia deve ser acima de 10 mg/dL. Para que tenha o aumento da ingestão de matéria seca, deve ser superior a 20 mg/dL (LENG, 1990; VAN SOEST, 1994; FURLAN et al., 2006). Entretanto, esse número não é fixo, pois a capacidade de síntese de proteína e captação de amônia pelas bactérias depende da taxa de fermentação dos carboidratos. Vieira (2016) avaliando o efeito de diferentes quantidades de levedura *Saccharomyces cerevisiae* na alimentação de bovinos da raça Nelore canulados obteve resultados similares ao deste trabalho, não observando diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) nos valores médios de N-NH<sub>3</sub> (20,43; 20,22; 21,50; 20,62 e 19,60 mg/dL), respectivamente para os tratamentos zero, 2 g, 4 g, 6 g e 8 g de levedura.

A produção de gases *in vitro* avalia e realiza a estimativa nutricional de alimentos ou dietas por meio da simulação da fermentação ruminal correlacionando, assim, o volume de gases produzidos por meio de uma curva cumulativa de produção de gás aos valores da digestão do alimento, além de suas frações solúveis e insolúveis (CAMPOS et al., 2001). Para a fração D, correspondente ao volume de gás (mL) da fração de lenta degradação, o tratamento contendo o blend de enzima mostrou valores acima dos demais. Para Cheeke

(1991), a fração fibrosa do alimento, por proporcionar maior relação acetato:propionato, libera maior quantidade de gás por sua menor eficiência fermentativa e pelas maiores perdas por dióxido de carbono e metano.

Doto e Liu (2011) estudaram os efeitos de *Bacillus licheniformis* e *Clostridium butyricum* combinados com uso de levedura na fermentação ruminal, bem como observaram influência significativa na digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica e na taxa de fermentação. Marrero et al. (2015) justificam as diferenças de respostas à inclusão de leveduras, com a variação de linhagens comerciais. A variabilidade está parcialmente relacionada à dieta que define a prevalência de uma população sobre outra no rúmen e, portanto, há mudanças na resposta da presença de leveduras devido à sua especificidade de ação.

Elghandour et al. (2013) conduziram um estudo para investigar os efeitos de doses crescentes da mistura de preparação de uma enzima exógena na produção de gás *in vitro*. A adição de enzima afetou a fermentação ruminal das rações de maneira diferente, principalmente dependente de seu teor de fibras, ainda que a dosagem da enzima também tenha sido importante, pois os impactos geralmente aumentavam em doses mais altas de enzimas. Wang et al. (2004) relataram que 1,5 g/kg de uma enzima fibrolítica adicionada à palha de trigo aumentou apenas a produção de gás até 8 h de incubação.

Alguns autores mencionam que a combinação de produtos com diferentes atividades enzimáticas (Eun & Beauchemin 2007) ou o uso de multienzimas (Gado et al. 2011; Lopez et al. 2013) podem ser mais eficazes na degradação da dieta em comparação com enzimas de atividade única.

Após a colonização (horas), os microrganismos aderidos ao substrato realizam a hidrólise da celulose, hemicelulose, carboidratos solúveis e amido, liberando os monômeros, os quais são fermentados em AGV, aumentando a concentração destes aproximadamente 2 a 4 horas após a ingestão (BERGMAN, 1990). Em contraste com os resultados desta pesquisa, Křížová et al. (2011) observaram que a concentração de acetato em vacas alimentadas com levedura viva foi significativamente maior em comparação com animais de controle em amostras coletadas 2, 4, e 7 h após a alimentação.

Girardo et al. (2008) demonstraram que a suplementação de uma enzima fibrolítica diretamente no rúmen aumentou a atividade fibrolítica no fluido ruminal, embora a suplementação enzimática não tenha afetado significativamente a concentração de Ácido Graxos voláteis (AGV) total no fluido ruminal.

#### 4.4 Conclusão

A adição de 200 g de blend de enzimas e 2 kg de blend de leveduras por tonelada de ração concentrada na alimentação de bovinos canulados não alterou a ingestão e digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes e os parâmetros de fermentação ruminal.

#### 4.6 Referências

- ADAMS, A.L.; HARRIS JR., B.; Van HORN, H.H. et al. Effects of varying forage types on milk production responses to whole cottonseed, tallow, and yeast. **Journal of Dairy Science**, v.78, n.3, p.573-581, 1995.
- AHN, J. H.; KIM, Y. J.; KIM, H. J. Effects of fibrolytic enzyme addition on ruminal fermentation, milk yield and milk composition of dairy cows. **Journal of Animal Science and Technology**, v. 45, n. 1, p. 131-142, 2003.
- AVELLANEDA JH, PINOS-RODRÍGUEZ JM, GONZÁLEZ SS. et al. Effects of exogenous fibrolytic enzymes on ruminal fermentation and digestion of Guinea grass hay. **Anim Feed Sci Technol**. 149:70–77. 2009.
- BEAUCHEMIN, K. A., COLOMBATTO, D., MORGAVI, D. P. et al. Mode of action of exogenous cell wall degrading enzymes for ruminants. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 84, n. 1, p. 13-22, 2004.
- BERGMAN, E.N. 1990. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiological Reviews*. 70(2):567-590.
- BRUNO, R. G., RUTIGLIANO, H. M., CERRI, R. L. et al. Effect of feeding *Saccharomyces cerevisiae* on performance of dairy cows during summer heat stress. **Animal Feed Science and Technology**, v. 150, n. 3-4, p. 175-186, 2009.
- CAGLE, C. M., FONSECA, M. A., CALLAWAY, T. R. et al. Evaluation of the effects of live yeast on rumen parameters and in situ digestibility of dry matter and neutral detergent fiber in beef cattle fed growing and finishing diets. **Applied Animal Science**, v. 36, n. 1, p. 36-47, 2020.
- CALLAWAY, E. S.; MARTIN, S. A. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on ruminal bacteria that utilize lactate and digest cellulose. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 9, p. 2035-2044, 1997.
- CARRO, M. D.; LEBZIEN, P.; ROHR, K. Influence of yeast culture on the in vitro fermentation (Rusitec) of diets containing variable portions of concentrates. **Animal Feed Science and Technology**, v. 37, n. 3-4, p. 209-220, 1992.
- CHAUCHEYRAS, F., FONTY, G., BERTIN, G. et al. Effects of live *Saccharomyces cerevisiae* cells on zoospore germination, growth, and cellulolytic activity of the rumen anaerobic fungus, *Neocallimastix frontalis* MCH3. **Current Microbiology**, v. 31, n. 4, p. 201-205, 1995.
- CHEEKE, P. R. Feed additives. **Applied animal nutrition: feeds and feeding**, p. 238-268,

1991.

- DANN, H. M., DRACKLEY, J. K., MCCOY, G. C. et al. Effects of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on prepartum intake and postpartum intake and milk production of Jersey cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 1, p. 123-127, 2000.
- DANN, H.M.; DRACLEY, J.K.; McCOY, G.C. et al. Effects of yeast cultures (*Saccharomyces cerevisiae*) on prepartum intake and postpartum intake and milk production of Jersey cows. **Journal of Dairy Science**. v. 83. p. 123-127. 2000.
- DESNOYERS, M., GIGER-REVERDIN, S., BERTIN, G. et al. Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 4, p. 1620-1632, 2009.
- DOTO, S. P., & LIU, J. X. Effects of direct-fed microbials and their combinations with yeast culture on in vitro rumen fermentation characteristics. **J Anim Feed Sci**, v. 20, n. 20, p. 259-271, 2011.
- ELGHANDOUR, M. M. Y., SALEM, A. Z. M., GONZALEZ-RONQUILLO, M. et al. Effects of exogenous enzymes on in vitro gas production kinetics and ruminal fermentation of four fibrous feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 179, n. 1-4, p. 46-53, 2013.
- EL-GHANI, AA Abd. Influence of diet supplementation with yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on performance of Zaraibi goats. **Small ruminant research**, v. 52, n. 3, p. 223-229, 2004.
- EUN, J.-S.; BEAUCHEMIN, K. A. Effects of a proteolytic feed enzyme on intake, digestion, ruminal fermentation, and milk production. **Journal of dairy science**, v. 88, n. 6, p. 2140-2153, 2005.
- FURLAN, R.L.; MACARI, M.; FARIA FILHO, D. E. **Anatomia e fisiologia do trato gastrintestinal**. In: Nutrição de Ruminantes. Jaboticabal: Funep, 583 p., 2006.
- GADO, H. Effect of enzymatic treatments for poor quality roughages on fiber digestibility and nitrogen metabolism in Baladi goats. **Egyptian Journal of Nutrition and Feeds**, v. 1, p. 49-56, 1997.
- GADO, H. M., SALEM, A. Z. M., ROBINSON, P. H. et al. Influence of exogenous enzymes on nutrient digestibility, extent of ruminal fermentation as well as milk production and composition in dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 154, n. 1-2, p. 36-46, 2009.
- GADO, H., NASR, S. A., MOHAMED, B. K. et al. Effect of biological treatments on the nutritive value of rice straw. **Egyptian J. Nutrition and Feeds (2006) 9 (2): 207-219**, 2006.
- GADO, H.M., SALEM, A.Z.M., ODONGO, N.E. et al. 2011. Influence of exogenous enzymes ensiled with orange pulp on digestion and growth performance in lambs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 165, n. 1-2, p. 131-136, 2011.
- GIRALDO, L. A. et al. Influence of direct-fed fibrolytic enzymes on diet digestibility and

- ruminal activity in sheep fed a grass hay-based diet. **Journal of Animal Science**, v. 86, n. 7, p. 1617-1623, 2008.
- GIRALDO, L. A., TEJIDO, M. L., RANILLA, M. J. et al. Effects of exogenous fibrolytic enzymes on in vitro ruminal fermentation of substrates with different forage: concentrate ratios. **Animal Feed Science and Technology**, v. 141, n. 3-4, p. 306-325, 2008.
- HRISTOV, Alexander Nikolov; MCALLISTER, T. A.; CHENG, K.-J. Intraruminal supplementation with increasing levels of exogenous polysaccharide-degrading enzymes: effects on nutrient digestion in cattle fed a barley grain diet. **Journal of Animal Science**, v. 78, n. 2, p. 477-487, 2000.
- JOUANY, J. P. Twenty years of research and now more relevant than ever the coming of age of yeast cultures in ruminant diets. **Responding to a Changing Agricultural Landscape. Alltech's European, Middle Eastern and African Lecture Tour**, p. 44-69, 2001.
- KŘÍŽOVÁ, 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. **Czech Journal of Animal Science**, v. 56, n. 1, p. 37-45, 2011.
- 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.
- LÓPEZ, D. ELGHANDOUR, M. M. Y., SALEM, A. Z. M. et al. Influence of exogenous enzymes on in vitro gas production kinetics and dry matter degradability of a high concentrate diet. **Animal Nutrition and Feed Technology**, v. 13, n. 3, p. 527-536, 2013.
- MARRERO, Yoandra et al. Feeding of yeast (*Candida* spp.) improves in vitro ruminal fermentation of fibrous substrates. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 14, n. 3, p. 514-519, 2015.
- MCALLISTER, T. A.; CHENG, K.-J. Microbial strategies in the ruminal digestion of cereal grains. **Animal Feed Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 29-36, 1996.
- McALLISTER, T. A.; HRISTOV, A. N.; BEAUCHEMIN, K. A. et al. Enzymes in ruminant diets. In: BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. (Eds.). **Enzymes in Farm Animal Nutrition**. Oxon: CABI Publishing, p.273-298. 2001.
- MERTEN, D.R.; ELY, L.O. Relation ship of rate and extent of digestión to forage utilization, a dynamic model evaluation. **Journal of Animal Science**, v.54, p.895-905, 1982.
- MILLER, D. R., GRANZIN, B. C., ELLIOTT, R. et al. Effects of an exogenous enzyme, Roxazyme® G2 Liquid, on milk production in pasture fed dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 145, n. 1-4, p. 194-208, 2008.
- .
- MOHAMMED, SUNDUS F.; MAHMOOD, FIRAS A.; ABAS, ENAS R. A review on effects of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as feed additives in ruminants performance. 2018.

- MORGAVI, D. P., BEAUCHEMIN, K. A., NSEREKO, V. L. et al. Trichoderma enzymes promote *Fibrobacter succinogenes* S85 adhesion to, and degradation of, complex substrates but not pure cellulose. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, n. 10, p. 1083-1090, 2004.
- MORGAVI, D. P., NEWBOLD, C. J., BEEVER, D. E. et al. Stability and stabilization of potential feed additive enzymes in rumen fluid☆. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 26, n. 2-4, p. 171-177, 2000.
- NOLAN, J. V.; DOBOS, R. C. Nitrogen transactions in ruminants. **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**, v. 2, p. 177-206, 2005.
- NSEREKO, V. L., BEAUCHEMIN, K. A., MORGAVI, D. P. et al. Effect of a fibrolytic enzyme preparation from *Trichoderma longibrachiatum* on the rumen microbial population of dairy cows. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 48, n. 1, p. 14-20, 2002.
- ØRSKOV, E.R.; RYLE, M. **Energy nutrition in ruminants**. London: Elsevier, 1990. 149p.
- PEREIRA, E.S.; QUEIROZ, A.C.; PAULINO, M.F. et al. Fontes nitrogenadas e uso de *Saccharomyces cerevisiae* em dietas à base cana-de-açúcar para novilhos: consumo, digestibilidade, balanço nitrogenado e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.2, p.563-572, 2001.
- PETERS, A., LEBZIEN, P., MEYER, U. et al. Effect of exogenous fibrolytic enzymes on ruminal fermentation and nutrient digestion in dairy cows. **Archives of animal nutrition**, v. 64, n. 3, p. 221-237, 2010.
- REDDISH, M. A.; KUNG JR, L. The effect of feeding a dry enzyme mixture with fibrolytic activity on the performance of lactating cows and digestibility of a diet for sheep. **Journal of dairy science**, v. 90, n. 10, p. 4724-4729, 2007.
- SALEM, A. Z. M., EL-ADAWY, M., GADO, H. et al. Effects of exogenous enzymes on nutrients digestibility and growth performance in sheep and goats. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v. 14, n. 3, p. 867-874, 2011.
- SILVEIRA, R.N.; BERCHIELLI, T.T.; CANESIN, R.C. et al. Influência do nitrogênio degradável no rúmen sobre a degradabilidade in situ, os parâmetros ruminais e a eficiência de síntese microbiana em novilhos alimentados com cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 3, p. 570-579, 2009.
- TRICARICO, J. M., JOHNSTON, J. D., DAWSON, K. A. et al. The effects of an *Aspergillus oryzae* extract containing alpha-amylase activity on ruminal fermentation and milk production in lactating Holstein cows. **Animal Science**, v. 81, n. 3, p. 365-374, 2005.
- VAN SOEST, P.J. Nutritional ecology of the ruminant. 2nd ed. Cornell University Press, Ithaca, New York, 1994.
- VERA, J. M., SMITH, A. H., ZOBELL, D. R. et al. Effects of an exogenous proteolytic enzyme on growth performance of beef steers and in vitro ruminal fermentation in continuous cultures. **The Professional Animal Scientist**, v. 28, n. 4, p. 452-463, 2012.
- WALLACE, R. J. The mode of action of yeast culture in modifying rumen fermentation.

- In: **Biotechnology in the Feed Industry**. Nottingham University Press, 1996. p. 217-232.
- WANG, Y., SPRATLING, B. M., ZOBELL, D. R. et al. Effect of alkali pretreatment of wheat straw on the efficacy of exogenous fibrolytic enzymes. **Journal of Animal Science**, v. 82, n. 1, p. 198-208, 2004.
- WILLIAMS, P. E., TAIT, C. A., INNES, G. M. et al. Effects of the inclusion of yeast culture in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of steers. **J. Anim. Sci**, v. 69, p. 3016-3026, 1991.
- WILLIAMS, P.E.; TAIT, C.A.; 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.
- 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, n.7, p.3016-3026, 1991.
- YANG, W. Z.; BEAUCHEMIN, K. A.; RODE, L. M. Effects of an enzyme feed additive on extent of digestion and milk production of lactating dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 82, n. 2, p. 391-403, 1999.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A utilização tanto do Blend de Enzima quanto do Blend de levedura apresentou um grande potencial para que sejam utilizados na alimentação de ruminantes, podendo figurar como grandes aliados na nutrição de bovinos leiteiros.

O Blend de Enzima não apresentou diferença significativa para os demais itens avaliados em comparação ao tratamento testemunha, porém, vários estudos observaram que a dose e forma de disponibilidade deste aditivo está ligada ao seu potencial, sendo assim necessário mais estudos para essa afirmação.

Com a adição do Blend de levedura, a produção de leite teve um aumento significativo. Com isso, podemos afirmar que com uma alimentação balanceada e a adição deste aditivo os animais podem melhorar seu desempenho produtivo.