



Produção de gás *in vitro* de gramíneas e leguminosas temperadas com ou sem levedura *Saccharomyces cerevisiae*

Fabiane Schlichmann¹, Any Carla Zolet², Rusbel Raul Aspilcueta Borquis³, Magali Floriano da Silveira⁴

In vitro gas production from temperate grasses and legumes with or without *Saccharomyces cerevisiae* yeast

RESUMO

Objetivou-se com esse trabalho avaliar o efeito da adição da levedura *Saccharomyces cerevisiae* em dietas baseadas no consórcio de gramíneas temperadas com leguminosa por meio de análises de produção de gás *in vitro*. O experimento foi realizado na UTFPR campus Dois Vizinhos, em delineamento inteiramente casualizado num esquema fatorial 2x2, com os seguintes tratamentos: aveia+azevém (AvAz); aveia+azevém+levedura (AvAzLev); aveia+azevém+trevo (AvAzTre); aveia+azevém+trevo+levedura (AvAzTreLev). Para a avaliação da produção de gás *in vitro*, realizou-se três ensaios onde as amostras foram incubadas juntamente com solução de saliva artificial e inóculo ruminal e para os tratamentos com a inclusão de levedura adicionou-se 0,0001g de *Saccharomyces cerevisiae*. Após a incubação, os frascos foram mantidos em banho-maria à temperatura de 39°C, as aferições de pressão e volume de gás foram realizadas nos seguintes tempos: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 18, 24, 36, 48, 72 e 96 horas após a incubação. Os valores de volume e produção de gás não diferiram entre os tratamentos avaliados. Conclui-se que a utilização de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*), não interfere no processo de fermentação ruminal adicionada em dietas de alto valor nutritivo.

PALAVRAS-CHAVE: Dietas a base de volumosos; Levedura; Produção de gás *in vitro*.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effect of adding *Saccharomyces cerevisiae* yeast to diets based on a consortium of temperate grasses with legume through *in vitro* gas production analyses. The experiment was carried out at the UTFPR campus Dois Vizinhos, using a completely randomized design, with the following treatments: oats+ryegrass (OR); oats+ryegrass+yeast (ORY); oats+ryegrass+clover (ORC); oats+ryegrass+clover+yeast (ORCY). To evaluate *in vitro* gas production, three tests were carried out where the samples were incubated together with as artificial saliva solution and ruminal inoculum and for treatments with the inclusion of yeast , 0.0001 g of *Saccharomyces cerevisiae* was added. After incubation, the flasks were kept in a water bath at a temperature of 39 °C, pressure and gas volume measurements were carried out at the following times: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9,12, 18, 24, 36, 48, 72 and 96 hours after incubation. The volume values of gas produced did not differ between the evaluated treatments. It is concluded tha the use of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) does not interfere with the ruminal fermentation process added to diets with high nutritional value.

KEYWORDS: Roughage-based diets; Yeast; In vitro gas production.

¹ Bolsista do CNPq. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. E-mail: fabiane.2019@alunos.utfpr.edu.br . ID Lattes: [4361132210318784](https://lattes.cnpq.br/4361132210318784).

² Bolsista da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil E-mail: anyzolet@gmail.com. ID Lattes: [7707708106461002](https://lattes.cnpq.br/7707708106461002).

³ Docente no Curso/Departamento/Programa. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. E-mail: rusbelborquis@utfpr.br . ID Lattes: [8114675802937977](https://lattes.cnpq.br/8114675802937977).

⁴ Docente no Curso/Departamento/Programa. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. E-mail: magsilveira@gmail.com . ID Lattes: [7618829620378519](https://lattes.cnpq.br/7618829620378519).



INTRODUÇÃO

Devido ao aumento da produtividade dos rebanhos brasileiro, é necessário que seja fornecido dietas de altos níveis energéticos visando melhoras nos índices produtivos, para isso é necessário maior inclusão de grãos ou concentrados (SARTORI, 2016). Por tanto, isso pode vir a desenvolver problemas metabólicos, logo, sistemas com produção a pasto utilizando consórcios entre gramíneas e leguminosas podem auxiliar na redução desses problemas além de diminuir a emissão de gases (PUCHALA et al., 2005).

Outro meio para aumentar a produtividade do rebanho é a inclusão de aditivos na dieta dos bovinos, melhorando as condições no meio ruminal, o que aumenta a eficiência digestiva da dieta (ZOLET, 2021). Já a inclusão de microrganismos vivos (aditivos probióticos) em destaque leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae*, auxiliam no consumo de oxigênio presente no meio ruminal, estimulando o crescimento da população das bactérias que degradam o ácido lático, reduzindo então os riscos de acidose (MCALLISTER et al., 2011).

A maioria dos estudos que são realizados usando inclusão de leveduras avaliam seus efeitos tanto na microbiota ruminal, quanto no desempenho do animal, visando o aumento da produtividade dele, entretanto essa adição é feita na maior parte das vezes em dietas com alto valor energético e proteico, com silagem como fonte de volumoso, são poucos os estudos com a adição de leveduras em dietas a base de volumosos.

Objetivou-se com esse trabalho avaliar o efeito da adição da levedura *Saccharomyces cerevisiae* em dietas baseadas no consórcio de gramíneas temperadas com leguminosa por meio de análises de produção de gás *in vitro*.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Bromatologia Animal da UTFPR campus Dois Vizinhos entre os anos de 2020 e 2021. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em um esquema fatorial 2x2 com três repetições nos seguintes tratamentos: aveia+azevém (AvAz); aveia+azevém+levedura (AvAzLev); aveia+azevém+trevo (AvAzTre); aveia+azevém+trevo+levedura (AvAzTreLev). As amostras dos pastos foram coletadas por meio da técnica de dupla amostragem e pré-secas à 55°C por 72 h em estufa de circulação forçada de ar, e após moídas em moinho tipo Willey utilizando peneira com crivos de 1 mm.

O método utilizado foi a técnica semiautomatizada de produção de gás *In Vitro* de acordo com MAURÍCIO et al. (1999). Foi realizado três ensaios, onde as amostras dos tratamentos foram incubadas em duplicatas com a inclusão de frascos sem amostras (branco). Usou-se frascos de vidro âmbar com capacidade de 160mL. Foram pesadas 0,5g de amostra para os tratamentos e os tratamentos com as leveduras pesou-se 0,0001g de *Saccharomyces cerevisiae*. As amostras foram incubadas com 50mL de fluido ruminal tamponado (relação tampão: fluido de 8:2), os frascos foram vedados com tampa de borracha e lacrados. O preparo da solução de saliva artificial (tampão) foi realizado pelo método de GOERING e VAN SOEST (1970), para a incubação seguiu-se as recomendações de HALL e MERTENS (2008).

O fluido ruminal foi coletado de dois bovinos, machos, castrados da raça Jersey com 500kg de peso vivo médio, canulados no rúmex de acordo com a Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-UTFPR, protocolo nº 2018-15), ambos passaram por período de



adaptação à dieta onde foram mantidos a pasto e receberam suplementação concentrada por 14 dias. Usou-se para aferir os valores de pressão e volume de gás um equipamento semelhante ao descrito por Malafaia et al. (1998) com modificações de Abreu et al. (2014). Após a incubação os frascos foram mantidos em banho-maria à temperatura de 39°C, as aferições de pressão e volume de gás foram realizadas nos seguintes tempos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 18, 24, 36, 48, 72 e 96 horas após a incubação. Sendo as leituras de volume expressas em mL 0,1 g⁻¹ de MS incubada.

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e teste F em nível de 5% de significância, usando o programa estatístico SAS (2001). Usou-se o modelo unicompartimental de Schofield et al. (1994), apresentado abaixo:

$$V_t = V_f * (1 + \exp(2 - 4 * S * (t - L)))^{-1}$$

Onde:

V_f = volume final de gás (mL) no tempo (t);

S = taxa de degradação (h⁻¹);

L = tempo de colonização (h).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na Tabela 1 são apresentados os valores referentes as análises de composição bromatológica das amostras dos consórcios forrageiros sem a inclusão da levedura. As médias dos valores de matéria seca (MS) foram de 865g kg⁻¹, a fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) do tratamento AvAz foi de 536g kg⁻¹, enquanto no tratamento AvAzTre foi de 543 g kg⁻¹. Barreta et al. (2020) encontraram teores de FDN menores que o do presente estudo, em média 47%, para a aveia consorciada com trevo branco e trevo vermelho. Os valores mais elevados de FDN pode ser devido ao período de semeadura ser tardio, uma vez que, Comassetto et al. (2020) avaliaram a composição bromatológica de trevo branco, e quanto mais tardio o plantio, maior foi o percentual de FDN, e isto se deve a antecipação da maturação da forrageira. Já a DIVMS apresentou valores de 837g kg⁻¹ para AvAz e 801g kg⁻¹ para o AvAzTre. Estes valores de digestibilidade são considerados altos, pois Barreta et al. (2020) encontraram valores de digestibilidade, em média de, 677,5 g kg⁻¹.

Tabela 1 – Composição bromatológica (g kg⁻¹) das amostras de forrageiras consorciadas

Item*	Forrageiras ^a	
	AvAz	AvAzTre
MS	865	865
MO	864	872
PB	249	243
FDN	536	543
FDA	272	271
DIVMS7	837	801

*MS= Matéria seca; MO= Matéria orgânica; PB= Proteína bruta; FDN= Fibra em detergente neutro; FDA= Fibra em detergente ácido; DIVMS= Digestibilidade in vitro da matéria seca.^aAvAz = consórcio de aveia+azevém; AvAzTre= consórcio de aveia+azevém+trevo

Fonte: Zolet (2021).

Observamos na Tabela 2, que os valores da taxa de produção de gás (S), (h¹) e Lag Time (L), (h) não diferiram (P>0,05) estatisticamente entre os tratamentos. Sendo que a



média de volume máximo produzido entre os tratamentos foi de 204,8 Y, mL, já para a taxa de produção do gás obteve-se uma média de 0,025 S.h⁻¹, enquanto a média dos tratamentos para o Lag Time foi de 5 L.h.

Tabela 2 – Produção de gás *in vitro*

Tratamento	Vol. Máx. (Y, mL)	Taxa de Produção de Gás (S), (h ⁻¹)	Lag Time (L), (h)
AvAz	209,2	0,027	4,29
AvAzLev	205,0	0,025	5,24
AvAzTre	207,3	0,024	5,40
AvAzTreLev	197,8	0,025	4,98

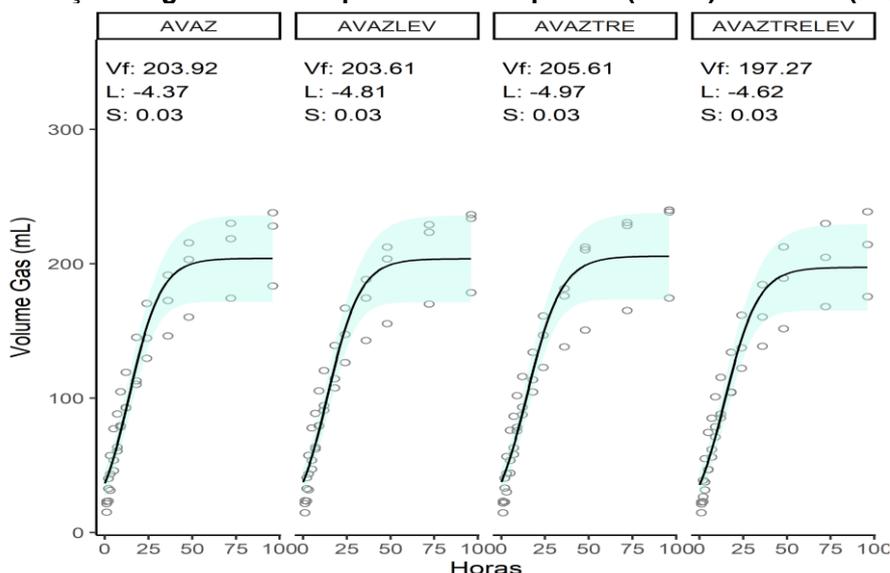
(P>0,05)

Fonte: Zolet (2021).

Os valores foram semelhantes para o volume final (VF) (P>0,05). A média de volume foi de 197,27 mL para o tratamento AvAzTreLev e para o tratamento AvAzTre o volume foi de 205,61 mL,h, já a taxa de degradação (S) as médias para os tratamentos foi de 0,03% .h⁻¹ e a média para o Lag time foi de -4,7 L.h. Os valores de volume de gás são superiores aos encontrados por Sá et al. (2011) de 180,6; 186,5 e 160 mL, respectivamente, ao avaliarem até às 96h de fermentação à *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, cortada nas idades de 28, 35 e 54 dias. Isto indica que o material avaliado no presente trabalho favoreceu a atividade microbiana, uma vez que, o gás produzido é produto da digestibilidade do alimento, que foi capaz de fornecer substratos como, carboidratos não fibrosos e N-Nh₃ (nitrogênio amoniacal) para o maior desenvolvimento dos microorganismos ruminais.

Na Figura 1, podemos observar os valores das produções de gás expressos em tempo real, das 0h até as 96h após a incubação. Observa-se que não ocorreu diferença significativa entre os tratamentos (P>0,05).

Figura 1 – Produção de gás *in vitro* expresso em tempo real (horas) e volume (mL/g de MS)



Fonte: Zolet (2021).



Sallam et al. (2010), observaram que a velocidade de produção de gás é maior nas primeiras horas após a incubação, o que se relaciona a energias gerada pelos microrganismos durante a fermentação de carboidratos não fibrosos.

CONCLUSÃO

Podemos concluir que a utilização de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) não interfere no processo de fermentação ruminal quando fornecida com dietas de boa qualidade.

Agradecimentos

Agradeço ao Laboratório de Bromatologia Animal da UTFPR-DV e ao CNPq.

Conflito de interesse

Não há conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

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

BARRETA, D. A.; NOTTAR, L. A.; SEGAT, J. C.; BARETTA, D. Produção, valor nutritivo e produtividade estimada de leite de pastagens consorciadas de estação fria. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.72, n.2, p.599-606, 2020.

COMASSETTO, D. S. et al. Composição química e morfológica de gramíneas forrageiras anuais hibernais em datas de semeadura. *Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão*, v. 12, n. 2, 2020. Disponível em: <https://periodicos.unipampa.edu.br/index.php/SIEPE/article/view/107022>, Acesso em: 06 mar. 2022.

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

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

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



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

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

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

SÁ, J. F.; PEDREIRA, M.S.; SILVA, F.F. *et al.* Cinética da fermentação *in vitro* do capim-Marandu em diferentes idades de corte. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**. v.33, n.3,p.225-231, 2011.

SALLAM, S. M. A. H. *et al.* Ruminal fermentation and tannins bioactivity of some browses using a semiautomated gas production technique. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, Yucatán, v.12, n.1, p.1-10, 2010.

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

SCHOFIELD, P.; PITT, R.E.; PELL, A.N. Kinetics of fiber digestion from in vitro gás production. **Journal of Animal Science**, v.72, n.11, p.2980-2991, 1994.

ZOLET C., A. **Utilização de Levedura (*Saccharomyces Cerevisiae*) em Gramíneas Temperadas Consorciada com Trevo Vesiculoso na Produção de Gás In Vitro**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2022.