



AValiação de Aditivos à Base de Leveduras, Como Alternativa aos Ionóforos, Sobre a Fermentação Ruminal Usando Sistema *In Vitro*

Renan Lima **Savio**¹; Amanda Regina **Cagliari**²; Kalista Eloisa **Loregian**³; Bruna Roberta **Amancio**⁴; Eduardo Marostegan de **Paula**⁵

Nº 22712

RESUMO – Objetivou-se analisar o efeito da inclusão de aditivos a base de leveduras em dieta destinada a bovinos de corte, sob os parâmetros de fermentação ruminal em sistema *in vitro*. Foram utilizados três produtos comerciais em três experimentos simultâneos: Golf (Exp. 1), GlucagonMos (Exp. 2), BioHydro (Exp. 3). Todos os experimentos avaliaram cinco diferentes níveis de inclusão de aditivo (0, 533, 1067, 1600, e 2133 mg/kg de MS), e utilizou-se monensina sódica como controle positivo. Os parâmetros avaliados foram: concentração e perfil de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), relação acetato: propionato e concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃). Para o Exp. 1, não observamos diferenças nas concentrações totais e nos perfis de AGCC ($P>0,05$). Em contrapartida, houve redução linear das concentrações de N-NH₃ ($P<0,05$), e quando comparado com a monensina, não houve efeitos para os outros parâmetros analisados ($P>0,05$). Para o Exp. 2, houve efeito quadrático para os parâmetros de propionato, iso-butirato, AGCR e relação acetato: propionato ($P<0,05$). Ainda, as inclusões de 533, 1067 e 1600mg/ kg/MS apresentaram menores valores de N-NH₃, quando comparados à monensina ($P<0,05$). Porém, não houve diferenças na comparação dos demais parâmetros analisados ($P>0,05$). Já no Exp. 3, observou-se efeito quadrático para as concentrações de acetato, valerato, iso-butirato, iso-valerato e AGCR ($P<0,05$). Baseado nos resultados do presente estudo podemos observar que a adição de prebióticos proporcionou um, aumento da concentração de acetato e alguns casos aumento de AGV total, quando comparado a monensina, e pela redução da concentração de NH₃-N, AGVCR e produção de CH₄. Em termo de dosagem para o aditivo Golf e Glucanmos os resultados sugerem que a dosagem para a melhor manipulação da fermentação ruminal é de 1600 mg/kg de MS, e para o aditivo BioHydro de 2133 mg/kg de MS.

Palavras-chaves: prebióticos, probióticos, monensina, ácidos graxos de cadeia curta, amônia.

1 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Zootecnia, UDESC Chapecó-SC; renan.ls@edu.udesc.br

2 Mestranda do programa de Pós-graduação em Zootecnia, Bolsista PROMOP UDESC, Chapecó-SC.

3 Mestranda do programa de Pós-graduação em Zootecnia, Bolsista PROMOP UDESC, Chapecó-SC.

4 Bolsista.

5 Orientador: Pesquisador do Instituto de Zootecnia, Sertãozinho-SP; emarostegandepaula@gmail.com.



EVALUATION OF YEAST-BASED ADDITIVES, AS AN ALTERNATIVE TO IONOPHORES, ON RUMINAL FERMENTATION USING IN VITRO SYSTEM

Renan Lima **Savio**¹; Amanda Regina **Cagliari**²; Kalista Eloisa **Loregian**³; Bruna Roberta **Amancio**⁴; Eduardo Marostegan de **Paula**⁵

ABSTRACT – The objective was to study the effect of the inclusion of the yeast-based additive system for beef cattle, under the parameters of in vitro ruminal fermentation. Three commercial products were used in three simultaneous experiments: Golf (Exp. 1), GlucagonMos (Exp. 2), BioHydro (Exp. 3). All experiments evaluated five different levels of positive additive inclusion (0, 533, 1067, 1600 mg/kg DM, and 21333 mg/kg DM), and monensin sodium was used as a positive control. The parameters were: concentration and profile of short chain fatty acid (SCFA), acetate:propionate ratio and ammoniacal nitrogen (N-NH₃). For Exp. 1, we did not observe differences in total responses and SCFA profiles ($P>0.05$). On the other hand, there was a linear reduction of the concentrations of N-NH₃ ($P>0.05$). For Exp. 2, there was a quadratic effect for propionate, iso-butyrate, long chain fatty acid (LCFA) and acetate:propionate ratio ($P<0.05$). Also, according to the inclusions of 533, 1067 and 1600mg/kg/MS, they showed lower values of N-NH₃ when compared to monensin ($P<0.05$). However, there weren't differences in the comparison of the others not analyzed ($P>0.05$). Already in Exp. 3, a quadratic effect was observed for the consequences of acetate, valerate, iso-butyrate, iso-valerate and LCFA ($P<0.05$). Based on the results of the present study, we observed that the addition of prebiotics showed an increase in acetate concentration and in some cases an increase in total VFA, when compared to monensin, and by reducing the concentration of NH₃-N, AGVCR and CH₄ production. In terms of dosage for the Golf and Glucanmos additive, the results suggest that the dosage for improving ruminal fermentation is 1600 mg/kg DM, and for the BioHydro additive 2133 mg/kg DM.

Keywords: prebiotic, probiotic, monensin, short chain fatty acid, ammonia.

1. INTRODUÇÃO

A utilização de antibióticos ionóforos (principalmente a monensina sódica) na nutrição de ruminantes é uma técnica com eficácia comprovada em aumentar a eficiência de utilização dos alimentos do animal hospedeiro (Russel, 1996; Oliveira et al., 2005; Goodrich et al., 1984). Estes aditivos atuam sobre o crescimento das bactérias gram-positivas, responsáveis por maior



concentração de acetato e butirato, que liberam mais substratos para concentração de metano (BEACOM et al., 1988). Quando ocorre seletividade dessas bactérias, pode-se observar maiores níveis de concentração de propionato, aumentando a eficiência fermentativa (ROOK & BURNET, 2005). Além disso, a utilização de monensina também irá inibir o crescimento de bactérias responsáveis por produzir ácido láctico, diminuindo assim o risco de acidose (IPHARRAGUERRE & CLARK, 2003). Normalmente, estas vantagens nutricionais e metabólicas propiciam maiores resultados produtivos ao animal (OLIVEIRA et al., 2005). Por outro lado, os antibióticos podem deixar resíduos nos produtos de origem animal e fazem com que algumas cepas de bactérias se tornem resistentes (RONG et al., 2010). Por isso, desde janeiro de 2006, a União Europeia suspendeu a utilização de produtos antibióticos na alimentação animal, bem como a compra de produtos oriundos dos animais que recebiam tal aditivo na alimentação (GATTAS et al., 2008). Dessa forma, são necessárias pesquisas que busquem aditivos alternativos e com eficácia semelhante aos ionóforos.

A utilização de prebióticos a base de culturas de leveduras objetiva aumentar a população de bactérias benéficas ao meio (NEWBOLD et al., 1995). Além disso, esses aditivos têm potencial de melhorar a fermentação ruminal e o desempenho dos animais por melhorar a degradação dos alimentos e melhor aproveitamento dos nutrientes pelos microrganismos. As leveduras não desempenham papel antibiótico (destruindo microrganismos), apenas fornecem condições favoráveis para alguns grupos bacterianos se desenvolverem melhor (RUTZ et al., 2006). Por essas características, elas se encaixam nas exigências internacionais dos países que importam carne bovina do Brasil (GATTAS et al., 2008). As leveduras atuam como sequestradoras de oxigênio (O_2), o que favorece a multiplicação de bactérias estritamente anaeróbicas, como o caso das celulolíticas (NEWBOLD, 1996). A parede celular dessas leveduras, são compostas por polissacarídeos, que são capazes de interagir com as bactérias, se ligando a elas e prevenindo que ocorra a fixação de microrganismos prejudiciais ao trato gastrointestinal dos animais (KOGAN et al., 2007). De fato, pesquisas mostram que animais suplementados com este tipo de aditivo apresentaram maior degradação dos alimentos ingeridos, e consequentemente maior aproveitamento dos nutrientes. Todavia, pesquisas são necessárias para testar novas cepas e definir as dosagens ideais para a utilização de leveduras na nutrição de ruminantes. Desta forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar a efetividade da utilização de aditivos a base de leveduras, como alternativa aos ionóforos, e avaliar os parâmetros de fermentação ruminal usando sistema in vitro. Nossa hipótese é que a inclusão de leveduras como forma de aditivo em dietas de bovinos de corte melhore os parâmetros ruminais e aumente a degradação dos alimentos realizada pela microbiota ruminal.



2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Declaração de ética

Este estudo foi realizado, em parceria entre o Departamento de Zootecnia da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC Oeste), Chapecó-SC e o Instituto de Zootecnia (IZ) do Centro APTA Bovinos de Corte, Sertãozinho-SP. O experimento foi aprovado pelo comitê de ética no uso de animais do IZ, sob o número: 294/19, estando de acordo com o código de conduta para a pesquisa do Código Brasileiro de Boas Práticas e Uso de Animais (Lei número 11.794 do Estado de São Paulo).

2.2. Delineamento experimental

O experimento foi realizado no Laboratório de Nutrição e Fermentação Ruminal do IZ (Sertãozinho-SP; 21°10'44.9" S, 48°05'38.7" W). Foram realizados três experimentos simultâneos, os quais avaliaram individualmente três diferentes aditivos comerciais a base de levedura (Tabela 1): Golf (Exp. 1), GlucagonMos (Exp. 2), BioHydro (Exp. 3). Em todos os experimentos, os aditivos foram testados em concentrações crescentes em uma dieta basal formulada para bovinos de corte composta por silagem de milho (60%), milho moído (28%) e farelo de soja (12%). Assim, cada experimento teve seis tratamentos: cinco níveis do aditivo (0, 533, 1067, 1600, e 2133 mg/kg de MS) e um controle positivo com monensina sódica (Rumensin®, 25 mg/kg) adicionados à dieta basal. Os procedimentos operacionais e análise estatísticas foram similares para todos os experimentos.

Um sistema automático com capacidade de leitura de 50 frascos (Ankom Technology, Macedon. NY, EUA) foi utilizado para avaliação dos parâmetros de fermentação ruminal. Os aditivos foram avaliados em três incubações consecutivas de 48 horas. Para cada incubação, as dietas foram incubadas individualmente em frascos de 250mL, que foram distribuídas de forma aleatória na incubadora. Cada incubação contou com três repetições de cada tratamento, mais três frascos de branco (apenas líquido ruminal e solução tampão), com total de 63 observações para cada experimento.

2.3. Análises químicas

Os alimentos foram previamente secos em estufa de ventilação forçada a 65°C, e posteriormente moídas em peneira de 1mm (Wiley mill; Thomson Scientific Inc., Philadelphia, PA). A seguir, as amostras foram analisadas segundo Detmann (2012) quanto ao teor de matéria seca

(MS, método INCT-CA G-003/1), matéria mineral (MM, INCT-CA M-001/1), proteína bruta (PB, Dummas), fibra em detergente neutro (FDN, INCT-CA F-001/1) e fibra em detergente ácido (FDA, INCT-CA F003/1).

2.4. Coleta de fluido ruminal e preparo das soluções

O fluido ruminal foi coletado de três novilhos Nelore canulados no rúmen, com peso médio de 640kg. Estes animais receberam alimentação na mesma proporção da dieta que foi utilizada nos ensaios *in vitro* (60% de volumoso e 40% de concentrado). A coleta de fluido ruminal ocorreu aproximadamente uma hora antes da alimentação diária dos animais, seguindo as recomendações de Yáñez-Ruiz et al. (2016). O fluido foi então filtrado em quatro camadas de gaze, acondicionado em frascos térmicos previamente aquecidos, e imediatamente transportados ao laboratório. A solução tampão foi preparada conforme Menke e Steingass (1988). No laboratório, as soluções foram misturadas em banho-maria a 39°C com infusão contínua de nitrogênio (N₂). A solução final foi composta por 25mL de fluido ruminal e 50mL de solução mineral tampão (1:2v/v, 75mL).

2.5. Incubação *in vitro*

No dia da incubação, as amostras foram hidratadas com 5mL de água deionizada, para evitar dispersão das partículas. Cada Garrafa recebeu $0,5 \pm 0,05$ g (Base na MS) de cada dieta. O headspace foi continuamente infundido com N₂, com o objetivo de manter a condição anaeróbica do meio. Após a incubação, os frascos foram fechados e colocados em incubadora ventilada (EI-450T, ENGCO, Piracicaba, SP, BR), sob temperatura constante de 39°C e agitação de 83 rpm por 48 horas.

No final da incubação, uma subamostra foi coletada de cada garrafa para que posteriormente fossem determinadas a concentração de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e nitrogênio amoniacal (N-NH₃). As amostras foram filtradas em quatro camadas de gaze, e acondicionadas em tubos Falcon. Então, 0,2 mL de solução de H₂SO₄ (500 mL/L) foram adicionados com finalidade de preservação das amostras. A concentração de N-NH₃ foi determinada através do método colorimétrico descrito por Chaney and Marbach (1962). Para mensurar a concentração e perfil de AGCC, foi utilizado o método de cromatografia gasosa [Nexis CG-2030AF, Shimadzu, Montevideu, Uruguai equipado com uma coluna capilar de sílica fundida (30m X 0,53mm X 0,5µm de espessura de filme. Sulpelco, Darmstadt, Alemanha)], utilizando Hélio como gás de arraste, com taxa de fluxo de 34,5mL/ min⁻¹.

2.6. Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de normalidade de resíduos e homogeneidade de variância. A seguir, foram submetidos à análise de variância, em delineamento em blocos casualizados (rodadas) e quando significativa, as médias do controle positivo (monensina) com as médias dos níveis foram comparadas utilizando-se o teste de Dunnett (5%). Para os níveis, foram realizadas análises de regressão testando-se os efeitos linear e quadrático.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Experimento 1

Os resultados dos parâmetros ruminais analisados para o aditivo Golf estão apresentados na Tabela 1. A utilização de leveduras na alimentação dos animais visa proporcionar maior degradabilidade da matéria orgânica, o que consequentemente leva ao maior aproveitamento dos nutrientes (BROADWAY et al., 2015). O aditivo utilizado nesse experimento (Golf) tem sua composição baseada em uma mistura de prebióticos. Tais prebióticos têm a finalidade de aumentar as populações de bactérias benéficas, que realizam degradação do alimento sem causar riscos à saúde animal. Além disso, os prebióticos podem reduzir agentes patogênicos (como a *E. Coli*) por meio de exclusão competitiva, pois ambos possuem afinidade pelos mesmos sítios de ativação (CROSS, 2002; KREHBIEL et al., 2003). Além disso, sua composição promove a saúde ruminal por estimularem o crescimento de bactérias utilizadoras de ácido lático e assim propiciar melhores condições de pH, imunomodulação (MARTIN & STREETER, 1995; GARCIA 2008). Dessa forma, esperávamos que a utilização deste aditivo aumentasse a degradabilidade dos alimentos, além de melhorar os parâmetros ruminais. Porém, as concentrações de N-NH_3 decresceram linearmente conforme foram aumentando os níveis do aditivo. Sabe-se que o N-NH_3 ruminal é, em parte, proveniente da degradação de proteínas (KOZLOSKI, 2016). Assim, a redução linear dos níveis de N-NH_3 nos sugere que a degradação de proteína pode ter sido prejudicada pelo aumento do nível do aditivo. Por outro lado, o N-NH_3 pode ser utilizado para síntese de proteína microbiana no rúmen (LOBLEY et al., 1995). Então, nossos resultados podem sugerir que os microrganismos utilizaram maior quantidade deste produto para síntese de proteína microbiana (ÍTAVIO et al., 2002), porém este parâmetro não foi mensurado neste estudo. Se observarmos os valores de AGCC, podemos perceber que os valores de acetato se comportaram de maneira crescente, quando comparados aos níveis de N-NH_3 , o que nos indica que os microrganismos responsáveis por degradar alimentos fibrosos necessitam de N-NH_3 para sua multiplicação, ou seja, fizeram maior utilização deste substrato, aumentaram a população das bactérias responsáveis por degradação da fibra, e como



consequência a isso, a relação acetato: propionato aumentou. Os parâmetros de AGCR não variaram de forma significativa, o que nos sugere que não houve degradação de aminoácidos de forma com que os valores demonstrassem variância significativa.

A composição do aditivo utilizado neste experimento é rica em aminoácidos, o que pode ter intensificado o crescimento dos microrganismos, além de poder explicar o motivo de não haver diferença significativa quando comparado com a monensina sob a produção de AGCC. Antibióticos ionóforos como a monensina atuam selecionando microrganismos responsáveis pela maior produção de ácido succínico e propiônico (REIS et al., 2006). Já os aditivos pré bióticos a base de leveduras propiciam as melhores condições ao ambiente ruminal para que as bactérias obrigatoriamente anaeróbicas, o caso daquelas responsáveis por degradação de fibra (LIMA et al., 2003). Assim, a ausência de diferenças entre os níveis de aditivo e a monensina para todos os parâmetros sugerem que a utilização do aditivo a base de leveduras pode ser uma alternativa ao uso do antibiótico em dietas de bovinos de corte.



Tabela 1. Efeitos dos diferentes níveis de inclusão de aditivo à base de levedura (Golf) nos parâmetros de fermentação ruminal, utilizando sistema *in vitro*.

Item ¹	Tratamentos ²						EPM	Regressão - <i>P</i> -valor		Monensina vs níveis
	G0	G533	G1067	G1600	G2133	Monensina		Linear	Quadrático	<i>P</i> -valor
AGCC total, mM/gMS	153	133	147	160	143	145	3,452	0,97	0,92	0,98
AGCC Perfil, mol/100mol										
Acetato	63,0	58,2	65,5	64,8	64,2	64,7	0,211	0,91	0,83	0,52
Propionato	19,6	18,4	19,4	19,0	19,3	19,4	0,122	0,55	0,55	0,83
Butirato	10,6	8,98	9,73	9,76	10,4	9,75	0,147	0,09	0,07	0,20
Valerato	1,65	1,78	1,56	1,56	1,51	1,48	0,018	0,96	0,68	0,28
Iso-Butirato	1,70	1,62	1,61	1,63	1,57	1,59	0,015	0,41	0,74	0,21
Iso-Valerato	3,43	3,60	3,17	3,28	3,09	3,15	0,046	0,80	0,84	0,29
AGCR, mM	6,77	6,02	6,34	6,47	6,17	6,22	0,072	0,28	0,43	0,39
Acetato:propionato	3,22	3,09	3,33	3,41	3,33	3,35	0,028	0,47	0,84	0,17
N-NH ₃ mg/dL	19,4	17,4	15,3	17,1	16,7	19,4	0,464	0,03	0,08	0,07

¹AGCC, ácidos graxos de cadeia curta; AGCR, Ácidos graxos de cadeia curta ramificada; N-NH₃, nitrogênio amoniacal; EPM, erro padrão da média; MS, Matéria seca.

²Controle negativo sem adição de aditivo (G0); Tratamento com adição de 533mg/Kg de MS de aditivo (G533); Tratamento com adição de 1067mg/Kg de MS de aditivo (G1067); Tratamento com adição de 1600mg/Kg de MS de aditivo (G1600); Tratamento com adição de 2133mg/Kg de MS de aditivo (G2133); Tratamento com adição de 25mg/Kg de MS de monensina.

3.2. Experimento 2

Os resultados dos parâmetros ruminais analisados para o aditivo GlucanMos estão apresentados na Tabela 2.

O aditivo utilizado neste experimento (GlucanMos) tem origem de cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, que possui características de melhorar o ambiente ruminal por controlar pH, remover O_2 do meio, e consequentemente maximizar a produção de bactérias anaeróbicas (Bach et al., 2007; Broadway et al., 2015). Nós hipotetizamos que tais características poderiam causar a modificação o perfil de AGCC produzidos no rúmen. De fato, as concentrações de propionato, iso-butirato e AGCR apresentaram comportamento quadrático negativo, com pontos de mínimo variando entre os níveis de 1039 e 1146 mg de aditivo /kg MS. Podemos observar que a produção de propionato diminuiu, o que influenciou o aumento na relação acetato: propionato. Isso nos sugere que o aditivo favoreceu maior proliferação das bactérias responsáveis pela degradação de fibra presente na dieta (Wallace & Newbold, 1995). Com relação aos AGCR, esses compostos são produtos da deaminação e descarboxilação de aminoácidos de cadeia ramificada (valina, leucina e isoleucina), o que nos indica que a adição do aditivo em doses intermediárias proporcionou uma menor degradação desses aminoácidos (MIURA et al., 1980). Além disso, é importante salientar que o GlucanMos fornece fonte extra desses aminoácidos. Portanto, com essa fonte extra, possivelmente as bactérias não precisaram degradar estes AGCR presentes no alimento. A redução do propionato pode ser um resultado negativo, pois como conhecido, o propionato é um dreno de hidrogênio, não deixando substrato suficiente para formação de metano no meio, enquanto maior concentração de acetato, faz com que os hidrogênios disponíveis no meio aumentem, gerando maior quantidade de substrato.

Nossos resultados também demonstraram que os níveis M533, M1067 e M1600 apresentaram menores concentrações de propionato, quando comparados à monensina. De fato, esse ionóforo tende a selecionar microrganismos produtores de propionato (NAGAJARA, 1981), enquanto as leveduras beneficiam as produtoras de acetato. De qualquer maneira, como os demais parâmetros não diferiram na comparação entre monensina e os níveis de aditivo, mostrando que o aditivo pode ser uma alternativa a monensina.



Tabela 2. Efeitos dos diferentes níveis de inclusão de aditivo à base de levedura (GlucanMos) nos parâmetros de fermentação ruminal, utilizando sistema *in vitro*.

Item ¹	Tratamentos ²						EPM	Regressão - <i>P</i> -valor		Monensina vs níveis <i>P</i> -valor
	M0	M533	M1067	M1600	M2133	Monensina		Linear	Quadrático	
AGCC total, mM/gMS	158	143	148	139	155	159	2,789	0,10	0,11	0,30
AGCC Perfil, mol/100mol										
Acetato	63,0	58,7	65,0	65,2	65,5	64,2	0,258	0,71	0,90	0,26
Propionato	19,7	17,8*	18,6*	18,5*	19,7	19,4	0,161	0,04	0,03	0,01
Butirato	10,4	9,09	10,1	10,3	10,1	10,0	0,115	0,52	0,45	0,72
Valerato	1,66	1,81	1,56	1,50	1,60	1,53	0,022	0,48	0,75	0,06
Iso-Butirato	1,74	1,59	1,59	1,517	1,71	1,62	0,016	< 0,01	0,01	0,11
Iso-Valerato	3,53	3,61	3,17	3,03	3,42	3,32	0,045	0,12	0,20	0,08
AGCR, mM	6,93	6,09	6,32	6,05	6,73	6,46	0,078	0,01	0,01	0,23
Acetato:propionato	3,20	3,23	3,51	3,54	3,26	3,31	0,038	0,03	0,05	0,11
N-NH ₃ mg/dL	20,3	19,5	18,8	21,3	21,1	21,0	0,337	0,34	0,17	0,12

*Médias apresentaram diferenças estatísticas, quando comparadas à monensina ($P < 0,05$).

¹AGCC, ácidos graxos de cadeia curta; AGCR, Ácidos graxos de cadeia curta ramificada; N-NH₃, nitrogênio amoniacal; EPM, erro padrão da média; MS, Matéria seca.

²Controle negativo sem adição de aditivo (G0); Tratamento com adição de 533 mg/Kg de MS de aditivo (M533); Tratamento com adição de 1067mg/Kg de MS de aditivo (M1067); Tratamento com adição de 1600mg/Kg de MS de aditivo (M1600); Tratamento com adição de 2133mg/Kg de MS de aditivo (M2133); Tratamento com adição de 25mg/Kg de MS de monensina.

3.3. Experimento 3

Os resultados dos parâmetros ruminais analisados para o aditivo BioHydro estão apresentados na Tabela 2.

O aditivo utilizado nesse experimento (BioHydro) também é constituído por células de leveduras de diferentes linhagens da *Saccharomyces cerevisiae*. Porém, nesse caso as leveduras são hidrolisadas por enzimas exógenas e endógenas, secas e inativadas por pulverização, e por isso se caracteriza como um prebiótico. Assim, esse aditivo também é fonte de proteínas de alta degradabilidade, e que possui perfil balanceado de aminoácidos, β -glucanos, mananoligossacarídeos, além de nucleotídeos livres e vitaminas do complexo celular. Neste experimento, observamos um efeito quadrático positivo para as concentrações de acetato, ou seja, as concentrações aumentaram até determinada dosagem, e após, as concentrações de propionato diminuem conforme a dosagem do aditivo aumentou. O ponto máximo para a concentração de acetato (65,2 mL/100mol) foi encontrado na dosagem 1122mg/kg/ MS. Esse aumento pode estar relacionado ao fato de as leveduras utilizadas favorecerem as bactérias fibrolíticas. Quando pensamos em sistemas onde os animais são criados em sistemas de confinamento, onde recebem dietas com alto teor de concentrado, e a fibra utilizada na dieta é a fibra efetiva, a utilização deste aditivo pode não ser interessante, pois animais neste sistema possuem um nível de inclusão de fibra nas suas dietas baixo, em torno de 15% ou até menos. Este aditivo pode beneficiar animais criados em sistemas extensivos, onde a base da dieta dos animais é o alimento volumoso, pois esta irá auxiliar na maior degradabilidade da fibra, o que resultará num maior aproveitamento dos nutrientes oriundos deste alimento.

Já o comportamento das concentrações de iso-butirato e iso-valerato, podemos justificar seu comportamento devido a composição do produto, pois este, semelhante ao produto utilizado no experimento dois, possui em sua composição inúmeros aminoácidos que servem para utilização das bactérias. O efeito de menor concentração pode nos sugerir que houve menor degradação dos mesmos, o que pode trazer benefícios aos animais, pois estes são indispensáveis na síntese da proteína do leite e síntese de músculo. Além disso, bactérias celulolíticas necessitam de AGCR para crescerem (Allison and Bryant, 1963; Mir et al., 1986). Portanto, podemos especular que com essa fonte extra de aminoácidos de cadeia ramificada também pode ter sido usada para crescimento dessas bactérias o que pode explicar a maior concentração de acetato nessas dosagens, uma vez que a produção do acetato no rúmen é maior com degradação de celulose (RIGOBELLO et al., 2014).



Tabela 3. Efeitos dos diferentes níveis de inclusão de aditivo à base de levedura (BioHydro) nos parâmetros de fermentação ruminal, utilizando sistema *in vitro*.

Item ¹	Tratamentos ²						EPM	Regressão - <i>P</i> -valor		Monensina vs níveis
	B0	B533	B1067	B1600	B2133	Monensina		Linear	Quadrático	<i>P</i> -valor
AGCC total, mM/gMS	167	167	172	171	176	163	3,498	0,94	0,90	0,78
AGCC Perfil, mol/100mol										
Acetato	63,3	65,2	65,0	64,7	64,0	64,7	0,200	< 0,01	< 0,01	0,17
Propionato	19,3	18,8	18,6	18,7	18,7	19,0	0,147	0,21	0,33	0,24
Butirato	10,4	9,71	10,1	10,13	10,4	9,8	0,110	0,11	0,07	0,06
Valerato	1,65	1,51	1,54	1,55	1,76	1,50	0,018	< 0,01	0,01	0,21
Iso-Butirato	1,76	1,59	1,63	1,66	3,54*	3,36	0,011	0,01	< 0,01	0,04
Iso-Valerato	3,57	3,13	3,24	3,33	1,55	1,64	0,041	< 0,01	< 0,01	0,05
AGCR, mM	6,98	6,23	6,41	6,54	6,85	6,50	0,065	< 0,01	< 0,01	0,06
Acetato:propionato	3,28	3,48	3,51	3,48	3,44	3,41	0,035	0,06	0,11	0,68
N-NH ₃ mg/dL	21,0	22,9	22,4	22,8	21,0	21,3	0,390	0,09	0,09	0,41

*Médias apresentaram diferenças estatísticas, quando comparadas à monensina ($P < 0,05$).

¹AGCC, ácidos graxos de cadeia curta; AGCR, Ácidos graxos de cadeia curta ramificada; N-NH₃, nitrogênio amoniacal; EPM, erro padrão da média; MS, Matéria seca.

²Controle negativo sem adição de aditivo (G0); Tratamento com adição de 533mg/Kg de MS de aditivo (B533); Tratamento com adição de 1067mg/Kg de MS de aditivo (B1067); Tratamento com adição de 1600mg/Kg de MS de aditivo (B1600); Tratamento com adição de 2133mg/Kg de MS de aditivo (B2133); Tratamento com adição de 25mg/Kg de MS de monensina.



4. CONCLUSÃO

Baseado nos resultados do presente estudo podemos observar que a adição de prebióticos podem ser uma alternativa ao uso da monensina sódica como aditivo na alimentação dos ruminantes. Os resultados observados no presente estudo mostra um elevado potencial dos aditivos em manipular a fermentação ruminal, via aumento da concentração de acetato e alguns casos aumento de AGV total comparado a monensin, e pela redução da concentração de $\text{NH}_3\text{-N}$, AGVCR e produção de CH_4 . Em termo de dosagem para o aditivo Golf e Glucanmos os resultados sugerem que a dosagem para a melhor manipulação da fermentação ruminal é de 1600 mg/kg de MS, e para o aditivo BioHydro de 2133 mg/kg de MS.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pela bolsa concedida, o Centro APTA Bovinos de Corte na unidade de pesquisa do Instituto de Zootecnia em Sertãozinho – SP por todo aporte para que essa pesquisa pudesse ser realizada e a Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) pelo apoio.

6. REFERÊNCIAS

- BEACON, S. E. Effect off the feed aditives chlortetracycline, monensin and lasalocid on feedlot performance os finishing cattle, liver lesions and tissue levels of chlortetracycline. Canadian Journal of Animal Science, v68, n. 4, p. 1131-1141, 1988.
- CHANEY, A.L., MARBACH, E.P., 1962. Modified reagents for determination of urea and ammonia. Clin. Chem. 8, 130–132.
- FERELI, F.; BRANCO, A. F.; JOBIM, C. C.; CONEGLIAN, S. M.; GRANZOTTO, F.; BARRETO, J. C. Monensina sódica e *Saccharomyces cerevisiae* em dietas para bovinos: fermentação ruminal, digestibilidade dos nutrientes e eficiência de síntese microbiana. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 39, n. 1, p. 183-190, 2010.
- GATTAS, C. B. A.; MORAIS, M, G.; ABREU, U, G, P.; FRANCO, G, L.; STEIN, J.; LEMPP, B. Efeito da suplementação com cultura de levedura na fermentação ruminal de bovinos de corte. R. Bras.Zootec., v.37, n.4, p.711-716, 2008.
- GOODRICH, R.D.; GARRETT, J.E.; GAST, D.R. et al. Influence of monensin on the performance of cattle. Journal of Animal Science, v.58, p.1484-1498, 1984.
- IPHARRAGUERRE, I.R.; CLARK, J.H. Usefulness of ionophores for lactating dairy cows: a review. Animal Feed Science and Technology, v.106, n.1-4, p.39-57, 2003.
- ÍTAVO, L.C.V.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, F.F. et al. Consumo e digestibilidades aparentes totais e parciais de nutrientes em novinhos alimentados com dietas contendo vários níveis de concentrado. Revista Brasileira de Zootecnia, v.31, n.3, p.1543-1552, 2002 (supl.)



- Kogan, G.; Kocher, A. Role of yeast cell wall polysaccharides in pig nutrition and health protection. *Livest. Sci.* 2007, 109, 161–165.
- KREHBIEL, C. R.; RUST, S. R.; ZHANG, G.; GILLILAND, S. E. Bacterial direct-fed microbials in ruminant diets: Performance response and mode of action. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 81, (Suplemento especial 2), p.120 - 132, 2003.
- LOBLEY, G.E.; CONNEL, A.; LOMAX, M.A. et al. Hepatic detoxification of ammonia in the ovine live: possible consequences for amino acid catabolism. *British Journal of Nutrition*, v.73, n.5, p.667-685, 1995
- Menke, K.H.; Sateingass, H., 1988. The Estimation of The Energetic Feed Value Obtained from Chemical Analysis and In Vitro Gas Production Using Rumen Fluid 49.
- Mir, P. S., Z. Mir, and J. A. Robertson. 1986. Effect of branched-chain amino acids or fatty acid supplementation on in vitro digestibility of barley straw or alfalfa hay. *Can. J. Anim. Sci.* 66:151–156.
- MIURA, H.M., HORIGUCHI, M.; MATSUMOTO, T. Nutritional interdependence among rumen bacteria, *Bacteroides amylophilus*, *Megasphaera elsdenii*, and *Ruminococcus albus*. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 40, p. 294-300, 1980.
- NEWBOLD, C.J.; WALLACE, R.J.; CHEN, X.B.; MCINTOSH, F.M. Different strains of *Saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on ruminal bacterial numbers in vitro and in sheep. *J. Anim. Sci.*, v. 73, p. 1811-1818, 1995.
- NEWBOLD, C.J.; WALLACE, R.J.; MCINTOSH, F.M. Mode of action of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as feed additive for ruminants. *British Journal of Nutrition*, v. 76, n. 2, p. 249-261, 1996.
- Nicodemo MLF (2001) Uso de aditivos na dieta de bovinos de corte. Embrapa Gado de Corte. Documentos Embrapa Gado de corte, Campo Grande.
- OLIVEIRA, M. V. M.; LANA, R. P.; JHAM, G. N.; PEREIRA, J. C.; PÉREZ, J. R. O.; VALADARES FILHO, S. C. Influência da monensina no consumo e na fermentação ruminal em bovinos recebendo dietas com teores baixo e alto de proteína. *R. Bras. Zootec.* v. 34, p. 1763-1774, 2005.
- RIGOBELLO, E.C.; MACHADO, O.R.; CARDOZO, M.V. Efeito de utilização de probióticos em dietas para bovinos nelore terminados em confinamento. Jaboticabal-SP. *ARS VETERINARIA*, Jaboticabal, SP, v.30, n.1, 057-062, 2014.
- ROOK, G. A.; BURNET, L. R. Microbes, immunoregulation and the gut. *Gut*, v. 54, n. 54, p. 317-320, 2005.
- Rong, B., Carmen, A. & Ulrich, S. Field evaluation of the effect of a probiotic-containing *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* spores on the health status, performance, and carcass quality of grower and finisher pigs. *Journal of Veterinary Medicine A Physiology Pathology Clinical Medicine*. 51, 306–312 (2010).
- RUSSELL, J.B.; WILSON, D.B. Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH. *Journal of Dairy Science*, v.79, p.1503-1509, 1996
- RUTZ, F. et al. Antimicrobianos nas rações de aves e suínos. In: *RENIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA*, 43, 2006. João Pessoa – PB. Anais... 2006. CDROM.
- Tagliapietra, F., Cattani, M., Hansen, H.H., Hindrichsen, I.K., Bailoni, L., Schiavon, S., 2011. Metabolizable energy content of feeds based on 24 or 48h in situ NDF digestibility and on in vitro 24h gas production methods. *Anim. Feed Sci. Technol.* 170, 182–191. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.09.008>