



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**DIGESTIBILIDADE E BALANÇO DE NITROGÊNIO EM CORDEIROS
SUPLEMENTADOS COM CEPAS FÚNGICAS AUTÓCTONES DO TRATO
DIGESTÓRIO**

Autor: Joane Raquel Ferreira Alves de Almeida
Orientadora: Prof.^a Dr.^a Mara Lúcia Albuquerque Pereira
Co-orientador: Dr.^o Herymá Giovani de Oliveira Silva

ITAPETINGA
BAHIA – BRASIL
2019

JOANE RAQUEL FERREIRA ALVES DE ALMEIDA

**DIGESTIBILIDADE E BALANÇO DE NITROGÊNIO EM CORDEIROS
SUPLEMENTADOS COM CEPAS FÚNGICAS AUTÓCTONES DO TRATO
DIGESTÓRIO**

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Mara Lúcia Albuquerque Pereira

Co-orientador: Prof. Dr. Herymá Giovane de Oliveira Silva

ITAPETINGA
BAHIA – BRASIL
2019

636.085 Almeida, Joane Raquel Ferreira Alves de.
A448d Digestibilidade e balanço de nitrogênio em cordeiros suplementados com cepas fúngicas autóctones do trato digestório. / Joane Raquel Ferreira Alves de Almeida. - Itapetinga: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2019. 44fl.

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Sob a orientação da Prof^a. D. Sc. Mara Lúcia Albuquerque Pereira e coorientação do Prof. D.Sc. Herymá Giovane de Oliveira Silva.

1. Cordeiros - Digestibilidade - Balanço de nitrogênio. 2. Ruminantes - Alimentação – Aditivo microbiano. 3. Forragem – Suplemento – Probióticos. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. II. Pereira, Mara Lúcia Albuquerque. III. Silva, Herymá Giovane de Oliveira. IV. Título.

CDD(21): 636.085

Catálogo na fonte:

Adalice Gustavo da Silva – CRB/5-535
Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para Desdobramento por Assunto:

1. Cordeiros - Digestibilidade - Balanço de nitrogênio
2. Ruminantes - Alimentação – Aditivo microbiano
3. Forragem – Suplemento – Probióticos
4. *Urocloa decumbens*

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

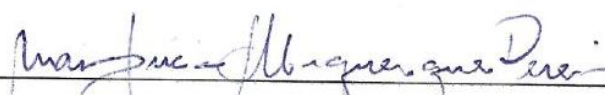
Título: "Digestibilidade e balanço de nitrogênio em cordeiros suplementados com cepas fúngicas autóctones do trato digestório".

Autor (a): Joane Raquel Ferreira Alves de Almeida

Orientador (a): Prof^a. Dr^a. Mara Lúcia de Albuquerque Pereira

Co-orientador (a): Prof. Dr. Herymá Geovane de Oliveira Silva

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



Prof^a. Dr^a. Mara Lúcia de Albuquerque Pereira – UESB
Orientadora



Prof. Dr. Eduardo Robson Duarte – UFMG



Dr^a. Ana Paula Gomes da Silva

Data de realização: 08 de agosto de 2019.

*“Entrega o teu caminho ao Senhor, confia nele e o mais ele fará,
Agrada – te do Senhor, e ele satisfará os desejos do teu coração.”*

Salmos 37: 3 e 4

EPÍGRAFE

A Deus por todas as bênçãos derramadas sobre a minha vida!

*À minha filha Ana Regina, a minha mãe Regina Célia (**In memoriam**) e a minha família.*

DEDICO!

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida.

Á minha amada filha Ana Regina, pela compreensão e paciência nos momentos difíceis, como estresse e cansaço, quando não era possível lhe dar a atenção merecida; pelas vezes em que a ausência se fazia necessária ao longo deste curso. Você é meu grande incentivo. Amo-te, incondicionalmente!

*À minha querida mãe, Regina Célia Ferreira Silva, (**in memoriam**), grande amiga que soube me ensinar todos os meus valores, como dignidade, honestidade, perseverança, educação, alegria entre outros. Obrigada por todo carinho, amor. Sinto muito sua falta! Amo-te, infinitamente!*

Ao meu pai Aldeci, pelo exemplo e por ter acreditado que um dia eu estaria onde estou.

Ao meu esposo Jecy Júnior, pelo companheirismo, atenção, paciência e conforto nos momentos difíceis.

*Aos meus avós, Ana Maria e Joaquim (**in memoriam**); e Joana e Miguel.*

Às minhas tias Nalva, Lia, Lú, Ise, Hil, Janete e Vitória, vocês são muito especiais para mim!

À minha prima Fernanda, obrigada por tudo que fez por mim!

Ao meu irmão Joab, pelo companheirismo durante todos esses anos, em meios a alegrias e tristezas sempre esteve ao meu lado!

A toda família Ferreira, pelas orações, pelas resenhas e companheirismo!

Aos meus sogros, Zenilda e Jecy, pelo apoio e auxílio durante toda essa jornada!

À Prof^a. Dr^a. Mara Lúcia Albuquerque Pereira, pela sua preciosa orientação, carinho, paciência e atenção. Agradeço ainda o imenso apoio e solidariedade pelos momentos difíceis passados, e quando parecia que as coisas não dariam certo, a sua mão estava aberta para me auxiliar, obrigada pelo seu grande incentivo em minha vida, levarei seus ensinamentos por todo o meu percurso. Obrigada por tudo!

À Universidade Federal de Belo Horizonte (UFMG) e aos Prof^{os}. Dr^o. Eduardo Robson e Cláudio, pela condução do experimento e fornecimento dos dados.

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, pela oportunidade de estudo para conclusão deste curso;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo;

A todos os professores do PPZ, pelos ensinamentos e experiências repassados;

Ao Prof. Dr. Herymá Giovane de Oliveira Silva, pela colaboração, ensinamento, humildade e principalmente devido à disponibilidade sempre que solicitado, serei sempre grata!

À Aline Gonçalves, pelo auxílio nos cálculos e planilhas, Deus te abençoe querida!

Aos colegas da Pós-Graduação, pelo apoio e colaboração: Lorena, Deyse, Marcinha.

À Karine e Larisse, por todos os momentos passados, dentre eles alegrias, tristezas e muitas resenhas. Sou muita grata a vocês pela nossa amizade!

A Maicon, Ana Cristina, Tamires, Bruna e Amanda pela força nas análises.

Ao LAFA e seus integrantes, vocês são demais! Guardarei todos para sempre em minha vida: George, Eric, Maicon, Ana Cristina e Elizeu.

MUITO OBRIGADA!

BIOGRAFIA

Joane Raquel Ferreira Alves de Almeida, natural de Itapetinga – Bahia, filha de Aldeci Vieira de Almeida e Regina Célia Ferreira Silva, nasceu em 18 de abril de 1993.

Em 2011, iniciou o curso de Graduação em Zootecnia na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, *Campus* Itapetinga – BA, finalizando-o em 2016.

Em março 2017, iniciou o Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, área de concentração Produção de Ruminantes, na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia finalizando em agosto de 2019.

SUMÁRIO

	PÁGINA
LISTA DE TABELAS	xi
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
I – REFERENCIAL TEORICO.....	14
1.1 – Introdução.....	14
1.2 – Qualidade das forragens tropicais e degradação ruminal.....	15
1.3 - Microbiota do rúmen e fungos anaeróbios facultativos encontrados no fluido ruminal.....	16
1.4 – Suplementação com fungos e leveduras em dietas para ruminantes.....	18
1.5 – Referências.....	21
II – OBJETIVO GERAL.....	27
2.1- Objetivos Específicos.....	27
III - MATERIAL E MÉTODOS.....	28
3.1- Local, dietas experimentais e isolados avaliados.....	28
3.2 - Medidas de Consumo e Digestibilidade.....	29
3.3 – Análises químicas do volumoso e concentrados fornecidos, sobras e fezes.....	29
3.4 – Balanço de nitrogênio, síntese de proteína microbiana e excreção de ureia.....	32
3.5 Análise Estatística.....	34
IV – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
V – CONCLUSÃO.....	41
VI – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.	Composição química dos ingredientes e da dieta experimental.....	31
TABELA 2.	Composição química do feno de <i>Urochloa decumbens</i>	32
TABELA 3.	Consumo de nutrientes em cordeiros desmamados alimentados com dieta suplementada ou não com os fungos (<i>T.longibrachiatum</i> e <i>R. mucilaginosa</i>) provenientes do trato digestório de ovinos.....	35
TABELA 4.	Digestibilidade aparente dos nutrientes em cordeiros desmamados alimentados com dieta suplementada ou não com os fungos (<i>T.longibrachiatum</i> e <i>R. mucilaginosa</i>) provenientes do trato digestório de ovinos.....	36
TABELA 5.	Excreção urinária de derivados de purina e proteína microbiana em cordeiros alimentados com dieta suplementada ou não com os fungos (<i>T.longibrachiatum</i> e <i>R. mucilaginosa</i>) provenientes do trato digestório de ovinos	38
TABELA 6.	Balanço de nitrogênio em cordeiros em cordeiros desmamados alimentados com dieta suplementada ou não com os fungos (<i>T.longibrachiatum</i> e <i>R. mucilaginosa</i>) provenientes do trato digestório de ovinos.....	39

RESUMO

ALMEIDA, J.R.F.A.de. **Digestibilidade e balanço de nitrogênio em cordeiros suplementados com cepas fúngicas autóctones do trato digestório.** Itapetinga: UESB, 2019 – 44 p.(Dissertação – Mestrado em Zootecnia Produção de Ruminantes) *.

As gramíneas tropicais no período de seca reduzem a oferta de nutrientes solúveis no conteúdo celular e possuem maior proporção de carboidratos fibrosos da parede celular lignificada. A utilização de aditivos microbianos na alimentação de ruminantes, com o propósito de estimular a digestão no rúmen e a eficiência alimentar poderia contribuir para melhorar a produtividade dos ruminantes alimentados com essas gramíneas. Nesta pesquisa, objetivou-se avaliar os efeitos da suplementação cepas autóctones de *Trichoderma longibrachiatum* e *Rhodotorula mucilaginosa* do trato gastrointestinal de ovinos, em dieta para cordeiros alimentados com feno de *Urochloa decumbens* sobre o consumo, a digestibilidade de nutrientes, a síntese de proteína microbiana, o balanço de nitrogênio e excreção de ureia. O experimento teve duração de 75 dias, sendo os 12 primeiros dias de adaptação às dietas e baias e 63 dias de coleta de dados. Foram utilizados 21 ovinos, mestiços da raça Santa Inês x Dorper, machos, não castrados com idade média de quatro meses e peso corporal médio inicial de $(18,80 \pm 2,34 \text{ kg})$, distribuídos aleatoriamente em um delineamento inteiramente casualizado (DIC). A relação volumoso concentrado foi 30:70, foi utilizada uma dieta padrão suplementada ou não com a cepa fúngica; sem aditivo microbiano (controle); com o fungo (*Trichoderma*); e levedura (*Rhodotorula*). O consumo e digestibilidade de nutrientes, a síntese de proteína microbiana e a retenção de nitrogênio corporal não foram influenciados pela adição dos probióticos ($P > 0,05$). A eficiência microbiana foi menor ($P < 0,05$) com o uso da levedura *Rhodotorula mucilaginosa*. A alta proporção de concentrado na dieta poderia interferir nos possíveis efeitos dos probióticos sobre a utilização da fibra da forragem.

Palavras-chave: aditivo microbiano, forragem, eficiência microbiana, probióticos, rúmen, *Urochloa decumbens*.

* Orientadora: Mara Lúcia Albuquerque Pereira, Dr^a. UESB e Co-orientador: Herymá Giovane de Oliveira Silva Dr^o. UESB.

ABSTRACT

ALMEIDA, J.R.F.A.de. **Digestibility and nitrogen balance in lambs supplemented with autochthonous fungal strains of the digestive tract.** Itapetinga: UESB, 2019 – 44 p. (Master's Degree in Animal Husbandry, Area of Concentration in Ruminant Production) *.

In the dry season, tropical grasses decrease the supply of soluble nutrients in cell content and have a higher proportion of lignified cell wall fibrous carbohydrates. The use of microbial feed additives in ruminants to stimulate rumen digestion and feed efficiency could play the role of improving the productivity of ruminants fed on these grasses. The goal of this study was to evaluate the effects of supplementing autochthonous strains of *Trichoderma longibrachiatum* and *Rhodotorula mucilaginosa* from the gastrointestinal tract of sheep on diets fed with *Urochloa decumbens* hay (on intake), nutrient digestibility, microbial protein synthesis, diet nitrogen balance and urea excretion. The experiment lasted 75 days, with the first 12 days of adaptation to diets and stalls and 63 days of data collection. Twenty-one male Santa Inês x Dorper crossbred sheep, male, uncastrated, with an average age of four months and initial body weight (18.80 ± 2.34 kg) were randomly distributed in a completely randomized design (IHD). Concentrated forage ratio was 30:70, a standard diet was used supplemented or not with the fungal strain; without microbial additive (control); with the fungus (*Trichoderma*); and yeast (*Rhodotorula*). Nutrient intake, digestibility, microbial protein synthesis, and body nitrogen retention were not influenced by adding probiotics ($P > 0.05$). Microbial efficiency was lower ($P < 0.05$) with the use of *Rhodotorula mucilaginosa* yeast. High proportions of concentrate in the diet could interfere with the probable effects of probiotics on forage fiber utilization.

Keywords: microbial additive, forage, microbial efficiency, probiotics, rumen, *Urochloa decumbens*.

* Adviser: Mara Lúcia Albuquerque Pereira, DSc. UESB and Co-adviser: Herymá Giovane de Oliveira Silva DSc.

I - REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 Introdução

Em regiões tropicais, o período de estiagem é um fator limitante para a oferta de forragem com qualidade nutricional à pecuária. As gramíneas tropicais no período de seca reduzem a oferta de nutrientes solúveis no conteúdo celular e possuem maior proporção de carboidratos fibrosos lignificados na parede celular. Neste contexto, surge o interesse de pesquisas para utilização de suplementos microbianos na alimentação de ruminantes, com o propósito de estimular a digestão no rúmen e a eficiência alimentar.

Pesquisas em regiões tropicais e semiáridas apontam, que ruminantes criados em pastagens lignificadas apresentam maior densidade de fungos no trato digestório, que expressam significativa atividade celulolítica (Abrão et al., 2014; 2017; Freitas et al., 2012) e podem ser importantes na degradação da parede celular vegetal.

Os probióticos, segundo Tripathi & Karim (2011) melhoram a saúde, potencializando o desempenho animal, por meio da estabilização do ambiente ruminal favorável à atividade microbiana e fermentação. No entanto, estudos que avaliaram a inclusão de *Saccharomyces* spp., apontam resultados inconsistentes para a melhoria de desempenho produtivo (Hernandez – Garcia et al., 2015).

Em diferentes países, têm-se caracterizado a microbiota do trato digestório e registrado a importante participação desses microrganismos na digestão e no equilíbrio do ecossistema do rúmen (Kamra, 2005). Entretanto, pouco é conhecido do potencial de fungos anaeróbios facultativos do trato digestório de ovinos para a nutrição animal.

Em outra pesquisa, constatou-se que a inclusão de uma cepa de *Trichoderma longibrachiatum* proveniente do trato digestório de ovinos criados em pastagens tropicais, poderia ser importante na suplementação de ovinos criados em pastagens ou em confinamento, alimentados com forragens contendo altos teores de fibra lignificada, bem como auxiliar em uma melhor utilização dessas forrageiras (Magaço, 2018).

Nesta pesquisa, objetivou-se avaliar os efeitos digestibilidade aparente e balanço de nitrogênio da suplementação das cepas autóctones dos fungos (*Trichoderma longibrachiatum* e *Rhodotorula mucilaginosa*), em dieta para cordeiros alimentados com feno de *Urochloa decumbens*

1.2 Qualidade das forragens tropicais e degradação ruminal

As forragens são imprescindíveis na dieta dos ruminantes, como fonte de nutrientes e energia no ambiente ruminal. A maior eficiência no aproveitamento da energia dos alimentos fibrosos pelos ruminantes em relação aos monogástricos resulta das adaptações anatômicas e fisiológicas do trato digestório (Pourazad et al., 2017; Van Soest, 1994).

Intrinsecamente, as forrageiras tropicais apresentam menor valor nutritivo em comparação as de origem temperada. Entretanto, frequentemente, compreendem a única fonte de alimento para os ruminantes nos trópicos, o que resulta em baixa produtividade dos ruminantes criados em pastagens em regiões semiáridas (Díaz et al., 2014).

A parede celular das forrageiras é uma estrutura complexa, constituída em maior parte por fibras, que podem representar fonte de energia para os microrganismos ruminais, e são fundamentais para o funcionamento do rúmen (Alves et al., 2016). As proporções dos componentes na célula vegetal variam de acordo com a espécie vegetal e maturidade da planta (Gibson, 2012).

O aumento do teor de lignina na forragem resulta na redução do consumo de matéria seca e da digestibilidade da fibra (Harper & McNeill, 2015), uma vez que esse polímero forma ligações complexas com celulose e hemicelulose resultando em menor taxa de digestão e redução na energia alimentar disponível (Raffrenato et al., 2017).

A baixa disponibilidade de nutrientes nas forrageiras tropicais reduz o potencial fermentativo no rúmen, que atende apenas aos requisitos de manutenção da microbiota ruminal (Leng, 1990; Van Soest, 1994). Dessa forma, as características das forragens podem interferir na atividade fibrolítica e na degradação de nutrientes no rúmen. A participação da microbiota ruminal para a fermentação de forrageiras de baixa qualidade irá requerer diversos mecanismos envolvendo diferentes grupos microbianos (Li et al., 2014; Malmuthuge & Guan, 2017).

Contudo, maximizar a utilização da fibra pode proporcionar melhores resultados na nutrição de ruminantes. Estratégias de manipulação do ecossistema ruminal são utilizadas para aprimorar a utilização de alimentos de menor qualidade pelos ruminantes, melhorar a produtividade, a saúde e a segurança alimentar (Elghandour et al., 2015; Pérez-Ruchel et al., 2017). A adição direta de

microrganismos ou de enzimas exógenas na dieta de ruminantes proporciona benefícios e modificações ao ecossistema ruminal, melhorando as características fermentativas (Díaz et al., 2014; Elghandour et al., 2015). Todavia, essas estratégias podem variar conforme as características do clima, manejo, características dos alimentos e propósito da produção (Elghandour et al., 2015).

1.3 Microbiota do rúmen e fungos anaeróbios facultativos encontrados no fluido ruminal

O rúmen pode ser comparado a uma câmara fermentativa, com um ambiente anaeróbio estrito, temperatura entre 38 e 42° C, favorável ao crescimento de microrganismos mesófilos e pH entre 6,0 e 7,0. Os ácidos produzidos durante a fermentação são prontamente tamponados pelo bicarbonato e fosfato presentes na saliva. O ambiente ruminal adequado favorece a pressão da microbiota autoctone sobre os microrganismos do solo, água e alimentos ingeridos a todo instante pelos ruminantes (Ruiz-Lacaz et al., 1992).

Os microrganismos habitantes do rúmen possuem relação de simbiose com o hospedeiro. A microbiota ruminal atua sinergicamente para bioconversão de substâncias menos aproveitáveis como a celulose, a hemicelulose e a amônia em compostos utilizáveis pelo ruminante, como os ácidos graxos de cadeia curta, os aminoácidos, as vitaminas e outras substâncias necessárias ao crescimento e à produção de carne, leite e lã (Kamra, 2005; Oliveira et al., 2007).

As populações microbianas podem sofrer flutuações de acordo com as estações do ano e isso pode ser associado aos níveis de ácidos graxos de cadeia curta e amônia (NH₃), disponibilizados no rúmen (Martillotti et al., 1994). Grandes populações de bactérias e fungos têm sido observadas quando altas concentrações de NH₃ e ácidos graxos de cadeia curta estão presentes no rúmen. O estabelecimento e a manutenção da estabilidade das populações microbianas no rúmen são dependentes principalmente da dieta, da qualidade da alimentação e da sua frequência de distribuição, bem como, das interações microbianas (Dehority, 1998). A microbiota autoctone do rúmen foi selecionada e adaptada para sobreviver a determinadas flutuações presentes no ambiente ruminal. Microrganismos incapazes de sobreviver a essas variações são eliminados desse sítio (Kamra, 2005).

Fungos anaeróbios facultativos são aqueles capazes de utilizar o oxigênio ou um componente orgânico como aceptor final de elétrons. Essa característica permite

a esses fungos sobreviverem em distintos ambientes (Midingan et al., 2016). No último século, tem-se descoberto o potencial biotecnológico desses microrganismos para os mais diversos fins, como a produção de enzimas (Pinto et al., 2001), antibióticos, vitaminas, componentes farmacêuticos, fungicidas, reguladores do crescimento de plantas, hormônios e proteínas (Kavanagh, 2005).

Em um estudo da microbiota do rúmen de diferentes ruminantes domésticos, os gêneros *Fusarium*, *Penicilium*, *Aspergillus* e *Mucor* foram os mais frequentes em cultivos do fluido ruminal de vacas, ovelhas e cabras mantidos em pastagens tropicais no Niger, e apresentaram atividade celulolítica comprovada (Oyeleke & Okusanmi, 2008).

Em uma análise desses microrganismos no fluido ruminal de bovinos zebuínos de corte criados exclusivamente em pastagens tropicais no Brasil, Abrão et al. (2014) observaram maior ocorrência do gênero *Aspergillus* em vacas, bezerros e novilhos, em comparação a outros gêneros. Fungos leveduriformes das espécies *Torulaspora globosa*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Pichia kudriavzevii*, *Cryptococcus laurentii* também foram detectados em isolados das três categorias, e apresentam habilidade comprovada em catabolizar grande diversidade de fontes de carbono e nitrogênio (Abrão et al., 2014).

Ao avaliar a microbiota ruminal em bovinos leiteiros, Almeida et al. (2014) detectaram a ocorrência de fungos dos gêneros *Aspergillus*; *Gliocladium*; *Paecilomyces*; *Rhizopus* e *Scedosporium* em vacas alimentadas apenas com pastagem de *Urochloa brizanta*, em bezerras alimentadas com silagem de sorgo, e bezerras alimentadas com cana-de-açúcar (Almeida et al., 2014).

Em borregos criados em pastagens de *Panicum maximum* no Norte de Minas Gerais, Brasil, dos 40 isolados de fungos micelianos provenientes de fezes desses animais, 85% foram identificados como *Aspergillus* spp., 7,5% como *Paecilomyces* spp., 2,5% como *Trichoderma* spp. e 2,5% como *Acremonium* spp. Entretanto, dos 39 isolados das matrizes, 38% foram classificados como *Paecilomyces* spp., 28,2% como *Aspergillus* spp., 28,2% como *Malbranchea* spp., e 2,5% como *Onychocola* sp. Segundo os autores, as diferenças nas proporções desses fungos poderiam ser justificadas pela maior estabilidade microbiana em animais adultos (Freitas et al., 2012).

1.4 Suplementação com fungos e leveduras em dietas de ruminantes

O termo probiótico foi usado pela primeira vez na década de 60, para descrever promotores de crescimento produzidos por microrganismos, que estimulavam o crescimento de outros microrganismos (Lily & Stillwell, 1965).

Como os probióticos incluem também os antimicrobianos, ocorreu um estreitamento na definição: probiótico é um suplemento alimentar microbiano vivo capaz de afetar benéficamente o hospedeiro, melhorando o equilíbrio da sua microbiota intestinal (Fuller, 1989). O “Food and Drug Administration” (FDA) dos EUA descreve que probiótico é uma fonte de microrganismos viáveis que ocorrem naturalmente, os quais podem ser utilizados diretamente na ração de animais. Os probióticos têm sido constantemente utilizados visando ação reguladora da microbiota e manutenção do equilíbrio entre microbiota e microrganismos patogênicos no intestino.

Culturas microbianas vivas dos fungos exógenos *Aspergillus oryzae* e *Saccharomyces cerevisiae* e os seus respectivos extratos têm sido utilizados como suplementos alimentares na dieta dos animais. Aditivos microbianos podem melhorar a produtividade de ruminantes em aproximadamente 7 a 8 % (Martin & Nisbet, 1992; Wallace, 1994). A ação desses microrganismos no ambiente ruminal associa-se ao aumento da ingestão de matéria seca, sendo proporcionada por uma elevação significativa na taxa de degradação da fibra, especialmente em dietas ricas em concentrado. Há aumento expressivo no número total de bactérias anaeróbias e, entre elas, as celulolíticas e as utilizadoras de lactato. Tem sido observada maior estabilidade no ambiente ruminal, reduzindo-se variações de pH, de amônia e de ácidos graxos voláteis ao longo do dia (Wallace, 1994).

Dietas suplementadas com leveduras vivas em dietas para bovinos têm por objetivo auxiliar no controle dos parâmetros ruminais, em níveis favoráveis para manter o ambiente ruminal saudável aumentando a ingestão e a disponibilidade de nutrientes para o animal levando a um maior desempenho (França et al., 2013). Apesar da quantidade considerável de estudos realizados, os efeitos de fungos e leveduras na fermentação ruminal e no desempenho dos animais, assim como seu mecanismo de ação não estão tão evidentes quando comparados ao uso de outros aditivos, como por exemplo, os ionóforos (França et al., 2013).

Estudos têm sido avaliados utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* na dieta de ruminantes reportaram o aumento no consumo de matéria seca, melhorar a digestibilidade da fibra e pode aumentar a taxa de passagem dos alimentos (Elghandour et al., 2015; Puniya et al., 2015).

A adição de levedura na dieta está associada com a melhora na digestibilidade dos nutrientes da dieta, principalmente da fibra (Abd el-ghan, 2004; Fadel elseed & Abusamra, 2007; Fereli et al., 2010), entretanto, em outros estudos realizados não houve efeito nos coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes (Oliveira, 2008; Gomes, 2009; Gattass, 2005; Queiroz, 2004; Pereira, 2001).

A suplementação com *Saccharomyces cerevisiae* cepa KA500 de vacas leiteiras confinadas alimentadas com silagem de milho e ração concentrada foi avaliada por (Oliveira, 2008). Não foi observada influência da levedura sobre os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes, no entanto, a adição do probiótico resultou em maior eficiência alimentar, por resultar na mesma produção de leite que a dieta sem levedura com um menor consumo de matéria seca (Oliveira, 2008).

Em ovelhas, cepas de *Saccharomyces cerevisiae* não influenciaram na concentração ruminal de ácidos graxos voláteis, população de protozoários ciliados, N-amoniaco, aminoácidos duodenais e digestibilidade total de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) (Angeles et al., 1998). Segundo (Cabrera et al. 2000), o fornecimento dessa levedura não melhorou o desempenho de novilhos criados em pastagens tropicais e também na disponibilidade dos carboidratos fibrosos.

Em vacas holandesas, a adição de coquetéis enzimáticos produzido por *Aspergillus niger* e *T. longibrachiatum* não alterou o consumo de matéria seca (CMS), todavia, houve incremento da eficiência alimentar (EA) e aumento em 3,9% da produção de leite (kg/vaca/dia). Concomitantemente, o aumento na produção de leite resultou no aumento em 4,78% na eficiência econômica (Mohamed et al., 2013). Essas enzimas podem atuar de forma sinérgica e aprimorar a degradação de fibra em ambientes com pH abaixo de cinco, como resultado do aumento da população de bactérias resistentes ao ambiente ácido no rúmen (Morgavi et al., 2000).

Enzimas fibrolíticas produzidas por fungos micelianos anaeróbios facultativos são utilizadas na alimentação de ruminantes visando melhorar a utilização dos alimentos e o desempenho dos animais (Adesogan et al., 2014; Díaz et al., 2014).

Estudos demonstraram aumentos em 34,7% no ganho de peso diário e 5,39% no peso vivo final, em caprinos alimentados com palha de arroz e suplementados com enzimas fibrolíticas produzidas por *Aspergillus* spp. e *Trichoderma* spp. Adicionalmente, a utilização dessas enzimas não influenciou no consumo de MS, todavia, promoveu melhor conversão alimentar (CA) pelo aumento da digestibilidade de FDN e FDA (Yaugklang et al., 2017).

Em outro estudo, em ovinos alimentados com palha de trigo e suplementados com *S. cerevisiae* SC47, não foram observadas alterações no consumo de MS e CA (Raghebian et al., 2016). Adicionalmente, a utilização dessa levedura em ovelhas gestantes e lactantes, melhorou o desempenho produtivo e o sistema imunológico das suas crias (Dabiri et al., 2016).

Em pesquisas realizadas por (Zicarelli et al., 2016), não foram observadas alterações na produção de leite com a suplementação com *A. oryzae* em caprinos mantidos em pastagens nativas de clima temperado. Adicionalmente, os autores apontaram redução no teor de gordura e proteína do leite com a adição desse fungo.

Em ovinos alimentados com alto teor de concentrado e suplementados com celulase produzida por *Trichoderma* spp. não foram observadas alterações no CMS, peso vivo final e ganho de peso, não sendo recomendada a utilização de enzimas fibrolíticas em dietas com alto teor de concentrado (Muwalla et al., 2007).

Em um estudo *in vitro* promovido por (Sun et al., 2014) foi observado aumento na produção da proteína microbiana e na concentração de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) com a adição de *A. oryzae* na silagem de milho. Adicionalmente, foi observado aumento na população de zoósporos de fungos anaeróbios ruminais e na percentagem de *Fibrobacter succinogens*, *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens*, com a adição desse fungo (Sun et al., 2014). Esse aumento na atividade microbiana elevou os teores de proteína microbiana no rúmen de vacas leiteiras, resultando na maior produção de energia e melhor desempenho produtivo (Sun et al., 2017).

1.5 Referências

ABRÃO, F. O.; DUARTE, E. R.; ROSA, C. A.; FREITAS, C. E. S.; VIEIRA, E. A.; HUGHES, A. F. S. Characterization of Fungi from Ruminal Fluid of Beef Cattle with Different Ages and Raised in Tropical Lignified Pastures. *Current Microbiology*, v.69, p. 1-13, 2014.

ABRÃO, F. O.; DUARTE, E.R., PESSOA, M.S. DOS SANTOS, V.L., FREITAS JÚNIOR, L.F., BARROS, K.O., HUGHES A.F.S., SILVA, T.D., RODRIGUEZ, N.M. 2017. Notable fibrolytic enzyme production by *Aspergillus* spp. isolates from the gastrointestinal tract of beef cattle fed in lignified pastures. *Plos ONE*, 12, 1-13.

ABD EL-GHANI, A. Influence of diet supplementation with yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on performance of Zaraibi goats. *Small Ruminant Research*, Amsterdam, v. 52, n.3, p.223-229, 2004.

ADESOGAN, A. T. *et al.* Ruminant nutrition symposium: Improving cell wall digestion and animal performance with fibrolytic enzymes. *Journal of Animal Science*, v. 92, p. 1317-1330, 2014.

ALMEIDA, P. N. M.; FREITAS, C. E. S.; ABRÃO, F.O.; RIBEIRO, I. C. O.; VIEIRA, E. A.; GERASEEV, L. C.; DUARTE, E. R. Atividade celulolítica de fungos isolados do rúmen de bovinos leiteiros alimentados com forragens tropicais. *Revista Caatinga*, v. 27, p. 202-207, 2014.

ALVES, A. R. *et al.* Fibra para ruminantes: Aspecto nutricional, metodológico e funcional. *PUBVET*, v. 10, n. 7, p. 568-579, 2016.

ANGELES, S. C.; MENDOZA, G. D.; COBOS, M. A.; CROSBY, M. M.; CASTREJÓN, F. A. Comparison of two commercial yeast cultures (*Saccharomyces cerevisiae*) on ruminal fermentation and digestion in sheep fed on corn-stover diet. *Small Ruminant Research*, v. 31, p. 45-50, 1998.

CABRERA, E. J. I.; MENDOZA, M. G. D.; ARANDA, I. E.; GARCIA-BOJALIL, C.; BÁRCENA, G. R.; RAMOS, J. J. A. *Saccharomyces cerevisiae* and nitrogenous supplementation in growing steers grazing tropical pastures. *Animal Feed Science and Technology*, v. 83, p. 49-55, 2000.

DABIRI, N. *et al.* Effect of different Levels of Biosaf Probiotic in Diet of Late Pregnant and Lactating Iranian Zandi Ewes, on Growth Performance and Immune System of their Lambs. *Journal of Fisheries and Livestock Production*, v. 4, p. 1-4, 2016.

DEHORITY, B. A. Microbial Interactions in the Rumen. *Revista de la Facultad de Agronomía*, v. 15, p. 69-86, 1998.

DÍAZ, A. *et al.* Treatment of tropical forages with exogenous fibrolytic enzymes: effects on chemical composition and in vitro rumen fermentation. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, v. 99, p. 345-355, 2014.

ELGHANDOUR, M. M. Y. *et al.* Direct-fed microbes: A tool for improving the utilization of low quality roughages in ruminants. *Journal of Integrative Agriculture*, v. 14, n. 3, p. 526-533, 2015.

FADEL ELSEED, A.M.A.; RANIA; ABUSAMRA, M. A. Effects of supplemental yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) culture on NDF digestibility and rumen fermentation of forage sorghum hay in Nubian Goat's kids. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, Ipswich, v.3, n.3, p. 133-137, 2007.

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

FRANÇA, R.A; RIGO, E.J. Utilização de leveduras vivas (*Saccharomyces cerevisiae*) na nutrição de ruminantes – uma revisão. *FAZU em Revista*. Uberaba, n. 8, p. 187-195, 2013.

FREITAS, C. E. S. *et al.* Fungos aeróbios no intestino grosso de borregos e de ovelhas criados em pastagens tropicais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 64, p. 225-227, 2012.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, v.66, p.365-378, 1989.

GATTASS, C.B.A. Influência da suplementação com cultura de levedura na digestibilidade, fermentação ruminal e ganho de peso de bovinos de corte. 2005. 51p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal do Mato Grosso do SulUFMS, Campo Grande, MS, 2005.

GIBSON, L. J. The hierarchical structure and mechanics of plant materials. *Journal of the Royal Society Interface*, v. 9, p. 2749-2766, 2012.

GOMES, C.T. Aditivos (Monensina sódica, levedura e probióticos) para bovinos da raça elore terminados com rações com concentrados ricos em co-produtos. 2009. 110p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagem) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz- Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

HARPER, K. J.; MCNEILL, D. M. The Role iNDF in the Regulation of Feed Intake and the Importance of Its Assessment in Subtropical Ruminant Systems (the Role of iNDF in the Regulation of Forage Intake). *Agriculture*, v. 5, p. 778-790, 2015.

HERNANDEZ – GARCÍA, et al. Effects of feeding yeast (*Saccharomyces cerevisiae*), organic selenium and chromium mixed on growth performance and carcass traits of hair lambs,2015.

KAMRA, D. N. Rumen Microbial Ecosystem. *Current Science*, Bangalore, v. 89, p. 125- 35, 2005.

KAVANAGH, K. *Fungi: biology and applications*. Chichester: John Wiley And Sons Editors, 2005. 267 p.

LENG, R. A. Factors Affecting the Utilization of “Poor-Quality” Forages by ruminants Particularly under Tropical Conditions. *Nutrition Research Reviews*, v. 3, p. 277-303, 1990.

LI, F. et al. Subacute ruminal acidosis challenge changed in situ degradability of feedstuffs in dairy goats. *Journal of Dairy Science*, v. 97, p. 5101-5109, 2014.

LILLY, D.M. and STILLWELL, R.H.(1965) Probiotics: growth promoting factors produced by microorganisms. *Science*, 147 747-8.

- MAGAÇO, F. S. Desempenho e viabilidade econômica de cordeiros confinados e suplementados com cepa fúngica ICA/UFMG LT 001. 2018. 64 F. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, 2018.
- MALMUTHUGE, N.; GUAN, L. L. Understanding host-microbial interactions in rumen: searching the best opportunity for microbiota manipulation. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, v. 8, p. 1-8, 2017.
- MARTILLOTTI, F. et al. Microbial and Chemical Characterization of Rumen Contents of Grazing Dairy Cows. In: PRINS, R. A.; STEWART, C. S. (Ed.). *Microorganisms in Ruminant Nutrition*. Dalfsen: Nottingham University Press, 1994.
- MARTIN, S.A., NISBET, D.J. 1992. Effect of Directfed microbials on rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science.*, 75: 1736-1744.
- MIDINGAN, M. T. et al. *Microbiologia de Brock*. 14. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. 987 p.
- MOHAMED, D.E.D.A., Borhami, B.E., El-Shazly, K.A., Sallam, S.M.A., 2013. Effect of Dietary Supplementation with Fibrolytic Enzymes on the Productive Performance of Early Lactating Dairy Cows. *J. Agric. Sci.* 5, 146-155.
- MORGAVI, D. P., Beauchemin, K. A., Nsereko, V. L., Rode, L. M. Iwaasa, A. D., Yang, W. Z., McAllister, T. A., Wang, Y., 2000. Synergy between Ruminant Fibrolytic Enzymes and Enzymes from *Trichoderma longibrachiatum*. *J. Dairy Sci.*, 83, 1310-1321.
- MUWALLA, M. M.; HADDAD, S. G.; HIJAZEEN, M. A. Effect of fibrolytic enzyme inclusion in high concentrate fattening diets on nutrient digestibility and growth performance of Awassi lambs. *Livestock Science*, v, 111, p. 255-258, 2007.
- OLIVEIRA, J. S.; ZANINE, A. M.; SANTOS, E. M. Diversidade microbiana no ecossistema ruminal. *Revista eletrônica de Veterinária (REDVET)*, v. 8, 2007.
- OLIVEIRA, B.M.L. Suplementação de vacas leiteiras com *Saccharomyces cerevisiae* cepa KA500. 2008. 62p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2008.

OYELEKE, S. B., OKUSANMI, T. A. Isolation and characterization of cellulose hydrolyzing microorganism from the rumen of ruminants. *African Journal of Biotechnology*, v. 7, p. 1530-1504, 2008.

PEREIRA, E.S. et al. Fontes nitrogenadas e uso de *Saccharomyces cerevisiae* em dietas à base de cana-de-açúcar para novilhos: consumo, digestibilidade, balanço nitrogenado e parâmetros ruminais. *Revista Brasileira de Zootecnia.*, v.30, n.2, p. 563-572, 2001.

PÉREZ-RUCHEL, A.; REPETTO, J. L.; CAJARVILLE, C. Supplementing high quality fresh forage to growing lambs fed a total mixed ration diet led to higher intake without altering nutrient utilization. *Animal*, v. 11, n. 12, p. 2175-2183, 2017.

POURAZAD, P. et al. Restoration of in situ fiber degradation and the role of fibrolytic microbes and ruminal pH in cows fed grain-rich diets transiently or continuously. *Animal*, v. 11, n. 12, p. 2193-2202, 2017.

PUNIYA A K, Salem A Z M, Kumar S, Dagar S S, Griffith G W, Puniya M, Ravella S R, Kumar N, Dhewa T, Kumar R. 2015. Role of live microbial feed supplements with reference to anaerobic fungi in ruminant productivity: A review. *Journal of Integrative Agriculture*, 14, 550–560.

QUEIROZ, R.C. et al. Uso de Produto à Base de Enzima e Levedura na Dieta de Bovinos: Digestibilidade dos Nutrientes e Desempenho em Confinamento. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.33, n.6, p.1548-1556, 2004.

RAFFRENATO, F. et al. Effect of lignin linkages with other plant cell wall components on in vitro and in vivo neutral detergent fiber digestibility and rate of digestion of grass forages. *Journal of Dairy Science*, v. 100, p. 8119-8131, 2017.

RAGHEBIAN, M. *et al.* Effect of Different Levels of Live Yeast in a High Concentrate Diet on Performance, Blood Constituents and Immune System Status of Zandi Lambs. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, v. 6, n. 4, p. 833-840, 2016.

RUIZ-LACAZ, R., et al. Microbiologia do rúmen e do biodigestor. In: RUIZ-LACAZ, R. *Microbiologia zootécnica*. São Paulo: Roca, p. 123-167, 1992.

SUN, H. et al. Effects of addition of *Aspergillus oryzae* Culture and 2-Hydroxyl-4-(Methylthio) Butanoic Acid on rumen Fermentation and Microbial Populations between Different Roughages Sources. Asian Australasian Journal of Animal Science, v. 27, n. 9, p. 1285-1292, 2014.

SUN, H. et al. Effects of addition of *Aspergillus oryzae* culture and 2- hydroxyl-4-(methylthio) butanoic acid on milk performance and rumen fermentation of dairy cows. Animal Science Journal, v. 88, p. 602-609, 2017.

TRIPATHI MK, KARIM SA (2011) Effect of yeast cultures supplementation on live weight change, rumen fermentation, ciliate protozoa population, microbial hydrolytic enzymes status and slaughtering performance of growing lamb. Livest Sci 135: 17-25.

VAN SOEST, P.J. Nutritional Ecology of the Ruminant. Cornell University, 2nd Edition, 1994.

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

YUANGKLANG, C. et al. Growth performance and macronutrient digestion in goats fed a rice straw based ration supplemented with fibrolytic enzymes. Small Ruminant Research, v. 154, p. 20-22, 2017.

ZICARELLI, F. *et al.* The influence of diet supplementation with *Saccharomyces cerevisiae* or *Saccharomyces cerevisiae* plus *Aspergillus oryzae* on milk yield of Cilentana grazing dairy goats. Small Ruminant Research, v. 135, p. 90-94, 2016.

II – OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Estudar os efeitos da digestibilidade aparente e balanço de nitrogênio da suplementação com cepas fúngicas autoctones do rúmen (*Trichoderma longibrachiatum* e *Rhodotorula mucilaginosa*) em dieta para cordeiros alimentados com feno de *Urochloa decumbens*.

3.2 Objetivos Específicos

2.2.1 Avaliar o consumo e a digestibilidade *in vivo* de nutrientes;

2.2.2 Avaliar a síntese de proteína microbiana no rúmen, o balanço de nitrogênio e a excreção de ureia.

III - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 – Local, dietas experimentais e isolados avaliados

O experimento foi conduzido no setor de Ovinocultura da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), no município de Montes Claros, Norte de Minas Gerais, localizada- aproximadamente a 16° 28' 33" e 15° 49' 53" de latitude e 43° 29' 16" e 43° 16' 20" de longitude e apresenta clima tropical úmido com verão seco. O tempo total do experimento foi de 75 dias, sendo os 12 primeiros dias de adaptação às dietas e baias e os outros 63 dias de coleta de dados. O trabalho experimental teve a aprovação da Comissão de Ética de Uso de Animais (CEUA) sob Protocolo nº 128/2013.

Foram utilizados 21 ovinos, mestiços da raça Santa Inês x Dorper, machos, não castrados com idade média de quatro meses e peso corporal médio inicial de 18,80 ± 2,34 kg). O aditivo microbiano utilizado consistiu na cepa de levedura *Rhododurula mucilaginosa* (O166) e cepa fúngica *Trichoderma longibrachiatum* (B13 M2) isolada do trato digestório de ovinos criados em pastagens de *Panicum maximum* cv. Tanzânia ou feno de *Cynodon dactylon* cv. Vaqueiro como descrito por (Freitas et al., 2012; Freitas, 2018). Após a identificação e a pesagem, os cordeiros foram vermifugados com ivermectina 1% e vacinados contra clostridiose. Os animais foram alojados em baias individuais com dimensionamento de 1,20 m de largura, 2 m de comprimento e 1,30 m de altura, equipadas com baldes para água, e cochos para ração.

Após a pesagem, os animais foram distribuídos aleatoriamente em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com três dietas experimentais e sete repetições. Foi utilizada uma dieta padrão suplementada ou não com as cepas fúngicas.

Sem aditivo probiótico (Controle);

Fungo *T. longibrachiatum*;

Levedura *R. mucilaginosa*

A relação concentrado: volumoso da dieta foi 70:30. O feno de *Urochloa decumbens* enfardado após a queda de sementes durante o período seco do ano, foi utilizado como volumoso e o concentrado à base de milho e soja balanceado de acordo (NRC, 2001).

Os animais receberam alimentação *ad libitum*, sendo dividida em duas refeições diárias (7:00 h e 15:00 h), de modo a permitir sobras de 15% do fornecido. No momento do fornecimento da ração, um grupo de animais foi suplementado com 30 ml do meio de cultura contendo a cepa (*R.mucilaginosa*), um outro suplementado com 30 ml do meio de cultura contendo a cepa de *T. longibrachiatum*.) Os animais do grupo controle receberam o mesmo meio de cultura estéril. Os fungos ou o meio de cultura foram misturados a 100g do concentrado o que permitiu consumo total dos aditivos microbianos.

3.2 Medidas de Consumo e Digestibilidade

Para avaliação do consumo de matéria seca dos animais, os alimentos fornecidos e as sobras foram pesados diariamente em três períodos de 21 dias (1º período de 13-21 dias; 2º período de 21-42 dias, 3º período de 42-63 dias). O consumo diário de matéria seca total foi obtido pela diferença entre o total fornecido de volumoso e concentrado e a sobra de cada dia de coleta. Os animais foram pesados em jejum de sólidos durante 12 horas no 1º dia do período experimental e, ao final no 63º dia, para a determinação do ganho de peso e o peso corporal (PC) médio para expressar o consumo diário de nutrientes ($\text{g kg}^{-1} \text{PC}$) e em ($\text{g kg}^{-1} \text{PC}^{0,75}$).

Na avaliação da digestibilidade foram coletadas as fezes com auxílio de bolsas coletoras presas aos animais durante seis dias, sendo três dias de adaptação e por mais três dias para coleta de fezes. O total excretado por dia foi pesado e misturado de modo a formar uma amostra composta para cada animal, dieta e período (foi composto para os três períodos) e estocadas e armazenada em -10°C para posteriores análises.

3.3 Análises químicas do volumoso e concentrados fornecidos, sobras e fezes

As análises químicas das (sobras e fezes) foram realizadas no Laboratório de Forragicultura e Pastagens na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. As concentrações médias dos componentes nutricionais do feno de *U. decumbens* e de ingredientes do concentrado e das dieta experimental encontram-se nas Tabelas 1 e 2, respectivamente.

As amostras dos alimentos juntamente com as sobras, foram homogeneizadas e pré-secas em temperatura controlada a 60°C por 72 horas e, posteriormente, triturada em moinho tipo Wiley com peneira de malha de 1mm para posteriores análises: teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), Fibra em detergente neutro (FDN) e matéria mineral (MM), segundo procedimentos descritos por Detmann et al., (2012). O teor de fibra em detergente neutro (FDN) foi obtido pelo método descrito por Van Soest et al.(1994).

Os teores de carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados de acordo ao modelo proposto por Hall (2003), sendo:

$$\text{CNF} = (100 - \% \text{FDN} - \% \text{PB} - \% \text{EE} - \% \text{cinza})$$

Os nutrientes digestíveis totais (NDT), obtidos com o ensaio de digestibilidade, foram calculados segundo Weiss (1999), pela seguinte equação: $\text{NDT} = \text{PBD} + \text{FDND} + \text{CNFD} + 2,25 \text{ EED}$. Em que: PBD = PB digestível; FDND = FDN digestível; CNFD = CNF digestíveis; e EED = EE digestível, e foram calculados conforme equações descritas pelo NRC (2001).

Tabela 1 - Composição química dos ingredientes e da dieta experimental contendo feno de *Urochloa decumbens*.

Ingredientes	MS	MO	EE	CNF	PB	FDN	NDT*
Milho	89,0	98,8	7,9	63,2	9,0	16,5	83,2
Farelo de Soja	88,8	93,6	1,8	30,0	46,0	15,54	80,7
Ureia + AS	100	-	-	-	277	-	-
Minerais	100	-	-	-	-	-	-
Feno de <i>U. decumbens</i>	95,4	94,11	1,0	8,4	3,1	82,3	30,9
Dieta							
Milho	59,1	-	4,7	37,3	5,3	9,8	49,2
Farelo de Soja	8,3	-	0,1	2,5	3,8	1,3	6,7
Ureia + SA	0,5	-	-	-	1,4	-	-
Minerais	2,0	-	-	-	-	-	-
Feno de <i>U. decumbens</i>	30,0	-	9,3	2,5	3,1	24,7	0,92
Dieta total	100	-	14,1	42,4	11,4	35,8	65,2

SA= Sulfato de amônio MS = Matéria seca, EE = Extrato etéreo, NDT = Nutrientes digestíveis totais, PB = Proteína bruta, FDN = Fibra em detergente neutro.

*Estimado conforme equações do NRC (2001)

Tabela 2. Composição química do feno de *Urochloa decumbens*

Item	<i>Urochloa decumbens</i>
Matéria seca (%)	95,38
Proteína Bruta (%MS)	3,06
PIDN (%PB)	21,57
PIDA (%PB)	20,59
FDN (%MS)	82,26
FDA (%MS)	53,04
Lignina (%MS)	7,50
Açúcares Totais (%MS)	3,02
EE (%MS)	1,02
Cinzas (%MS)	5,89
Ca (%MS)	0,14
P (%MS)	0,10
K (%MS)	0,58
Mg (%MS)	0,20
S (%MS)	0,06
Celulose (%MS)	45,54
Hemicelulose (%MS)	29,22
CNF (%MS)	8,43

MS=Matéria Seca; PIDN=Proteína insolúvel em detergente neutro; PIDA= Proteína insolúvel em detergente ácido; FDN=Fibra em detergente neutro; FDA=Fibra em detergente ácido; EE=Extrato etéreo; Ca=Cálcio; P=Fósforo; K=Potássio; Mg=Magnésio; S=Enxofre; CNF=Carboidrato Não Fibroso.

3.4. Balanço de nitrogênio, síntese de proteína microbiana e excreção de ureia

No 20º dia de cada período experimental, aproximadamente 4 horas após o fornecimento da alimentação matinal foram realizadas coletas de urina *spot*, por micção espontânea dos animais. As amostras foram filtradas em gaze e uma alíquota de 10 ml foi separada e diluída em 40 ml de ácido sulfúrico (0,018 M) e armazenadas a -20°C. Posteriormente, foram utilizadas para a quantificação das concentrações urinárias de ureia, nitrogênio total, creatinina, alantoína, ácido úrico, xantina-hipoxantina.

As análises de urina foram realizadas no Laboratório de Fisiologia Animal (LAFA - UESB). Para as análises das concentrações de creatinina, ácido úrico e ureia nas amostras de urina, utilizou-se kits comerciais (Bioclin®) com os respectivos

códigos: K016, K139 e K047. A conversão dos valores de ureia em nitrogênio ureico foi realizada pela multiplicação dos valores obtidos pelo fator 0,4667.

As concentrações urinárias de alantoína e xantina-hipoxantina foram obtidas por método colorimétrico e enzimático, respectivamente, conforme metodologias propostas por (Chen & Gomes 1992), e o teor de nitrogênio total obtido pelo método de Kjeldhal (AOAC, 2010). A excreção diária de creatinina foi $20,37 \text{ mg kg}^{-1} \text{ PC}$, obtida no ensaio com cordeiros do mesmo grupo genético. Assim, o volume urinário foi estimado para cada animal nas diferentes dietas experimentais, dividindo-se a excreção diária de creatinina ($\text{mg kg}^{-1} \text{ PC}$) pela concentração de creatinina (mg L^{-1}) na amostra de urina *spot*, multiplicando-se o resultado pelo respectivo peso corporal do animal (kg). A excreção diária dos metabólitos urinários foi obtida, multiplicando o volume de urina estimado pela concentração de cada metabólito determinado na urina *spot*. O balanço de nitrogênio (N-retido, g/dia) foi calculado com a fórmula: N-retido = N ingerido (g) – N nas fezes (g) – N na urina (g).

A excreção de derivados de purinas totais (DP) foi obtida pela soma das quantidades de alantoína, ácido úrico e xantina-hipoxantina, excretadas na urina. A quantidade de purinas microbianas absorvidas (mmol d^{-1}) foi estimada a partir da excreção de derivados de purinas totais (mmol d^{-1}), por meio da equação proposta por Chen & Gomes (1992), para ovinos: $\text{DP (mmol d}^{-1}) = 0,84 \times \text{PA} + (0,150 \times \text{PC}^{0,75} \times e^{0,25} \times \text{PA})$.

Em que: DP corresponde aos derivados de purinas totais (mmol d^{-1}) e PA são as purinas absorvidas (mmol d^{-1}).

A síntese ruminal de proteína microbiana (g NM d^{-1}) foi calculada em função das purinas absorvidas (X, mmol d^{-1}), utilizando-se a equação descrita por (Chen & Gomes 1992): $\text{NM} = 70 \times \text{PA} \times (0,83 \times 0,116 \times 1000)^{-1}$. Nessa equação 70 é o conteúdo de N de purinas (mg N mmol^{-1}); 0,83 a digestibilidade das purinas microbianas absorvidas e 0,116 é a razão N purina N total⁻¹ nas bactérias.

3.5 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o procedimento Mixed do SAS (2006). Com o seguinte modelo: $Y_{ij} = \mu + \text{Tri} + \text{erro}_i$ em que: μ = constante geral; Tri = efeito referente ao tratamento ou a dieta i ; e_i = erro aleatório.

Após a coleta dos dados, esses foram agrupados e submetidos à análise de variância, em caso de diferenças significativas, aplicou-se o teste de Tukey a 5% de significância.

IV – RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença ($P > 0,05$) no consumo de matéria seca e de nutrientes pelos cordeiros alimentando-se de dietas suplementadas ou não com os fungos (*T.longibrachiatum* e *R. mucilaginosa*) (Tabela 3). Também não foram observados efeitos significativos ($P > 0,05$) para digestibilidade de nutrientes (Tabela 4).

Tabela 3 - Consumo de nutrientes em cordeiros desmamados alimentados com dieta suplementada ou não com os fungos (*T.longibrachiatum* e *R. mucilaginosa*) provenientes do trato digestório de ovinos.

(g dia ⁻¹)	Dieta			EPM ¹	Pr>F ²
	Controle	Fungo	Levedura		
Matéria Seca	921,34	972,69	978,34	27,17	0,66
Matéria Orgânica	883,02	931,73	936,64	25,97	0,67
Proteína Bruta	80,64	87,13	86,10	2,42	0,52
Extrato Etéreo	27,44	29,45	29,74	0,87	0,51
FDN ³	398,37	407,68	426,74	12,58	0,67
CNF ⁴	391,12	416,22	409,04	11,30	0,67
NDT ⁵	760,45	800,53	805,95	19,02	0,70
(g kg⁻¹ PC)					
Matéria Seca	37,66	36,57	36,59	0,67	0,75
Proteína Bruta	3,30	3,27	3,22	0,06	0,88
FDN	16,29	15,50	15,95	0,33	0,65
(g kg⁻¹ PC^{0,75})					
Matéria Seca	83,63	83,03	83,05	1,47	0,98
NDT	55,92	52,87	56,40	1,36	0,57
EM					
Mcal d ⁻¹	2,65	2,48	2,73	0,07	0,42
Kcal kg ⁻¹ PC	0,11	0,09	0,11	0,005	0,24
Kcal kg ⁻¹ PC ^{0,75}	0,25	0,21	0,24	0,009	0,26

¹Erro padrão da média; ² Probabilidade de erro; ³ Fibra em detergente neutro ⁴Carboidratos não fibrosos; ⁵Nutriente Digestíveis Totais.

Tabela 4. Digestibilidade aparente dos nutrientes em cordeiros desmamados alimentados com dieta suplementada ou não com os fungos (*T.longibrachiatum* e *R. mucilaginoso*) provenientes do trato digestório de ovinos.

Item	Dieta			EPM ¹	Valor -
	Controle	Fungo	Levedura		P
Pr>F ²					
Digestibilidade aparente (g 100 g⁻¹)					
Matéria Seca	72,48	68,42	73,17	1,89	0,37
Matéria Orgânica	73,24	69,36	75,64	1,85	0,40
Proteína Bruta	80,82	82,95	80,95	2,86	0,43
Extrato Etéreo	92,93	93,03	94,63	0,81	0,65
FDN ³	59,74	53,11	62,11	2,81	0,43
CNF ⁴	92,15	91,85	93,15	0,89	0,75
NDT ⁵	67,61	64,14	69,38	1,63	0,44

¹Erro Padrão da Média; ²Probabilidade de erro; ³Fibra em detergente neutro; ⁴Carboidratos não fibrosos;

⁵ nutrientes digestíveis totais.

Os probióticos utilizados apresentam atividade de celulose e hemicelulose (Freitas, 2018, entretanto, não foi suficiente para aumentar a digestão *in vivo* das fibras do feno utilizado e consequentemente o consumo de MS (Tabelas 3 e 4). Possivelmente, o conteúdo de fibra proveniente do feno de *U. decumbens* não contribuiu de forma significativa para demonstrar o efeito da utilização dos probióticos. Apesar do feno ser de baixa qualidade (alto teor de FDA e de lignina na fibra), esse foi incluído numa proporção baixa na dieta, que não influenciou o consumo de MS.

Pinheiro et al., (2007) também não observaram aumento no consumo de MS ao adicionarem o probiótico na ração de *creep feeding* de cordeiros lactantes criados com acesso a comedouros privativos, até atingirem 17 kg de peso corporal. Neumann et al. (2008) avaliaram cordeiros Ile de France desmamados, em sistema de *creep feeding*, com peso médio de 19,5 kg e suplementados com níveis de 0; 0,4 e 0,8 g/animal/dia de *S. cerevisiae* e não observaram efeito no consumo de nutrientes. Em uma pesquisa com caprinos alimentados com palha de arroz e suplementados com enzimas fibrolíticas produzidas por *Aspergillus* spp. e *Trichoderma* spp., também

observaram que as suplementações não influenciaram no CMS Yaugklang et al., (2017)

Os efeitos dos aditivos microbianos no consumo são variáveis por causa da diversidade de composição dos produtos microbianos, dietas e categoria dos animais estudados (Oliveira et al., 2005). Contudo, vários fatores podem influenciar o desempenho animal quando há suplementação da dieta com fungos e leveduras, dentre estes, se destacam os fatores causadores de estresse, tipo de forragem disponível, estratégia de alimentação e proporção de volumoso: concentrado presente na dieta.

Neste estudo, provavelmente, a proporção entre o feno e concentrado utilizada poderia ser o fator preponderante na manutenção do consumo, independente do probiótico. Foi observado por Magaço (2018) aumento do ganho diário de peso de cordeiros alimentados com a cepa *T.longibrachiatum*, utilizada neste estudo em dois períodos iniciais de 21 dias de experimentação. Esse resultado foi possível por causa da melhoria na eficiência alimentar, como provável consequência da melhoria da fermentação no rúmen quando os animais estavam mais jovens.

Enzimas celulolíticas extracelulares quando liberadas no ambiente ruminal durante a fermentação, podem melhorar a atividade microbiana do rúmen. Os produtos de degradação da fibra como os açúcares livres, podem ser utilizados como fonte de energia durante o crescimento microbiano e como substrato de fermentação. Entretanto, a extensão de degradação da fibra pode ser reduzida se a taxa de passagem no rúmen exceder sua taxa de degradação (Huhtanen & Khalili 1991). Dessa forma, na presente pesquisa, alterações no consumo e na digestibilidade não foram evidenciadas com o uso de probióticos, provavelmente, porque a alta proporção de concentrado nas dietas promoveu aumento na taxa de passagem, excedendo o tempo requerido para degradação da fibra no rúmen. Em um estudo anterior, o aumento da digestibilidade *in vitro* do feno *U. decumbens* de baixa qualidade com a inclusão de *T. longibrachiatum* foi relacionado com a degradação da fração fibrosa e proteína bruta ligada à fibra dessa forragem. Esse efeito estaria ocasionado pela ação hidrolítica das celulasas produzidas por esse fungo, disponibilizando carboidratos prontamente digestíveis para os microrganismos do fluido ruminal (Freitas, 2018).

A síntese de proteína microbiana não foi influenciada ($P > 0,05$) com o uso dos fungos probióticos, sendo que houve menor eficiência de síntese microbiana ($P <$

0,05) com a inclusão da cepa *Rhodotorula mucilaginosa* na dieta (Tabela 5). Esse resultado poderia ser explicado pelo maior valor numérico de consumo de NDT proporcionada pela dieta suplementada com essa levedura.

Tabela 5. Excreção urinária de derivados de purina e proteína microbiana em cordeiros desmamados alimentados com dieta suplementada ou não com os fungos (*T.longibrachiatum* e *R. mucilaginosa*) provenientes do trato digestório de ovinos.

Item	Dieta			EPM ¹	Pr>F ²
	Controle	Fungo	Levedura		
Síntese Microbiana (g d⁻¹)					
Nitrogênio	10,56	8,95	11,03	0,56	0,29
Proteína Bruta	66,00	55,95	68,96	3,47	0,29
Eficiência Microbiana					
g PM kg ⁻¹ NDT	100,98 ^a	84,15 ^{ab}	78,24 ^b	3,50	0,01

¹Erro Padrão da Média; ²Probabilidade de erro; ³Xantina e Hipoxantina; ⁴Derivados de Purina.
Médias seguidas de mesmas letras não diferem estatisticamente segundo o teste de Tukey considerando P = 0,05

O aumento da degradação e por consequência maior fermentação, não necessariamente resulta em maior síntese e/ou eficiência microbiana no rúmen. Bactérias do rúmen apresentam relação inversa entre taxas de crescimento e de fermentação (degradação de substratos) (Russell, 1992). Sendo assim, a dieta com o fungo *T.longibrachiatum* mesmo favorecendo a degradação da fibra e posterior fermentação, não diferiu da dieta sem aditivo microbiano. Isso demonstra que o concentrado fornecido em maior proporção relativo ao feno de *Urocloua* foi eficaz em manter a eficiência de síntese de proteína microbiana no rúmen. A taxa de crescimento dos fungos é mais lenta quando comparada às de outros microrganismos no rúmen, como bactérias que utilizam carboidratos solúveis.

Não foram verificadas diferenças (P > 0,05) entre as dietas para ingestão de nitrogênio, quantidade diária de nitrogênio fecal, urinário e digerido (ND) e para nitrogênio retido expresso g d⁻¹ e como % ND (nitrogênio digerido) (Tabela 6).

Tabela 6. Balanço de nitrogênio em cordeiros em cordeiros desmamados alimentados com dieta suplementada ou não com os fungos (*T.longibrachiatum* e *R. mucilaginoso*) provenientes do trato digestório de ovinos.

Item	Dieta			EPM ¹	Pr >F ²
	Controle	Fungo	Levedura		
Nitrogênio (g d⁻¹)					
Ingerido	12,71	13,92	13,33	0,42	0,53
Fecal	2,34	2,33	2,42	0,04	0,51
Urina	2,88	1,67	1,91	0,27	0,15
N-ureico	0,15	0,23	0,21	0,03	0,51
Nitrogênio Digerido					
g d ⁻¹	10,37	11,57	10,88	0,42	0,55
% N ingerido	81,47	82,93	80,95	0,70	0,52
Nitrogênio Retido					
g d ⁻¹	7,49	9,29	8,97	0,52	0,34
% N ingerido	58,72	66,36	76,24	3,42	0,11
% N digerido	72,05	79,95	82,12	2,92	0,36

¹ Erro Padrão da Média; ² Probabilidade de erro.

Apesar do nitrogênio urinário não diferir ($P > 0,05$) entre as dietas, a proporção relativa ao nitrogênio ingerido reduziu em média de 23% para 13% com o uso de probióticos (*T.longibrachiatum* e *R. mucilaginoso*) Já o N-ureico excretado na urina manteve-se estável entre 1,2 a 1,6% do N ingerido para todos os grupos de cordeiros avaliados. As dietas contendo probióticos apresentaram de 11 a 14% do nitrogênio total urinário na forma de N-ureico e a dieta sem aditivo microbiano essa relação foi 5%.

A eficiência do metabolismo nitrogenado em ruminantes depende da interação complexa de vários nutrientes e energia. O nitrogênio só é utilizado eficientemente pelos microrganismos quando a dieta proporciona equilíbrio de utilização de energia e proteína. Bactérias, fungos e protozoários são essenciais para digerir a fibra dietética (Bach et al., 2005; Hackmann & Firkins, 2015; Tas & Susenbeth, 2007), no entanto, estimular o crescimento desses reduz a necessidade de se utilizar excessos de proteína, porque a perda de nitrogênio na urina acaba não

sendo viável em sistemas sustentáveis. Como as dietas foram formuladas para serem isonitrogenadas e isoenergéticas, não se observou diferenças nas excreções de N na urina ($P > 0,05$). Esse resultado poderia ser justificado porque as possíveis melhorias na utilização da fibra, com o uso dos probióticos foram superadas pela alta proporção de concentrado na dieta. Apesar das dietas não terem influenciado na quantidade de nitrogênio retida, houve alterações do metabolismo de nitrogênio em que se evidenciou menor proporção de N-ureico reciclado na urina dos cordeiros alimentados com dietas suplementadas com probiótico. Watanabe (2011) ao avaliar a adição de *S. cerevisiae* na de dietas para ovinos com proporções de volumoso e concentrado de 20:80 e 40:60 também não detectaram diferenças significativas ($P > 0,05$) na quantidade de nitrogênio retido.

V - CONCLUSÃO

A suplementação com as cepas de *Trichoderma longibrachiatum* ou *Rhodotorula mucilaginosa* não influenciou o consumo de nutrientes, a digestibilidade, a síntese de proteína microbiana no rúmen e o nitrogênio retido em dieta para cordeiros com baixa proporção de feno de *Urochloa decumbens*, no entanto o uso da levedura *R. mucilaginosa* reduziu a eficiência microbiana.

Recomendam-se futuros estudos utilizando dieta com maior proporção de forragem com alto conteúdo de parede celular lignificada.

VI - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. Official methods of analysis. 19th ed. Gaithersburg, 2010. 3000p.

ABRÃO, F. O.; DUARTE, E.R., PESSOA, M.S. DOS SANTOS, V.L., FREITAS JÚNIOR, L.F., BARROS, K.O., HUGHES A.F.S., SILVA, T.D., RODRIGUEZ, N.M. 2017. Notable fibrolytic enzyme production by *Aspergillus* spp. isolates from the gastrointestinal tract of beef cattle fed in lignified pastures. *Plos ONE*, 12, 1-13.

BACH, A.; CALSAMIGLIA, S.; STERN, M.D. Nitrogen metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.9-21, 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. Bucksburnd: Rowett Research Institute, 1992. 21p (Occasional publication).

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

FREITAS, C. E. S. et al. Fungos aeróbios no intestino grosso de borregos e de ovelhas criados em pastagens tropicais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 64, p. 225-227, 2012.

FREITAS, C. E. S. Potencial de fungos do trato digestório de ovinos para utilização como probiótico. 2018. 94 f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia *Campus* Itapetinga, 2018. Disponível em: <www2.uesb.br/ppg/ppz/wp-content/uploads/2018/09/tese-CI%C3%A1udio.pdf> Acesso em: 10 nov 2018.

HACKMANN, T.J.; FIRKINS, J.L. Maximizing efficiency of rumen microbial protein production. **Frontiers in microbiology**, v.6, p.465, 2015

HALL, M. B. Challenges with non-fiber carbohydrate methods. *Journal of Animal Science*. v.81, n.12, p.3226-3232, 2003.

HUHTANEN, P.; KHALILI, H. Sucrose supplements in cattle given grass silage-based diet. **2.** Digestion of cell wall carbohydrates. *Animal Feed Science and Technology*, v.33, p.263-273, 1991.

MAGAÇO, F. S. Desempenho e viabilidade econômica de cordeiros confinados e suplementados com cepa fúngica ICA/UFMG LT 001. 2018. 64 F. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, 2018.

NEUMANN, M. et al. Utilização de leveduras vivas (*Saccharomyces cerevisiae*) visando à produção de cordeiros Ile de France superprecoces em sistema de creep-feeding, *Cienc. Rural online*. 2008, vol.38, n.8, pp.2285-2292. ISSN 0103-8478.

NRC, 2001. National Research Council: Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids, Seventh edition Washington, DC: National Academic Press.

OLIVEIRA, M.V.M.; LANA, R.P.; JHAM, G.N. et al. Influência da monensina no consumo e na fermentação ruminal em bovinos recebendo dietas com teores baixo e alto de proteína. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.34, n.5, p.1763-1774, 2005.

PINHEIRO, R. S. B.; SOBRINHO, A. G. S.; YAMAMOTO, S. M. Desempenho de cordeiros lactentes recebendo probióticos em comedouros privativos. *Archives of Veterinary Science*, v 11, n. 3. p. 38-42, 2007.

RUSSEL, 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 of Animal Science*, v.70, n.11, p.3551-3561, 1992.

SAS INSTITUTE. Statistical Analysis System. User's guide. Cary: SAS Institute, 2006.

TAS, B.M.; SUSENBETH, A. Urinary purine derivatives excretion as an indicator of *in vivo* microbial N flow in cattle: A review. *Livestock Science*, v.111, p.181-192, 2007.

VAN SOEST, P.J. Nutritional Ecology of the Ruminant. Cornell University, 2nd Edition, 1994.

WATANABE, M. H. T. Levedura ativa (*Saccharomyces cerevisiae*) na dieta de ovinos. Digestibilidade aparente dos nutrientes e parâmetros ruminais. 2011. 51 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Zootecnia. Nova Odessa, 2011. Disponível em: <www.iz.sp.gov.br/publica.php?id=196> Acesso em: 06 mar 2019.

WEISS, W. Energy prediction equations for ruminant. In: Cornell Nutrition Conference For Feed Manufacturers, 61, Ithaca. Proceeding...Ithaca: Cornell University. 176-185. 1999.

YUANGKLANG, C. et al. Growth performance and macronutrient digestion in goats fed a rice straw based ration supplemented with fibrolytic enzymes. Small Ruminant Research, v. 154, p. 20-22, 2017.