UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

INCLUSÃO DE CULTURA VIVA DE *Saccharomyces cerevisiae* MEYEN COMO FONTE PROTEICA EM DIETAS COM PALMA FORRAGEIRA ASSOCIADA AO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR

Autor: Cleia Gomes Vieira e Silva

Orientador: Prof. Dr. Mauro Pereira de Figueiredo

ITAPETINGA
Bahia- Brasil
Julho de 2013

Cleia Gomes Vieira e Silva

INCLUSÃO DE CULTURA VIVA DE *Saccharomyces cerevisiae* MEYEN COMO FONTE PROTEICA EM DIETAS COM PALMA FORRAGEIRA ASSOCIADA AO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR

Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

Orientador: Prof. Dr. Mauro Pereira de Figueiredo
Co-orientadora: Profª. Drª. Mara Lúcia Albuquerque Pereira

ITAPETINGA
Bahia- Brasil
Julho de 2013

636.085 Silva, Cleia Gomes Vieira e.
S579i Inclusão de cultura viva de *Saccharomyces cerevisiae* Meyen como fonte protéica em dietas com palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar. / Cleia Gomes Vieira e Silva. – Itapetinga-BA: UESB, 2013.
102f.

Tese apresentada como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - C*ampus* de Itapetinga. Sob a orientação do Prof. D.Sc. Mauro Pereira de Figueiredo e co-orientação da Profª. D.Sc. Mara Lúcia A. Pereira.

1. Alimentação de ruminantes – Substratos regionais - Levedura. 2. Palma forrageira - Bagaço de cana-de-açúcar - Proteína verdadeira. 3. Alimentação de ruminantes – Dietas - Proteína microbiana. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Programa de Pós-Graduação de Doutorado em Zootecnia, C*ampus* de Itapetinga. II. Figueiredo, Mauro Pereira de. III. Pereira, Mara Lúcia A. IV. Título.

CDD(21): 636.085

Catalogação na Fonte:

Adalice Gustavo da Silva – CRB 535-5ª Região

Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para desdobramentos por Assunto:

1. Alimentação de ruminantes – Substratos regionais - Levedura
2. Palma forrageira - Bagaço de cana-de-açúcar - Proteína verdadeira
3. Alimentação de ruminantes – Dietas - Proteína microbiana

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA - UESB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
Área de Concentração: Produção de Ruminantes

Campus Itapetinga-*BA*

D E C L A R A Ç Ã O D E A P R O V A Ç Ã O

Título: "Inclusão de cultura viva de levedura *Saccharomyces cerevisiae* Meyen no incremento do teor protéico da palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar".

Autor (a): Cleia Gomes Vieira e Silva
Orientador (a): Prof. Dr. Mauro Pereira de Figueiredo
Co-orientador (a): Profª. Drª. Mara Lúcia Albuquerque Pereira

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PRODUÇÃO DE RUMINANTES, pela Banca Examinadora:

Prof. Dr. Mauro Pereira de Figueiredo - UESB

Prof. Dr. Paulo Bonomo – UESB

Prof. Dr. Herymá Giovane de Oliveira Silva – UESB

Prof. Dr. Joel Queiroga Ferreira - UESB

Prof. Dr. Laudí Cunha Leite – UFRB

Data de realização: 29 de julho de 2013.

Epígrafe

Um dia a gente aprende que...
Depois de um tempo, você aprende que o
sol queima ,se ficar exposto por muito
tempo, e aprende que não importa o
quanto você se importe, algumas pessoas
simplesmente não se importam...
Aceita que não importa quão boa seja uma
pessoa, ela vai ferí-lo(a) de vez em quando e
você precisa perdoá-la por isso.
Descobre que se leva muito tempo para
se tornar a pessoa que quer ser, e que o tempo é curto.
Aprende que não importa onde já chegou,
mas aonde se está indo, mas se você não
sabe para onde está indo qualquer lugar serve.
Descobre que ,algumas vezes, a pessoa
que você espera que o (a) chute, quando
você cai, é uma das poucas que o ajudam
a levantar-se; aprende que maturidade
tem mais a ver com os tipos de
experiência que se teve e o que você
aprendeu com elas do que com quantos
aniversários você celebrou; aprende que
há mais dos seus pais em você do que
você supunha; aprende que nunca se
deve dizer a uma criança que sonhos são
bobagens; poucas coisas são tão humilhantes...
E seria uma tragédia se ela acreditasse nisso.
Aprende que o tempo não é algo que
possa voltar para trás, portanto, plante
seu jardim e decore sua alma ao invés de
esperar que alguém lhe traga flores,

e você aprende que realmente pode suportar...
Que realmente é forte e que
pode ir muito mais longe depois de pensar
que não se pode mais.

(William Shakespeare)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me conduzido pelos melhores caminhos em minha jornada.

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, em cujas instalações foi desenvolvido este trabalho e pelo suporte financeiro ao projeto;

À Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA), pela concessão da licença para estudo;

Ao Prof º Dr. Mauro Pereira de Figueiredo, pela orientação e pela autonomia concedida, que me permitiu crescer profissionalmente, pela colaboração, e por seus conhecimentos repassados durante todo o desenvolvimento do trabalho;

Ao Prof º Dr. Joel Queiroga Ferreira – LNA/DFZ/UESB, sempre acessível e disposto a colaborar;

Ao Prof º Dr. Robério Rodrigues Silva, pelo apoio e esclarecimentos que nunca foram negados;

Ao Prof º Dr. Paulo Bonomo, PPZ/UESB, pelas sugestões ao projeto por ocasião do exame de qualificação, e por sanar minhas dúvidas nas ocasiões em que a ele recorri;

À Prof ª Drª. Mara Lúcia Albuquerque Pereira (PPZ/UESB) e ao Prof. Dr. Herimá Giovani (PPZ/UESB), bem como a todos os professores que participaram desta jornada, porque sem eles não haveriam ideias enriquecedoras;

Às professoras Drª. Roseane M. Figueiredo e Drª. Sylvana Matsumoto, por ter compartilhado as instalações dos seus respectivos laboratórios nos momentos em que foram requisitadas;

Às funcionárias da coordenação, Joandra, Jamile e Maisa, bem como à Eliane, secretária de cursos, por toda colaboração que deram durante os anos de curso;

À minha amiga de todas as horas e diversas empreitas, Patrícia Silva Santos, estendo também minha gratidão a sua família, D. Zezé e Kátia, pelas vibrações positivas;

Aos amigos especiais, Leandro, Leandra e Dani da Hora, pelo apoio e amizade sincera e perene;

Aos coligados e amigos, Fábio M. Oliveira e Rosimira Amaral, pelos conselhos e auxílio;

À amiga e também colega de curso, Edileusa de Jesus, pois “só Jesus na causa”!

À funcionária do LNA/UESB–VC, Vera Lúcia Oliveira (*Verococildes*), pela ajuda, pelo apoio, pela amizade e pelos longos dias que passamos tomando garapa em meio aos carneiros. Ao Almir e ao Júnior, colaboradores imprescindíveis, bem como aos funcionários da DICAP- UESB-VC, especialmente, Ailton, Valmir, Roberto, Maurício, Daniel e Dui, sem os quais a realização do ensaio com os animas seria muito mais difícil;

Aos alunos de iniciação científica e estagiários, que colaboraram na execução do projeto: Neiri Jean, Tanda, João Paulo, Rafael Rivas, Eduardo de Jesus, Jennifer (Vida Louca: 24 h de plantão), Lenilson, Egídio Padre, Yann, Marta, Mateus, Dreice, Renan e Pablo, pela prestatividade, risadas, troca de reflexões sobre os meandros da vida e por terem contribuído muito para realização deste trabalho;

Ao amigo e colega Ádler, pela prestatividade;

Ao senhor Newton Guimarães Pereira – Faz. Nova Luz, pela solicitude e empréstimo dos animais, sem os quais a realização do último ensaio estaria comprometida;

E a todos que, direta ou indiretamente, colaboraram para a execução deste trabalho.

BIOGRAFIA

CLEIA GOMES VIEIRA E SILVA, filha de Donata Gomes de Jesus e Antonio Vieira e Silva Filho, nasceu na cidade do Rio de Janeiro, Estado do Rio de Janeiro, em 12 de janeiro de 1982.

Em Agosto de 1999, ingressou na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB, na qual, em janeiro de 2005, obteve o título de Bacharel em Engenharia Agronômica.

Em março de 2005, iniciou o Curso de Mestrado em Entomologia Agrícola, na Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, obtendo o título de Mestre em Entomologia Agrícola no ano de 2007.

Em março de 2009, iniciou o Curso de Doutorado em Zootecnia, área de concentração em Produção de Ruminantes, na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB.

SUMÁRIO

Página

LISTA DE FIGURAS viii
LISTA DE TABELAS x
TABELAS DO APÊNDICE xiii
RESUMO xiv
ABSTRACT xvi
I – REFERENCIAL TEÓRICO 19
1.1. Referências..... 25
II – OBJETIVOS GERAIS 29
III – CAPÍTULO I – FRACIONAMENTO DE COMPOSTOS NITROGENADOS E CARBOIDRATOS DA PALMA FORRAGEIRA ASSOCIADA AO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR COM OU SEM A INCLUSÃO DE CULTURA VIVA DE *Saccharomyces cerevisiae* MEYEN 30
Resumo 30
Abstract 31
Introdução 32
Material e Métodos 33
Resultados e Discussão 36
Conclusão 45
Referências..... 46
IV – CAPÍTULO II – DEGRADAÇÃO E CINÉTICA DA FERMENTAÇÃO RUMINAL *IN VITRO* DOS CARBOIDRATOS DA PALMA FORRAGEIRA ASSOCIADA AO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR INOCULADOS COM *Saccharomyces cerevisiae* MEYEN..... 49
Resumo 49

Abstract 50
Introdução 51
Material e Métodos 52
Resultados e Discussão 57
Conclusão 53
Referências..... 74
IV – CAPÍTULO III – CONSUMO, DIGESTIBILIDADE E PRODUÇÃO DE PROTEÍNA MICROBIANA NO RÚMEN DE CORDEIROS ALIMENTADOS COM PALMA FORRAGEIRA ASSOCIADA AO BAGAÇO DE CANA ENRIQUECIDA OU NÃO COM *Saccharomyces cerevisiae* MEYEN..... 78
Resumo 78
Abstract 79
Introdução 80
Material e Métodos 81
Resultados e Discussão 87
Conclusão 92
Referências..... 93
V – CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 97
VI – APÊNDICES 98

LISTA DE FIGURAS

Página

FIGURA 1. Produção cumulativa de gases às 6, 12, 24, 48 e 96 horas de incubação dos tratamentos: T: Palma + Bagaço de cana (70:30); PBSU: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia; PBSUL-1: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 1% de levedura; PBSU-L2: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 2% de levedura..... 58

FIGURA 2. Produção de gases oriunda da degradação dos carboidratos fibrosos e dos carboidratos não-fibrosos, às 6, 12, 24, 48 e 96 horas de incubação dos tratamentos: T: Palma + Bagaço de cana (70:30); PBSU: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia; PBSUL-1: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 1% de levedura; PBSU-L2: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 2% de levedura..... 66

FIGURA 3. Taxa de produção de gases oriunda da degradação dos carboidratos fibrosos e dos carboidratos não-fibrosos às 6, 12, 24, 48 e 96 horas de incubação dos tratamentos: T: Palma + Bagaço de cana (70:30); PBSU: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia; PBSUL-1: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 1% de levedura; PBSU-L2: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 2% de levedura..... 67

FIGURA 4. Cinética da fermentação ruminal *in vitro* da fibra em detergente neutro às 6, 12, 24, 48 e 96 horas de incubação dos tratamentos: T: Palma + Bagaço de cana (70:30); PBSU: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia; PBSUL-1: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3%

sal mineral, 0,5% ureia e 1% de levedura; PBSU-L2: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 2% de levedura..... 70

FIGURA 5. Nitrogênio amoniacal no meio (mg/dL) às 6, 12, 24, 48 e 96 horas de incubação dos tratamentos: T: Palma + Bagaço de cana (70:30); PBSU: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia; PBSUL-1: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 1% de levedura; PBSU-L2: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 2% de levedura..... 71

LISTA DE TABELAS

Página

TABELA 1. Composição da mistura mineral utilizada no enriquecimento dos substratos..... 34

TABELA 2. Contrastes ortogonais utilizados para determinar as diferenças ocorridas entre os tratamentos dentro de cada tempo de inoculação..... 35

TABELA 3. Composição bromatológica de palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar com ou sem a inoculação com *Saccharomyces cerevisiae* 39

TABELA 4. Frações nitrogenadas de palma forrageira associada ao bagaço de cana com e sem a inoculação com *Saccharomyces cerevisiae* 42

TABELA 5. Frações de carboidratos de palma forrageira associada ao bagaço da cana-de-açúcar após a inoculação de *Saccharomyces cerevisiae*..... 44

TABELA 6. Composição da mistura mineral utilizada no enriquecimento dos substratos..... 53

TABELA 7. Composição química de palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar com e sem a inoculação de *Saccharomyces cerevisiae* após 24h de incubação..... 57

TABELA 8. Produções cumulativas de gases (PCG) de alimentos compostos por palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar com e sem a inoculação de Saccharomyces cerevisiae..... 59

TABELA 9. Degradabilidade aparente (DAMS) da matéria seca e degradabilidade verdadeira da matéria seca (DVMS) de alimentos compostos por palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar com e sem a inoculação de Saccharomyces cerevisiae 61

TABELA 10. Relação entre a produção de gases com a degradabilidade aparente da matéria seca (DAMS) e degradabilidade verdadeira da matéria seca (DVMS) com suas respectivas equações em alimentos compostos por palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar com ou sem a inoculação de *Saccharomyces cerevisiae*..... 61

TABELA 11. Médias de volume final de produção de gases oriundos da degradação de carboidratos fibrosos (VfCF) e não-fibrosos (VfCNF), suas respectivas taxas de degradação (KdCF e KdCNF) e *lag time* de alimentos compostos por palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar com e sem a inoculação de *Saccharomyces cerevisiae*..... 63

TABELA 12. Parâmetros médios da degradabilidade in vitro da fibra em detergente neutro de alimentos compostos por palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar com e sem a inoculação de *Saccharomyces cerevisiae*..... 69

TABELA 13. Equações ajustadas para degradabilidade da fibra em detergente neutro de alimentos compostos por palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar com e sem a inoculação de *Saccharomyces cerevisiae*..... 69

TABELA 14. Valores médios de biomassa microbiana (BM) e fator de partição (FP) às 6, 12, 24, 48 e 96h de fermentação de alimentos compostos por palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar com e sem a inoculação de *Saccharomyces cerevisiae*..... 72

TABELA 15. Valores médios de pH às 6, 12, 24, 48 e 96 horas de fermentação de alimentos compostos por palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar com e sem a inoculação de *Saccharomyces cerevisiae*..... 73

TABELA 16. Composição da mistura mineral utilizada no enriquecimento dos substratos 83

TABELA 17. Proporção dos ingredientes e composição bromatológica das dietas à base de palma forrageira associada ao bagaço de cana com ou sem a inoculação de *Saccharomyces cerevisiae* 83

TABELA 18. Médias e coeficiente de variação (CV) do consumo de nutrientes por ovinos Santa Inês alimentados com dietas contendo palma forrageira associada ao bagaço de cana com ou sem a inoculação de *Saccharomyces cerevisiae*..... 88

TABELA 19. Médias e coeficientes de variação (CV) do coeficiente de digestibilidade aparente de nutrientes em ovinos Santa Inês alimentados com dietas contendo palma forrageira associada ao bagaço de cana com ou sem a inoculação de *Saccharomyces cerevisiae*..... 89

TABELA 20. Excreções urinárias de alantoína, xantina e hipoxantina, ácido úrico, derivados de purinas totais, purinas absorvidas, nitrogênio microbiano, produção de proteína microbiana e eficiência microbiana de ovinos alimentados com dietas contendo palma forrageira associada ao bagaço de cana com ou sem a inoculação de *Saccharomyces cerevisiae* 92

TABELAS DO APÊNDICE

Página

TABELA 1A. Peso final e inicial de cordeiros Santa Inês alimentados com dietas contendo palma forrageira associada ao bagaço de cana com ou sem a inoculação de *Saccharomyces cerevisiae* durante os períodos de avaliação (kg)..... 99

TABELA 2A. Ganho de peso médio diário de cordeiros Santa Inês alimentados com dietas contendo palma forrageira associada ao bagaço de cana com ou sem a inoculação de *Saccharomyces cerevisiae* durante os períodos de avaliação (kg)..... 100

TABELA 3A. Meios de cultura e respectivos reagentes utilizados para a condução da técnica semiautomática de produção de gases (Theodorou et al. 1994) 101

FIGURAS DO APÊNDICE

FIGURA 1A. Coleta de urina em cordeiro Santa Inês 102

RESUMO

SILVA, Cleia Gomes Vieira e. **Inclusão de cultura viva de *Saccharomyces cerevisiae* Meyen como fonte proteica em dietas com palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar.** Itapetinga, BA: UESB, 2013. 102 p. Tese. (Doutorado em Zootecnia, Área de Concentração em Produção de Ruminantes).*

RESUMO: A palma é um alimento suculento, rico em água e nutrientes e que apresenta um alto coeficiente de digestibilidade. Contudo, caracteriza-se por apresentar baixos teores de proteína e matéria seca. Para corrigir os baixos teores de matéria seca, o bagaço de cana-de-açúcar apresenta-se como proposta de alimento fibroso que pode ser associado à palma. Menciona-se o bagaço de cana-de-açúcar proveniente de moenda artesanal, devido aos teores mais altos de açúcar remanescente (30,23%) da extração da sacarose em processos não industriais. Como alternativa à carência proteica desses dois substratos, a proteína microbiana, resultante da inoculação de *Saccharomyces cerevisiae* à palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar, pode favorecer a composição de dietas e potencializar sua utilização na alimentação de ruminantes, sobretudo, nas épocas de estiagem na região Nordeste do Brasil. Neste estudo, cujo objetivo principal é avaliar a possibilidade de maximização do conteúdo de proteína microbiana através da utilização de *S. cerevisae*, serão realizados experimentos para caracterizar o tipo de proteína resultante da adição da levedura, através de fracionamento dos compostos nitrogenados e caracterizar as frações dos carboidratos; avaliar o processo de fermentação, através da técnica semiautomática *in vitro* de produção de gases, que possibilitará a descrição da cinética do processo fermentativo, diferenciando duas porções distintas do substrato; e, por fim, avaliar o consumo, digestibilidade de nutrientes e produção de proteína microbiana no rúmen, de modo a otimizar as estratégias de manejo alimentar e reduzir os custos na condução do rebanho. Verificou-se que os tratamentos que receberam o inóculo de levedura na proporção de 1 e 2% revelaram maiores percentuais de proteína bruta com base na matéria seca, 16,04% (após 24h) e 16,02% (após 12h), respectivamente. Registrou-se também que o inóculo de levedura favoreceu a redução nos teores de nitrogênio não-proteico e elevação nos

percentuais da fração correspondente à proteína verdadeira de degradação rápida e intermediária. Quanto aos teores de carboidratos totais, os tratamentos PBSU-L1 e PBSU-L2 revelaram menores percentuais, bem como redução nos teores de carboidratos totais e carboidratos não fibrosos, na maioria dos intervalos de tempo analisados, ao passo que os valores de carboidratos indigestíveis apresentaram valores percentuais maiores. A adição de *S. cerevisiae,* na proporção de 1 e 2% de levedura, não reduziu a degradabilidade da matéria seca, bem como não afetou o tempo de colonização da palma forrageira associada ao bagaço-de-cana para a degradabilidade da matéria seca e da fibra em detergente neutro. A inclusão de 2% de levedura propiciou (após 48h de incubação) teores de nitrogênio amoniacal superiores ao mínimo preconizado para o crescimento adequado da microbiota ruminal. A inoculação da levedura permite maior produção de biomassa microbiana às 12h de incubação e são mais eficientes para promover a incorporação de matéria seca degradada à massa microbiana. Apenas o consumo de fibra em detergente neutro (FDN) sofreu redução ($P<0,05$). Quanto ao coeficiente de digestibilidade, também só foi constatada diferença para a FDN, que se apresentou inferior para o tratamento PBSU-L2 ($P<0,05$), para os demais tratamentos, não foram constatadas diferenças ($P>0,05$). A produção de proteína microbiana não revelou diferença ($P>0,05$) entre os tratamentos, o que permite concluir que a palma forrageira, associada ao bagaço de cana-de-açúcar enriquecida com *S. cerevisiae,* resulta em um bioproduto com possibilidade de ser utilizado na alimentação de ovinos, sem que haja prejuízo à qualidade nutricional da dieta.

Palavras-chave: proteína verdadeira, levedura, substratos regionais, alimentação, ruminantes.

---

* Orientador: Mauro Pereira de Figueiredo, Dr. UESB e Co-orientadora: Mara Lúcia A. Pereira, Dra. UESB

ABSTRACT

SILVA, Cleia Gomes Vieira e**. Inclusion of living culture of *Saccharomyces cerevisiae* Meyen as a protein source in diets with cactus pear associated with sugarcane bagasse.** Itapetinga, BA: UESB, 2013. 102 p. Thesis. (Ph.D. in Animal Science - Area of Concentration in Production of Ruminants).*

ABSTRACT: The cactus pear is a feedstuff rich in water and nutrients and has a high digestibility. However, it is characterized by low levels of protein and dry matter. To correct the low dry matter content, the sugarcane bagasse can be used as a fibrous feedstuff source that can be associated with cactus pear. The non-industrial milling sugarcane bagasse, due to it´s high content of residual sugar (30.23%; sucrose) extraction in non-industrial processes. As an alternative to protein deficiency of these two substrates, the microbial protein resulting from inoculation of *Saccharomyces cerevisiae* to cactus pear associated with sugarcane bagasse can encourage the composition of diets and enhance their use in ruminant feed, especially in times of drought in northeastern Brazil. In this study, whose main objective is to evaluate the possibility of maximizing microbial protein content through the use of *S. cerevisiae*, experiments were conducted to characterize the type of protein resulting from the addition of yeast by fractionation of nitrogen compounds and characterization of carbohydrate fractions; evaluate the fermentation process, by semi-automated technique *in vitro* of gas production, which enables the description of kinetics of the fermentation process differentiating two distinct portions of the substrate and, finally, evaluate intake, nutrient digestibility and microbial protein production in the rumen of lambs to optimize strategies for handling food and reduce costs in the herd management. It was found that the treatments that received the inoculum yeast at a ratio of 1 and 2%, showed higher percentages of crude protein based on dry matter, 16.04 (after 24 hours) and 16.02% (after 12 hours) respectively. It was also reported that the yeast favored a reduction in the levels of non-protein nitrogen and increase in the percentage of true protein fraction corresponding to the rapid and intermediate degradation. For total carbohydrate contents, treatments PBSU-L1 and PBSU- L2 revealed lower percentage, as well as

reduction in the content of total carbohydrates and non-fibrous carbohydrates in most of the time intervals examined, while the values of indigestible carbohydrates showed higher percentage values. Addition of *S. cerevisiae* in the proportion of 1 and 2% yeast did not reduce the degradability of dry matter and did not affect the lag time associated with of cactus pear associated with sugarcane bagasse for the degradability of dry matter and neutral detergent fiber. The inclusion of 2% yeast led to concentration of ammonia nitrogen above the minimum recommended for ruminal microbial growth (after 48 h of incubation). The inoculation of the yeast allows for greater production of microbial biomass at 12h incubation and are more efficient to promote the incorporation of dry matter degraded the microbial mass. Only the intake of neutral detergent fiber (NDF) was reduced ($P<0.05$). It was observed difference ($P<0.05$) for NDF digestibility, PBSU-L2 showed a lower value than the other treatments. The microbial protein production showed no difference ($P> 0.05$) among treatments leading to the conclusion that the cactus pear associated with sugarcane bagasse enriched with *S. cerevisiae* results in a bioproduct likely to be used in feeding sheep, without reducing nutritional quality of the diet.

Keywords: true protein, yeast, substrates regional, feeding, ruminants

---

Supervisor: Mauro Pereira de Figueiredo, D*Sc*. UESB e Co-supervisor: Mara Lúcia A. Pereira, D*Sc*. UESB

I – REFERENCIAL TEÓRICO

A rápida expansão do crescimento da população humana tem levado ao aumento na demanda por proteína de origem animal. No Brasil, a produção de ruminantes representa uma alternativa na oferta de carne, leite e derivados, favorecendo o aspecto alimentar, haja vista, com exceção da soja, todas as fontes de proteínas de qualidade são de origem animal. Dentre os animais domésticos de produção, os ruminantes estão em uma posição de destaque em relação aos outros animais, pois são capazes de utilizar carboidratos fibrosos em grande quantidade e convertê-los em produtos de elevado valor biológico para o homem (Rangel et al., 2008).

O Brasil é um dos grandes produtores mundiais de carne bovina (Carbonari & Silva, 2012) e, nos últimos anos, tem se observado também o crescimento da exploração de pequenos ruminantes, como os ovinos, e a busca por formas mais intensivas de exploração. Mas quando se faz referência ao consumo nacional de carnes, Bortoli et al. (2010) verificaram que as carnes mais consumidas pela população são a bovina, seguidas da de frango, peixe, suína e ovina, nesta ordem, respectivamente. Nesse contexto, registra-se que a carne ovina situa-se na quinta posição de consumo, após as carnes de animais não ruminantes, contudo, em terceira colocação, quando se refere à preferência dos consumidores.

A cada ano observa-se aumento no montante de carne ovina importada para o Brasil, demonstrando a oportunidade de expansão da ovinocultura, com a existência de significativo espaço para a ampliação da produção e consumo de carne ovina. Em 2012, as importações brasileiras de carne ovina atingiram a marca de 6,52 mil toneladas, refletindo um incremento de 26,3%, comparado ao ano de 2011. Os principais fornecedores são o Uruguai, Argentina e Chile (MDIC, 2013). Esses mercados caracterizam-se pela regularidade na oferta, bem como por oferecer um produto de qualidade proveniente do abate de animais jovens, que apresentam carne com maior maciez e sem excesso de gordura.

O Brasil dispõe de um efetivo aproximado de 17,6 milhões de ovinos. O Estado do Rio Grande do Sul detém o maior número de animais (22,6%), a Bahia vem logo atrás, com 17,4%, seguida do Ceará (12,1%). Todavia, quando se reporta à produção de carne ovina, a

Bahia assume a primeira colocação, visto que o rebanho gaúcho é destinado prioritariamente à produção de lã (IBGE 2011).

Mesmo assim, na região do Nordeste brasileiro, reconhecidamente, maior responsável pela produção de carne proveniente do rebanho de ovino no Brasil, o sistema de criação praticado pouco difere daquele instituído desde a colonização do país (Cavalcanti & Resende 2006). Nesse sentido, Bortoli et al. (2010) relembram que a carne ovina, até pouco tempo, era considerada apenas um subproduto da ovinocultura, cujo objetivo principal era a lã, sendo consumida principalmente nos estabelecimentos rurais, por isso sua comercialização era desorganizada, inclusive com abate de animais de baixa qualidade, que eram enviados ao mercado consumidor.

Os pecuaristas do semiárido nordestino utilizam, preponderantemente, o sistema extensivo de produção para terminação de animais e são altamente dependentes das condições qualitativas e quantitativas do estrato forrageiro da caatinga (Araújo et al., 2009). Nessa região, 80% da cobertura vegetal nativa correspondem à caatinga, que é a vegetação utilizada como a principal fonte de alimentação para a maioria dos rebanhos ovinos. No entanto, durante a época seca, o uso da vegetação como única fonte alimentar limita o potencial produtivo desses rebanhos. Isso ocorre devido à redução na disponibilidade e qualidade da forragem com alto grau de lignificação da sua parede celular e do decréscimo dos teores de proteína bruta (PB), refletindo negativamente na redução da oferta de alimentos (Lopes & Evangelista, 2010).

Por outro lado, constata-se que o reduzido consumo de carne ovina não está diretamente relacionado ao tamanho do rebanho nacional, mas também à baixa qualidade do produto disponibilizado no mercado, demandando melhorias nos sistemas de produção animal. O mercado nacional, a despeito da crescente demanda, oferta principalmente, carne ovina, proveniente de animais adultos, com baixa qualidade de carcaça, inibindo o aumento de seu consumo.

Para produzir animais jovens para o abate, Geraseev et al. (2000) preconizam que é preciso modificar o meio ambiente, principalmente no que se refere à alimentação, porque conforme preconiza o NRC (2007), neste processo produtivo, estes animais devem ingerir nutrientes em conformidade com sua elevada exigência nutricional e desempenho superior para atingir os elevados ganhos de peso esperados. Dentre esses nutrientes, destaca-se a proteína, em razão do fato de desempenhar papel fundamental no organismo animal e participar na formação e manutenção dos tecidos, na contração muscular, no transporte de nutrientes e na formação de hormônios e enzimas. As exigências de proteína, em ovinos,

variam na dependência do sexo, raça, ganho de peso, estádio de desenvolvimento e composição corporal. Elas são inversamente proporcionais à idade do animal, uma vez que à medida que a idade avança, aumenta o conteúdo de gordura e diminui o de proteína no corpo.

Recentemente, em função das novas perspectivas de se comercializar a carne ovina, tem surgido o interesse de intensificar a terminação de animais, com o objetivo de aumentar a rapidez de comercialização e a produção de carcaças de melhor qualidade (Araújo et al., 2009). Mas para que esses objetivos concretizem-se, Costa et al. (2008) recomendam que a pecuária nordestina reformule seus modelos tradicionais de planejamento e administração. Conforme observam Malhado et al. (2008), além de baixa oferta, a maioria dos produtores não está consciente da necessidade de produzir carne de boa qualidade, disponibilizando no mercado carcaças de baixa qualidade, oriundas de animais com idade avançada, desfavorecendo o crescimento do consumo.

Para atenuar este cenário, o aproveitamento de produtos alternativos e de mais fácil acesso nas regiões produtoras, como o milheto, sorgo forrageiro, leguminosas nativas, bagaço de cana-de-açúcar, casca de café, resíduo de arroz, palhadas, ureia, tem surgido como alternativas para a alimentação dos rebanhos (Nunes et al., 2007).

A palma forrageira, principalmente as espécies pertencentes aos gêneros *Opuntia* e *Nopalea,* também se constituem em importante fonte de nutrientes para os rebanhos de regiões semiáridas do Nordeste brasileiro. A sua adaptação às condições climáticas da região propiciam produtividades médias de matéria seca (MS), na ordem de 40 ton/ha/dois anos (Santos et al., 2006), alcançado em cultivos adensados. Ademais, apresenta coeficiente de digestibilidade da MS de aproximadamente 75% (Lima et al., 2008), e altos teores de carboidratos não fibrosos (CNF), cerca de 652,9 g/kg de MS (Muniz et al., 2011), além de boa palatabilidade (Almeida, 2012). Por outro lado, os baixos teores de PB (4,83%) e MS (7,81%) dificultam a administração da palma forrageira como alimento exclusivo para os animais (Tosto et al., 2007). Face às considerações feitas, evidencia-se a necessidade de estudos para se indicar o valor nutricional de cada resíduo, bem como a sua proporção na dieta.

Em vista disso, pesquisas têm buscado corrigir as características indesejáveis na composição nutricional da palma, para potencializar sua inclusão na dieta de pequenos ruminantes. Uma das vertentes de estudos, no que diz respeito ao incremento do teor de proteína, procura conjugar a palma com fontes de nitrogênio não proteico, como a ureia (Lopes et al., 2008). Entretanto, até o momento, esses estudos não proporcionaram incrementos de proteína verdadeira, limitando o uso da palma tratada com ureia nas dietas.

Outra linha de estudo apresenta trabalhos com microrganismos com resultados que

têm demonstrado que algas, bactérias, fungos e leveduras podem ser utilizados para incrementar o valor proteico de alimentos, inclusive da palma forrageira. Conforme citam Araújo et al., (2005), os microrganismos podem substituir os suplementos proteicos, pois constituem-se numa fonte proteica unicelular de rápido crescimento e possibilidade de cultivo em diversos substratos. Conforme definem Gutierrez-Ramírez & Gómez-Rave (2008), o termo proteína unicelular refere-se aos microrganismos que são empregados para a alimentação humana ou animal por seu alto teor de proteína e facilidade de crescerem em diversos substratos e resíduos agroindustriais.

Gad et al. (2010) referendam que a proteína de diferentes microrganismos pode ser obtida a partir de fontes de carbono de baixo custo, como resíduos de cultivos agrícolas e de culturas de alimentos não utilizados prioritariamente para consumo humano, mas que são disponíveis regionalmente, como ocorre com a palma forrageira na região do Nordeste brasileiro. Na Tailândia, maior produtor mundial de fécula, a mandioca é somente utilizada para a produção industrial. Entretanto, Kaewwongsa et al. (2011) vislumbraram a possibilidade de utilizar a polpa excedente como substrato fermentativo para a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Como resultado, os autores registraram aumentos graduais nos percentuais de proteína, onde os maiores aumentos de PB (26,4% da MS) e proteína verdadeira (24,7% da MS) foram obtidos após cinco dias de fermentação com a inoculação de 5% da levedura. Thongkratok et al. (2010) também procuram reaproveitar a polpa de mandioca, oriunda da produção de fécula, para destiná-la à alimentação animal, testando, além das leveduras *S. cerevisiae* e *Candida utilis*, o fungo *Aspergillus oryzae*. Eles sugerem que a inoculação de 10^8 células/mL^{-1} de *A. oryzae* com 0,75% de ureia à polpa de mandioca promove incremento de PB e N-amoniacal de 2,89% e 0,89%, para 17,4% e 15,13%, respectivamente. Na China, mais de dois milhões de toneladas de resíduo resultam da produção da fécula de batata (Liu et al., 2010). Entrevendo essa oportunidade, Lei et al. (2012) investigaram a fermentação semissólida (FSS) do resíduo da produção de fécula de batata por *C. tropicalis*, *Saccharomycopsis fibuligera* e *Geotrichum candidum* que, combinados na proporção de 1:7:2, respectivamente, resultaram em acréscimo de 16,1% no conteúdo de proteína verdadeira do material.

Utilizando como substrato o bagaço de cana, os autores japoneses, Ramli et al. (2005), obtiveram significativo aumento de 1,3% PB para 16,3, 15,6 e 15,5% de PB, quando foram inoculadas três espécies de fungo, *Aspergillus oryzae, A. sojae e A. awamori*, respectivamente. Do Egito, Gad et al. (2010) citam a palma forrageira como o substrato mais adequado, em comparação com bagaço de cana e sabugo de milho, para a obtenção de

proteína microbiana, utilizando-se o fungo *Phanerochaete chrysosporium*. Também utilizando a palma forrageira, Díaz-Plascencia et al. (2012), no México, verificaram incrementos de 9,35 a 19,36% nos teores de PB, após 12 horas de fermentação em estado sólido (FES). A FES, por sua vez, alude ao crescimento de microrganismos em substrato predominantemente insolúvel, no qual não há líquido livre, geralmente, em condições combinadas de baixa atividade de água e presença de substrato sólido (Nasseri et al., 2011). Gamez-Aguilar et al. (2012) também visaram a alimentação do gado mediante o incremento no teor proteico de palma forrageira, a partir da inoculação de levedura *(S. cerevisiae)*, e conseguiram aumentar de 4,6% para 32,1% o teor de PB ao inocular a levedura associada a uma fonte de magnésio.

Diante dessas informações, evidencia-se que o escopo da utilização de microrganismos, independentemente da região, é proporcionar a melhoria nutricional, promovendo, assim, benefícios, mediante a administração de produtos e substratos locais para alimentação de animais.

As pesquisas brasileiras, nesse sentido, também visam o melhor aproveitamento desses insumos alimentares, disponíveis em grandes quantidades. Correia & Aquino et al. (2012), por exemplo, usaram farinha de sementes de mangaba, fruto explorado de forma extrativista e que ocorre tipicamente na Bahia, Sergipe e Minas Gerais, em FES utilizando *S. cerevisiae*. Eles verificaram incremento de 2,5 vezes no teor de proteínas solúveis, após 144h de incubação. Suhet & Fiorese (2011) optaram pela utilização do resíduo da industrialização do abacaxi, abundante no Estado da Paraíba, a fim de viabilizar a produção de proteína unicelular com os fungos *Rhizopus oligosporus* e *A. niger* e alcançaram aumento de 2,72 e 2,88 vezes no teor de PB inicial para *A. niger* e *R. oligosporus*, respectivamente.

O enriquecimento proteico de produtos e subprodutos da agricultura fundamenta-se na utilização dos CNFs de culturas e/ou resíduos agrícolas regionais e fontes de nitrogênio não-proteico (NNP), convertendo-os nas substâncias necessárias para a síntese e o crescimento microbiano. No que concerne às pesquisas sobre a utilização de palma forrageira, os trabalhos nacionais mais recentes apontam que as leveduras, especialmente *S. cerevisiae*, podem multiplicar-se e melhorar o perfil nitrogenado na composição bromatológica dessa forrageira. Lima et al. (2004) demonstraram que a adição de 2% de ureia mais 2% de *S. cerevisiae* permitiram produzir um substrato com 26,52% de PB, após 12 h de fermentação aeróbica em estado semissólido, o que representou um incremento de 469% em relação ao tratamento controle. Araújo et al. (2005) registraram valores superiores à 26% no teor de PB ao inocular leveduras à palma forrageira fatiada, sob diferentes espessuras, e mantê-la em três

temperaturas distintas (30, 34 e 38ºC). Esse incremento foi compatível ou maior do que os concentrados convencionais utilizados como suplemento proteico para a ração animal. Reforçando esses dados, Araújo et al. (2007) afirmam que o produto resultante da fermentação da palma enriquecida com ureia, mistura mineral e levedura pode vir a constituir-se um alimento promissor no arraçoamento de ruminantes. No entanto, deve-se ter cautela com essa afirmativa, uma vez que não se pode fazer tal afirmativa baseada apenas nesses dados, visto que não foram feitas as determinações das frações nitrogenadas, a fim de verificar o perfil do nitrogênio resultante.

Os estudos conduzidos, na tentativa de elevar o conteúdo de proteína verdadeira das dietas à base de palma forrageira, fundamentam-se no seu alto teor de CNF, que favorece a possibilidade de utilizá-la em processos de FES, propiciando o crescimento microbiano e aumento nos teores de proteína verdadeira da dieta. Contudo, ainda que haja incremento nos teores de proteína verdadeira, por meio da fermentação da palma forrageira por microrganismos, os baixos teores de MS persistiriam, tornando oportuno associá-la a alimentos fibrosos. Por isso, Almeida (2012) preconizam que a palma deve ser fornecida aos animais nas formas de farelo ou *in natura*, mediante a mistura com fontes de fibras. Esta possibilidade oportuniza a utilização de outros alimentos ou subprodutos com maior percentual de fibra, que por si só também não poderiam constituir-se em alimento exclusivo para os ruminantes. O bagaço de cana-de-açúcar pode vir a constituir um substrato sólido com potencialidade de ser conjugado à palma forrageira. Devido ao seu ainda elevado conteúdo de CNF (30,23%), quando obtido por meio de processos não industriais (Ferreira et al., 2009). Cárdenas et al. (2008) mencionam que o bagaço pode ser utilizado com sucesso em processos de FES, com ou sem a adição de NNP, com boas expectativas de melhoria do seu valor nutritivo. Gutierrez-Ramírez & Gómez-Rave (2008) introduzem uma informação de extrema relevância às investigações já apresentadas, e que diz respeito à composição das leveduras que crescem utilizando como substrato o bagaço. Eles demonstraram que as proteínas correspondem ao maior percentual de *S. cerevisiae* (45%) e *C. utilis* (49%) multiplicadas naturalmente, ou seja, sem inoculação prévia em bagaço de cana. Os resultados também evidenciam para um bom perfil de aminoácidos nessas proteínas. Para ambas as espécies, *S. cerevisiae* e *C. utilis*, registrou-se níveis mais altos de lisina, arginina, valina e isoleucina, e se diferenciam do farelo de soja (referência de alimento proteico utilizado para alimentação animal) que, embora apresente teores satisfatórios de lisina e valina, é deficiente em histidina e arginina. É válido lembrar que histidina e arginina são aminoácidos reportados por Storm & Orskov (1984) como limitantes para a síntese de proteína microbiana em ovinos.

Nessa perspectiva, a combinação da palma forrageira com o bagaço de cana-de-açúcar pode constituir-se no substrato sólido que venha a propiciar o crescimento de leveduras, aumentando o teor de proteína verdadeira da dieta. Ainda dentro desse enfoque, a proteína microbiana, resultante da inoculação de *S. cerevisiae* à palma forrageira, associada ao bagaço de cana-de-açúcar, pode favorecer a composição de dietas visando reduzir a dependência do uso de ingredientes proteicos de alimentos concentrados, a exemplo do farelo de soja para balanceamento das dietas, uma vez que neste processo ter-se-ia a produção de proteína verdadeira, de elevado valor biológico. Dessa forma, essa associação de alimentos volumosos com teor protéeco aumentado, após fermentação sólida pela introdução do inóculo de *S. cerevisiae* à palma com bagaço de cana-de-açúcar, teria um potencial maior de atendimento das exigências proteicas de mantença e de ganho dos animais, o que provavelmente contribuirá para a redução dos custos da dieta e aumento da margem bruta do produtor em virtude da menor dependência de alimentos concentrados na alimentação de ruminantes.

1.1 Referências

ALMEIDA, R.F. Palma forrageira na alimentação de ovinos e caprinos no semiarido brasileiro. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**. v. 7, p. 08-14, 2012.

ARAÚJO, L.F.; BRITO, E.A.; BARREIRO NETO, M. Bioconversão da palma forrageira. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.1, p.59-61, 2007.

ARAÚJO, L.F.; DIAS, M.V.C.; BRITO, E.A.; OLIVEIRA JÚNIOR S. Enriquecimento protéico de alimentos por levedura em fermentação semissólida: alternativa na alimentação animal. **Tecnologia & Ciência Agropecuária** , v.3, p.47-53, 2009.

ARAÚJO, L.F.; MEDEIROS, A.N.; NETO, A.P.; OLIVEIRA, L.S.C.; SILVA, F.L.H. Protein enrichment of cactus pear (*Opuntia ficus-indica* Mill) using *Saccharomyces cerevisiae* in solid-state fermentation. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.48, p. 161-168, 2005.

BORTOLI, E.C.; BARCELLOS, J.O.J.; CEOLIN, A.C. **Caracterização do consumidor de carne ovina na cidade de Porto Alegre (**2010). Available at: <http://www.ufrgs.br/nespro/arquivos/artigos2/carater_cons_%20car_ovina_poa_%202010.PDF> Acesso em: 13 de abr..

CARBONARI, T.; SILVA, C.R.L. Estimativa da elasticidade-renda do consumo de carnes no Brasil empregando dados em painel. **Pesquisa & Debate**, v. 23, p. 154-178, 2012.

CÁRDENAS, J.R.; ARANDA, E.M.; HERNÁNDEZ, D. Obtención de un alimento fermentado en estado sólido a partir del bagacillo de retorno, pulido de arroz e inóculos su utilización en la alimentación animal. **Revista Cubana de Ciencia Agrícola**, v. 42, p. 173-176, 2008.

CAVALCANTI, N.B.; RESENDE, G.M. Consumo do mandacaru (Cereus jamacaru P. DC.) por caprinos na época da seca no semi-árido de Pernambuco. **Revista Caatinga**, v.19, p.402-408, 2006.

CORREIA L.K.C.; AQUINO L.C.L. Aplicação da levedura *Saccharomyces cerevisiae* para o enriquecimento protéico de farinha de sementes de mangaba, **Scientia Plena** v. 8, p. 1-4, 2012.

COSTA, R.G.; ALMEIDA, C.C.; PIMENTA FILHO, E.C.; HOLANDA JUNIOR E.V.; SANTOS, N.M. Caracterização do sistema de produção caprino e ovino na região semi-árida do estado da Paraíba, Brasil. **Arquivos de Zootecnia,** v. 57, p. 203. 2008.

DÍAZ-PLASCENCIA, D.; RODRÍGUES-MUELA, C.; MANCILLAS-FLORES, N.; RUÍZ-HOLGUÍN, N.; MENA-MUNGÍA, S.; SALVADOR-TORRES, F.; DURAN-MELENDEZ, L. Fermentación *in vitro* de nopal forrajero con un inóculo de levadura *Kluyveromyces lactis* obtenida a partir de manzana de desecho. **Revista Eletrónica de Veterinaria**. v, 13, p. 1-7, 2012.

FERREIRA, M.A.; SILVA, R.R.; RAMOS, A.O.; VÉRAS, A.S.C.; MELO, A.A.S.; GUIMARÃES, A.V. Síntese de proteína microbiana e concentrações de uréia em vacas alimentadas com dietas à base de palma forrageira e diferentes volumosos**. Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.159-165, 2009.

GAD, A.S.; HASAN, E.A.; ABD EL AZIZ, A. Utilization *of Opuntia ficus indica* waste for production of *Phanerochaete chrysosporium* bioprotein. **Journal of American Science.** v.6, p. 208-216, 2010.

GAMEZ-AGUILAR, M.M.; FLORES-HERNÁNDEZ, A.; MATA-ESPINOSA, M.Á. Fermentación semisólida de nopal forrajero (*Opuntia spp*.); **Revista Salud Pública y Nutrición.** edición especial, p 145 – 152, 2012.

GERASEEV, L.C.; PEREZ, J.R.O.; RESENDE, K.T.; RESENDE, K.T.; BONAGURIO, S. Composição corporal e exigências nutricionais em cálcio e fósforo para ganho e mantença de cordeiros Santa Inês dos 15 kg aos 25 kg de peso vivo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, p. 261-268, 2000.

GUTIERREZ-RAMIREZ, L.A.; GOMEZ-RAVE, A.J. Determinación de proteína total de *Candida utilis* y *Sacharomyces cerevisiae* en bagazo de caña. **Revista Lasallista Investigácion** , vol.5, p. 61-64, 2008.

IBGE. **Pesquisa Pecuária Municipal, 2011**. (2011) Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2011>. Acesso: 8 Abr. 2013.

KAEWWONGSA, W.; TRAIYAKUN, S.; YUANGKLANG, C.; WACHIRAPAKORN, C.; PAENGKOUM, P. Protein Enrichment of Cassava Pulp Fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v.10, p. 2434-2440, 2011.

LEI, H.; WANG, H.; NING, T.; HAO W.; XU C. Protein enrichment of potato starch residue by solid state fermentation with mixed strains. **Journal of Animal and Vererinary Advances,** v. 11, p.2700-2705, 2012.

LIMA, C.D.S.; GOMES, H.S.; DETONI, C.E. et al. Adição de uréia e da levedura *Saccharomyces cerevisiae* no enriquecimento protéico da palma forrageira (*Opuntia fícus-indica* L.) cv. Miúda. **Revista Magistra**, v.16, n. 1, p. 01-08, 2004.

LIMA, G.F.C.; SILVA, J.G.M.; NOBRE, F.V.; BARRETO, H.F.M. Produção estratégica de alimentos para a pecuária familiar no semiárido: alternativas para a formulação de rações na própria fazenda. Natal: EMPARN, 2008, 53p.

LIU, W.; LI, L.; SUN, L. Research on compreensive utilization of potato residue. **Science Technology Cereal Oil Food**, v.18, p.17-19, 2010.

LOPES, N.C.M.; JAEGER, S.M.P.L.; OLIVEIRA, R.L.; OLIVEIRA , G.J.C.; MELO JUNIOR, A.S.; FARIA, M.M.S.; STRADA, E.S.O.; SILVA, A.M.; BAGALDO, A.R. Peso, rendimento e cortes da carcaça de cordeiros recebendo dieta a base de palma forrageira (*opuntia fícus- indica,* mill) amonizada. **Magistra**, v. 20, p. 140-145, 2008.

LOPES, J.; EVANGELISTA, A.R. Características bromatológicas, fermentativas e população de leveduras de silagens de cana-de-açúcar acrescidas de ureia e aditivos absorventes de umidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.984-991, 2010.

MALHADO, C.H.M.; CARNEIRO, P.L.S.; SANTOS, P.F.; AZEVEDO, D. M.M.; SOUZA, J.C.S.; AFFONSO, P.R.M. Curva de crescimento em ovinos mestiços Santa Inês x Texel criados no Sudoeste do Estado da Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, p. 210-218, 2008.

MDIC/SECEX [2013]- Exportações, importações e balança comercial. Disponível em: <www.mdic.gov.br> Acessado em: 10 abr. 2013.

MUNIZ, E.B.; MIZUBUTI, I.Y.; PEREIRA, E.S.; PIMENTEL, P.G.; RIBEIRO, E.L.A., ROCHA JUNIOR, J.N.; CAPELARI, M.G.M.; BRITO, V.M. Cinética de degradação ruminal de carboidratos de volumosos secos e aquosos: técnica de produção de gases. **Semina: Ciências Agrárias**, v.32, p. 1191-1200, 2011.

NASSERI, A.T.; RASOUL-AMINI S.; MOROWVAT, M.H.; GHASEMI, Y. Single Cell Protein: Production and Process. **American Journal of Food Technology**, v.6, p. 103-116, 2011.

NRC-NATIONAL RESEARCH COUNCIL - **Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids.** Washington, D.C.: National Academy Press, 2007. 362p.

NUNES, H.; ZANINE,A.M.; MACHADO, T.M.M.; CARVALHO, F.C. Alimentos alternativos na dieta dos ovinos. **Asociación Latinoamericana de Producción Animal.** v. 15, p.141-151, 2007.

RAMLI, M.N.; IMURA, Y; TAKAYAMA, K.; NAKANISHI, Y. Bioconversion of Sugarcane Bagasse with Japanese Koji by Solid-state Fermentation and Its Effects on Nutritive Value and Preference in Goats. **Journal Animal Science**. v. 18, p. 1279-1284, 2005.

RANGEL, A.H.N.; LEONEL, F.P.; SIMPLÍCIO, A.A. Utilização de ionóforos na produção de ruminantes. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 8, p. 173-182, 2008.

SANTOS, D.C.; FARIAS, I.; LIRA, M.A., SANTOS, M.V.F.; ARRUDA, G.A.; COELHO, R.S.B.; DIAS, F.M.; MELO, J.N. **Manejo e utilização da palma forrageira (*Opuntia* e *Nopalea*) em Pernambuco**. Recife: Instituto Agronômico de Pernambuco, 2006. 48p.

STORM, E.; ØRSKOV, E.R. The nutritive value of rumen micro-organisms in ruminants. The limiting amino acids of microbial protein in growing sheep determined by a new approach. **British Journal of Nutrition**, v.52, p.613–620, 1984.

SUHET, M.I.; FIOREZE, R. Produção de proteína unicelular a partir do resíduo da industrialização do abacaxi utilizando fermentação em estado semissólido. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial.** v. 5, p. 584-592, 2011.

THONGKRATOK, R.; KHEMPAKA, S.; MOLEE, W. Protein enrichment of cassava pulp using microorganisms fermentation techniques for use as an alternative animal feedstuff. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v.9, p. 2859-2862, 2010.

TOSTO M. S.L.; ARAÚJO, G.G.L.; OLIVEIRA, R.L.; BALGADO, A.R.; DANTAS, F.R.; MENEZES, D.R.; CHAGAS, E.C.O. Composição química e estimativa de energia da palma forrageira e do resíduo desidratado de vitivinícolas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Anima**l, v.8, n.3, p. 239-249, 2007.

II – OBJETIVOS GERAIS

Avaliar a possibilidade de maximizar o conteúdo de proteína verdadeira através da inoculação da levedura *S. cerevisae* na palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar, de modo a caracterizar a composição bromatológica e determinar o perfil das frações dos carboidratos e compostos nitrogenados; avaliar a degradabilidade e cinética da fermentação ruminal, por meio da técnica semiautomática *in vitro* de produção de gases nos tratamentos; e quantificar os efeitos de dietas formuladas com palma forrageira e bagaço de cana-de-açúcar, inoculados com *S. cerevisae* e balanceadas com níveis decrescentes de farelo de soja sobre o consumo, digestibilidade e produção de proteína microbiana no rúmen em ovinos.

.

III – CAPÍTULO I

FRACIONAMENTO DE COMPOSTOS NITROGENADOS E CARBOIDRATOS DA PALMA FORRAGEIRA ASSOCIADA AO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR COM OU SEM A INCLUSÃO DE CULTURA VIVA DE *Saccharomyces cerevisiae* MEYEN

RESUMO- O estudo foi conduzido com o objetivo de caracterizar e quantificar as frações que compõem os carboidratos e o nitrogênio de alimentos para ruminantes contendo palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar com ou sem a inclusão da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos avaliados em cinco tempos de coleta de amostras (0, 3, 6, 12 e 24) e quatro repetições. Os tratamentos consistiram em: 1- palma e bagaço (T); 2- palma e bagaço com adição de sal mineral, ureia + sulfato de amônio (PBSU); 3- palma e bagaço com sal mineral, ureia+sulfato de amônio e 1% de levedura (PBSU-L1); 4- palma e bagaço com sal mineral, ureia+sulfato de amônio e 2% de levedura (PBSU-L2). Verificou-se que os tratamentos que receberam o inóculo de levedura na proporção de 1 e 2% revelaram maiores percentuais de proteína bruta com base na matéria seca, 16,04% (após 24h) e 16,02% (após 12h), respectivamente. Registrou-se também que o inóculo de levedura favoreceu a redução nos teores de nitrogênio não-proteico e elevação nos percentuais da fração correspondente à proteína verdadeira de degradação rápida e intermediária. Quanto aos teores de carboidratos totais, os tratamentos PBSU-L1 e PBSU-L2 revelaram menores percentuais, bem como redução nos teores de carboidratos totais e carboidratos não fibrosos, na maioria dos intervalos de tempo analisados, ao passo que os valores de carboidratos indigestíveis apresentam valores percentuais maiores. Conclui-se, portanto, que o acréscimo de aditivos, como a ureia e *S. cerevisiae*, concorrem para a melhoria do perfil nitrogenado, mas são responsáveis pelo decréscimo das reservas de carboidratos não fibrosos.

Palavras-chave: avaliação de alimentos, microrganismo, nitrogênio.

NITROGEN AND CARBOHYDRATES FRACTIONATION COMPOUNDS OF CACTUS PEAR AND SUGARCANE BAGASSE ADDED WITH UREA AND LIVE *Saccharomyces cerevisiae* MEYEN CULTURE

ABSTRACT- The study was conducted to characterize and quantify the carbohydrates and nitrogen fractions in ruminant feed containing cactus pear associated with sugarcane bagasse with or without the inclusion of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. The experimental design was completely randomized with four treatments, five times of sampling (0, 3, 6, 12 and 24h) and four replications. Treatments consisted of: 1 – cactus pear and bagasse (T); 2 - cactus pear and bagasse with mineral salt, urea + ammonium sulfate (PBSU); 3 – cactus pear and bagasse with mineral salt, urea sulfate + ammonium and 1% yeast (PBSU-L1); 4 - cactus pear and bagasse with mineral salt, urea + ammonium sulfate and 2% yeast (PBSU-L2). It was found that the treatments that received the inoculum yeast at a ratio of 1 and 2%, showed higher percentages of crude protein based on dry matter, 16.04 (after 24 hours) and 16.02% (after 12 hours) respectively. It was also reported that the yeast favored a reduction in the levels of non-protein nitrogen and increase in the percentage of true protein fraction corresponding to the rapid and intermediate degradation. For total carbohydrate contents, treatments PBSU-L1 and PBSU- L2 revealed lower percentage, as well as reduction in the content of total carbohydrates and non-fibrous carbohydrates in most of the time intervals examined, while the values of indigestible carbohydrates have higher percentages. It is concluded, therefore, that the addition of urea and *S. cerevisiae* contribute to the improvement of nitrogen fractions, but is responsible for the consumption of non-fiber carbohydrate reserves.

Keywords: food evaluation, microorganism, nitrogen.

INTRODUÇÃO

A disponibilidade energética e proteica da dieta poderá suprir ou não os requerimentos da microbiota ruminal (Viana et al., 2012). Para Clark et al. (1992), a interação do nitrogênio (N) e energia dietéticos afeta o desempenho do ruminante, porque a síntese microbiana ruminal resulta da degradação da matéria orgânica (MO) no rúmen e uso do N proveniente de fontes proteicas e não proteicas. Belanche et al. (2012) recomendam que haja equilíbrio entre energia e N no rúmen para o sucesso e sustentabilidade ambiental do empreendimento. Admite-se, então, com corroboração da assertiva de Agle et al. (2010), que o crescimento da microbiota depende da disponibilidade de carboidratos e N no rúmen.

A palma forrageira, *Opuntia ficus-indica* L., pertencente à família Cactaceae (Silva & Santos, 2006), constitui-se em uma alternativa alimentar nos prolongados períodos de estiagem em regiões sob a influência do clima semiárido. Do ponto de vista nutricional, a importância da utilização da palma na alimentação animal deve-se preponderantemente ao fato de consistir num alimento suculento, devido ao alto teor de água e mucilagem, além de apresentar significativos teores de minerais, principalmente cálcio, sódio, potássio e magnésio (Nunes, 2011) e altos teores de carboidratos não-fibrosos (CNF) (Cavalcanti et al. 2008). Entretanto, os conteúdos mais elevados de CNF da palma contrastam com os reduzidos teores proteicos (4,4 – 4,83%) de fibra em detergente neutro (FDN) (29,07%, que correspondem ao limite mínimo para dietas de ruminantes) e de matéria seca (MS) (7,0 – 10,0%) (Araújo et al. 2008; NRC, 2001; Tosto et al. 2007).

Em contraponto aos baixos teores de MS e proteína bruta (PB), o potencial produtivo é bastante elevado. Habitualmente, o sistema de plantio adensado produz em torno de 400 toneladas/ha/ano (Lima, 2011), embora Andrade (2009) tenha alcançado produtividade de 603.930 Kg de Matéria Verde/ha, em uma população de 58.000 plantas. Por isso, tem-se buscado melhorar a composição nutricional das dietas contendo palma, para potencializar a utilização desta forrageira na alimentação de ruminantes. Uma das vertentes de estudos relaciona-se ao incremento do teor proteico, conjugando o uso da palma a fontes de N não-proteico, como a ureia, por exemplo. Nesses estudos, apesar do incremento dos teores de proteína bruta (PB), não se verificou aumentos de proteína verdadeira, limitando o uso da palma tratada com ureia nas dietas (Amorim et al. 2006; Araújo et al. 2008; Lima et al. 2004).

Estudos recentes apontam que as leveduras, notadamente a espécie *S. cerevisiae* M., podem multiplicar-se em substratos que apresentem incipiência proteica, utilizando os carboidratos não fibrosos (CNF) e o nitrogênio não-proteico (NNP), convertendo-os em

aminoácidos e proteína microbiana (Correia e Aquino et al. 2012; Diaz-Plascência et al. 2012; Lei et al. 2012).

Nesse sentido, o alto teor de CNF da palma favoreceria a possibilidade de utilizá-la em processos fermentativos em substrato sólido, propiciando o crescimento microbiano e o aumento nos teores de proteína verdadeira da dieta.

Contudo, os baixos teores de MS persistiriam, tornando oportuno associá-la a alimentos fibrosos. Nessa perspectiva, o bagaço de cana-de-açúcar poderia ser associado à palma, aumentando os percentuais de MS da dieta. De acordo com a Conab, para o biênio 2012/2013, a produtividade brasileira de cana está estimada em cerca de 69.973 kg/ha, o que corresponde à aproximadamente 29.991 kg de bagaço de cana/ha. De acordo com o Anuário da Cana (2012), a estimativa de produção de cana para a safra 2012/2013, na Bahia, gira em torno de 3,78 milhões de toneladas, o que permite a obtenção de 1,134 milhões de toneladas de bagaço. Salienta-se, ainda, que o bagaço, quando é proveniente de moendas não industriais, ainda apresenta altos teores de açúcares remanescentes (30,23%), devido à ineficiência na extração da extração da sacarose em processos não-industriais (Ferreira et al. 2009), aumentando a disponibilidade de energia para permitir o crescimento microbiano em substrato sólido.

Assim, a palma forrageira e o bagaço de cana-de-açúcar constituiriam substrato sólido, propiciando o crescimento de leveduras com aumento no teor de proteína verdadeira da dieta, reduzindo a dependência do uso de ingredientes proteicos de alimentos concentrados.

Dessa forma, o objetivo deste estudo foi determinar as frações nitrogenadas e de carboidratos da palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar, inoculados ou não com a levedura *S. cerevisiae.*

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido no laboratório de Nutrição Animal (LNA) da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB). A palma forrageira foi oriunda de cultivo estabelecido exclusivamente para este fim. Os cladódios da palma forrageira foram selecionados a partir da segunda ordem, os quais foram inspecionados quanto à sanidade e, posteriormente, picados manualmente em tiras com dimensões aproximadas de 0,5 x 4,0 cm, propiciando cortes longitudinais para a máxima exposição da mucilagem da palma.

O bagaço de cana-de-açúcar foi proveniente da moagem artesanal de cana-de-açúcar cultivada na UESB – *Campus* de Vitória da Conquista - BA e foi picado imediatamente após

sua obtenção com o auxílio de máquina forrageira.

Os substratos sólidos continham 70% de palma forrageira e 30% de bagaço de cana-de-açúcar (base natural). Três quilogramas do material foram pesados e acondicionados em bandejas plásticas retangulares, previamente identificadas. Cada bandeja constituiu uma das quatro repetições de cada tratamento, como segue: 1- palma e bagaço (T); 2- palma e bagaço com adição de sal mineral (composição tabela 1), ureia com sulfato de amônio (PBSU); 3- palma e bagaço com sal mineral, ureia com sulfato de amônio e 1% de levedura (PBSU-L1); 4- palma e bagaço com sal mineral, ureia com sulfato de amônio e 2% de levedura (PBSU-L2).

Aos tratamentos 2, 3 e 4, foi aplicado o sal mineral, acrescido da mistura de ureia com sulfato de amônio (9:1) na proporção de 0,3 e 0,5% da matéria natural, respectivamente. Como inóculo da levedura, para os tratamentos 3 e 4, utilizou-se o fermento biológico fresco, cujo 1 g contém cerca de 10 bilhões de células de *S. cerevisiae* e apresenta umidade de 70% (base úmida) e proteína bruta 45% (base seca).

Tabela 1. Composição da mistura mineral utilizada no enriquecimento dos substratos

Mineral	Quantidade/kg
Cálcio	120 g
Fósforo	88 g
Cobalto	55,50 mg
Cobre	1.530 mg
Ferro	1.800 mg
Iodo	75 mg
Manganês	1.300 mg
Selênio	15 mg
Zinco	3.630 mg
Sódio	126 g
Flúor	880 mg
Enxofre	12 g

Fonte: Rótulo do produto (adaptado)

O material permaneceu à temperatura ambiente por 0, 3, 6, 12 e 24h, quando amostras de cerca de 500 g foram retiradas, acondicionadas em bandejas de alumínio retangulares e levadas para estufa a 60ºC até peso constante. Foram analisados os teores de matéria meca (MS), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina (LIG), hemicelulose (HEM), celulose (CEL), cinza (MM) e extrato etéreo (EE), pelo método modificado por Detmann et al. (2012). O teor de PB foi obtido pelo método semimicro Kjeldahl (Silva & Queiroz, 2006).

O fracionamento dos compostos nitrogenados, dos diferentes tratamentos e nos distintos tempos, em percentual de N-total, foi realizado segundo procedimento proposto por

Licitra et al. (1996), com o objetivo de determinar as seguintes frações: “A” (nitrogênio não proteico - NNP), “B1+B2” (proteína verdadeira de degradação enzimática rápida e intermediária, respectivamente), “B3” (proteína verdadeira que apresenta degradação enzimática lenta) e “C” (proteína indigestível que compreende o nitrogênio determinado no resíduo da fibra em detergente ácido - FDA). O nitrogênio não-proteico, representado pela fração “A”, foi determinado após o tratamento da amostra com ácido tricloroacético (TCA) a 10%, e foi obtido pela diferença entre o nitrogênio total e o nitrogênio insolúvel em TCA. Determinou-se a fração “B3” pela mensuração do teor de proteína bruta (PB) insolúvel em detergente neutro (PIDN), subtraído do valor de PB encontrado no FDA (PIDA). A fração “C”, ou proteína insolúvel em detergente ácido, foi obtida pela determinação de N-insolúvel em detergente ácido (NIDA). As frações “B1+B2” foram obtidas pela diferença entre o nitrogênio total e as frações A, B3 e C.

As frações que compõem os carboidratos totais (CT) foram estimadas conforme Sniffen et al. (1992), e obtidas por meio das seguinte fórmula: CT = 100 – (PB + EE + MM). Os carboidratos não-fibrosos (CNF), que correspondem às frações “A+B1”, foram estimados pela seguinte fórmula: CNF = 100 - (PB + FDN_{CP} + EE + MM), em que FDN_{CP} corresponde ao FDN corrigido para cinza e proteína. A fração “B2” (fibra disponível) foi resultante da diferença entre a FDN_{CP} e a fração de fibra indigestível (“C”). A fração “C”, que representa a fibra indigestível, foi estimada por meio da multiplicação do valor percentual da fração de lignina pela constante 2,4.

O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo que os tratamentos foram comparados nos tempos 0, 3, 6 12 e 24h após a inoculação. As médias dos tratamentos foram comparadas utilizando-se a técnica de contrastes ortogonais com a estrutura apresentada na Tabela 2, testados sob o teste t com α = 0,05.

Tabela 2. Contrastes ortogonais utilizados para determinar as diferenças ocorridas entre os tratamentos dentro de cada tempo de inoculação

Contrastes	Tratamentos			
	T	PBSU	PBSU-L1	PBSU-L2
y1- Sem ureia *vs* com ureia	3	-1	-1	-1
y2- Com ureia sem levedura *vs* com ureia e levedura		2	-1	-1
y3- Com 1% de levedura *vs* 2% de levedura			1	-1

T: Palma + Bagaço de cana (70:30); PBSU: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia; PBSUL -1: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 1% de levedura; PBSUL -2: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 2% de levedura. Contrastes obtidos a partir das médias das inferências analisadas durante o período experimental.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve efeito significativo dos substratos estudados sobre o teor de MS (P<0,05), quando se avaliou a utilização de ureia comparada à não utilização desse aditivo nos períodos de 0 e 12h (y1), bem como quando se comparou o acréscimo de levedura aos tratamentos contendo ureia (y2), quando em todos os tempos de inoculação os teores de MS foram superiores para o tratamento PBSU, de modo que os tratamentos PBSU-L1e PBSU-L2, por sua vez, apresentaram MS inferior em relação ao PBSU (que continha somente ureia). Já entre os tratamentos que receberam levedura, não foram apontadas diferenças estatísticas (P>0,05) para esse parâmetro (Tabela 3). Araújo et al. (2008), avaliando o inóculo de 1, 2 e 3% de *S. cerevisiae,* observaram que este microrganismo não afetou os teores de MS da palma forrageira utilizada como substrato isolado. Entretanto, Holanda et al. (1998), ao avaliarem a inoculação de 2,5% de levedura à massa constituída por pendúnculos de cajú, também registraram queda no teor de MS (de 14,0 para 11,9%), fato que os autores atribuem ao metabolismo das leveduras que, ao realizar a quebra de carboidratos, resultam na perda de carbono na forma de CO_2 e na síntese de massa celular e água. Fernandes (2008) reforça que, por ser um microrganismo anaeróbio facultativo, quando em presença de oxigênio, *S. cerevisiae* realiza o metabolismo de açúcares pela via respiratória, onde o piruvato é metabolizado através do Ciclo de Krebs e há uma oxidação completa da glicose em CO_2 e água com consequente diminuição da produção de etanol e aumento de rendimento em biomassa microbiana.

Com referência ao teor de MM, foram constatadas diferenças (P<0,05) entre os tratamentos, de maneira que as médias obtidas indicam conteúdo inferior de MM para a testemunha em relação aos demais tratamentos, tal como teores de MM superiores para PBSU-L1e PBSU-L2ao compará-los com PBSU. Ao avaliar apenas os tratamentos que receberam o inóculo, não se registrou diferença (P<0,05) sobre os teores de MM (Tabela 3). Esses resultados já eram esperados, considerando-se a adição do percentual de 0,3% de sal mineral para os tratamentos PBSU, PBSU-L1e PBSU-L2, e a inclusão da levedura nos dois últimos, as quais, segundo Butolo et al. (1996), contêm entre 4,36 e 5,18% de minerais, dentre os quais Pardo-Gamboa et al. (2011) citam o fósforo, potássio, cálcio, magnésio, selênio e zinco como os principais.

Verificaram-se maiores teores de MO para T em relação aos demais tratamentos em todos os tempos de observação. Por sua vez, PBSU apresentou teores maiores do que PBSU-L1 e PBSU-L2, sendo que, para esses últimos, não foram reveladas diferenças (P>0,05). Esses

resultados estão em conformidade com a maior participação de minerais em PBSU, PBSU-L1e PBSU-L2, em relação a T (Tabela 3).

Para os teores de EE, não se observaram diferenças estatísticas (P>0,05) na maioria dos tempos de avaliação, exceto para o tempo de 3h (Tabela 3), quando PBSU apresentou valores superiores aos demais tratamentos (2,93%) e PBSU–L2 apresentou percentual superior (2,05) a PBSU-L1.

No tocante aos parâmetros de FDN e FDA, houve diferenças (P<0,05) que indicaram maiores percentuais para PBSU-L1e PBSU-L2. PBSU e T diferiram (P<0,05) entre si e dos demais tratamentos. No entanto, entre PBSU-L1e PBSU-L2, não houve diferença (P>0,05). Para LIG, CEL e HEM também não houve diferenças entre as médias de PBSU-L1e PBSU-L2 para nenhum dos tempos estudados, o que assinala a similaridade dos tratamentos quanto aos teores percentuais desses parâmetros. Os resultados encontrados, quando se testou a utilização ou não de ureia, demonstram que, para LIG, somente nos tempos 0, 3 e 24h, os teores em T foram inferiores aos demais tratamentos. Já quando se considera utilização ou não de *S. cerevisiae*, foram registradas diferenças (P>0,05) entre os tratamentos PBSU, PBSU-L1e PBSU-L2, exceto para o tempo de 3h, caracterizado por médias estatisticamente iguais. Ao passo que, observando os resultados obtidos nos demais tempos, verificou-se que o teor de LIG dos tratamentos com levedura (PBSU-L1e PBSU-L2) foram superiores (P<0,05) estatisticamente ao tratamento contendo apenas ureia (PBSU). Para CEL, o tratamento T demonstrou valores médios inferiores aos demais em todos os tempos, assim como o PBSU em relação ao PBSU-L1e PBSU-L2. Para HEM, verifica-se diferença (P>0,05) entre os tratamentos que evidencia médias inferiores para T nos tempos 0, 6 e 24h, do mesmo modo que a utilização de ureia, com o inóculo de levedura, propicia maiores teores de HEM (Tabela 2).

Verificou-se, para PB, efeito significativo para todos os contrastes (P<0,05). Os números obtidos indicam que teores superiores foram registrados para PBSU-L2, excetuando-se a elevação no teor desse parâmetro para o tempo de 24h no PBSU-L1(16,04%), que se apresentou tão alto quanto o teor de PB registrado para PBSU-L2 (16,02%) no tempo 12h e superior aos resultados obtidos nos demais tempos e tratamentos (Tabela 4). Esses resultados indicam incremento no teor de PB de 554,70 e 553,88% para os tratamentos PBSU-L1 às 24h e PBSU-L2 às 12 após a inoculação, respectivamente, à testemunha no tempo 0h. Para o tratamento contendo apenas ureia (PBSU), o maior acréscimo registrado foi de 378,22%, às 24h.

Confrontando esses dados com os relatados por Araújo et al. (2008), que também

utilizaram o microrganismo *S. cerevisiae* nas concentrações de 1, 2 e 3% (matéria natural) do substrato constituído apenas por palma forrageira e incubada, durante 6, 12, 24 e 36 horas de fermentação, verificou-se que, utilizando a concentração de 1% do inóculo, obtiveram resposta no acréscimo de PB (de 4,4 para 8,12%) após 12h de incubação. Já para a concentração de 2%, verificou-se modificação significativa nos teores de PB apenas nas primeiras 6h (de 4,4 para 9,61%), após esse período, esse teor permaneceu inalterado. Com 3%, constatou-se aumento de 4,4 para 10,42% de PB nas primeiras 12h, seguida de decréscimo nas observações seguintes de 10,42 para 7,91% nas 36h de incubação. No presente estudo, porém, observou-se teores muito superiores de PB, após a inoculação com 1 e 2% de *S. cerevisiae*, o que sugere ter havido reprodução celular. Registrou-se redução destes apenas na observação de 24h após a incubação no tratamento que recebeu 2% de inóculo, o que permite pressupor que, o consumo de nutrientes pela população crescente promoveu a exaustão nutricional do substrato e decréscimo na população de leveduras. Este fato também pode ter ocorrido no ensaio de Araújo et al. (2008), os quais não mencionam a inclusão de uma fonte de nitrogênio, nem de minerais que suprissem os nutrientes necessários, possibilitando a síntese e multiplicação de células microbianas. Essa suposição encontra amparo nas considerações de Rodríguez et al. (2001), que citam a PB como indicador mais importante para a mensuração da síntese microbiana, mostrando que, nesse trabalho, os carboidratos e N-ureico foram utilizados na formação de protoplasma celular.

Tabela 3. Composição bromatológica de palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar com ou sem a inoculação com *Saccharomyces cerevisiae*

Parâmetros	Tratamentos[1]				P*		
	T	PBSU	PBSU-L1	PBSU-L2	y1	y2	y3
				0h			
Matéria Seca	19,66	18,98	15,52	15,96	0,0000	0,0000	0,510
Matéria Mineral[1]	3,91	5,28	6,41	6,92	0,0000	0,0040	0,341
Matéria Orgânica[1]	96,09	94,72	93,59	93,08	0,0000	0,0040	0,340
Fibra em Detergente Neutro[1]	34,45	36,13	42,56	41,29	0,0002	0,0003	0,466
Fibra em Detergente Ácido[1]	19,32	21,39	26,84	24,78	0,0000	0,0001	0,095
Extrato Etéreo[1]	1,06	0,44	0,54	0,84	0,2179	0,5200	0,499
Lignina[1]	2,79	3,06	4,26	3,88	0,0065	0,0062	0,349
Celulose[1]	17,36	18,66	23,14	21,93	0,0001	0,0003	0,294
Hemicelulose[1]	15,14	14,74	15,72	16,51	0,5080	0,1015	0,408
				3h			
Matéria Seca	17,47	18,53	15,53	14,47	0,021	0,000	0,118
Matéria Mineral	4,75	5,61	6,63	7,64	0,000	0,002	0,063
Matéria Orgânica	95,26	94,39	93,38	92,37	0,000	0,002	0,063
Fibra em Detergente Neutro	34,68	35,42	42,99	43,54	0,000	0,000	0,754
Fibra em Detergente Ácido	20,62	21,29	26,36	27,08	0,000	0,000	0,557
Extrato Etéreo	1,96	2,93	0,74	2,05	0,880	0,000	0,005
Lignina	2,82	3,97	3,88	3,92	0,002	0,856	0,913
Celulose	18,19	17,70	23,56	22,16	0,003	0,003	0,229
Hemicelulose	14,05	14,12	16,63	16,46	0,034	0,005	0,857
				6h			
Matéria Seca	15,88	17,21	13,12	13,40	0,020	0,000	0,676
Matéria Mineral	4,62	5,60	7,51	7,69	0,000	0,001	0,737
Matéria Orgânica	95,38	94,41	92,50	92,32	0,000	0,001	0,737
Fibra em Detergente Neutro	31,70	33,59	42,90	44,87	0,000	0,000	0,258
Fibra em Detergente Ácido	17,99	20,52	26,89	27,84	0,000	0,000	0,436
Extrato Etéreo	2,10	0,98	2,28	1,62	0,198	0,014	0,140
Lignina	2,51	3,09	4,38	4,32	0,000	0,001	0,889
Celulose	16,19	18,49	24,86	24,43	0,000	0,000	0,710
Hemicelulose	13,71	13,07	16,01	17,03	0,038	0,038	0,290
				12h			
Matéria Seca	17,60	17,87	12,96	14,14	0,000	0,000	0,822
Matéria Mineral	4,25	6,03	8,67	7,62	0,000	0,000	0,055
Matéria Orgânica	95,75	93,97	91,33	92,38	0,000	0,000	0,055
Fibra em Detergente Neutro	37,02	34,76	47,29	45,16	0,003	0,000	0,224
Fibra em Detergente Ácido	22,39	21,46	30,04	27,79	0,001	0,000	0,069
Extrato Etéreo	1,12	1,24	1,01	1,04	0,958	0,589	0,942
Lignina	3,66	3,23	4,47	4,27	0,220	0,001	0,254
Celulose	19,88	18,55	24,48	23,05	0,020	0,000	0,217
Hemicelulose	14,63	13,30	17,25	17,37	0,090	0,090	0,869
				24h			
Matéria Seca	18,09	19,40	16,86	16,73	0,441	0,001	0,840
Matéria Mineral	5,13	5,99	7,25	7,96	0,000	0,001	0,189
Matéria Orgânica	94,87	94,02	92,75	92,04	0,000	0,001	0,189
Fibra em Detergente Neutro	34,84	36,18	44,60	42,03	0,000	0,000	0,143
Fibra em Detergente Ácido	21,13	21,88	26,90	24,74	0,001	0,000	0,081
Extrato Etéreo	1,44	1,36	1,14	1,35	0,664	0,776	0,638
Lignina	3,17	3,08	3,88	3,71	0,254	0,049	0,685
Celulose	17,86	18,60	23,85	21,95	0,003	0,001	0,104
Hemicelulose	13,71	14,31	17,70	16,56	0,002	0,002	0,238

T: Palma + Bagaço de cana (70:30); PBSU: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia; PBSU-L1: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 1% de levedura; PBSU-L2: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 2% de levedura. y1, y2 e y3 representam os contrastes; y1 = tratamento sem ureia *vs* com ureia; y2= com ureia sem levedura *vs* com ureia e levedura; y3= com 1% de levedura *vs* 2% de levedura; [1] % da MS; *Valor de probabilidade do erro tipo I.

Quanto aos teores de N, nas distintas frações das dietas, observou-se que os efeitos sobre a fração A, para o tempo de 0h, indicam que a utilização de ureia (PBSU) foi o que possibilitou maior participação dessa fração nos percentuais de N total (80,35%). Já quando se compara a utilização de ureia contendo ou não inóculo de *S. cerevisiae*, verifica-se que há diferenças (P<0,05). Recomendando-se, portanto, a utilização de levedura, que contribuiu para a redução na porcentagem da fração A em relação ao N total. Resultado distinto foi observado, quando se estudou a utilização de 1% ou 2% de levedura no substrato, neste caso, constatou-se que não há diferenças (P>0,05) entre os tratamentos. Os valores menores dessa fração nos tratamentos inoculados com levedura em relação aos outros dois podem apresentar aspecto positivo, quando se considera que a maior parte de todas as formas de NNP é rapidamente transformada em amônia e disponibilizada sob essa forma para os microrganismos ruminais. Diante dessa peculiaridade, em 1992, Russel et al. já aduziam para o fato de que os microrganismos ruminais que fermentam carboidratos estruturais utilizam a amônia como fonte de N. Díaz-Plascencia et al. (2012) concordam com essa afirmativa e acrescentam que, no caso de processos fermentativos em substrato sólido, como é caso deste trabalho, a adição de fontes de NNP, no meio, atuam como ativador e acelerador da fermentação. Entretanto, Russel et al. (1992) foram enfáticos em recomendar cautela na utilização de NNP, tendo em vista que o excesso de N não vinculado a um esqueleto de carbono tende a não ser aproveitado pelos microrganismos ruminais. Essa elucidação favorece a compreensão de que o N ligado às frações proteicas, por exemplo, permite que esse elemento seja mais bem utilizado pela flora ruminal sem a necessidade de suprir a dieta com altos níveis de carboidratos rapidamente fermentáveis.

Para a fração correspondente ao percentual de nitrogênio vinculado à proteína verdadeira de degradação rápida e intermediária (B1+B2), verificou-se que a utilização da ureia, apesar de se constituir em N não-proteico, colaborou para o aumento da participação dessa fração em relação ao N total (y1) e indicou, por sua vez, que acrescentar levedura favorece ainda mais o incremento dessa fração (y2). Já a utilização de 1 ou 2% de leveduras indica que, nos tempos 0, 6 e 12h, não há diferenças (P>0,05) no percentual representado pela fração B1+B2, em relação ao N total, entre ambos os tratamentos. O percentual dessa fração em relação ao N total do alimento foi maior para o tratamento com 2% de levedura (PBSU-L2), atingindo valores de 23,71 e 46,00% nos tempos 3 e 24h, respectivamente (Tabela 4). O incremento da fração B1+B2 no percentual de N total verificado para os tratamentos que receberam acréscimo de leveduras constitui dado que pode referendar a perspectiva da utilização de microrganismos em substratos regionais, pois, conforme evidencia Brennecke et

al. (2011), a taxa de degradação da porção B1 e B2 é, respectivamente, citada como superior e semelhante à taxa de passagem da dieta no rúmen, podendo, portanto, ser totalmente degradada. Maiores percentuais dessa fração são melhores utilizados pelos microrganismos ruminais para a síntese de proteína microbiana, inclusive por microrganismos fibrolíticos, visto que, conforme esclarece Kozloski (2002), a proteína verdadeira é constituída de aminoácidos de cadeia ramificada, dos quais necessitam as bactérias celulolíticas, reconhecidas pela degradação desse carboidrato estrutural (celulose), componente da fração fibrosa de vegetais.

A fração B3, que representa o nitrogênio que compõe a proteína indigestível em detergente neutro, apresentou médias equivalentes entre a testemunha e os demais tratamentos para os tempos 0 e 6h, e médias diferentes ($P<0,05$) e superiores aos tratamentos com ureia nos outros tempos de observação, conforme esclarece a análise do acréscimo ou não de ureia (y1). Já para a comparação referente ao tratamento com ureia e os dois contendo levedura, verificou-se não haver distinções ($P>0,05$) entre as médias, independentemente da inclusão da levedura. Ao se confrontar as médias de PBSU-L1e PBSU-L2, constata-se um maior percentual da fração B3, no tempo 0h, para PBSU-L2(Tabela 4).

A utilização de levedura, para a fração C, não indicou diferença ($P>0,05$) entre os tratamentos, considerando-se todos os tempos de observação. Contudo, a utilização de ureia aponta para valores superiores ($P<0,05$) para o tratamento que não a continha (T), em relação aos tratamentos contendo ureia (Tabela 4). De acordo com Van Soest (1994), entre 5 e 15% do N-total das forragens encontra-se aderido à lignina, o que o torna totalmente indisponível. Os valores encontrados para os tratamentos contendo ureia (PBSU, PBSU-L1 e PBSU-L2) estão dentro dos limites.

Tabela 4. Frações nitrogenadas de palma forrageira associada ao bagaço de cana com e sem a inoculação com *Saccharomyces cerevisiae*

Parâmetros	Tratamentos[1]				P*		
	T	PBSU	PBSU-L1	PBSU-L2	y1	y2	y3
			0h				
PB	2,45	7,17	10,25	12,42	0,000	0,000	0,000
FRAÇÃO A	55,32	80,35	61,72	55,26	0,019	0,000	0,018
FRAÇÃO B1+B2	0,00	5,17	27,93	22,39	0,000	0,000	0,062
FRAÇÃO B3	10,85	3,29	2,79	13,51	0,089	0,069	0,009
FRAÇÃO C	33,83	15,44	10,41	10,66	0,000	0,690	0,935
			3h				
PB	2,83	9,92	11,10	12,28	0,000	0,000	0,005
FRAÇÃO A	39,12	74,54	66,59	52,10	0,000	0,000	0,000
FRAÇÃO B1+B2	0,00	6,33	14,21	23,71	0,000	0,000	0,002
FRAÇÃO B3	27,85	8,20	6,22	11,55	0,000	0,796	0,850
FRAÇÃO C	33,04	10,92	12,98	12,64	0,000	0,478	0,912
			6h				
PB	4,11	9,86	12,78	14,53	0,000	0,000	0,000
FRAÇÃO A	55,96	80,02	52,66	50,99	0,800	0,000	0, 646
FRAÇÃO B1+B2	0,00	0,00	24,01	28,79	0,000	0,000	0,106
FRAÇÃO B3	13,36	8,78	11,25	12,75	0,330	0,225	0,625
FRAÇÃO C	30,67	11,21	12,07	10,94	0,000	0,910	0,713
			12h				
PB	2,94	10,41	14,35	16,02	0,000	0,000	0,000
FRAÇÃO A	22,67	65,35	52,81	58,78	0,000	0,003	0,105
FRAÇÃO B1+B2	17,14	17,48	33,03	30,09	0,000	0,000	0,317
FRAÇÃO B3	22,63	5,70	0,72	0,82	0,000	0,658	0,977
FRAÇÃO C	32,56	11,47	13,44	10,31	0,000	0,879	0,311
			24h				
PB	3,38	11,86	16,04	14,46	0,000	0,000	0,000
FRAÇÃO A	26,63	66,78	47,10	33,65	0,000	0,000	0,000
FRAÇÃO B1+B2	0,0	10,71	36,23	46,00	0,000	0,000	0,014
FRAÇÃO B3	32,00	8,59	3,78	6,73	0,000	0,210	0,336
FRAÇÃO C	41,37	13,92	12,88	13,61	0,000	0,801	0,814

T: Palma + Bagaço de cana (70:30); PBSU: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia; PBSU-L1: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 1% de levedura; PBSU-L2:Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 2% de levedura. y1, y2 e y3 representam os contrastes; y1 = tratamento sem ureia *vs* com ureia; y2= com ureia sem levedura *vs* com ureia e levedura; y3= com 1% de levedura *vs* 2% de levedura; [1] % da matéria seca; *Valor de probabilidade do erro tipo I.

Verificou-se, para as frações correspondentes aos carboidratos, ao contrastar (y1) o tratamento livre de ureia (T) com os que a continham (PBSU, PBSU-L1e PBSU-L2), que a inclusão dessa substância proporcionou diferenças (P<0,05) quanto ao teor de CT para todos os tempos de análise, quando se observou maiores teores de CT para T. Houve diferença (P<0,05) também entre os tratamentos contendo ureia (y2), quando PBSU mostrou valores de CT superiores à PBSU-L1e PBSU-L2 também em todos os tempos. Na comparação pertinente aos tratamentos PBSU-L1e PBSU-L2, verificou-se diferenças (P<0,05) apenas nos tempos 0 e 3h, quando foi constatado que o teor de CT foi superior para PBSU –L1. Uma vez

que os teores de CT foram estimados de acordo com Sniffen et al. (1992), e que estes cálculos levam em consideração o desconto nos percentuais de PB e EE, é possível creditar a redução no teor de CT dos tratamentos contendo ureia em relação a T, bem como dos tratamentos contendo levedura em relação ao PBSU à elevado teor de PB apresentado pelos referidos tratamentos.

A fração correspondente aos carboidratos solúveis e rapidamente fermentecíveis (A+B1) apresentou valores que diferiram estatisticamente entre os tratamentos, nos tempos 0, 3, 6, 12 e 24h. Os valores obtidos em T foram superiores para o teor de CNF aos demais tratamentos. Entre os tratamentos com e sem levedura, houve diferenças ($P<0,05$) que indicaram, exceto para o tempo 3h, maiores teores de CNF para o tratamento que não recebeu levedura. Nas observações feitas com 24h, entre níveis percentuais de inóculo de levedura, registrou-se que a participação de A+B1, no total de carboidratos, foi maior para o tratamento que recebeu 2% de levedura (Tabela 5).

Quanto à fração B2, verificaram-se diferenças ($P<0,05$) entre as médias dos tratamentos com e sem ureia, que apontaram maiores percentuais para aqueles tratamentos que continham essa substância. No entanto, foram verificadas diferenças entre o tratamento que não recebeu levedura e os que receberam (y2), cujas estimativas demonstraram que, nos tempos 0, 6, 12 e 24h, o tratamento PBSU foi o que apresentou menores teores de B2. Já para os níveis de levedura estudados, não foram encontradas diferenças ($P>0,05$). Sabendo-se que a fração B2 reporta-se aos carboidratos presentes na fração digestível da fibra, os números refere tes à FDN, assinalados neste trabalho para PBSU, PBSU-L1e PBSU-L2, podem explicar a maior participação da fração B2 para esses tratamentos em relação a T (Tabela 5).

Quanto à fração indisponível dos carboidratos (C), foram verificadas diferenças ($P<0,05$) entre a testemunha e os demais, quando se verificaram teores inferiores para os percentuais desse parâmetro nos tempos 0 e 6h e superior no tempo 3h em T. Ao confrontar os tratamentos sem e com levedura, foram encontradas diferenças ($P<0,05$) apenas para os tempos 0, 6 e 24h, nos quais se constatou que, nos tratamentos que continham o inóculo de levedura, a fração indigestível apresentou valores médios superiores. Comparando-se PBSU-L1 e PBSU-L2, as diferenças entre tratamentos não foram significativas em nenhum dos tempos de análise (Tabela 5). Conforme já mencionado, as médias dos parâmetros que se referem às frações fibrosas dos substratos estudados relacionam-se diretamente ao parâmetro que lhes servem como base de comparação. Nesse caso em particular, o percentual que representa determinada fração com relação ao teor de CT, quando se registrou que os tratamentos que receberam aditivos apresentaram menores teores de CT totais, o que

possivelmente influenciou a obtenção de valores superiores da fração C (indigestível) em relação ao tratamento sem aditivos (T). Os aditivos utilizados (sal mineral e ureia), na proporção em que foram nos tratamentos, bem como o microrganismo inoculado, *S. cerevisiae*, não promoveram a ruptura ou afrouxamento das fibras indigestíveis. Van Soest et al. (1994) afirmam que, quando a ureia é utilizada em conjunto com alimentos ricos em constituintes fibrosos, mostra-se eficiente, pois doa grupamentos nitrogenados necessários para a síntese de proteína microbiana. Mas é válido ressaltar que as respostas do teor de lignina de volumosos, em relação à amonização, são bastante variáveis e contraditórias. Gobbi et al. (2005), por exemplo, não encontraram efeito da inclusão de níveis até 10% de ureia sobre os teores de lignina em *Brachiaria decumbens*.

Tabela 5. Frações de carboidratos de palma forrageira associada ao bagaço da cana-de-açúcar após a inoculação de *Saccharomyces cerevisiae*

Parâmetros	Tratamentos[1]				Contrastes		
	T	PBSU	PBSU-L1	PBSU-L2	y1	y2	y3
			0h				
CT	92,58	87,11	82,80	79,82	0,000	0,000	0,0003
FRAÇÃO A+ B1	58,77	51,94	41,40	40,10	0,000	0,000	0,5156
B2	27,11	27,82	31,16	30,42	0,000	0, 035	0,6340
FRAÇÃO C	6,69	7,35	10,23	9,30	0,007	0,006	0,3501
			3h				
CT	90,47	81,55	81,55	79,03	0,000	0,034	0,0004
FRAÇÃO A+ B1	56,53	46,80	39,23	35,61	0,000	0,000	0,0737
B2	27,17	25,23	33,01	33,01	0, 015	0,000	0,9963
FRAÇÃO C	6,77	9,51	9,30	9,41	0,002	0,856	0,9114
			6h				
CT	89,17	83,57	77,48	76,18	0,000	0,000	0,1691
FRAÇÃO A+ B1	58,20	50,66	35,92	32,46	0,000	0,000	0,0877
B2	24,95	25,51	31,05	33,35	0, 000	0,000	0,1528
FRAÇÃO C	6,02	7,40	10,51	10,36	0, 000	0,001	0,8755
			12h				
CT	91,69	82,33	75,98	75,31	0,000	0,000	0,4792
FRAÇÃO A+ B1	55,31	48,53	29,88	31,29	0,000	0,000	0,4801
B2	27,06	27,60	34,71	33,78	0,000	0,000	0,5586
FRAÇÃO C	8,79	7,75	11,38	10,24	0, 217	0,007	0,2506
			24h				
CT	90,01	80,80	75,57	76,22	0,000	0,000	0,4875
FRAÇÃO A+ B1	56,29	45,65	32,33	36,88	0,000	0,000	0,0259
B2	26,16	27,76	33,93	30,44	0, 001	0,002	0,0323
FRAÇÃO C	7,61	7,38	9,30	8,91	0, 254	0,008	0,6879

T: Palma + Bagaço de cana (70:30); PBSU: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia; PBSU-L1: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 1% de levedura; PBSU-L2:Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 2% de levedura. y1, y2 e y3 representam os contrastes; y1 = tratamento sem ureia *vs* com ureia; y2= com ureia sem levedura *vs* com ureia e levedura; y3= com 1% de levedura *vs* 2% de levedura; [1] % da matéria seca; *Valor de probabilidade do erro tipo I.

CONCLUSÃO

O acréscimo de aditivos, como a ureia e *S. cerevisiae,* concorrem para a melhoria do perfil nitrogenado do substrato proveniente da associação da palma forrageira e bagaço de cana-de-açúcar, haja vista, quando conjugados, favorecem o incremento da fração correspondente à proteína verdadeira digestível, em detrimento da fração composta exclusivamente por nitrogênio não proteico. Entretanto, a inclusão desses aditivos ao substrato promove o consumo das reservas de carboidratos não fibrosos, reduzindo sua fração nas dietas.

REFERÊNCIAS

AGLE, M.; HRISTOV, A.N.; ZAMAN, S.; SCHNEIDER C.; NDEGWA P.M.; VADDELLA V.K. Effect of dietary concentrate on rumen fermentation, digestibility, and nitrogen losses in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 9, p. 4211-4222, 2010.

AMORIM, B. C.; MOTA, M. M. A.; SIMÕES V. S.; SILVA, F.L.H.; OLIVEIRA L.S.C. Estudo do enriquecimento protéico do bagaço da fruta da palma forrageira (*Opuntia fícus-indica* Mill). IN: Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica, 6., 2005. Campina Grande. **Anais...** Campina Grande: COBEQ, 2006.

ANUÁRIO DA CANA. **Safra 2012/2013**. Volumes Centro/Sul e Norte/Nordeste. Ribeirão Preto: PROCANA, 2012.

ARAÚJO, L.F.; SILVA F.L.H.; BRITO, E.A.; OLIVEIRA JÚNIOR S.; SANTOS, E.S. Enriquecimento protéico da palma forrageira com *Saccharomyces cerevisiae* para alimentação de ruminantes. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia** v.60, n.2, p.401-407, 2008.

BELANCHE, A.; DOREAU, M.; EDWARDS J.E. ; MOORBY J.M.; PINLOCHE, E.; NEWBOLD, C.J. Shifts in the rumen microbiota due to the type of carbohydrate and level of protein ingested by dairy cattle are associated with changes in rumen fermentation. **Journal Nutrition**, v.142, n. 9, p.1684-1692, 2012.

BRENNECKE, K.; TECH, A.R.B; ARCE, A.I.C.; LUZ, P.H.C.; HERLING, V. R.; COSTA, E.JX. Predição dos fracionamentos de proteínas de *Brachiaria brizantha* cv Marandu utilizando RNA. **Archivos de Zootecnia**, v.60, n.232, p. 1271-1279, 2011.

BUTOLO, J.E. Uso da biomassa de levedura em alimentação animal: Propriedades, custo relativo e outras formas de nutrientes. In: ITAL. INSTITUTO TECNOLÓGICO DE ALIMENTOS. PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE LEVEDURA: UTILIZAÇÃO EM ALIMENTAÇÃO ANIMAL. **Workshop...** Campinas, São Paulo, 1996. p.70-89.

CAVALCANTI, C.V.A.; FERREIRA, M.A.; CARVALHO, M.C. Palma forrageira enriquecida com uréia em substituição ao feno de capim tifton 85 em rações para vacas da raça Holandesa em lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.689-693, 2008.

CLARK, J.H.; KLUSMEYER, T.H.; CAMERON, M.R. Microbial protein synthesis and flow of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. **Journal Dairy Science.** v.75, p. 2304-2323, 1992.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Acompanhamento de safra brasileira: cana-de-açúcar – safra 2012/2013, segundo levantamento, agosto/2012** – Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento, 2012. 18p.

CORREIA L.K.C.; AQUINO L.C.L. Aplicação da levedura *Saccharomyces cerevisiae* para o enriquecimento protéico de farinha de sementes de mangaba, **Scientia Plena** v. 8, p. 1-4, 2012.

DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.V.; QUEIROZ, A.C.; BERCHIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; CABRAL, L.S.; PINA, D.S., LADEIRA, M.M.; AZEVEDO, J.A.G. **Métodos para análise de alimentos**. INCT – Ciência Animal. Visconde do Rio Branco, MG: Suprema, 2012. 214 p.

DÍAZ-PLASCENCIA, D.; RODRÍGUES-MUELA, C.; MANCILLAS-FLORES, N. et al. Fermentación *in vitro* de nopal forrajero con un inóculo de levadura *Kluyveromyces lactis* obtenida a partir de manzana de desecho. **Revista Eletrónica de Veterinaria**. v, 13, n. 1, p. 1-7, 2012.

FERNANDES, A.P.F.V. **Leveduras isoladas de produtos frutícolas: capacidade fermentativa e estudos sobre a h^+-atpase da membrana plasmática**. 2008. 171 p. Dissertação (Doutorado em Biologia) Universidade Nova de Lisboa - Faculdade de Ciências e Tecnologia - Lisboa.

FERREIRA, M.A.; SILVA, R.R.; RAMOS, A.O.; VÉRAS, A.S.C.; MELO, A.A. S.; GUIMARÃES, A.V. Síntese de proteína microbiana e concentrações de ureia em vacas alimentadas com dietas á base de palma forrageira e diferentes volumosos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.159-165, 2009.

GOBBI, K.F.; GARCIA, R.; GARCEZ NETO, A.F. Composição química e digestibilidade *in vitro* do feno de *Brachiaria decumbens* Stapf. tratado com uréia. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, p. 43-49, 2005.

HOLANDA, J.S.; OLIVEIRA A.J.; FERREIRA A. C. Enriquecimento Protéico de pedúnculos de caju com emprego de leveduras, para alimentação animal· **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** v.33, n.5, p.79-81, 1998.

KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. Santa Maria: UFSM, 2002. 140p.

LEI, H.; WANG, H.; NING, T.; HAO W.; XU C. Protein enrichment of potato starch residue by solid state fermentation with mixed strains. **Journal of Animal and Vererinary Advances,** v. 11, p.2700-2705, 2012.

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

LIMA, C.D.S.; GOMES, H.S.; DETONI, C.E. Adição de ureia e da levedura Saccharomyces cerevisiae no enriquecimento protéico da palma forrageira (*Opuntia fícus- indica* L.) cv. Miúda. **Revista Magistra**, v.16, n. 1, p. 01-08, 2004.

LIMA, P.F.U. **Sistema de cultivo adensado de Palma Forrageira sob Adubação Orgânico-Mineral.** Patos–PB: UFCG, 2011. 46f. (Dissertação – Mestrado em Zootecnia – Sistema Agrosilvipastoris no Semiárido).

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle.** 7.ed. Washington, D.C.: National Academy of Science, 2001. 381p.

NUNES, C.S. Usos e aplicações da palma forrageira como uma grande fonte de economia para o semiárido nordestino. **Revista Verde**, v.6, p. 58 – 66, 2011.

PARDO-GAMBOA, B.S.; QUINTERO-PINTO, L.G.; PEZZATO, L.E.; SILVA, F.A. QUINTERO-PARDO, A.M.C. Nutrientes digestíveis da levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) integra e autolisada para tilápia do Nilo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia,** v.5, n. 1, p. 26-38, 2011.

RODRÍGUEZ, Z.; ELÍAS, A.; BOCOURT, R.; NÚÑEZ, Y.O. Efectos de los niveles de nitrógeno ureico en la síntesis proteica durante la fermentación de mezclas de caña (*Saccharum officinarum*) y boniato (*Ipomea batata* Lam). **Revista Cubana Ciencia Agrícola**, v.35, p.29-36, 2001.

RUSSELL, J.B.; O'CONNOR J.D.; FOX, D.G.; VAN SOEST, P.J.; SNIFFEN. C.J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. I. Ruminal fermentation. Journal Animal Science. v.70, p.3551-3561, 1992.

SANTOS, D.C.; SANTOS M.V.F.; FARIAS I.; DIAS, F.M.; LIRA, M.A. Desempenho produtivo de vacas 5/8 Holando/Zebu alimentadas com diferentes cultivares de palma forrageira (*Opuntia* e *Nopalea*) **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.1, p.12-17, 2001.

SILVA, C.C.F.; SANTOS, L.C. Palma forrageira (*Opuntia fícus- indica* Mill) como alternativa na alimentação de ruminantes. **Revista Eletrônica de Veterinária**, v. 7, n. 10, 2006. Disponível em: <www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101006/100609.pdf> Acesso em: 18 Jul. 2009.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos**: métodos químicos e biológicos. Viçosa: UFV, 2006. 235 p.

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

TOSTO M. S.L.; ARAÚJO, G.G.L.; OLIVEIRA, R.L.; BALGADO, A.R.; DANTAS, F.R.; MENEZES, D.R.; CHAGAS, E.C.O. Composição química e estimativa de energia da palma forrageira e do resíduo desidratado de vitivinícolas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Anima**l, v.8, n.3, p. 239-249, 2007.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. 2nd ed. Ithaca: Cornell University Press,1994, 436p.

VIANA, P.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, L.B.; CARVALHO, G.G.P.; RIBEIRO, L.S.O.; CHAGAS, D.M.T.; NASCIMENTO FILHO, C.S.; CARVALHO, A.O. Fracionamento de carboidratos e de proteína das silagens de diferentes forrageiras. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.41, p. 292-297, 2012.

IV – CAPÍTULO II

DEGRADAÇÃO E CINÉTICA DA FERMENTAÇÃO RUMINAL *IN VITRO* DOS CARBOIDRATOS DA PALMA FORRAGEIRA ASSOCIADA AO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR E INOCULADOS COM *Saccharomyces cerevisiae* MEYEN

RESUMO- O estudo foi conduzido com o objetivo de determinar a cinética de degradação *in vitro* de carboidratos de substratos forrageiros constituídos de palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar com ou sem a inoculação de *Saccharomyces cerevisiae*, após 24h de fermentação prévia, por meio da técnica semiautomática de produção de gases, bem como a oscilação nos teores de N-NH_3 dos tratamentos em função dos distintos tempos (0, 6, 12, 24 e 96h). Os tratamentos consistiram em: 1- palma e bagaço (T); 2- palma e bagaço com adição de sal mineral, ureia + sulfato de amônio (PBSU); 3- palma e bagaço com sal mineral, ureia+sulfato de amônio e 1% de levedura (PBSU-L1); 4- palma e bagaço com sal mineral, ureia+sulfato de amônio e 2% de levedura (PBSU-L2). A adição de *S. cerevisiae*, na proporção de 1 e 2 % de levedura, não reduziu a degradabilidade da matéria seca, bem como não afetou o tempo de colonização da palma forrageira associada ao bagaço-de-cana para a degradabilidade da matéria seca e da fibra em detergente neutro. A inclusão de 2% de levedura propiciou (após 48h de incubação) teores de nitrogênio amoniacal superiores ao mínimo preconizado para o crescimento adequado da microbiota ruminal. A inoculação da levedura permite maior produção de biomassa microbiana às 12h de incubação e são mais eficientes para promover a incorporação de matéria seca degradada à massa microbiana. Conclui-se, portanto, que o acréscimo de *S. cerevisiae*, na proporção de 1 e 2% da matéria natural, não afeta os parâmetros de degradabilidade da matéria seca para incrementar a produção de proteína verdadeira, por meio do crescimento microbiano.

Palavras-chave: degradabilidade *in vitro*, produção de gás, crescimento microbiano.

DEGRADATION AND ITS *IN VITRO* RUMINAL FERMENTATION KINETICS OF CACTUS PEAR ASSOCIATED WITH SUGARCANE BAGASSE WITH OR WITHOUT INOCULATION OF *Saccharomyces cerevisiae* MEYEN

ABSTRACT- The study was conducted to determine the kinetics of *in vitro* degradation of carbohydrates of cactus pear associated with sugarcane bagasse with or without inoculation of *Saccharomyces cerevisiae* after 24 hours of fermentation, using the technique semi-automatic gas production and fluctuation in levels of N-NH_3 of treatments at different times (0, 6.12, 24 and 96h). Treatments consisted of: 1 - cactus pear and bagasse (T); 2 - cactus pear and bagasse with mineral salt, urea + ammonium sulfate (PBSU); 3 - cactus pear and bagasse with mineral salt, urea sulfate + ammonium and 1% yeast (PBSU-L1); 4 - cactus pear and bagasse with mineral salt, urea + ammonium sulfate and 2% yeast (PBSU-L2). Addition of *S. cerevisiae* in the proportion of 1 and 2% yeast did not reduce the degradability of dry matter and did not affect the lag time associated with of cactus pear associated with sugarcane bagasse for the degradability of dry matter and neutral detergent fiber. The inclusion of 2% yeast led to concentration of ammonia nitrogen above the minimum recommended for ruminal microbial growth (after 48 h of incubation). The inoculation of the yeast allows for greater production of microbial biomass at 12h incubation and are more efficient to promote the incorporation of dry matter degraded the microbial mass. It is concluded, therefore, that the addition of *S. cerevisiae* does not affect the parameters of degradability of dry matter to increase the production of true protein via microbial growth.

Keywords: degradability *in vitro*, gas production, microbial growth.

INTRODUÇÃO

A criação de ruminantes é uma das principais atividades econômicas em vários países e está difundida em todo o mundo. Macedo Jr. et al. (2012) enfatizam que o sucesso dessa atividade está fundamentado na nutrição adequada como um dos principais pilares. Lanzas et al. (2007) sugerem, particularmente, que os carboidratos (CHO), principal nutriente do ponto de vista quantitativo, devem ter seus níveis e tipos ajustados na dieta. Isso posto, Muniz et al. (2011) reforçam que a determinação do valor nutricional de alimentos é primordial para se proceder as adequações dietéticas com fins à melhoraria dos índices de desempenho animal.

A palma forrageira apresenta elevados teores de CHO facilmente digeríveis (Muniz et al., 2011). Oliveira et al. (2011) avaliaram o tipo e conteúdo de carboidratos encontrados nos cladódios de quatro clones da palma forrageira e registraram conteúdo satisfatório de açúcares nos cladódios terciários: 21,58 e 24,11%, na estação seca e na estação chuvosa, respectivamente.

Ela apresenta ainda altos teores de pectina, constituinte da fração de carboidratos não fibrosos (CNF), cujos valores oscilam de 8,39 a 13,54%. Os CNF na palma forrageira são nutrientes importantes e necessários para que os microrganismos possam sintetizar mais rapidamente aminoácidos e proteínas a partir da disponibilização mais rápida de energia para a microbiota do rúmen. Assim, embora a palma apresente teor reduzido de proteína e matéria seca (MS), ela pode participar como fonte de energia mais prontamente assimilável na composição de substrato sólido para a síntese de proteína microbiana (Oliveira et al., 2011).

A adição de bagaço de cana-de-açúcar, no intuito de contribuir para melhorar o teor de MS em dietas à base de palma forrageira, implica também no aumento da participação de carboidratos fibrosos (CF) da mistura. Uma vez que o bagaço, resultante da extração do caldo, caracteriza-se como um alimento com altos teores de parede celular e pobre em proteína e minerais, constituindo um volumoso com baixo potencial, se administrado isoladamente na alimentação animal (Pires et al. 2004). Ele, em contrapartida, quando obtido por processos não-industriais, pode apresentar ainda quantidades significantes de carboidratos remanescentes, que podem ser utilizados para o crescimento da microbiota ruminal, quando associado à fontes adequadas de nitrogênio.

Em virtude da necessidade de alimentar a população humana e, por conseguinte, aumentar a produção de proteína por parte dos rebanhos domésticos, é cada vez mais imprescindível desenvolver processos que permitam enriquecer o valor nutritivo dos alimentos, sobretudo, aqueles com alto teor de fibras, provenientes de resíduos

lignocelulósicos que representam um recurso abundante e de baixo custo, e que podem ser convertidos por processos biotecnológicos para produção de proteína microbiana.

Nesse cenário, com o uso conjunto de palma com bagaço de cana, pode ser possível melhorar ainda mais os valores nutritivos, tanto da palma forrageira (Araújo et al., 2008) como do bagaço de cana, por meio da incorporação de nutrientes e inoculação com consequente crescimento de colônias de microrganismos (Valiños et al., 2002).

Como uma vertente dentro do extenso rol de processos biotecnológicos, mais recentemente, a utilização de *Saccharomyces cerevisiae* tem se expandido como meio de incrementar o valor proteico de alimentos e resíduos regionais, destinados aos animais, como a polpa de mandioca (Kaewwongsa et al., 2011), farinha de sementes de mangaba (Correia & Aquino, 2012) e palma forrageira (Díaz-Plascencia et al., 2012).

O uso da técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases constitui-se em uma alternativa para avaliação da cinética de fermentação de alimentos utilizados na nutrição de ruminantes. A degradação da matéria seca (DMS) possibilita avaliar o desaparecimento do substrato degradado pelos microrganismos presentes no incubado, já que os produtos da fermentação são resultantes da fermentação dos carboidratos (solúveis e insolúveis) (Theodorou et al., 1994). Assim, as taxas de degradação, calculadas com base na produção de gases, podem refletir as taxas das frações solúveis e insolúveis da palma forrageira acrescida do bagaço de cana-de-açúcar inoculados com *S.cerevisiae*. Adicionalmente, ela permite avaliar, de maneira acessória, como se comporta a disponibilidade de nitrogênio amoniacal ($N\text{-}NH_3$), visto que a digestão de carboidratos, como a celulose e a hemicelulose, é dependente do acoplamento de bactérias às partículas alimentares, pois o conjunto de microrganismos que digerem os carboidratos estruturais é, sabidamente, dependente do $N\text{-}NH_3$, que os utiliza como fonte predominante de nitrogênio (N) (Wilbert et al., 2011).

Assim, constitui-se objetivo deste estudo a determinação da cinética da degradação ruminal *in vitro* de carboidratos de substratos forrageiros, constituídos por palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar com ou sem a inoculação de *S. cerevisiae,* por meio da técnica semiautomática de produção de gases e da quantificação dos teores de $N\text{-}NH_3$ dos incubados.

MATERIAL E MÉTODOS

A palma forrageira, usada no ensaio, foi oriunda de cultivo estabelecido exclusivamente para este fim. O bagaço de cana-de-açúcar foi proveniente da moagem artesanal de cana-de-

açúcar, sendo picado imediatamente após sua obtenção com o auxílio de máquina forrageira.

Os cladódios da palma forrageira foram selecionados a partir da segunda ordem, os quais foram inspecionados quanto à sanidade e, posteriormente, picados em tiras com dimensões aproximadas de 0,5 x 4,0 cm, proporcionando cortes longitudinais para a máxima exposição da mucilagem, característica da palma.

Os substratos incubados continham 70% de palma forrageira e 30% de bagaço de cana-de-açúcar (matéria natural-MN). Três quilogramas do material, assim misturados, foram pesados e acondicionados em bandejas plásticas retangulares, previamente identificadas. Cada bandeja constituiu uma das quatro repetições de cada tratamento, como se segue: 1- palma e bagaço (T); 2- palma e bagaço com adição de sal mineral (composição - Tabela 6), ureia + sulfato de amônio (PBSU); 3- palma e bagaço com sal mineral, ureia+sulfato de amônio e 1% de levedura (PBSU-L1); 4- palma e bagaço com sal mineral, ureia+sulfato de amônio e 2% de levedura (PBSU-L2).

Tabela 6. Composição da mistura mineral utilizada no enriquecimento dos substratos

Mineral	Quantidade/kg
Cálcio	120 g
Fósforo	88 g
Cobalto	55,50 mg
Cobre	1.530 mg
Ferro	1.800 mg
Iodo	75 mg
Manganês	1.300 mg
Selênio	15 mg
Zinco	3.630 mg
Sódio	126 g
Flúor	880 mg
Enxofre	12 g

Fonte: Rótulo do produto (adaptado)

Aos tratamentos 2, 3 e 4, foi aplicado o sal mineral e a ureia + sulfato de amônio (9:1) na proporção de 0,3 e 0,5% da matéria natural, respectivamente. Como inóculo da levedura, para os tratamentos 3 e 4, utilizou-se o fermento biológico fresco para a panificação, com umidade de 70% (matéria úmida) e proteína bruta 45% (matéria seca). O material permaneceu à temperatura ambiente, por 24h, quando amostras de cerca de 500 g foram retiradas, acondicionadas em bandejas de alumínio retangulares e levadas para estufa para secagem a 60º C, até peso constante. Depois de moídas em moinho mecânico tipo Willey, com peneira de 1 mm, as amostras foram submetidas às análises químicas, para a determinação dos teores de matéria seca (MS), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA),

lignina (LIG), hemicelulose (HEM), celulose (CEL), cinza (MM) e extrato etéreo (EE), pelo método modificado por Detmann (2012). O teor de PB foi obtido pelo método semimicro Kjeldahl (Silva & Queiroz, 2006).

O teor de carboidratos totais (CT) foi estimado conforme Sniffen et al. (1992), e foi obtido por meio da seguinte fórmula: CT = 100 – (PB + EE + MM). Os CNF foram estimados pela seguinte fórmula: CNF = 100 - (PB + FDN_{CP} + EE + MM), em que FDN_{CP} corresponde ao FDN corrigido para cinza e proteína. A fração correspondente aos carboidratos fibrosos (CF) foi calculada somando-se os valores relativos à fibra disponível (FDN). A fração C, por sua vez, foi estimada por meio da multiplicação do valor percentual da fração de lignina pela constante 2,4. Os teores de nutrientes digestíveis totais (NDT) dos distintos tratamentos foram calculados de acordo com o NRC (2001), em nível de mantença, como segue: NDT (%) = NDT= CNFd + PBd + (AGd - 1 x 2,25) + FDNnd - 7, em que: o valor 7 refere-se ao NDT fecal metabólico; CNFd, os carboidratos não fibrosos digestíveis; PBd, a proteína bruta digestível; AGd, ácidos graxos digestíveis (EE - 1); FDNnd, FDN corrigida para nitrogênio digestível.

Para proceder ao estudo pertinente à degradação e cinética da fermentação ruminal nos tratamentos propostos, um grama (1g) de amostra foi acondicionado aos frascos de fermentação (160 mL) previamente saturados com dióxido de carbono (CO2). Com auxílio de proveta, foram adicionados 90 mL do meio de cultura. Foram utilizados três frascos por repetição de cada tratamento, os quais, após a aferição da pressão, foram destinados à determinação do desaparecimento da MS e FDN, bem como da concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH3) em tempos pré-estabelecidos (6, 12, 24, 48 e 96h). Frascos contendo somente líquido ruminal e meio de cultura constituíram-se nos brancos. O meio de cultura, por sua vez, constituiu-se de solução tampão, macro e microminerais, rezasurina e agentes redutores, o qual foi preparado conforme a recomendação de Theodorou et al. (1994). Doze horas antes da inoculação, os frascos foram levados para estufa a 39ºC. O líquido ruminal (obtido de vacas não gestantes, portadoras de cânula ruminal e mantidas em pasto de *Brachiaria decumbens*, com prévia adaptação de 10 dias da microbiota ruminal aos ingredientes do substrato), após ser retirado, foi filtrado em gaze e armazenado em garrafas térmicas previamente aquecidas. No laboratório, o líquido ruminal foi novamente filtrado, utilizando-se duas camadas de tecido de algodão sob injeção contínua de CO2, mantido em banho-maria a 39ºC. A inoculação foi realizada com 10 mL do líquido ruminal por frasco, utilizando seringa plástica. Os frascos foram vedados com rolhas de borracha (14 mm), que permitem a mensuração da pressão internas nos frascos, exercida pelos gases produzidos no

processo fermentativo. A pressão originada pelos gases acumulados na parte superior dos frascos foi medida por meio de um transdutor de pressão (tipo T443A, Bayley & Mackey, Inglaterra), conectado em sua extremidade a uma agulha (25 x 0,7 mm). As leituras de pressão foram obtidas nos tempos 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 18, 21, 24, 30, 36, 48, 72 e 96h. Neste procedimento, a pressão no interior dos frascos, formada pelo acúmulo dos gases, foi medida em unidades elétricas (mV) e, posteriormente, convertidas em volume de gás (mL) pela equação proposta por Figueiredo et al. (2003), ajustada para a altitude local: V = – 002 + 4.30*p + 0.07*p2, em que V= volume de gases (mL) e p= pressão do gás no interior do frasco de fermentação (psi).

Retiraram-se os frascos em quadruplicatas, nos tempos 6, 12, 24, 48 e 96h, para análise da degradação da MS, FDN e quantificação do N-NH3. Após as medições do pH, a degradação aparente da MS (DAMS) foi determinada por diferença de peso das amostras, antes e depois de incubadas, já a degradação verdadeira da MS foi determinada por diferença de peso entre a DAMS e a submissão do resíduo à fervura em solução de FDN.

Para degradação da FDN, o resíduo do substrato incubado foi submetido à digestão em detergente neutro, sob fervura, por 1h. Os resíduos de fermentação foram obtidos através de filtração do conteúdo dos frascos em cadinhos de vidro sinterizado com porosidade média (Pirex - Vidrotec®), forrados com lã de vidro. Os cadinhos foram secos por 24 horas em estufa a 105°C e pesados para cálculo dos valores da degradabilidade da matéria seca (DMS). Para a degradação da FDN, foi utilizado o modelo de Mertens & Loften (1980), de acordo com a fórmula: $\hat{Y} = b\times e^{(-c\times(T-L)}) + I$, quando $t > L$ e $\hat{Y} = b + I$, quando $0 < t < L$, em que "Y" é o resíduo não degradável no tempo T; "b", a fração potencialmente degradável da fibra (no tempo $t \leq L$, $b = \hat{Y} - I$); "c", a taxa de degradação de b (h-1); "T", o período de incubação, em horas; "L", a latência ou tempo de incubação (h); e "I", a fração indigestível da fibra.

As determinações de $N\text{-}NH_3$ foram adaptadas de Sampaio (2010), em que uma alíquota de 50 mL foi acondicionada em recipiente de plástico com 1 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 1:1 e, posteriormente, congelada a -20ºC. Após descongelamento das amostras, estas foram centrifugadas por 15 minutos a 3000 rpm e 2 mL do sobrenadante transferido para tubos de destilação. Na destilação, foi utilizado solução de hidróxido de potássio (KOH) 0,2 N para aumento do pH e volatilização da amônia, que foi recebida em solução de ácido bórico a 2%, até um volume de 50 mL. As amostras finais foram tituladas com HCl 0,005 N.

A biomassa microbiana (BM) (g/kg de MS digestível) foi mensurada a partir da diferença entre o substrato aparentemente degradado e o verdadeiramente degradado (Blümmel et al. 1997). Já o fator de partição (FP), foi obtido pela divisão dos valores do

substrato verdadeiramente degradado (g/kg) pela produção de gases (mL), em cada tempo de degradação (Blümmel et al. 1997; Blümmel et al. 1999), para comparar os quatro tratamentos em relação as suas eficiências de degradação e produção de gases.

Para o cálculo dos parâmetros da produção de gases, os resultados mensurados foram ajustados de forma não linear, utilizando-se o modelo bicompartimental proposto por Schofield et al. (1994), descrito a seguir: $V = Vf1 / (1 + \exp(2 - 4*C1*(T - L))) + Vf2 / (1 + \exp(2 - 4*C2*(T - L)))$, em que Vf1 equivale ao volume máximo de produção de gases dos carboidratos não fibrosos (CNF); C1 corresponde à taxa de degradação (%/h) da mesma fração; Vf2 refere-se ao volume máximo de produção de gases da fração dos carboidratos fibrosos (CF); C2 representa a taxa de degradação (%/h) dos CF; e T e L referem-se aos tempos de incubação (em horas) e à latência (em horas), respectivamente. As estimativas de quadrados mínimos dos parâmetros descritos no modelo matemático foram obtidas utilizando-se métodos iterativos não lineares (Gauss-Newton).

Para as variáveis produção cumulativa de gases (PCG), degradabilidade aparente da matéria seca (DAMS), degradabilidade verdadeira da matéria seca (DVMS), produção de gases (PG) da degradação dos CNF e CF, BM, FP, e pH, adotou-se o esquema em parcelas, subdividas 4x5, sendo nas parcelas quatro substratos (T, PBSU, PBSU-L1, PBSU-L2) e nas subparcelas cinco períodos de fermentação (6, 12, 24, 48 e 96h), conduzido no delineamento inteiramente casualizado com quatro réplicas de análises.

A interação foi desdobrada, ou não, de acordo com a significância. Os substratos foram comparados em cada tempo, por meio do teste de Tukey, e o efeito dos períodos de fermentação foi avaliado por modelos de regressão não lineares.

As pressuposições para análise de variância foram avaliadas. A normalidade dos erros associados ao modelo estatístico foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. Os dados que não apresentaram normalidade dos erros foram transformados, conforme recomendações apresentadas por Box & Cox (1994).

Para as demais variáveis avaliadas, no tempo de 96h de fermentação, nas quais foram avaliados quatro substratos, adotou-se o modelo inteiramente casualizado com quatro repetições e as médias dos tratamentos comparadas por meio do teste de Tukey. Adotou-se, em todas as análises, 5% com nível crítico de probabilidade do erro tipo I.

Tabela 7. Composição química de palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar com e sem a inoculação de *Saccharomyces cerevisiae* após 24h de incubação

Parâmetro	Tratamento			
	T	PBSU	PBSU-L1	PBSU-L2
Matéria seca	18,09	19,40	16,86	16,73
Matéria mineral[1]	5,13	5,99	7,25	7,96
Matéria orgânica[1]	94,87	94,02	92,75	92,04
Proteína bruta	3,38	11,86	16,04	14,46
Fibra em detergente neutro[1]	34,84	36,18	44,60	42,03
Fibra em detergente ácido[1]	21,13	21,88	26,90	24,74
Extrato etéreo[1]	1,44	1,36	1,14	1,35
Lignina[1]	3,17	3,08	3,88	3,71
Celulose[1]	17,86	18,60	23,85	21,95
Hemicelulose[1]	13,71	14,31	17,70	16,56
Carboidratos totais[1]	90,47	83,57	75,98	76,22
Carboidratos não-fibrosos[1]	58,83	52,91	31,37	39,35
Carboidratos fibrosos[1]	30,84	30,65	44,61	36,87
Nutrientes digestíveis totais[1,2]	69,14	68,44	62,52	63,73

[1] (% da MS); [2]Nutrientes digestíveis totais: estimado de acordo com NRC (2001) para 1x exigência de mantença.T: Palma + Bagaço de cana (70:30); PBSU: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% uréia com sulfato de amônio (9:1); PBSU-L1: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% uréia com sulfato de amônio e 1% de levedura; PBSU-L2:Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% uréia com sulfato de amônio e 2% de levedura.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em conformidade com os distintos tratamentos, observaram-se variações na composição químico-bromatológica, particularmente nos resultados obtidos para MS, CT e CNF, que foram inferiores para PBSU–L1 e PBSU–L2, bem como para os teores percentuais mais elevados de CF e PB, os quais podem auxiliar a explicação da cinética fermentativa desses tratamentos em relação aos demais (Tabela 7).

Ao considerar a PCG, nos períodos de 6, 12, 24, 48 e 96h, registrou-se que não houve diferenças entre os tratamentos que receberam o inóculo de levedura na proporção de 1 e 2% (PBSU –L1 e PBSU –L2, respectivamente). No entanto, diferiram estatisticamente ($P<0,05$) de T e PBSU em todos os tempos de mensuração (Tabela 8). A menor produção de gases encontrada para PBSU–L1 e PBSU–L2 é provavelmente devido ao fato de que as leveduras consomem carboidratos de menor peso molecular, inseridos no grupo dos CNF, como a glicose, por exemplo (Mcdonald, 1991), resultando, assim, na menor produção de gases, como o CO_2 e o CH_4. Noguera et al. (2005) explicam que a produção de gases ocorre no processo fermentativo por meio da conversão de todas as principais fontes ricas de energia, como pectinas, amido, celulose e hemicelulose em CO_2 (dióxido de carbono) e CH_4 (metano). Assim, entende-se que, ao metabolizar os carboidratos solúveis, convertendo-os em proteína,

as leveduras inoculadas os tornam indisponíveis para serem fermentados e produzirem gases. Quanto aos tratamentos T e PBSU, foram encontrados valores médios semelhantes (P>0,05) durante os três primeiros períodos, entretanto, considerando-se a PCG, às 48h e 96h, houve diferença (P<0,05) entre as médias, que indicaram maiores PCG para o tratamento T. Após 96 h de incubação, o tratamento T foi o substrato com o maior volume relativo à produção cumulativa de gás (246,9 mL/g de MS incubada) e os tratamentos PBSU-L1 e PBSU-L2 foram os que apresentaram menor volume (186,1 e 189,6 mL/g de MS incubada, respectivamente) (Tabela 8; Figura 1), enquanto que o tratamento que continha apenas ureia situou-se de forma intermediária entre os dois agrupamentos (Figura 1).

Sá et al. (2011) mencionam que quanto maiores os valores de PB da dieta, menor a produção de gases, e citam que, nessas circunstâncias, o aumento no teor de PB, em detrimento dos teores de CNF, promovem uma redução no crescimento microbiano inicial e, consequentemente, na produção de gases. Fato que observaram ao verificar que, para o capim Brachiaria brizanta, o corte aos 54 dias proporcionou menor produção cumulativa de gases (160,0 mL), pois foi o período em que verificaram maior teor de PB e, consequentemente, menor teor de CNF, quando comparado com as amostras cortadas aos 28 (180,6 mL) e 35 dias (186,5 mL). Khazaal et al. (1995), adicionalmente, explicam que maiores conteúdos de proteínas dos substratos resultam na formação de bicarbonato de amônio, a partir de CO2, reduzindo a sua contribuição para produção de gases. Essa explicação pode estar de acordo com os resultados obtidos neste estudo, já que PBSU, PBSU-L1 e PBSU-L2, devido à adição da ureia com sulfato de amônio, 1 e 2% de *S. cerevisiae*, tiveram o acréscimo imediato (no momento montagem do experimento) de 39,8, 43,85 e 47,9 g de PB, respectivamente, em relação à testemunha. Além disso, reportando-se aos dados da Tabela 7, verifica-se que, para cada grama de MS do material incubado, há 3,38; 11,86; 16,04 e 14,46% de PB para T, PBSU, PBSU-L1 e PBSU-L2, respectivamente, justificando o comportamento de cada um desses tratamentos, quando se verifica a produção cumulativa de gases (Figura 1).

Tabela 8. Produções cumulativas de gases (PCG) de alimentos compostos por palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar com e sem a inoculação de *Saccharomyces cerevisiae*

Tratamentos[1]	Períodos de fermentação (horas)						
	6	12	24	48	96		
	PCG (mL/g)					Equações	R²
T	57,1a	109,3a	171,9a	217,5a	246,9a	$y = -0,0504x^2 + 7,0173x + 19,491$	0,96
PBSU	58,6a	102,2a	157,0a	197,8b	224,0b	$y = -0,0439x^2 + 6,1311x + 23,953$	0,96
PBSU-L1	38,0b	72,2b	124,9b	162,6c	186,1c	$y = -0,0362x^2 + 5,1668x + 11,36$	0,98
PBSU-L2	37,4b	74,9b	131,4b	168,4c	189,6c	$y = -0,039x^2 + 5,474x + 10,527$	0,97

[1]T: Palma + Bagaço de cana (70:30); PBSU: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% uréia; PBSU-L1: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% uréia e 1% de levedura; PBSU-L2:Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% uréia e 2% de levedura; CV= 9,26%. Valores seguidos por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade (P<0,05).

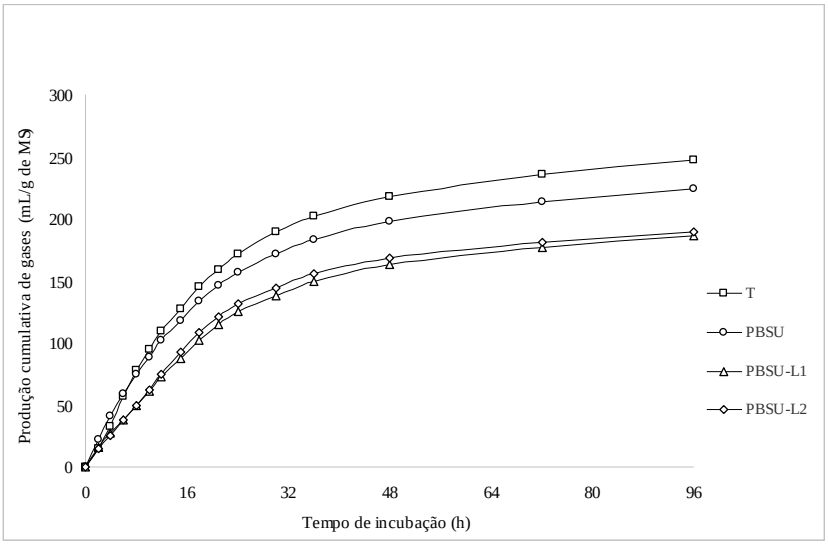

Figura 1. Produção cumulativa de gases às 6, 12, 24, 48 e 96 horas de incubação dos tratamentos T: Palma + Bagaço de cana (70:30); PBSU: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% uréia; PBSUL -1: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% uréia e 1% de levedura; PBSU -L2: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% uréia e 2% de levedura

Para a degradabilidade aparente da matéria seca (DAMS), constatou-se diferença estatística (P<0,05) apenas entre PBSU (417,26 g/kg) e PBSU-L2 (334,41 g/kg) e somente nas primeiras 6h de incubação (Tabela 9). Tal fato pode ser explicado em virtude de o NNP, oriundo da aplicação da ureia, ser prontamente disponível aos microrganismos do rúmen e altamente solúvel em água (Carvalho et al., 2007), resultando em aumento da população. No tratamento PBSU-L2, o maior percentual de levedura inoculado, possivelmente, consumiu o NNP proveniente do substrato (palma e bagaço) e da ureia com maior rapidez, o que pode ter desfavorecido o crescimento inicial dos microrganismos ruminais.

Assim, concordando com Kampha et al. (2009), a maior disponibilidade de NNP e CNF, presentes no PBSU, possibilitaram a maior DAMS por parte dos microrganismos, inicialmente neste tratamento. A partir das 12 h de incubação, não foram registradas diferenças (P<0,05) entre os tratamentos (Tabela 9). Mizubuti et al. (2011) afirmam que 48h é o tempo médio de retenção do alimento no rúmen e que a degradação ocorrida, quando se atinge este tempo de mensuração, pode ser usada como parâmetro avaliativo da qualidade fermentativa do alimento. Essa inferência mostra que a não inclusão de ureia e o inóculo de levedura não prejudicam a qualidade fermentativa dos tratamentos.

Nos dados obtidos para a degradabilidade verdadeira da matéria seca (DVMS), verificou-se que, no primeiro período de observação (6h), os tratamentos T e PBSU apresentaram degradação semelhante (630,08 e 652,88 g/kg, respectivamente) (P>0,05), contudo, PBSU diferiu (P<0,05) de PBSU-L1 e PBSU-L2 (598,08 e 583,24 g/kg, respectivamente) que, por sua vez, não apresentaram diferenças entre si (P>0,05). Para o período de 12h, a única diferença (P<0,05) registrada foi entre T (667,51 g/kg) e PBSU-L1 (709,20g/kg). O período que corresponde ao registro de dados às 24h apontou maior (P<0,05) DVMS de PBSU (754,93 g/kg) em relação aos demais tratamentos, provavelmente, em razão da contribuição do NNP para o crescimento microbiano, bem como com o consumo prévio de matéria seca pelas leveduras. Já após 48h de incubação, PBSU (814,99 g/kg) não diferiu (P>0,05) de T (804,99 g/kg), e apresentaram resultados de DVMS superiores à PBSU-L1 (761,91g/kg) e PBSU-L2 (784,15 g/kg). Nas 96h, não foram constadas diferenças (P>0,05) entre os tratamentos. Indicando que o maior aporte de CNF, nos tratamentos T e PBSU, possam ter favorecido a maior DAMS nesses tratamentos. Já a diferença entre a DAMS e DVMS é devida à retirada dos microrganismos solubilizados, após submissão das amostras ao tratamento com detergente neutro (Nogueira et al., 2006).

Os resultados da relação entre as produções de gases (mL) e a DAMS, nos tempos 6, 12, 24, 48 e 96h, indicam coeficientes de determinação mais altos para os tratamentos T (R^2 = 0,94), PBSU-L1 (R^2 = 0,92) e PBSU-L2 (R^2 = 0,90). PBSU apresentou coeficientes de determinação inferior (R^2 = 0,78) (Tabela 5). Já para a relação entre a produção de gases e a DVMS, os dados revelaram os seguintes coeficientes: PBSU (R^2 = 0,89), PBSU-L2 (R^2 = 0,88), PBSU-L1 (R^2 = 0,83) e T (R^2 = 0,78) (Tabela 10). Diante da observação desses dados, verifica-se que a produção cumulativa de gases possibilitou estimar melhor as curvas de degradação aparente da MS para esses substratos estudados, a exceção de PBSU, cuja produção de gases explicou melhor a DVMS.

Tabela 9. Degradabilidade aparente (DAMS) da matéria seca e degradabilidade verdadeira da matéria seca (DVMS) de alimentos compostos por palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar com e sem a inoculação de *Saccharomyces cerevisiae*

Tratamentos[1]	DAMS (g/kg)					Equações	R²
	6	12	24	48	96		
T	395,27ab	473,75a	583,52a	667,47a	725,21a	0,8137x2 + 33,278x + 394,04	0,99
PBSU	417,26a	483,73a	560,38a	677,70a	754,91a	-0,6144x2 + 29,144x + 410,5	1
PBSU-L1	345,56ab	423,69a	546,08a	625,07a	739,88a	-0,6791x2 + 32,594x + 346,61	0,99
PBSU-L2	334,41b	431,77a	522,48a	644,47a	700,92a	-0,8852x2 + 36,573x + 333,08	1
	DVMS (g/kg)						
T	630,08ab	667,51b	707,44b	804,99a	843,15a	-0,4089x2 + 19,187x + 620,51	0,99
PBSU	652,88a	687,48ab	754,93a	814,99a	828,68a	0,5272x2 + 20,297x + 645,78	0,98
PBSU-L1	598,08bc	709,20a	714,77b	761,91b	810,06a	-0,4385x2 + 18,227x + 621,86	0,91
PBSU-L2	583,24c	680,37ab	710,15b	784,15b	820,33a	-0,5787x2 + 23,199x + 595,4	0,98

[1]T: Palma + Bagaço de cana (70:30); PBSU: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% uréia; PBSUL -1: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% uréia e 1% de levedura; PBSU-L2:Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% uréia e 2% de levedura.Valores seguidos por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade (P<0,05) (DAMS: CV= 7,01%; DVMS: CV= 3,59%).

Tabela 10. Relação entre a produção de gases com a degradabilidade aparente da matéria seca (DAMS) e degradabilidade verdadeira da matéria seca (DVMS) com suas respectivas equações em alimentos compostos por palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar com ou sem a inoculação de *Saccharomyces cerevisiae*

Tratamentos[1]	Equações de regressão		
	DAMS		
	equações[2]	R^2	P
T	DAMSn (g/kg) = 1,756*PGn + 288,21	0,94	P<0,01
PBSU	DAMSn (g/kg) = 2,004*PGn + 282,36	0,78	P<0,01
PBSU-L1	DAMSn (g/kg) = 2,526*PGn + 241,18	0,92	P<0,01
PBSU-L2	DAMSn (g/kg) = 2,347*PGn + 244,39	0,90	P<0,01
	DVMS		
	equações[3]	R^2	P
T	DVMSn (g/kg) = 0,831*PGn + 606,35	0,78	P<0,01
PBSU	DVMSn (g/kg) = 0,936*PGn + 614,15	0,89	P<0,01
PBUL-1	DVMSn (g/kg) = 1,291*PGn + 565,78	0,83	P<0,01
PBUL-2	DVMSn (g/kg) = 1,300*PGn + 562,63	0,88	P<0,01

[1]T: Palma + Bagaço de cana (70:30); PBSU: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% uréia; PBSUL -1: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% uréia e 1% de levedura; PBSU-L2:Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% uréia e 2% de levedura. [2]DAMS = degradabilidade aparente da matéria seca no período n (horas) de fermentação (g/kg) e PG = produção de gases no período n (horas) de fermentação (mL). [3]DVMS = degradabilidade verdadeira da matéria seca no período n (horas) de fermentação (g/kg) e PG = produção de gases no período n (horas) de fermentação (mL).

Foi possível verificar que houve variação significativa para os parâmetros cinéticos de degradação *in vitro* dos tratamentos em estudo. Esta variação confere diferenças importantes entre os tratamentos, uma vez que aponta maior ou menor digestibilidade dos mesmos. A testemunha (T) apresentou maior taxa de degradação de CNF (KdCNF) ($P<0,05$), quando comparado aos demais alimentos. Entretanto, essa maior taxa não resultou em maior volume final de gases produzidos, oriundos dos CNFs (VfCNF) em relação aos demais, já que, para esse parâmetro, não houve diferença entre os tratamentos ($P>0,05$) (Tabela 11). Isso porque, mesmo mediante maior taxa de digestão de determinado substrato, a fermentação de carboidratos solúveis pode propiciar maior produção de propionato e, conseqeentemente, menor produção de gases, por envolver a captura do hidrogênio (H_2) e não implica em formação de dióxido de carbono (CO_2) (Nogueira et al. 2006). Outra possibilidade diz respeito à natureza do próprio substrato, que é fermentado mais rapidamente, aumentando proporcionalmente a produção de gases no ínicio da fermentação ,refletindo-se no incremento de KfCNF. Os carboidratos da cana-de-acúcar, por exemplo, são rapidamente fermentados (Fernandes et al., 2003).

O volume da produção de gases, resultante da degradação dos carboidratos fibrosos (VfCF), foi maior para T (141,63 mL/g) e PBSU (118,18 mL/g). Entretanto, para a taxa de degradação dos carboidratos fibrosos (KdCF), só foi registrada diferença ($P<0,05$) entre T (0,023%/h) e PBSU-L1 (0,018%/h) (Tabela 11). Considerando-se a premissa do modelo logístico bicompartimental, Schofield et al. (1994) assumem que a produção de gases é proporcional à população microbiana e à concentração do substrato potencialmente degradável. Neste caso, supõe-se que PBSU-L1 e PBSU-L2, no início do processo fermentativo, ofereceram condições necessárias para o desenvolvimento de microrganismos não-fibrolíticos, devido ao maior fornecimento de N ligado à fração proteica (proveniente da inclusão de leveduras), possibilitando que, embora estivessem em menor proporção, os CNF desses substratos fossem degradados com mais eficiência, o que não ocasionou diferença no volume de gases produzidos entre os tratamentos, pela fermentação dessa fração.

Porém, no decorrer do processo fermentativo, no caso de PBSU-L1 e PBSU-L2, a disponibilidade e o caráter do substrato fibroso constituíram um fator limitante à taxa de produção de gases, quando a menor produção total de gases oriunda da degradação da fração fibrosa para PBSU-L1 e PBSU-L2 pode estar relacionada aos teores superiores de lignina encontrados para esses tratamentos (Tabela 7). Ainda no mesmo contexto, Detmann (2010) assevera essa justificativa ao sugerir também que esse fenômeno possa ser explicado admitindo-se que os microrganismos que degradam CNF apresentam taxa de degradação

superior aos que degradam a fibra (Tabela 11), desta forma, a maior velocidade de crescimento desses microrganismos implica em assimilação mais rápida de substrato solúvel, podendo, em algumas situações, reduzir o crescimento dos microrganismos fibrolíticos por competição, o que pode ter ocorrido para PBSU-L1 e PBSU-L2.

Outro parâmetro considerado importante é o tempo de colonização (L), que está relacionado com a degradação da fração fibrosa (Mertens & Loften, 1980). Os tratamentos T, PBSU-L1 e PBSU-L2 foram os que requisitaram maior tempo para a colonização (2,82, 2,35 e 2,76h, respectivamente) e não diferiram entre si (P>0,05), mas diferiram (P<0,05) de PBSU (1,11h). Muniz et al. (2011) afirmam que maior tempo de colonização associa-se fortemente à taxa de degradação e produção total de gases e evidenciam que à medida que se aumenta o tempo de colonização, a taxa de degradação e o volume total de gás diminuem, fato que pode explicar a menor produção total de gases em PBSU-L1 e PBSU-L2. Contudo, os dados registrados para T contrariam essa afirmação, já que, para esse tratamento, o volume total de gases produzido (240,10 mL/g) foi superior (P<0,05) aos demais. Para elucidar esse fato, reporta-se à Tabela 7, na qual se verifica que o teor de CT para esse tratamento foi superior aos demais, ou seja, mesmo que tenha requerido um tempo maior de colonização, muito provavelmente, devido ao desbalanço entre os teores de N e CHO, os maiores percentuais desde último constituinte permitiu maior produção dos gases, produtos da fermentação dos carboidratos (Tabela 11).

Tabela 11. Médias de volume final de produção de gases oriundos da degradação de carboidratos fibrosos (VfCF) e não-fibrosos (VfCNF), suas respectivas taxas de degradação (KdCF e KdCNF) e *lag time* de alimentos compostos por palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar com e sem a inoculação de *Saccharomyces cerevisiae*

Parâmetros[2]	Tratamentos[1]				CV (%)
	T	PBSU	PBSU-L1	PBSU-L2	
VfCNF(mL/g)	98,475a	102,025a	96,250a	100,725a	12,49
KdCNF (%/h)	0,096a	0,070b	0,057b	0,060b	16,25
L (h)	2,82a	1,11b	2,35a	2,76a	16,50
VfCF(mL/g)	141,63a	118,18a	88,15b	86,88b	12,40
KdCF (%/h)	0,023a	0,020ab	0,018b	0,019ab	10,15
Total (mL/g)	240,10a	220,20b	187,60c	184,40c	3,30

[1]T: Palma + Bagaço de cana (70:30); PBSU: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% uréia; PBSUL -1: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% uréia e 1% de levedura; PBSU-L2:Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% uréia e 2% de levedura.Valores seguidos por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05) 2 Parâmetros: VfCNF: volume máximo de produção de gases da fração dos CNF; KdCNF: taxa de digestão para a fração dos CNF; L: tempo de colonização; VfCF: volume máximo da produção de gases da fração dos CF; KdCF: taxa de digestão para a fração dos CF. Valores seguidos por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade (P<0,05).

As diferenças na produção de gases, decorrentes das degradações de CF e CNF, podem ser visualizadas para cada tratamento, na Figura 2, na qual se verifica que, embora apresentem percentual de CNF inferior aos demais tratamentos, PBSU-L1 e PBSU-L2, produziram volume de gases referente à degradação da fração não fibrosa, que não diferiram (P<0,05) de T e PBSU.

Já em relação à fração de CF, que pode ser considerada a fração de lenta degradação da MS incubada, observou-se que os tratamentos enriquecidos com levedura, PBSUL-1 e PBSUL-2 produziram menor volume de gases (Figura 2). Esses tratamentos foram os que também apresentaram os maiores percentuais de lignina na MS, em contraponto aos menores teores desse constituinte para T (Tabela 7). Os maiores percentuais de lignina em PBSUL-1 e PBSUL-2 foram registrados em virtude do menor teor de MS nesses tratamentos, como se trata de uma fração indigestível, o consumo dos demais componentes da MS possibilitou que a lignina representasse uma maior fração do conteúdo total de MS. Van Soest (1994) associa os teores de lignina à limitação da degradação ruminal das forragens e à redução da fração fibrosa potencialmente degradável da parede celular.

As diferenças na produção de gases, decorrentes das degradações de CF e CNF, podem ser visualizadas para cada tratamento na Figura 2, na qual se verifica que, embora apresentem percentual de CNF inferior aos demais tratamentos, PBSU-L1 e PBSU-L2, produziram volume de gases referente à degradação da fração não fibrosa que não diferiram (P<0,05) de T e PBSU.

Já em relação à fração de CF, que pode ser considerada a fração de lenta degradação da MS incubada, observou-se que os tratamentos enriquecidos com levedura, PBSUL-1 e PBSUL-2, produziram menor volume de gases (Figura 2). Esses tratamentos foram os que também apresentaram os maiores percentuais de lignina na MS, em contraponto aos menores teores desse constituinte para T (Tabela 7). Os maiores percentuais de lignina em PBSUL-1 e PBSUL-2 foram registrados em virtude do menor teor de MS nesses tratamentos, como se trata de uma fração indigestível, o consumo dos demais componentes da MS possibilitou que a lignina representasse uma maior fração do conteúdo total de MS. Van Soest (1994) associa os teores de lignina à limitação da degradação ruminal das forragens e à redução da fração fibrosa potencialmente degradável da parede celular.

Avaliando-se a produção não cumulativa de gases, observa-se que os tratamentos PBSU, PBSU-L1 e PBSU-L2 apresentaram seus picos para a produção de gases às duas horas de incubação (Figura 3), provavelmente, devido à sincronização dos açúcares solúveis do bagaço da cana-de-açúcar e da pectina da palma com o NNP proveniente da ureia, ou o N,

ligado às cadeias de aminoacídicas e proteicas encontradas em PBSU-L1 e PBSU-L2. Já para T, provavelmente em razão de um desbalanceamento das fontes de carboidratos e nitrogenadas, com pico de produção de gás aparecendo apenas na sexta hora de incubação.

No entanto, os tratamentos que receberam 1 e 2% de levedura foram os que apresentaram menores taxas de produção de gases, eles apresentaram menor produção de gases porque, na composição do substrato incubado, havia menos CHO do que nos outros substratos (Tabela 7). Considerando que as leveduras são os principais microrganismos capazes de fermentar os carboidratos solúveis contidos na fração de CNF, presentes na cana (Lopes & Evangelista, 2010) e utilizam muito bem os CNF da palma para síntese de compostos proteicos (Araújo et al., 2009), a redução nos teores de CHO, em PBSU-L1 e PBSU-L2, provavelmente, deve-se à prévia conversão dos CHO fermentescíveis em proteína microbiana e gases antes da incubação das amostras dos referidos tratamentos.

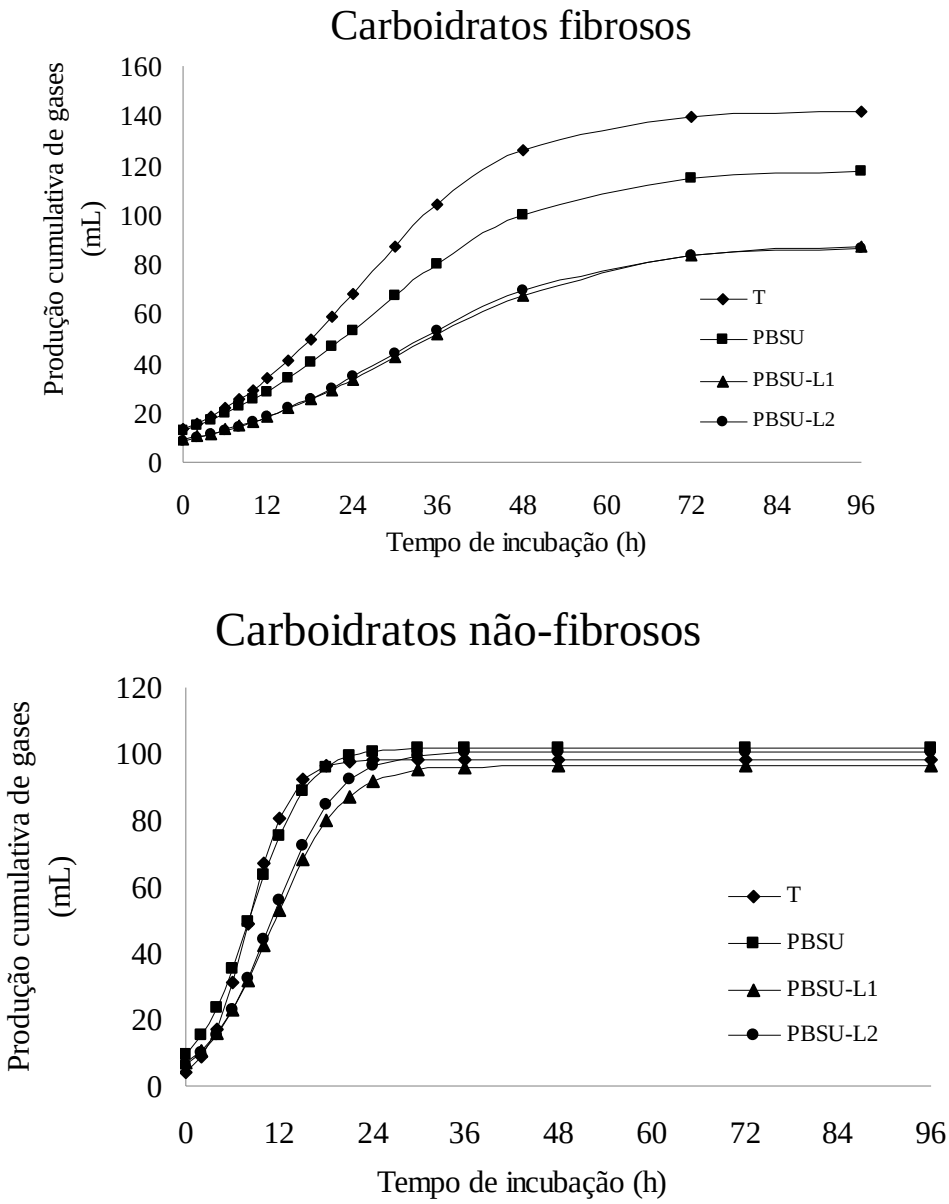

Figura 2. Produção de gases oriunda da degradação dos carboidratos fibrosos e dos carboidratos não-fibrosos, às 6, 12, 24, 48 e 96 horas de incubação dos tratamentos T: Palma + Bagaço de cana (70:30); PBSU: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia; PBSUL -1: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 1% de levedura; PBSU -L2: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 2% de levedura.

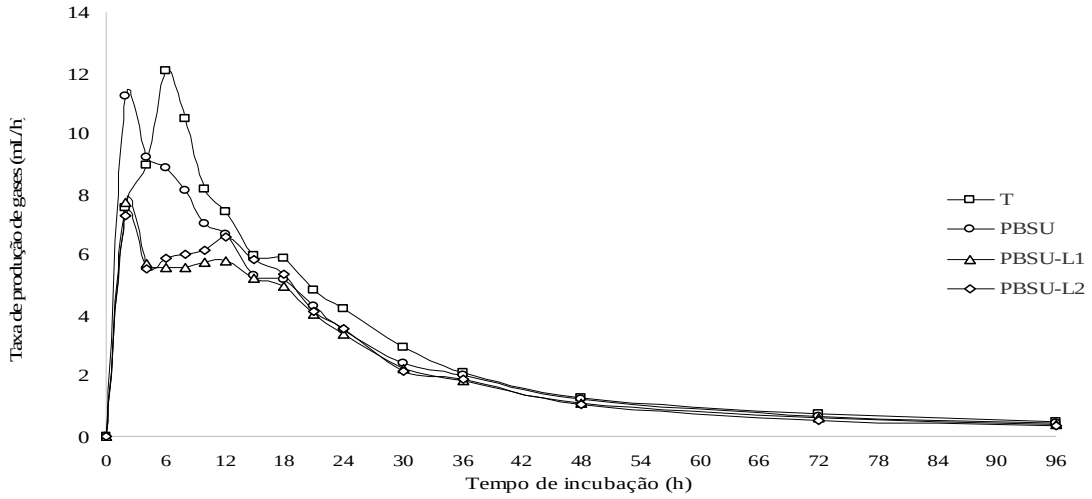

Figura 3. Taxa de produção de gases oriunda da degradação dos carboidratos fibrosos e dos carboidratos não-fibrosos às 6, 12, 24, 48 e 96 horas de incubação dos tratamentos: T: Palma + Bagaço de cana (70:30); PBSU: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia; PBSUL -1: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 1% de levedura; PBSU -L2: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 2% de levedura.

Em relação à FDN, que pode ser considerada a fração de lenta degradação da MS incubada, observou-se que os tratamentos enriquecidos com levedura, PBSUL-1 e PBSUL-2, apresentaram maiores valores relativos à fração potencialmente degradável (b) (554,15 e 565,51 g/kg FDN, respectivamente). Já o tratamento T foi o que apresentou maior fração indigestível da fibra (I) (486,25 g/kg FDN) (Tabela 12, Tabela 13 e Figura 4). Entretanto, esses dados contrariam a consolidação de Van Soest (1994), que associa os teores de lignina à limitação da degradação ruminal das forragens e age na redução da fração fibrosa potencialmente degradável da parede celular, porque PBSU-L1 e PBSU-2 foram os tratamentos que apresentaram os maiores percentuais de lignina na MS, em contraponto aos menores teores desse constituinte para o tratamento T (Tabela 2).

Quanto à degradabilidade efetiva (DE) da FDN, PBSU destacou-se em relação aos demais tratamentos, quando se considerou as taxas de passagem de 8%/h (g/kg) (Tabela 12). A menor degradação efetiva da FDN, para essa taxa de passagem, quando foram utilizadas fontes de proteína verdadeira (PBSUL-1 e PBSUL-2) em comparação à somente ureia (PBSU), é citada por Detmann et al. (2011) como efeito proteína que consiste em efeitos deletérios sobre a degradabilidade da FDN, ocasionados por interações negativas entre a microbiota fibrolítica e não-fibrolítica. Provavelmente, ocorreu dificuldade de acesso dos microrganismos à fração fibrosa de PBSUL-1 e PBSUL-2, ocasionando, inclusive, maior duração dos respectivos tempos de colonização (Tabela 12) e, consequentemente, menor taxa de degradação, principalmente da fração fibrosa total.

Carvalho et al. (2011) esclarecem que o crescimento de microrganismos não-fibrolíticos suprimem o crescimento de espécies fibrolíticas, os quais são dependentes de fontes de compostos nitrogenados de mais fácil assimilação, como amônia e aminoácidos livres. De modo que a assimilação de peptídeos pelas bactérias não-fibrolíticas diminui a competitividade das fibrolíticas por compostos nitrogenados. Conforme explicam Bach et al. (2005), isso ocorre porque os microrganismos não-fibrolíticos, apesar de sua capacidade de utilizar N-NH_3, podem retirar cerca de dois terços do seu requerimento de N de peptídeos ou aminoácidos, os quais, estando disponíveis, concorrem para favorecer o crescimento da microbiota não-fibrolítica em detrimento da fibrolítica. No entanto, Jayme et al. (2009) relembram que a taxa de passagem de 8%/h é comumente aplicada, apenas, quando se faz inferências a vacas que produzem acima de 15kg de leite/dia e alimentadas com dietas mistas, ao passo que as taxas de passagem de 2%/h é adotada para bovinos e ovinos em mantença e a de 5%/h para vacas leiteiras com produção inferior a 15kg de leite/dia. Considerando-se, portanto, a taxa de 2%/h, não houve diferenças entre PBSU e os tratamentos que receberam levedura (PBSU-L1 e PBSU-L2) e para a taxa de 5%/h, PBSU-L2 e T diferiram ($P<0,05$) de PBSU.

PBSU foi o tratamento em que menor tempo de colonização (L) (-0,07h) foi requerido pelos microrganismos. É válido salientar que quanto menor o L, mais rapidamente a microbiota ruminal conseguirá degradar o alimento. Diante deste esclarecimento, observou-se que utilizar somente ureia contribui para diminuir o tempo de colonização da fração fibrosa, concordando com o esperado, haja vista a ureia é disponibiliza de forma mais rápida e em maior concentração, o N, sob a forma de NH_3. Para os maiores tempos de colonização registrados nos demais tratamentos (T, PBSU-L1 e PBSU-L2), pode-se inferir que, na primeira hora não houve balanço adequado entre as fontes de N e carboidratos disponíveis. Já Ibañez et al. (2010) levantam outra hipótese, que se refere-se à afirmativa de que a taxa de crescimento é influenciada pela lignificação da fibra, que pode ser constatada em maiores percentuais para os tratamentos PBSU-L1 e PBSU-L2 (Tabela 7).

Tabela 12. Parâmetros médios da degradabilidade *in vitro* da fibra em detergente neutro de alimentos compostos por palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar com e sem a inoculação de *Saccharomyces cerevisiae*

Parâmetros	Tratamentos[1]				CV (%)
	T	PBSU	PBUL-1	PBUL-2	
b (g/kg)	513,75b	538,17ab	554,15a	565,51ª	2,78
c (%/h)	0,052a	0,050a	0,045a	0,049ª	7,21
I (g/kg)	486,25a	461,83ab	445,85b	434,49b	3,31
DE[2] 2%/h (g/kg)	349,86b	386,55a	366,38ab	366,70ab	3,53
DE[2] 5%/h (g/kg)	341,50b	387,26a	358,41ab	353,05b	3,89
DE[2] 8%/h (g/kg)	333,40b	387,99a	350,64b	339,97b	2,27
L[3] (h)	0,84a	-0,07b	0,76a	1,28ª	13,03

[1]T: Palma + Bagaço de cana (70:30); PBSU: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia; PBSU-L1: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 1% de levedura; PBSU-L2:Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 2% de levedura. 2$\hat{Y} = b\times e(-c\times(T-L)) + I$, em que "Y" é o resíduo não degradável no tempo T; "b", a fração potencialmente degradável da fibra; "c", a taxa de degradação de b (h-1); "T", o período de incubação, em horas; "L", a latência ou tempo de colonização (h); e "I", a fração indigestível da fibra. Valores seguidos por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade (P<0,05).

Tabela 13. Equações ajustadas para degradabilidade da fibra em detergente neutro de alimentos compostos por palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar com e sem a inoculação de *Saccharomyces cerevisiae*

Dietas[1]	equações[2]	R^2	P
T	$\hat{Y}$ = 513,75*e(-0,052*(T-0,84)) + 486,25	0,999	P<0,01
PBSU	$\hat{Y}$ = 538,17*e(-0,050*(T-(-0,07))) + 461,83	0,999	P<0,01
PBSUL-1	$\hat{Y}$ = 554,15*e(-0,045*(T-0,76)) + 445,85	0,998	P<0,01
PBSUL-2	$\hat{Y}$ = 565,51*e(-0,049*(T-1,28)) + 434,49	0,997	P<0,01

[1]T: Palma + Bagaço de cana (70:30); PBSU: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia; PBSUL -1: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 1% de levedura; PBSU-L2:Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 2% de levedura. 2$\hat{Y} = b\times e(-c\times(T-L)) + I$, em que "Y" é o resíduo não degradável no tempo T; "b", a fração potencialmente degradável da fibra; "c", a taxa de degradação de b (h-1); "T", o período de incubação, em horas; "L", a latência ou tempo de colonização (h); e "I", a fração indigestível da fibra

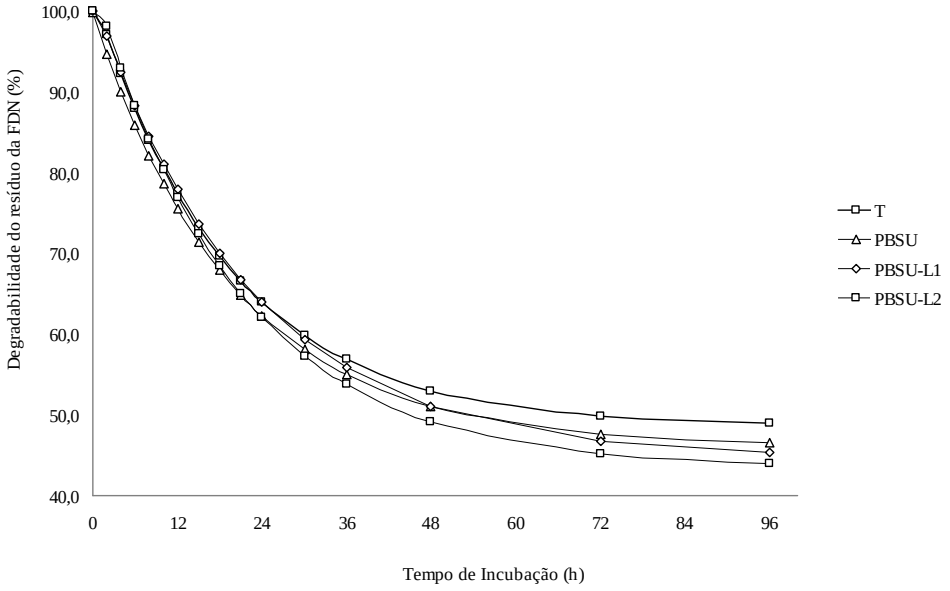

Figura 4. Cinética da fermentação ruminal *in vitro* da fibra em detergente neutro às 6, 12, 24, 48 e 96 horas de incubação dos tratamentos T: Palma + Bagaço de cana (70:30); PBSU: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia; PBSUL -1: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 1% de levedura; PBSU -L2: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 2% de levedura

Sobre a disponibilidade de N-NH_3, os resultados obtidos nesse experimento não se adequaram aos testes de normalidade. A expressão gráfica dos dados demonstrou que o tratamento PBSU-L2 foi o que apresentou os maiores valores de N-NH_3, exceto às 24h, após a incubação, quando PBSU-L1 possibilitou disponibilidade de N-NH_3 superior aos demais tratamentos. Ainda assim, o PBSU-L2 foi o único tratamento que apresentou valor superior aos 5mg/dL (48h de incubação), valor este que é preconizado por Satter e Slyter (1974) como valor mínimo de N-NH_3/dL no conteúdo ruminal para máximo crescimento microbiano. Contudo, em ensaios realizados *in vitro*, Satter e Slyter (1974) mostraram que concentrações de N-NH_3, muito superiores a 5 mg/dL de fluido, representaram excesso que não foi utilizado para a síntese microbiana. Verifica-se, no presente experimento, em particular, que os períodos em que houve menor disponibilidade de N-NH_3 foram aqueles em que houve maior produção de BM (12 e 24h) para os tratamentos PBSU-L1 e PBSU-L2 (Tabela 14). Entretanto, sobre as mensurações de N-NH_3 em experimentos *in vitro*, Detmann et al. (2011) observam que não há a reciclagem do N-NH_3, como ocorre *in vivo*.

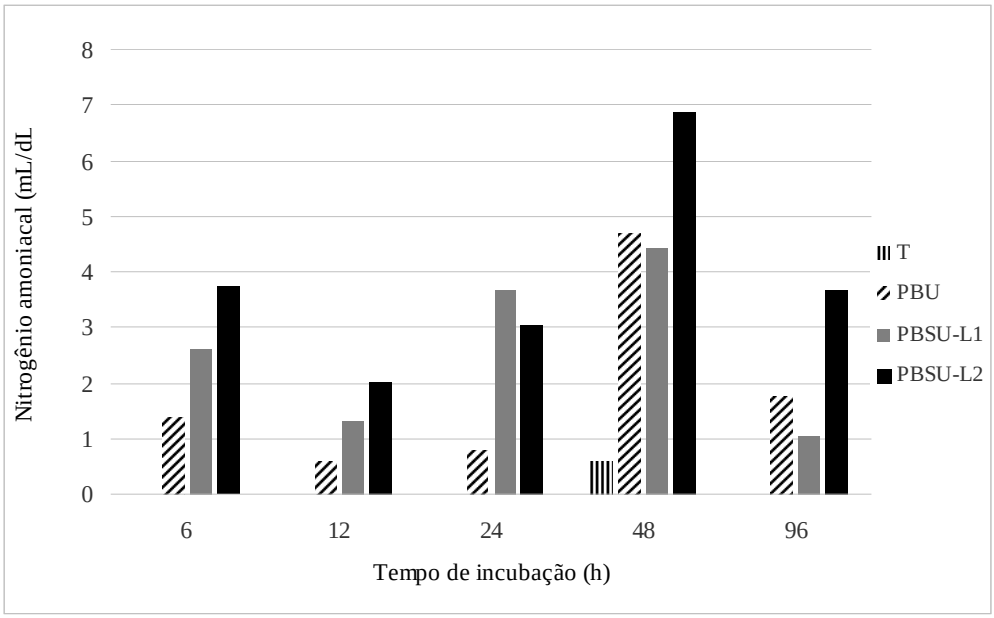

Figura 5. Nitrogênio amoniacal no meio (mg/dL) às 6, 12, 24, 48 e 96 horas de incubação dos tratamentos T: Palma + Bagaço de cana (70:30); PBSU: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia; PBSUL -1: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 1% de levedura; PBSU -L2: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 2% de levedura

Foram encontradas diferenças estatísticas para a produção de BM no período de 12h, quando PBSU-L1 (285,51 g/kg) não diferiu estatisticamente de PBSU-L2 (248,60g/kg), mas diferiu estatisticamente de T (193,77 g/kg) e PBSU (203,75 g/kg). Nesse período de incubação, verificou-se que PBSU-L1 apresentou produção de BM na ordem de 47,34 e 45,45 g/kg, superior a T e PBSU, respectivamente. Após 24h, quando T apresentou menor produção de BM (123,93 g/kg), que não diferiu (P>0,05) de PBSU-L1 (168,70 g/kg), mas diferiu (P<0,05) de PBSU (194,55 g/kg) e PBUL-2 (187,67 g/kg) (Tabela 14).

A eficiência microbiana, representada pelo FP, descrita como crescimento microbiano, diferiu entre tratamentos, permitindo-se verificar que, em todos os períodos de incubação, os tratamentos PBSU-L1 e PBSU-L2 apresentaram valores mais altos e diferiram (P<0,05) de T e PBSU. É permitido supor que a natureza proteica do N proveniente da inoculação e multiplicação das leveduras no substrato incubado tenha favorecido o crescimento da microbiota ruminal ,que consome carboidratos de menor peso molecular inseridos no grupo dos CNF, resultando, assim, na menor produção de gases. Makkar (2004) asseveram que quanto maior o FP, melhor é a incorporação da MS degradada à massa microbiana por mL de gás produzido.

Tabela 14. Valores médios de biomassa microbiana (BM) e fator de partição (FP) às 6, 12, 24, 48 e 96h de fermentação de alimentos compostos por palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar com e sem a inoculação de *Saccharomyces cerevisiae*

Tratamentos[1]	Períodos de fermentação				
	6	12	24	48	96
	BM (g/kg)				
T	234,81a	193,77b	123,93b	137,52ª	117,94a
PBSU	235,62a	203,75b	194,55a	137,29ª	73,76a
PBSU-L1	252,52a	285,51a	168,70ab	136,84ª	70,18a
PBSU-L2	248,84a	248,60ab	187,67a	139,68ª	119,41a
	FP (mg/mL)				
T	11,24b	6,16b	4,15c	3,73c	3,44c
PBSU	11,33b	6,82b	4,88b	4,17b	3,73b
PBSU-L1	16,11a	10,01a	5,77a	4,71ª	4,37a
PBSU-L2	15,77a	9,24a	5,47a	4,71ª	4,36a

[1]T: Palma + Bagaço de cana (70:30); PBSU: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia; PBSUL -1: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 1% de levedura; PBSU-L2:Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 2% de levedura. Valores seguidos por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste Tukey (P<0,05); (BM: CV=25,19%; FP: CV=12,68%)

Os valores de pH estão de acordo com os valores observados para a produção de gases dos distintos tratamentos. Verificou-se que o tratamento T, que apresentou maior produção de gases em todos os tempos de incubação, foi o que apresentou os menores valores de pH (Tabela 15), dados que conferem com a afirmativa de Blümmel et al. (1997), de que os valores de pH estão relacionados com a quantidade de carboidratos fermentecíveis, desse modo, os menores valores de pH indicam maior fermentação e produção de AGVs (Ácidos Graxos Voláteis). Entretanto, os autores aludem também para o fato de que substratos com maiores teores de lignina e de proteína, ambos superiores em PBSU-L1 e PBSU-L2, podem apresentar menor fermentabilidade, mas isso não indica que PBSU-L1 e PBSU-L2 não apresentem características satisfatórias como alimentos para ruminantes, uma vez que disponibilizam substratos para maior eficiência na biossíntese microbiana (conforme reportam os resultados do FP) (Tabela 14), que culmina em maior oferta de PB no intestino delgado e, por conseguinte, melhor desempenho animal.

Tabela 15. Valores médios de pH às 6, 12, 24, 48 e 96 horas de fermentação de alimentos compostos por palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar com e sem a inoculação de *Saccharomyces cerevisiae*

Tratamentos[1]	Períodos de fermentação (h)				
	6	12	24	48	96
	pH				
T	6,62b	6,64b	6,60b	6,56b	6,52b
PBSU	6,68b	6,72b	6,70a	6,71a	6,60ab
PBSUL-L1	6,77a	6,82a	6,75a	6,71a	6,66a
PBSUL-L2	6,72ab	6,82a	6,76a	6,72a	6,67a

[1]T: Palma + Bagaço de cana (70:30); PBSU: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia; PBSUL -1: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 1% de levedura; PBSU-L2:Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia e 2% de levedura. Valores seguidos por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste Tukey (P<0,05); CV=0,89%.

CONCLUSÃO

A adição de *S. cerevisiae,* na proporção de 1 e 2% de levedura, não reduz a degradabilidade da matéria seca, bem como não afeta o tempo de colonização da palma forrageira associada ao bagaço-de-cana para a degradabilidade da matéria seca e da fibra em detergente neutro, mas eleva os teores de nitrogênio amoniacal e colabora para a produção de biossíntese microbiana, melhorando a eficiência da incorporação da matéria seca degradada à massa microbiana.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, L.F.; DIAS, M.V.C.; BRITO, E.A.; OLIVEIRA JÚNIOR S. Enriquecimento protéico de alimentos por levedura em fermentação semissólida: alternativa na alimentação animal. **Tecnologia & Ciência Agropecuária** , v.3, p.47-53, 2009.

ARAÚJO, L.F.; SILVA F.L.H.; BRITO, E.A.; OLIVEIRA JÚNIOR S.; SANTOS, E.S. Enriquecimento protéico da palma forrageira com *Saccharomyces cerevisiae* para alimentação de ruminantes. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia** v.60, n.2, p.401-407, 2008.

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

BLÜMMEL, M.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. *In vitro* gas production: a technique revised. **Journal of Animal Physiology and Nutrition**, v.77, p.24-34, 1997.

BLÜMMEL, M.; MGOMEZULU, R.; CHEN, X.B.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER K.; ØRSKOV , E.R. The modification of an in vitro gas production test to detect roughage related differences *in vivo* microbial protein synthesis as estimated by the excretion of purine derivatives. **Journal of Agricultural Science**, v.133, p.335-340, 1999.

BOX, G.E.P.; COX, D.R. An analysis of transformations. **Journal of the Royal Statistical Society,** v. 26, p. 211-234, 1964.

CARVALHO, G.G.P.; GARCIA, R.; PIRES, A.J.V.; PEREIRA, O.G.; AZEVEDO, J.A.G.; CARVALHO, B.M. A.; CAVALI, J. Valor nutritivo de silagens de capim-elefante emurchecido ou com adição de farelo de cacau. Revista Brasileira de Zootecnia, v.36, n.5, p.1495-1501, 2007.

CARVALHO, I.P.C., DETMANN, E., MANTOVANI, H.C.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; COSTA, V.A.C.; GOMES, D.I. Growth and antimicrobial activity of lactic acid bacteria from rumen fluid according to energy or nitrogen source. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.1260-1265, 2011.

CORREIA, L.K.C.; AQUINO, L.C.L. Aplicação da levedura Saccharomyces cerevisiae para o enriquecimento proteico de farinha de sementes de mangaba. **Scientia Plena**, v. 8, p. 1-4, 2012.

DETMANN, E. Fibra na nutrição de novilhas leiteiras In: PEREIRA, E. S.; PIMENTEL, P.G.; MIZUBUTI, I.Y.; QUEIROZ, A.C. **Novilhas leiteiras**. Fortaleza: Graphit Gráfica e Editora Ltda, 2010, p. 253-332.

DETMANN, E.; GIONBELLI, M.P.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, P.V.R.; PAULINO, M.F. Uso de técnicas de regressão na avaliação, em bovinos de corte, da eficiência de conversão do alimento em produto: proposição de método e significância nutricional. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.2827-2834, 2011.

DETMANN, E.; SOUZA, M. A.; VALADARES FILHO, S. C. V.; QUEIROZ, A.C.; BERCHIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; CABRAL, L.S.; PINA, D.S., LADEIRA, M.M.;

AZEVEDO, J.A.G. **Métodos para análise de alimentos**. INCT – Ciência Animal. Visconde do Rio Branco, MG: Suprema, 2012. 214 p.

DÍAZ-PLASCENCIA, D.; RODRÍGUES-MUELA, C.; MANCILLAS-FLORES, N.; RUÍZ-HOLGUÍN, N.; MENA-MUNGÍA, S.; SALVADOR-TORRES, F.; DURAN-MELENDEZ, L. Fermentación *in vitro* de nopal forrajero con un inóculo de levadura *Kluyveromyces lactis* obtenida a partir de manzana de desecho. **Revista Eletrónica de Veterinaria**. v, 13, p. 1-7, 2012.

FERNANDES, A.M.; QUEIROZ, A.C.; PEREIRA, J.C. Fracionamento e cinética da degradação *in vitro* dos carboidratos constituintes da cana-de-açúcar com diferentes ciclos de produção em três idades de corte. Revista Brasileira de Zootecnia, v.32, p.48-52, 2003.

FIGUEIREDO, M.P.; MAURÍCIO, R.M.; PEREIRA, L.G.R. Determinação da relação entre pressão e volume através da fermentação da raiz de mandioca tratada com uréia, feno de Tifton 85 e silagem de milho para a instalação da técnica *in vitro* de produção de gases. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 2003, Santa Maria. 40. **Anais...** Santa Maria: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2003. (CD-ROM)

IBÁÑEZ, E.M.A.; MARTÍNEZ, G.D.M.; JUAREZ, J.A.R.; BUENO, I.C.S.; VITTI; A.C. Effect of fibrolitic enzymes on rumen microbial degradation of sugarcane fiber. **Ciencia Animal Brasileira**, v. 11, p. 488-495, 2010.

JAYME, D.G.; GONÇALVES, L.C.; MAURÍCIO, R.M.; RODRIGUES, J.A.S.; RODRIGUEZ, N.M.; BORGES, A.L.C.C.; BORGES,I.; SALIBA, E.O.S.; PIRES, D.A.A.; GUIMARÃES JÚNIOR,R.; JAYME, C.G.; PEREIRA, L.G.R. Avaliação pela técnica semiautomática de produção de gases das silagens de quatro genótipos de girassol (*Helianthus annuus*) (Rumbosol 91, Victoria 627, Victoria 807 e Mycogen 93338). **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, p.1403-1410, 2009.

KAEWWONGSA, W.; TRAIYAKUN, S.; YUANGKLANG, C.; WACHIRAPAKORN, C.; PAENGKOUM, P. Protein Enrichment of Cassava Pulp Fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v.10, p. 2434-2440, 2011.

KHAZAAL, M. T.; DENTINHO, M. T.; RIBEIRO, J. M. Prediction of apparent digestibility and voluntary intake of hays fed to sheep: comparison between using fibre components, in vitro digestibility or characteristics of gas production or nylon bag degradation. Journal of Animal Science, v. 61, n. 3, p. 527-538, 1995.

KHAMPA, S.; CHAOWARAT, P.; SINGHALERT, R. Suplementation of yeast fermented cassava chip as a replacement concentrate on rumen fermentation efficiency and digestibility of nutrients in cattle. Asian Journal of Animal Sciences, v. 3, p.18-24, 2009.

LANZAS, C.; SNIFFEN C.J.; SEO S.; TEDESCHI, L.O.; FOX D.G. A revised CNCPS feed carbohydrate fractionation scheme for formulating rations for ruminants. **Animal Feed Science and Technology**. v.136, p. 167–190, 2007.

LOPES, J.; EVANGELISTA, A.R. Características bromatológicas, fermentativas e população de leveduras de silagens de cana-de-açúcar acrescidas de ureia e aditivos absorventes de umidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.5, p.984-991, 2010.

MACEDO JR., G.L.; SOUSA, L.F.; GODOI, F.N.; OLALQUIAGA PEREZ, J.R., FRANÇA, *P.* M.; ALMEIDA, T.R.V.; PAULA, O.J.; ASSIS, R.M. Consumo, digestibilidade aparente e balanço de nitrogênio em ovelhas alimentadas com diferentes níveis de fibra em detergente neutro. **Ciência Animal Brasileira**, v.13, n.1, p. 33 - 40, 2012.

McDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J.E. **The biochemistry of silage**. 2.ed. Marlow: Chalcomb Publications, 1991. 340p.

MAKKAR, H.P.S. Recent advances in the in vitro gas method for evaluation of nutritional quality of feed resources. In: Assessing quality and safety of animal feeds. Rome: **FAO Animal Production and Health**, v.160, p.55-88, 2004.

MERTENS, D. R.; LOFTEN, J. R. The effect of starch on forage fiber digestion kinetics in vitro. **Journal of Dairy Science**, v. 63, p. 1437-1446, 1980.

MIZUBUTI, I.Y; RIBEIRO, E.L.A.; PEREIRA, E.S.; PINTO, A.P., CUSTÓDIO FRANCO, A. L.; SYPERRECK, M.A.; DÓREA, J.R.R.; CUNHA, G.E.; CAPELARI, M.G.M.; MUNIZ, E.B. Cinética de fermentação ruminal in vitro de alguns co-produtos gerados na cadeia produtiva do biodiesel pela técnica de produção de gás. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, p. 2021-2028, 2011.

MUNIZ, E.B.; MIZUBUTI, I.Y.; PEREIRA, E.S.; PIMENTEL, P.G.; RIBEIRO, E.L.A., ROCHA JUNIOR, J.N.; CAPELARI, M.G.M.; BRITO, V.M. Cinética de degradação ruminal de carboidratos de volumosos secos e aquosos: técnica de produção de gases. **Semina: Ciências Agrárias**, v.32, p. 1191-1200, 2011.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7th ed. Washington. DC: National Academy Press. 2001. 381 p.

NOGUEIRA, Ú.T.; MAURÍCIO, R.M.; GONÇALVES, L.C.; PEREIRA, L. G. R. Predição da degradação da matéria seca pelo volume de gases utilizando a técnica in vitro semi-automática de produção de gases. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, p.901-909, 2006.

NOGUERA, R.R.; SALIBA, E.O.; GONÇALVES L.C. Utilização da técnica de produção de gás para determinar a cinética de fermentação dos carboidratos estruturais e não estruturais em sorgo para forragem. **Livestock Research for Rural Development**, v.17, 2005.

OLIVEIRA E.A.; JUNQUEIRA S.F.; MASCARENHA R.J. Caracterização físico-química e nutricional do fruto da palma (*Opuntia ficus indica* L. Mill) cultivada no sertão do Sub-médio São Francisco. **Holos**, v.3, p. 97-112, 2011.

PIRES, A.J.V.; GARCIA, R.; VALADARES FILHO, S.C.; PEREIRA, O.G.; CECON, P.R.; SILVA, F.F.; SILVA, P.A.; ÍTAVO, L.C.V. Degradabilidade do bagaço de cana-de-açúcar tratado com amônia anidra e, ou, sulfeto de sódio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, p.1071-1077, 2004.

SÁ, J.F.; PEDREIRA, M.S.; SILVA, F.F.; FIGUEIREDO, M.P.; REBOUÇAS, G.M.N.; SOUZA, D.R. Cinética da fermentação *in vitro* do capim-Marandu em diferentes idades de corte. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 33, p. 225-231, 2011.

SAMPAIO, C.B.; DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; SOUZA, M.A; LAZZARINI, I.; PAULINO P.V.; QUEIROZ, A.C. Intake and digestibility in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. **Tropical Animal Health and Production**, v.42, p.1471-1479, 2010.

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

SCHOFIELD, P.; PITT, R. E.; PELL, A. N. Kinetic of fiber digestion from *in vitro* gás prodution. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 2980-2991, 1994.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. Viçosa: UFV, 2006. 235 p.

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

TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S.J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2.ed. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 174p.

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

VALIÑOS, E.; ELÍAS, A.; TORRES, V.; ALBELO, N. Estudio de la carga microbiana en el bagazo de caña de azúcar fresco como sustrato para la alimentación animal, mediante fermentaciones en estado sólido. **Revista Cubana de Ciencia Agrícola**, v. 36, p. 373-378, 2002.

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

WILBERT, C.A.; PRATES, Ê.R.; BARCELLOS, J.O.J.; GENRO, T.C.M.; SILVEIRA, A.L.F.; CHRISTOFAR, L.F. Suplementação energética e proteica de um volumoso de baixa qualidade pela técnica de produção cumulativa de gás *in vitro*. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.40, p.1603-1612, 2011.

V – CAPÍTULO III

CONSUMO, DIGESTIBILIDADE E PRODUÇÃO DE PROTEÍNA MICROBIANA NO RÚMEN DE CORDEIROS ALIMENTADOS COM PALMA FORRAGEIRA ASSOCIADA AO BAGAÇO DE CANA ENRIQUECIDA OU NÃO COM *Saccharomyces cerevisiae* MEYEN

RESUMO - Objetivou-se, com este trabalho, avaliar o consumo, a digestibilidade aparente dos nutrientes e produção de proteína microbiana em ovinos alimentados com dietas contendo palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar com ou sem a inoculação da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, após 24h de fermentação. Os tratamentos consistiram em: 1- palma e bagaço (T); 2- palma e bagaço com adição de sal mineral, ureia com sulfato de amônio (PBSU); 3- palma e bagaço com sal mineral, ureia com sulfato de amônio e 1% de levedura (PBSU-L1); 4- palma e bagaço com sal mineral, ureia com sulfato de amônio e 2% de levedura (PBSU-L2). Apenas o consumo de fibra em detergente neutro (FDN) sofreu redução ($P<0,05$). Quanto ao coeficiente de digestibilidade, também só foi constatada diferença para a FDN, que se apresentou inferior para o tratamento PBSU-L2 ($P<0,05$), para os demais tratamentos não foram constatadas diferenças ($P>0,05$). A produção de proteína microbiana não revelou diferença ($P>0,05$) entre os tratamentos, o que permite concluir que a palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar enriquecida com *S. cerevisiae* resulta em um bioproduto com possibilidade de ser utilizado na alimentação de ovinos, sem que haja prejuízo à qualidade nutricional da dieta.

Palavras-chave: alimentos alternativos, levedura, ovinos.

INTAKE, DIGESTIBILITY AND RUMEN MICROBIAL PROTEIN PRODUCTION IN LAMBS FED CACTUS PEAR ASSOCIATED WITH SUGARCANE BAGASSE WITH OR WITHOUT INOCULATION OF *Saccharomyces cerevisiae* MEYEN

ABSTRACT- The objective of this study was to evaluate the intake, nutrient digestibility and microbial protein synthesis in sheep fed with cactus pear associated with sugarcane bagasse with or without inoculation of yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, after 24 hours of fermentation. The treatments consisted of: 1 – Cactus pear and bagasse (T); 2 - Cactus pear and bagasse with addition of mineral salt, urea with ammonium sulfate (PBSU); 3 - Cactus pear and bagasse with addition of mineral salt, urea with ammonium sulfate and 1% yeast (PBSU-L1); 4 - Cactus pear and bagasse with addition of mineral salt, urea with ammonium sulfate and 2% yeast (PBSU-L2). Only the intake of neutral detergent fiber (NDF) was reduced ($P<0.05$). It was observed difference ($P<0.05$) for NDF digestibility, PBSU-L2 showed a lower value than the other treatments. The protein production no showed difference ($P> 0.05$) among treatments, leading to the conclusion that the cactus pear associated with sugarcane bagasse enriched with *S. cerevisiae* results in a bioproduct likely to be used in feeding sheep, without damage to the nutritional quality of the diet.

Keywords: alternative foods, yeast, sheep.

INTRODUÇÃO

No Brasil, tem se observado nos últimos anos o crescimento da exploração da ovinocultura, e a busca por formas mais intensivas de exploração. A transformação deste cenário dos sistemas produtivos brasileiros reflete a necessidade de melhorias nos sistemas de produção animal, com vistas a atender a crescente demanda nacional para a oferta de carne ovina de qualidade. A comercialização de animais velhos com baixa qualidade de carcaça tem influenciado negativamente o seu consumo no país.

Geraseev et al. (2000) recomendam que, nessas circunstâncias, para produzir animais jovens para o abate, é preciso modificar o sistema de criação, principalmente no que se refere à alimentação. Isto porque o processo produtivo, objetivando o abate de animais jovens, requer que estes ingiram nutrientes em conformidade com a elevada exigência nutricional, possibilitando alto desempenho. Dentre esses nutrientes, destaca-se a proteína, em razão do fato de desempenhar papel fundamental no organismo animal, e participação na formação e manutenção dos tecidos, na contração muscular, no transporte de nutrientes e na formação de hormônios e enzimas. Conforme dados gerados pelo NRC (2007), as exigências de proteína em ovinos podem ser afetadas pelo sexo, pela raça, pelo ganho de peso, pelo estádio de desenvolvimento e pela composição corporal, e suas exigências são inversamente proporcionais à idade do animal, uma vez que à medida que a idade avança, aumenta o conteúdo de gordura e diminui o de proteína no corpo.

Em função dessas novas perspectivas de se comercializar a carne ovina, visto que, além de baixa oferta, a maioria dos produtores não está consciente da necessidade de produzir carne de boa qualidade e coloca no mercado carcaças de animais com características indesejáveis, o que desfavorece o crescimento do consumo (Malhado et al. 2008), tem surgido o interesse de se intensificar a terminação de animais, com o objetivo de aumentar a rapidez de comercialização e a produção de carcaças de melhor qualidade (Araújo et al., 2009). Cabral et al. (2008) recomendam a necessidade de investimentos em estratégias de manejo para a obtenção de animais que estejam prontos para serem abatidos com 30-35 kg de PV, assim como, proporcionar manejo nutricional que alcance esta meta.

Em estados do Nordeste, o cultivo da palma forrageira integra boa parte das atividades agrícolas de sequeiro do semiárido, para suprir a falta de forragem para os ruminantes nos períodos longos de seca. Embora o consumo da palma forrageira atenda grande parte dos requerimentos de água dos animais no semiárido nos períodos secos do ano, seu alto teor de umidade compromete a ingestão de matéria seca (MS) dos animais, caso esta venha a ser

usada em proporções mais elevadas que 40% - 50% (MS) da dieta (Santos, 2002; Santos et al. 2006; Tosto et al. 2007;).

A inclusão do bagaço da cana-de-açúcar conjugado à palma forrageira na composição de dietas contribui para a elevação dos teores de MS e fibra (Carvalho et al., 2005). Contudo, a limitação do bagaço, no que se refere ao teor de proteína, assemelha-se ao da palma forrageira. Para que as exigências nutricionais de mantença ou produção dos animais sejam atendidas, o bagaço da cana e a palma forrageira precisam ter seu baixo teor de nitrogênio corrigido. Para corrigir tal deficiência nutricional, via de regra, recorre-se a tratamentos químicos ou biológicos. Valiños et al. (2002) salientam que a incorporação de nutrientes necessários para promover o crescimento de microrganismos possibilita o aumento da proteína, que melhora o valor nutritivo do bagaço de cana-de-açúcar, premissa que, conforme Araújo et al. (2008), estende-se também à palma forrageira.

Gad et al. (2010) aludem que a proteína de diferentes microrganismos pode ser obtida a partir de fontes de carbono de baixo custo como resíduos de cultivos agrícolas e de culturas de alimentos não utilizados prioritariamente para consumo humano, mas que são disponíveis regionalmente, como ocorre com a palma forrageira e o resíduo (bagaço) da moenda artesanal da cana-de-açúcar pelos alambiques no Nordeste brasileiro. Araújo et al. (2009) reforçam essa assertiva, quando mencionam que, com vistas a contornar as restrições sazonais, a multiplicação de proteína celular para consumo animal está sendo considerada como uma via de produção de alimentos alternativos, que possibilita quantidade e qualidade da ração animal. Sob essa ótica, considerando, inclusive, à necessidade de alimentar a população humana e, por conseguinte, aumentar a produção de proteína por parte dos rebanhos domésticos, é cada vez mais imprescindível desenvolver processos que permitam enriquecer o valor nutritivo dos alimentos.

Com base nesse panorama, objetivou-se, com a realização deste estudo, verificar os efeitos de dietas formuladas com palma forrageira e bagaço de cana-de-açúcar com ou sem a inoculação de *Saccharomyces cerevisae* sobre o consumo, digestibilidade e produção de proteína microbiana ruminal em ovinos confinados.

MATERIAL E MÉTODOS

Para determinação do consumo, digestibilidade e síntese de proteína microbiana, doze cordeiros (Santa Inês), com aproximadamente 90-120 dias de idade e peso vivo (PV) médio de 25,33 $\pm$ 2,37 Kg, foram confinados. Antecipadamente à instalação do experimento, todos os animais foram vermifugados com o ingrediente ativo doramectina 1%. Previamente ao início do ensaio, foi realizado um período de adaptação dos animais às instalações e ao manejo com duração de oito dias.

O experimento foi delineado em quadrado latino 4 x 4 triplo e contemporâneos, com duração de 14 dias para cada período, sendo os 10 primeiros de adaptação às dietas e os demais, para coleta de amostras dos alimentos, sobras e fezes.

As dietas foram formuladas considerando a proporção concentrado:volumoso de 1:1. O concentrado foi formulado de modo a permitir que as dietas fossem isonitrogenadas, em conformidade com os resultados analíticos da composição dos substratos experimentais. Foram utilizados como ingredientes para o concentrado milho moído, farelo de soja e farelo de algodão, para atender às exigências de proteína e energia metabolizável de cordeiros nessa categoria.

Quanto ao volumoso, 50% da MS foram correspondentes aos seguintes substratos: 1- palma e bagaço (T); 2- palma e bagaço com adição de sal mineral (composição - Tabela 16), ureia com sulfato de amônio (PBSU); 3- palma e bagaço com sal mineral, ureia com sulfato de amônio e 1% de levedura (PBSU-L1); 4- palma e bagaço com sal mineral, ureia com sulfato de amônio e 2% de levedura (PBSU-L2). Aos tratamentos 2, 3 e 4, foi aplicado o sal mineral e a ureia + sulfato de amônio (9:1) na proporção de 0,3 e 0,5% da matéria natural (MN), respectivamente. Como inóculo da levedura, para os tratamentos 3 e 4, utilizou-se o fermento biológico fresco para a panificação com umidade de 70% (base úmida) e proteína bruta 45% (base seca). Os 50% de MS restantes correspondentes ao volumoso foram completados com silagem de sorgo (Tabela 17).

Tabela 16. Composição da mistura mineral utilizada no enriquecimento dos substratos

Mineral	Quantidade/kg
Cálcio	120 g
Fósforo	88 g
Cobalto	55,50 mg
Cobre	1.530 mg
Ferro	1.800 mg
Iodo	75 mg
Manganês	1.300 mg
Selênio	15 mg
Zinco	3.630 mg
Sódio	126 g
Flúor	880 mg
Enxofre	12 g

Fonte: Rótulo do produto (adaptado)

Tabela 17. Proporção dos ingredientes e composição bromatológica das dietas à base de palma forrageira associada ao bagaço de cana com ou sem a inoculação de *Saccharomyces cerevisiae*

Ingredientes (%)	Tratamentos			
	T	PBSU	PBSU –L1	PBSU –L2
	Proporção dos Ingredientes na Dieta			
Volumoso (%)[1]				
Palma: bagaço de cana[2]	50,00	49,20	48,20	47,20
Silagem de sorgo	50,00	50,00	50,00	50,00
Levedura (*S. cerevisiae*)[3]	-	-	1,00	2,00
Sal mineral[3]	-	0,30	0,30	0,30
Ureia+sulfato de amônio (9:1) [3]	-	0,50	0,50	0,50
Concentrado (%)[1]				
Milho moído	35,00	47,44	51,28	51,28
Farelo de soja	40,00	27,56	23,72	23,72
Farelo de algodão	25,00	25,00	25,00	25,00
	Composição Química da Dieta (%)			
Matéria seca	30,85	31,16	29,24	28,72
Matéria mineral[4]	4,96	5,12	5,22	5,28
Matéria orgânica[4]	95,04	94,88	94,78	94,72
Proteína bruta[4]	20,39	19,78	20,02	20,22
Extrato etéreo[4]	4,08	4,10	4,03	4,04
Fibra em detergente neutro[4]	48,00	45,81	43,49	41,58
Fibra em detergente ácido[4]	21,86	20,94	20,83	21,48
Carboidratos totais	70,57	71,00	70,73	70,46
Carboidratos não fibrosos[4]	22,57	25,19	27,24	28,88
Nitrogênio indigestível em detergente neutro [4]	2,74	2,22	1,70	1,77
Nitrogênio indigestível em detergente ácido [4]	1,08	0,76	0,82	0,92

T: Palma + Bagaço de cana (70:30); PBSU: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia com sulfato de amônio (9:1); PBSU-L1: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia com sulfato de amônio e 1% de levedura; PBSU-L2:Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia com sulfato de amônio e 2% de levedura; [1] 50% da matéria seca da dieta total; [2] mistura palma forrageira e bagaço de cana-de-açucar (70:30, respectivamente); [3] % da matéria natural da mistura palma:bagaço; [4] % da matéria seca;

O estábulo destinado à permanência dos animais durante o período experimental constituiu-se de baias individuais (2,5 x 1,0 m), providas de bebedouros plásticos com boia e comedouros também de plástico e com piso cimentado coberto com casca de café para atender uma melhor condição sanitária e de acomodação. No início e fim de cada período experimental, os animais foram pesados, após jejum de sólidos de 12 horas.

O alimento foi fornecido diariamente, às 08:00 e 16:00h, durante todo o período experimental, sendo a silagem e o concentrado misturados no momento do fornecimento. Diariamente, foi registrada individualmente a quantidade de ração oferecida e das sobras remanescentes. Realizou-se a pesagem das sobras de alimento, registrando-se por diferença o consumo individual para cálculo da quantidade de alimento a ser oferecida em igual período do dia seguinte, com ajuste de 10% para a quantidade de sobras. Cada animal recebeu água limpa e fresca e sal mineralizado disponíveis em tempo integral para consumo *ad libitum*.

Durante os períodos experimentais, do 11º ao 14º, foram realizadas as coletas. Do alimento fornecido, sobras e fezes, foram obtidas duas amostras diárias, identificadas e conservadas em freezer (-20ºC) para posterior confecção de uma amostra composta por animal de período, a fim de se realizar as análises pertinentes.

Para a estimativa da excreção fecal, foi utilizada a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) como indicador interno. Amostras do feno, concentrado, sobras e fezes foram incubadas por 288 h (Casali et al., 2008), em duplicata (20 mg MS/cm²) e em sacos de tecido não-tecido (TNT - 100 g/m²), no rúmen de uma vaca fistulada. Após o período de incubação, os sacos foram retirados dos animais, por meio de fístula ruminal, e imediatamente lavados em água corrente até a mesma se apresentar totalmente límpida, e imediatamente transferidos para estufa de circulação forçada (60°C), onde foram mantidos por 72 horas. Para determinação da FDNi, os sacos foram submetidos à fervura com solução de detergente neutro por 1 hora, lavados com água quente 5 vezes, por 3 minutos, e acetona 2 vezes, por 3 minutos, secos e pesados, sendo o resíduo considerado FDNi. Os valores de excreção fecal foram obtidos por intermédio da razão entre consumo e concentração fecal de FDNi.

Ao fim do experimento, as amostras de cada animal foram descongeladas à temperatura ambiente, homogeneizadas e pesadas. Depois, foram acondicionadas em bandejas de alumínio e levadas à estufa de ventilação forçada (60°C) para a determinação da matéria pré-seca e, em seguida, moídas com peneira de 1 mm para determinação dos teores de MS, matéria mineral (MM), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), extrato etéreo (EE), nitrogênio indigestível

em detergente neutro (NIDN) e nitrogênio indigestível em detergente ácido (NIDA). Para as análises de fibra em detergente neutro (FDN), 1,0 g de amostra foi aquecida a 80-90ºC, com 30 mL de solução de ureia 8M e 50 µL de alfa-amilase termoestável, durante 5 min, sendo então submetida à fervura em detergente neutro, por 1h, conforme técnicas descritas por Detmann et al. (2012).

Os teores de CHOT: 100 – (%PB + %EE + %MM) dos alimentos fornecidos, das sobras e das fezes e os teores de CNF: 100 – (PB + FDN + EE + MM) foram calculados segundo metodologia descrita por Sniffen et al. (1992). De acordo com esses autores, foram calculados também os consumos de NDT das diferentes dietas utilizadas por meio da seguinte fórmula:

$$\% \text{ NDT} = (\text{PBing-PBfecal}) + (\text{CTing-CTfecal}) + 2{,}25\ (\text{EEing-EEfecal})$$

Em que: PBing = Proteína bruta ingerida; PBfecal = Proteína bruta fecal; CTing = Carboidratos totais ingerido; CTfecal = Carboidratos totais fecais; EEing= Extrato etéreo ingerido; EEfecal = Extrato etéreo fecal.

Serão calculados os valores de energia digestível (ED) e de energia metabolizável (EM), de acordo com as seguintes equações propostas por Harris (1970):

$$\text{ED} = (\%\text{NDT} / 100) \times 4{,}409 \text{ Mcal/kg} \ ; \ \text{EM} = 0{,}82 \times \text{ED}.$$

O consumo médio diário de cada nutriente foi calculado por meio da fórmula aplicada por Gonsalves Neto (2011):

$$\text{CN} = [(\text{MSf} \times \text{NMf}) - (\text{MSs} \times \text{NMSs})]/100$$

Em que: CN = consumo de nutrientes (g); MSf = matéria seca do fornecido (g); MSs = matéria seca das sobras (g); NMf = nutriente na matéria seca do fornecido (%); NMSs = nutriente na MS das sobras (%).

Os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes foram obtidos conforme fórmula aplicada por Monteiro et al. (2012):

$$\text{CDAN } (\%) = [(\text{NCON} - \text{NEXC})/\text{NCON}] \times 100$$

Em que: CDAN = coeficiente de digestibilidade aparente do nutriente, NCON = quantidade do nutriente consumido, em gramas, e NEXC = quantidade do nutriente excretado, em gramas.

A coleta de urina de cada animal foi feita por meio da colheita de uma amostra *spot*, a partir da qual foi estimado o volume urinário produzido diariamente por cada animal. As amostras foram obtidas por micção espontânea, quatro horas após a alimentação (Figura 1A - Apêndice), visto que, conforme Mendonça et al. (2006), após esse período, a concentração plasmática e urinária dos metabólitos alcança o platô.

Alíquotas de 10 mL das amostras coletadas foram diluídas em 40 mL de H_2SO_4 a 0,036N. Estas amostras foram assim processadas com objetivo de reduzir o pH a nível inferior a 3,0, para evitar a destruição bacteriana dos derivados de purina urinária e a precipitação do ácido úrico. Posteriormente, foram armazenadas a -20°C e submetidas às análises de alantoína, xantina e hipoxantina e ácido úrico.

Determinou-se a concentração de creatinina, cuja excreção é constante (Chen et al. 1995). Portanto, foi possível utilizar a creatinina para estimar o volume urinário, o que possibilitou estimar a excreção de derivados de purina (DP) sem necessidade da coleta total de urina. Assim, a excreção diária de urina foi obtida a partir da excreção diária de creatinina de todos os animais, em todos os tratamentos. O volume urinário usado para estimar a excreção diária de derivados de purinas totais (DP) das amostras spot de urina foi obtido, para cada animal, multiplicando-se o respectivo PV pela excreção diária média de creatinina em mg/L e dividindo-se esse produto pela concentração de creatinina (mg/L) na amostra spot de urina (Oliveira et al., 2001).

Das amostras colhidas, duas novas amostras foram preparadas por diluição. Uma amostra foi utilizada para determinação de alantoína, e a outra para determinação de ácido úrico, xantina e hipoxantina, conforme metodologia colorimétrica descrita por Chen & Gomes (1992). A concentração de ácido úrico foi determinada através da utilização de um kit comercial. As purinas absorvidas (X, mmol/dia) foram estimadas a partir da excreção de derivados de purina (Y, mmol/ dia), pela equação proposta por Chen & Gomes (1992) para ovinos:

$$Y = 0{,}84X + (0{,}150\ PV^{0{,}75e-0{,}25X})$$

Em que: 0,84 = eficiência de absorção de purinas exógenas; X = purinas microbianas absorvidas (mmol/dia); 0,150 $PV^{0,75}$ = excreção endógena de derivados de purina (mmol/dia); e $e^{-0,25X}$ = taxa de substituição da síntese de novo por purinas endógenas.

O fluxo de N-microbiano (NMic g/dia) foi calculado em função das purinas absorvidas (Pabs mmol/dia), utilizando-se a equação descrita por Chen & Gomes (1992) para ovinos:

$$NMic= 70Pabs / (0{,}83 \times 0{,}116 \times 1000)$$

Em que: 70 = conteúdo de nitrogênio de purinas (g N/mmol); 0,83 = digestibilidade das purinas microbianas; e 0,116 = relação N purina:N total nas bactérias.

A síntese ruminal de produção de proteína microbiana foi calculada ao multiplicar o valor de NMic pelo fator 6,25. Já a eficiência microbiana (Eficm - (g PBmic/kg de NDT consumido) foi calculada dividindo-se o valor de PBmic pelo valor correspondente ao consumo de NDT (kg) do animal no respectivo período.

Os resultados foram submetidos à análise de variância, considerando no modelo o efeito de tratamento, período, quadrado latino e animal dentro de quadrado latino. As médias de tratamento foram comparadas pelo teste Tukey, adotando-se 5% de probabilidade para erro tipo I.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os consumos de MS (CMS) e proteína bruta (CPB), nas três formas em que foram expressos, bem como os consumos de MM, MO, FDA, CT, CNF, EE, NDT, ED e EM não foram influenciados (P>0,05) pela inclusão de ureia e levedura (Tabela 18). O CMS médio registrado de 1084,72 g/dia encontra-se dentro do recomendado pelo NRC (2007) para cordeiros da categoria estudada, o qual varia de 0,63 a 1,2 kg MS/animal/dia. Aguiar et al. (2007), ao acrescentarem *S. cerevisiae* com ureia em substituição ao milho e farelo de soja em dietas à base de ponta de cana para ovinos, também não encontraram diferenças no CMS, cujos valores limites foram 1001,52 e 950, 80g, para zero e 30% de substituição, respectivamente. Araújo et al. (2007), ao formularem dieta contendo 20% da palma forrageira com 2% de inoculação da *S. cerevisiae*, para cordeiros em terminação, não verificaram diferença estatística no CMS dos animais que variou de 1170g a 1255g de MS/dia, quando comparou-se a dieta sem e com o acréscimo de 2% da levedura à palma forrageira, respectivamente. Watanabe (2011) suplementou a dieta de cordeiros alimentados com duas relações concentrado:volumoso (80:20 e 60:40) com e sem a adição de 10 g de levedura *S. cerevisiae* ativa e também não verificaram diferenças no CMS. O ensaio realizado por Issakovicz (2011) para testar dietas contendo diferentes proporções de ração concentrada em cordeiros da raça Texel, na ausência ou presença de levedura ativa, também não revelou diferença estatística para o CMS. Considerando que o consumo dos demais nutrientes está em função da ingestão de MS, isso explica a ausência de efeito (P>0,05) para os valores de consumo dos demais nutrientes (Tabela 18).

Titi et al. (2008) avaliaram o efeito da inclusão de cultura de levedura a uma dieta à base de grão de cevada e palha de trigo para cordeiros da raça Awassi e também não encontraram efeitos sobre o CMS, a digestibilidade aparente da MS, PB, FDN, e atribuíram a ausência do efeito ao fato dos animais terem sido alimentados com dieta altamente digestível e de elevado teor de proteína bruta (16,8%), mascarando os efeitos de pequena magnitude da levedura, explicação que pode auxiliar na elucidação dos dados obtidos no presente estudo, visto que média de PB das dietas estudadas foi de 20,10% (Tabela 17).

O consumo médio de PB e NDT foi de 189,89 e 776,34 g/dia, respectivamente (Tabela 18). Conforme o NRC (2007), esse consumo de PB e de NDT seria o suficiente para atender aos requisitos nutricionais de cordeiros com 30 kg de peso corporal, com ganho de peso médio diário de 250 g.

Constatou-se diferença estatística (P<0,05) apenas em relação ao consumo de FDN (CFDN), no qual PBSU-L2 apresentou valor inferior de 323,75 g/dia (Tabela 18). Este resultado pode ser explicado pelo fato de que a substituição do farelo de soja pela levedura implicou em acréscimo de 16,28% no percentual de milho para equilibrar os teores de NDT das dietas. Zambom et al. (2008) registram que o teor de FDN do milho moído (9,9%) tende a ser menor do que o de farelo de soja (12,22%).

Tabela 18. Médias e coeficiente de variação (CV) do consumo de nutrientes por ovinos Santa Inês alimentados com dietas contendo palma forrageira associada ao bagaço de cana com ou sem a inoculação de *Saccharomyces cerevisiae*

Parâmetros	Tratamentos[1]				
	T	PBSU	PBSU-L1	PBSU-L2	CV(%)
	Consumo (g/animal/dia)				
Matéria seca	1172,58	1083,50	1048,30	1034,48	14,49
Matéria Mineral	50,08	44,95	43,32	45,25	19,64
Matéria orgânica	960,73	826,99	784,92	776,50	22,26
Fibra em detergente neutro	453,93a	366,09ab	325,76ab	323,75b	27,06
Fibra em detergente ácido	196,37	151,16	148,98	155,47	28,22
Proteína bruta	214,12	187,93	180,23	177,29	20,35
Extrato etéreo	45,51	39,11	37,45	36,83	22,14
Carboidratos totais	691,10	599,95	561,24	567,86	23,64
Carboidratos não fibrosos	237,18	233,86	235,48	244,11	25,11
Nutrientes digestíveis totais	839,86	765,25	752,57	747,66	16,58
Energia digestível[2]	3,37	3,22	3,15	3,00	10,95
Energia metabolizável[2]	2,77	2,64	2,58	2,46	10,94
	Consumo (g/kg Peso Corporal)				
Matéria seca[3]	37,48	34,25	34,06	33,90	13,47
Proteína bruta[3]	6,83	5,89	5,73	5,82	18,69
	Consumo (g/kg Peso Metabólico)				
Matéria seca[3]	88,52	81,14	80,17	79,48	13,51
Proteína bruta[3]	16,15	13,98	13,49	13,69	18,97

[1] T: Palma + Bagaço de cana (70:30); PBSU: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia com sulfato de amônio (9:1); PBSU-L1: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia com sulfato de amônio e 1% de levedura; PBSU-L2:Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia com sulfato de amônio e 2% de levedura; [2]Kcal/animal/dia, [3]g/animal/dia. Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

Não foram observadas diferenças (P>0,05) entre os coeficientes de digestibilidade aparente da MS, CT, CNF e FDN (Tabela 19). Campos (2011) também não verificaram efeito da substituição (25, 50, 75 e 100%) de farelo de soja em dietas para bovinos de corte por *S.cerevisiae* seca e inativa sobre a digestibilidade desses parâmetros. Carvalho et al. (2005), ao associar palma forrageira ao bagaço de cana e ureia com diversos suplementos (farelo de

trigo, fubá de milho e farelo de soja) na dieta de vacas holandesas, verificaram que os coeficientes de digestibildade aparente da MS, FDN e PB, quando utilizaram o farelo de soja, foram respectivamente: 58,56, 32,05 e 79,79%, valores próximos ao observado no presente estudo (Tabela 3).

Apenas para a digestibilidade da PB, verificou-se diferença (P<0,05) entre os tratamentos PBSU-L1 e PBSU-L2 (84,49% e 84,68%, respectivamente) e T (83,33%) (Tabela 19). O comportamento do coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta (CDAPB), observado neste estudo, contraria Van Soest (1994), que afirma que dificilmente a digestibilidade deste componente é afetada pela dieta. Ezequiel et al. (2000), por exemplo, alimentaram borregos da raça Ideal com rações isoproteicas constituídas de feno de capim-de-Rhodes, milho e uma das fontes proteicas: farelo de algodão, ureia ou levedura de cana-de-açúcar, porém, não verificaram diferenças para o CDAPB entre os distintos suplementos proteicos. Gomes et al. (2011) também não verificaram efeito da levedura (P>0,10) ao utilizar 0,6 g/kg MS sobre o CDAPB da dieta. No entanto, Haddad & Goussous (2005) relatam aumento no CDAPB, quando *S. cerevisiae* é utilizada em dietas com alto teor de concentrados para ovinos. De modo que os resultados obtidos neste trabalho reforçam também a afirmativa de Cavalcante et al. (2005), os quais preconizaram que dietas contendo alto teor de proteína apresentam aumento da digestibilidade total da PB. Além disso, o resultado obtido neste trabalho aponta para uma perspectiva positiva, já que embora não tenha apresentado diferença estatística, houve uma tendência na diminuição do consumo desse nutriente para os tratamentos que receberam levedura, PBSU-L1 e PBSU-L2 (180,23 e 177,29g/animal/dia) em relação à T (214,12 g/animal/dia) (Tabela 18), que possivelmente poderá ser compensada pela maior digestibilidade da PB, quando as dietas são formuladas com volumoso à base de palma forrageira e bagaço de cana enriquecido com 1 e 2% de levedura.

Tabela 19. Médias e coeficientes de variação (CV) do coeficiente de digestibilidade aparente de nutrientes em ovinos Santa Inês alimentados com dietas contendo palma forrageira associada ao bagaço de cana com ou sem a inoculação de *Saccharomyces cerevisiae*

Parâmetros (%)[1]	Tratamentos[1]				
	T	PBSU	PBSU-L1	PBSU-L2	CV(%)
Matéria seca	62,32	62,53	63,32	62,19	5,01
Proteína bruta	83,33b	83,79ab	84,49a	84,68a	1,21
Carboidratos totais	63,79	63,29	64,92	63,74	6,27
Carboidratos não-fibrosos	86,71	88,66	87,96	89,80	2,95
Fibra em detergente neutro	39,23	39,47	38,53	37,60	7,08

[1] T: Palma + Bagaço de cana (70:30); PBSU: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia com sulfato de amônio (9:1); PBSU-L1: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia com sulfato de amônio e 1% de levedura; PBSU-L2:Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia com sulfato de amônio e 2% de levedura. Médias seguidas letras distintas na linha diferem entre sipelo teste Tukey (P>0,05).

No que concerne às excreções dos derivados de purinas, representados por alantoína (ALA), xantina e hipoxantina (XAN e HIP) e ácido úrico (ácU), derivados de purinas totais (DP), purinas absorvidas (Pabs), compostos nitrogenados microbianos (Nmic), proteína microbiana (Pmic) e eficiência microbiana (Eficm) correspondentes aos tratamentos e os respectivos coeficientes de variação, verifica-se que apenas as variáveis XAN e HIP e ácU foram afetadas significativamente (P<0,05) pela inclusão de 2% de levedura ao substrato palma:bagaço-de-cana (70:30). Já para as excreções de ALA e DP, não foram registradas diferenças (P>0,05). A produção microbiana (Nmic e Pmic) seguiu o mesmo comportamento observado nas excreções de ALA e DP, ou seja, não houve efeito significativo (P>0,05) dos tratamentos. Trabalhando com bovinos, Campos (2011) também observaram que as concentrações de ALA, ácU, DP e Efmic não diferiram em função dos níveis crescentes de levedura seca e inativa em substituição ao farelo de soja. Resultado que a autora atribui à ausência de diferença estatística nos coeficientes de digestibilidade de nutrientes como CNF, fato que também ocorreu no presente estudo.

Rennó et al. (2000), trabalhando com ovinos, relataram que, há alta correlação entre excreção de DP na urina e fluxo de compostos nitrogenados microbianos no duodeno, além de citarem que a excreção de ALA é o parâmetro que melhor reflete a excreção de DP, já que a ALA sempre representa o maior percentual dos DP. Gonsalves Neto (2011), ao conduzir experimento para avaliar os efeitos da substituição parcial da ureia convencional pela ureia de liberação lenta, em dietas com diferentes proporções de milho e casca de soja, verificaram que não houve efeito dos tratamentos sobre as excreções urinárias dos DP, cuja média foi estabelecida em 4,92 mmol/dia e a produção de Nmic em 4,48 g/dia. Esses valores foram inferiores aos observados no presente trabalho, quando se registrou excreção diária de 12,96 mmol/dia de DP, o que refletiu em 10,95g de Nmic/dia (Tabela 20).

Verifica-se que os valores referentes à produção de NMic variam muito de acordo com a dieta. Trabalhando com ovinos Santa Inês, Bueno (2002) registrou dados que oscilaram de 3,6 a 14,0 g/dia, quando os animais foram alimentados com fenos de Tifton-85 e alfafa, respectivamente. Já Jetana et al. (2000) verificaram valores entre 7,8 e 10,8 g de Nmic/dia, quando os animais receberam dietas contendo capim-colonião e concentrado.

A não observância de diferenças estatísticas para DP, síntese de Nmic, PBmic e Efimic entre os tratamentos constitui um dado interessante, por indicar que a substituição de parte da proteína dietética, oriunda do farelo de soja por níveis de inóculo de *S.cerevisiae*, oportuniza a formulação de dietas alternativas e, por assim dizer, menos onerosas. Nas condições experimentais deste trabalho, verificou-se que a inclusão de 1% de *S. cerevisiae*,

sob a forma de fermento biológico ao substrato composto de palma forrageira:bagaço-de-cana (70:30), correspondente a 50% da MS do volumoso fornecido, possibilita a redução de 40,7% na quantidade de farelo de soja a ser utilizada para equilibrar o teor proteico da dieta, se comparado ao percentual requerido deste concentrado proteico para o balanceamento do teor de proteína bruta da testemunha. Na dieta com levedura (PBSU-L1), utilizou-se 23,72% do farelo de soja (Tabela 17), sem que com isso houvesse prejuízo para a síntese microbiana ruminal. Isso porque, ao se considerar a ingestão de 1kg de MS da ração composta por palma forrageira:bagaço de cana (70:30), com 18,09% de MS e silagem de sorgo, seriam utilizados aproximadamente 1,4 kg de MN da mistura palma-bagaço, dessa forma, 1% da MN dessa mistura corresponderá a 14 g de fermento biológico (inóculo de *S. cerevisiae*). Já para o concentrado (com aproximadamente 90% MS) seriam requeridos 555 g, dos quais 40% correspondem ao farelo de soja (222,22 g). Em valores monetários, a substituição de 40,7% (90,44 g) de farelo de soja por 14 g de levedura corresponde à redução de 16 centavos de real (R$ 0,16)/kg de MS de ração formulada. Considerando que a saca com 60 kg de farelo de soja ao custo de R$ 69,05, conforme dados do dia 13/06/2013, publicados pelo CEPEA/ESALQ, e que 500g de fermento biológico fresco, adquirido em comércio varejista, apresentou um custo de R$ 3,60. Entretanto, é válido ressaltar que, se comprado no atacado, o fermento biológico possivelmente poderá ser adquirido por valores inferiores, o que contribuirá para maior redução nos custos de arraçoamento dos animais.

Araújo et al. (2007) também apontam vantagem financeira, quando da utilização de bioproduto à base de palma enriquecida com *S. cerevisiae*. Para a formulação do bioproduto com 2% da levedura, quando obtiveram 9,7% de PB, os autores tiveram um custo de R$ 0,15/ kg. Comparativamente, por ocasião da realização do estudo, uma tonelada do bioproduto custou R$ 150,00, enquanto a mesma quantidade de milho e sorgo, em grãos, R$ 800,00 e R$ 520,00, respectivamente, demonstrando, os autores, a viabilidade econômica do processo de bioconversão da palma forrageira por meio da levedura *S. cerevisiae* para substituir a inclusão de alimentos concentrados na dieta.

Tabela 20. Excreções urinárias de alantoína, xantina e hipoxantina, ácido úrico, derivados de purinas totais, purinas absorvidas, nitrogênio microbiano, produção de proteína microbiana e eficiência microbiana de ovinos alimentados com dietas contendo palma forrageira associada ao bagaço de cana com ou sem a inoculação de *Saccharomyces cerevisiae*

Parâmetros	Tratamentos[1]				
	T	PBSU	PBSU-L1	PBSU-L2	CV(%)
Alantoína (mmol/dia)	7,59	7,25	7,40	7,07	34,37
Xantina e hipoxantina (mmol/dia)	2,83b	3,56ab	3,83ab	5,17a	46,76
Ácido úrico (mmol/dia)	1,39b	1,69ab	1,78ab	2,31a	40,33
Derivados de purina totais (mmol/dia)	11,81	12,50	12,99	14,55	27,91
Purinas absorvidas (mmol/dia)	14,39	14,48	14,65	16,70	30,52
Nitrogênio microbiano (g/dia)	10,46	10,53	10,65	12,14	30,52
Proteína microbiana (g/dia)	65,38	65,81	66,58	75,90	30,53
Eficiência microbiana (gPBmic/kg de NDT consumido)	92,33	84,33	89,00	101,58	40,23

[1] T: Palma + Bagaço de cana (70:30); PBSU: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia com sulfato de amônio (9:1); PBSU-L1: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia com sulfato de amônio e 1% de levedura; PBSU-L2:Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia com sulfato de amônio e 2% de levedura. Médias seguidas letras distintas na linha diferem entre si pelo teste Tukey (P>0,05).

CONCLUSÃO

A palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar enriquecida com *S. cerevisiae* resulta em um bioproduto com possibilidade de ser utilizado na alimentação de ovinos, sem que haja prejuízo à qualidade nutricional da dieta, constituindo-se, portanto, em uma alternativa alimentar para os sistemas de produção, sobretudo, em regiões semiáridas.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, S.R., FERREIRA, M.A., BATISTA, Â.M.V.; CARVALHO, F.F.R.; BISPO, S.V.; MONTEIRO, P.B.S. Desempenho de ovinos em confinamento, alimentados com níveis crescentes de levedura e uréia. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 29, p. 411-416, 2007.

ARAÚJO, L.F.; DIAS, M.V.C.; BRITO, E.A.; OLIVEIRA JÚNIOR, S. Enriquecimento protéico de alimentos por levedura em fermentação semissólida: alternativa na alimentação animal. **Tecnologia & Ciência Agropecuária** , v.3, p.47-53, 2009.

ARAÚJO, L.F.; SILVA F.L.H.; BRITO, E.A.; OLIVEIRA JÚNIOR S.; SANTOS, E.S. Enriquecimento protéico da palma forrageira com *Saccharomyces cerevisiae* para alimentação de ruminantes. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia** v.60, n.2, p.401-407, 2008.

ARAÚJO, L.F.; BRITO, E.A.; BARREIRO NETO, M. Bioconversão da palma forrageira: alternativa alimentar para pequenos ruminantes. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.1, p.59-61, 2007.

BUENO, I.C.S. **Cinética digestiva e síntese microbiana ruminal em ovinos alimentados com fenos de três qualidades distintas**. 2002. 97f. Tese (Doutorado em Ciência) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba, SP.

CABRAL, L.S.; NEVES, E.M.O.; ZERVOUDAKIS, J.T. et al. Estimativas dos requisitos nutricionais de ovinos em condições brasileiras. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. v.9, p. 529-542, 2008.

CAMPOS, A.F. **Substituição de farelo de soja por levedura seca inativa em dietas de bovinos de corte**. 2011. 64p. (Dissertação – Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal de Viçosa - UFV, Viçosa.

CARVALHO, M.C.; FERREIRA, M.A.; CAVALCANTI, C.V.A.; LIMA, L.E.; SILVA, F.M.S.; MIRANDA, K.F.; VÉRAS, A.S.C.; AZEVEDO, M.; VIEIRA, V.C.F. Associação do bagaço de cana-de-açúcar, palma forrageira e uréia com diferentes suplementos em dietas para ovilhas da raça holandesa. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 27, n. 2, p. 247-252, 2005.

CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; PEREIRA, JOSÉ CARLOS; HENRIQUES, L.T.; FREITAS, S.G.; PAULINO, M.F. 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, p.335-342, 2008.

CAVALCANTE, M.A.B.; PEREIRA, O.G.; VALADARES FILHO, S.C.; RIBEIRO, K.G.; CHIZZOTTI, F.H.M.; PEREIRA, D.H. Níveis de Proteína Bruta em Dietas para Bovinos de Corte: Consumo e Digestibilidades Total e Parcial dos Nutrientes. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.34, p.2200-2208, 2005.

CHEN X.B.; GOMES M.J. **Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives-an overview of technical details.**

International Feed Research Unit Rowett Research Institute. Aberdeen, UK. (occasional publication), p.21, 1992.

CHEN, X.B.; MEJIAA, A.T., KYLE, D.J. E.; ØRSKOV, R. Evaluation of the use of the purine derivative:creatinine ratio in spot urine and plasma samples as an index of microbial protein supply in ruminants: studies in sheep. **Journal of Agricultural Science**, v.125, p.137-143, 1995.

DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.V.; QUEIROZ, A.C.; BERCHIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; CABRAL, L.S.; PINA, D.S., LADEIRA, M.M.; AZEVEDO, J.A.G. **Métodos para análise de alimentos**. INCT – Ciência Animal. Visconde do Rio Branco, MG: Suprema, 2012. 214 p.

EZEQUIEL, J.M.B.; SAMPAIO A.A.M.; SEIXAS, J.R.C.; OLIVEIRA, M.M. Balanço de nitrogênio e digestão total da proteína e da energia de rações contendo farelo de algodão, levedura de cana-de-açúcar ou uréia, em ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, p. 2332-2337, 2000.

GAD, A.S.; HASAN, E.A.; ABD EL AZIZ, A. Utilization of Opuntia ficus indica waste for production of Phanerochaete chrysosporium bioprotein. **Journal of American Science**. v.6, p. 208-216, 2010.

GERASEEV, L.C.; PEREZ, J.R.O.; RESENDE, K.T.; RESENDE, K.T.; BONAGURIO, S. Composição corporal e exigências nutricionais em cálcio e fósforo para ganho e mantença de cordeiros Santa Inês dos 15 kg aos 25 kg de peso vivo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, p. 261-268, 2000.

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

GONSALVES NETO, J. **Utilização de uréia de liberação lenta na alimentação de cordeiros.**, 2011. 89p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia-UESB. Itapetinga.

HADDAD, S.G.; GOUSSOUS, S.N. Effect of yeast culture supplementation on nutrient intake, digestibility and growth performance of Awassi lambs. **Animal Feed Science Technology**, v.118, p. 343-348, 2005.

HARRIS, L.E. Métodos químicos e biológicos. In: HARRIS, L.E. (Ed.) COMPILAÇÃO DE DADOS ANALÍTICOS E BIOLÓGICOS PARA O PREPARO DE TABELAS DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS PARA O USO NOS TRÓPICOS DA AMÉRICA LATINA. **Proceedings…** Gainesville: University of Florida, 1970, p.1401.

ISSAKOWICZ, J. **Levedura ativa (*Saccharomyces cerevisiae*) na dieta de cordeiros em terminação.** 2011.70p. Dissertação (mestrado em produção animal sustentável) - Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios Instituto de Zootecnia, Nova Odessa.

MALHADO, C.H.M.; CARNEIRO, P.L.S.; SANTOS, P.F.; AZEVEDO, D. M.M.; SOUZA, J.C.S.; AFFONSO, P.R.M. Curva de crescimento em ovinos mestiços Santa Inês x Texel

criados no Sudoeste do Estado da Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, p. 210-218, 2008.

MENDONÇA, S.S.; PEREIRA, M.L.A.; ASSIS, A.J. Estimação da produção de proteína microbiana em ruminantes baseada nas excreções de derivados de purina. **Revista Portuguesa de Ciência Veterinária**, v. 101, p.181-186, 2006.

MONTEIRO, E.M.M.; LOURENÇO JÚNIOR, J.B.; GARCIA, A.R.; NAHÚM, B.S.; SANTOS, N.F.A.; FERREIRA, G.D.G. Consumo e digestibilidade aparente da matéria seca, matéria orgânica e proteína bruta da *Pueraria phaseoloides* (Roxb.) Benth por ovinos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, p. 417-426, 2012.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL - **Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids**. Washington, D.C.: National Academy Press, 2007. 362p.

OLIVEIRA, A.S.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C.; CECON, P. R.; RENNÓ, L.N.; QUEIROZ, A.C.; CHIZZOTTI, M.L. Produção de Proteína Microbiana e Estimativas das Excreções de Derivados de Purinas e de Uréia em Vacas Lactantes Alimentadas com Rações Isoprotéicas Contendo Diferentes Níveis de Compostos Nitrogenados Não-Protéicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.1621-1629, 2001.

RENNÓ L.N.; VALADARES R.F.D.; LEÃO M.I.; Estimativa da produção de proteína microbiana pelos derivados de purinas na urina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.1223-1234, 2000.

SANTOS, D.C.; FARIAS, I.; LIRA, M.A.; SANTOS, M.V.F.; ARRUDA, G.A. COELHO, R.S.B.; DIAS, F.M.; MELO, J.N. **Manejo e utilização da palma forrageira (*Opuntia e Nopalea*) em Pernambuco**. Recife: Instituto Agronômico de Pernambuco, 2002. 48p.

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

TITI, H. H.; DMOUR, R. O.; ABDULLAH, A. Y. Growth performance and carcass characteristics of Awassi lambs and Shami goat kids fed yeast culture in their finishing diet. **Animal Feed Science and Technology**, v.142, p.33-43, 2008.

TOSTO M. S.L.; ARAÚJO, G.G.L.; OLIVEIRA, R.L.; BALGADO, A.R.; DANTAS, F.R.; MENEZES, D.R.; CHAGAS, E.C.O. Composição química e estimativa de energia da palma forrageira e do resíduo desidratado de vitivinícolas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Anima**l, v.8, n.3, p. 239-249, 2007.

VALIÑOS, E.; ELÍAS, A.; TORRES, V.; ALBELO, N. Estudio de la carga microbiana en el bagazo de caña de azúcar fresco como sustrato para la alimentación animal, mediante fermentaciones en estado sólido. **Revista Cubana de Ciencia Agrícola**, v. 36, p. 373-378, 2002.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. 2nd ed. Ithaca: Cornell University Press,1994, 436p.

WATANABE, M.H.T. **Levedura ativa (Saccharomyces cerevisiae) a dieta de ovinos. digestibilidade aparente dos nutrientes e parâmetros ruminais.** 2011. 40p. Dissertação (mestrado em Zootecnia) Instituto de Zootecnia, APTA/SAA, Nova Odessa.

ZAMBOM, M.A.; SANTOS, G.T.; MODESTO, E.C.; ALCALDE, C.R.; GONÇALVES, G.D., SILVA, D.C.; SILVA, K.T.; FAUSTINO, J.O. Valor nutricional da casca do grão de soja, farelo de soja, milho moído e farelo de trigo para bovinos. **Acta Scientiarum**, v. 23, p. 937-943, 2008.

VI - CONSIDERAÇÕES FINAIS

O acréscimo de aditivos como a ureia e *S. cerevisiae* concorrem para a melhoria do perfil nitrogenado do substrato proveniente da associação da palma forrageira e bagaço de cana-de-açúcar, haja vista, quando conjugados, favorecem o incremento da fração correspondente à proteína verdadeira digestível em detrimento da fração composta exclusivamente por nitrogênio não proteico. Entretanto, a inclusão desses aditivos ao substrato promove o consumo das reservas de carboidratos não fibrosos, reduzindo sua fração nas dietas.

A adição de *S. cerevisiae,* na proporção de 1 e 2% de levedura, não reduz a degradabilidade da matéria seca, bem como não afeta o tempo de colonização da palma forrageira associada ao bagaço-de-cana para a degradabilidade da matéria seca e da fibra em detergente neutro, mas eleva os teores de nitrogênio amoniacal e colabora para a produção de biossíntese microbiana, melhorando a eficiência da incorporação da matéria seca degradada à massa microbiana.

A palma forrageira associada ao bagaço de cana-de-açúcar enriquecida com *S. cerevisiae* resulta em um bioproduto com possibilidade de ser utilizado na alimentação de ovinos, sem que haja prejuízo à qualidade nutricional da dieta, constituindo, portanto, uma alternativa alimentar para os sistemas de produção, sobretudo, em regiões semiáridas.

VII - APÊNDICES

TABELAS DO APÊNDICE

Tabela 1A. Peso final (kg) e inicial (kg) de cordeiros Santa Inês alimentados com dietas contendo palma forrageira associada ao bagaço de cana com ou sem a inoculação de *Saccharomyces cerevisiae* durante os períodos de avaliação

Período[1]	T		PBSU		PBSU-L1		PBSU-L2	
	Peso inicial	Peso final	Peso inicial	Peso final	Peso inicial	Peso final	Peso inicial	Peso final
1	24,0	27,5	27,8	31,5	26,5	28,7	22,8	24,5
	24,0	26,0	22,3	26,4	27,7	29,1	23,5	24,4
	27,0	31,0	29,8	31,0	24,9	27,0	24,3	24,6
2	31,2	30,2	28,7	33,8	24,6	29,5	27,5	30,6
	26,4	27,8	29,1	31,4	24,4	28,2	26,0	33,9
	31,0	34,9	27,0	30,1	24,6	29,7	31,0	29,7
3	33,8	36,8	29,5	33,3	30,7	33,3	30,0	34,7
	31,4	35,6	28,2	30,3	33,9	38,5	27,8	34,0
	30,1	35,6	29,7	38,7	29,7	32,0	34,9	37,7
4	33,3	35,9	33,3	36,0	34,7	37,8	36,8	40,4
	30,3	31,3	38,5	41,3	34,0	38,2	35,6	37,9
	38,7	36,8	32,0	37,5	37,7	40,2	35,6	38,4
Média peso animais	**30,1**	**32,4**	**29,6**	**33,4**	**29,4**	**32,7**	**29,7**	**32,6**
Ganho peso dos animais (kg)	**2,4**		**3,8**		**3,2**		**2,9**	

[1] Duração total dos períodos experimentais: 56 dias (14 dias/período); T: Palma + Bagaço de cana (70:30); PBSU: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia com sulfato de amônio (9:1); PBSU-L1: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia com sulfato de amônio e 1% de levedura; PBSU-L2:Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia com sulfato de amônio e 2% de levedura.

Tabela 2A. Ganho de peso médio diário (kg) de cordeiros Santa Inês alimentados com dietas contendo palma forrageira associada ao bagaço de cana com ou sem a inoculação de *Saccharomyces cerevisiae* durante os períodos de avaliação (Kg)

Período[1]	Quadrado Latino	T	PBSU	PBSU-L1	PBSU-L2
1	1	0,25	0,24	0,16	0,13
	2	0,14	0,30	0,10	0,06
	3	0,29	0,09	0,15	0,03
2	1	-0,07	0,37	0,35	0,23
	2	0,10	0,16	0,27	0,56
	3	0,28	0,22	0,36	-0,10
3	1	0,21	0,27	0,19	0,32
	2	0,30	0,15	0,33	0,45
	3	0,39	0,64	0,17	0,20
4	1	0,19	0,20	0,23	0,25
	2	0,08	0,20	0,30	0,16
	3	-0,14	0,38	0,18	0,20
Média		**0,17**	**0,27**	**0,23**	**0,21**

T: Palma + Bagaço de cana (70:30); PBSU: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia com sulfato de amônio (9:1); PBSU-L1: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia com sulfato de amônio e 1% de levedura; PBSU-L2:Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia com sulfato de amônio e 2% de levedura.

Tabela 3A. Meios de cultura e respectivos reagentes utilizados para a condução da técnica semiautomática de produção de gases (Theodorou et al. 1994)

Ordem	**Componentes**	**1L**	**150 frascos (90mL/cada) (10% extra) (mL)**
1	Água destilada	520,2	7725,5
2	Solução tampão	208,1	3090,2
3	Macromineral	208,1	3090,2
4	Micromineral	0,1	1,5
5	Solução rezazurina	1,0	15,5
6	Meio B	62,4	927,1
7	**Total**	**1000,0**	**14,9**
(2) Tampão		**1L Solução**	**150 frascos (90mL/cada) (10% extra) (mL)**
NH_4HCO_3 (g/L)		4	12,4
$NaHCO_3$ (g/L)		35	108,2
Água Destilada (L)		1	3090,2
(3) Tampão		**1L Solução**	**150 frascos (90mL/cada) (10% extra) (mL)**
$Na_2HPO_4.12H_2O$ (g/L)		9,45	29,2
KH_2PO_4 (g/L)		6,20	19,2
$MgSO_4.7H_2O$(g/L)		0,60	1,9
Água Destilada (ml)		1000	3090,2
(4) Micromineral		**1L Solução**	**150 frascos (50mL/total) (10% extra) (mL)**
$CaCL_2.2H_2O$ (g/L)		132	6,6
$MnCl_2.4H_2O$ (g/L)		100	5,0
$CoCl_2.6H_2O$ (g/L)		10	0,5
$FeCL_3.6H_2O$ (g/L)		80	4,0
(5) Solução Rezazurina		0,01 g/L	1 mL/ de meio
(6) Micromineral		**1L Solução**	**150 frascos (50mL/total) (10% extra)**
Cisteína HCl (g/L)		6,25	6,1
1 M NaOH (g/L)		40,0	39,0
$Na_2S.9H_2O$ (g/L)		6,25	6,1
Água destilada (g/L)		950,0	927,1

T: Palma + Bagaço de cana (70:30); PBSU: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia com sulfato de amônio (9:1); PBSU-L1: Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia com sulfato de amônio e 1% de levedura; PBSU-L2:Palma + Bagaço de cana (70:30) com 0,3% sal mineral, 0,5% ureia com sulfato de amônio e 2% de levedura.

Figura 1A. Coleta de urina em cordeiro Santa Inês