**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Aditivos (monensina sódica, levedura e probióticos) para bovinos da raça
Nelore terminados com rações com concentrado rico em co-produtos**

Camila Takassugui Gomes

**Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração: Ciência
Animal e Pastagens**

**Piracicaba
2009**

Camila Takassugui Gomes
Médica Veterinária

**Aditivos (monensina sódica, levedura e probióticos) para bovinos da raça Nelore
terminados com rações com concentrado rico em co-produtos**

Orientador:
Prof. Dr. **FLÁVIO AUGUSTO PORTELA SANTOS**

**Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração: Ciência
Animal e Pastagens**

Piracicaba
2009

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Gomes, Camila Takassugui

Aditivos (monensina sódica, levedura e probióticos) para bovinos da raça Nelore terminados com rações com concentrado rico em co-produtos / Camila Takassugui Gomes. - Piracicaba, 2009.
109 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2009.
Bibliografia.

1. Aditivos alimentares para animal 2. Bovinos de corte 3. Carcaça - Parâmetros Digestibilidade 5. Lactobacillus 6. Leveduras 7. Subprodutos para animais I. Título

CDD 636.2084
G633a

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

À toda minha família, Roberto, Lurdes, Renata, Rodrigo, Heloisa, Motta, Guiomar e Carmem

DEDICO

Aos professores Rosangela Locatelli Dittrich, Alexander Biondo, Ivan Roque de Barros Filho e José Luciano Andriguetto

Por todas as oportunidades oferecidas que me ajudaram a aqui chegar

Ao meu namorado Helton,

Por me acompanhar nos melhores e piores momentos, sempre

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Flávio Augusto Portela Santos pela orientação, pelas oportunidades oferecidas, e, sobretudo, pelo grande exemplo de profissionalismo.

Ao Fundo de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro do projeto.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” pela oportunidade proporcionada.

À Universidade Federal do Paraná (UFPR), por minha formação acadêmica e pelas inúmeras oportunidades.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia, Carlos César Alves, pela imensa paciência, Seu Laureano, Zé Barba, Juscelino e Emerson, por toda a colaboração durante a execução dos experimentos. À bibliotecária Eliana, por toda a atenção e paciência.

Aos estagiários Angolano, Basquetinho, Catarina, Cupim, Féster, Icúpio, Marília, Neide, Neura, Nóbilis, Porcina, Ratoeira, Tequila, Turdia, Preso e Vinícius, por toda a ajuda oferecida.

Aos meus pais, Roberto e Lurdes, à tia Carmem e a avó Guiomar, pelo incentivo e pelo apoio incondicional.

Aos amigos Baiano, Bananinha, Bia, Bolo Fofo, Cocoricó, Conçolo, Dodói, Gaúcho, Juninho, Leandro, Neto, Paraíba, Sakudida e Uruk, por todos os momentos compartilhados e por sempre terem me ajudado, cada um a sua maneira. Pela companhia nos momentos felizes, e nos infelizes também...

Às amigas da República Quartel Cocoricó, Dodói, Karpada, Larga, Furikaki, Pão-com-Moio, Saúva e Xirra pela amizade e pelos incontáveis momentos de descontração.

*“O correr da vida, embrulha tudo,
A vida é assim...
Esquenta, esfria,
Aperta e daí afrouxa,
Sossega e depois desinquieta,
O que ela quer da gente é CORAGEM”*

*Grande Sertão Veredas
João Guimarães Rosa*

SUMÁRIO

RESUMO	11
ABSTRACT	13
LISTA DE SIGLAS	15
1 INTRODUÇÃO.....	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1 Utilização de aditivos alimentares em dietas para bovinos em terminação	19
2.1.1 Monensina sódica como aditivo alimentar	19
2.1.1.1 Modo de ação da monensina sódica	20
2.1.1.2 Efeitos da utilização de monensina sódica no metabolismo energético e protéico de bovinos	22
2.1.1.2.1 Efeitos na metanogênese	24
2.1.1.2.2 Efeitos no consumo dos animais	25
2.1.1.3 Efeitos da monesina sódica na prevenção de distúrbios da fermentação ruminal.....	26
2.1.1.4 Restrições ao uso de ionóforos	30
2.1.1.5 Resultados da utilização de monensina sódica	31
2.1.2 Microorganismos probióticos como aditivo alimentar	35
2.1.2.1 Levedura <i>Sacharomyces cerevisiae</i> como aditivo alimentar	36
2.1.2.1.1 Modo de ação da <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	36
2.1.2.1.2 Resultados da adição de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> as dietas de bovinos	44
2.1.3 Bactérias probióticas como aditivo alimentar	48
2.1.3.1 Modo de ação dos microorganismos probióticos	50
2.1.3.1.1 Modo de ação no ambiente intestinal	51
2.1.3.1.2 Modo de ação no ambiente ruminal	54
2.1.3.1.3 Estimulação do sistema imunológico.....	55
2.1.3.2 Resultados da adição de microorganismos probióticos às dietas de bovinos	58
3 MATERIAL E MÉTODOS	65
3.1 Local dos experimentos	65
3.2 Parâmetros avaliados	65
3.3 Delineamento experimental e tratamentos experimentais	66
3.3.1 Experimento 1	66

3.3.2 Experimento 2	66
3.3 Experimento 3.....	67
3.4 Instalações	68
3.5 Animais, manejo alimentar e rações experimentais.....	68
3.5.1 Experimento 1	68
3.5.2 Experimento 2	70
3.5.3 Experimento 3	72
3.6 Amostragens dos ingredientes da ração	72
3.7 Amostragens de fezes	72
3.8 Preparo das amostras e análises químico-bromatológicas	73
3.9 Avaliação de características de carcaça	74
3.10 Cálculo do valor energético das rações	74
3.11 Análise estatística	75
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	77
4.1 Experimento 1	77
4.2 Experimento 2	80
4.2.1 Composição químico-bromatológica dos ingredientes e das rações experimentais	80
4.2.2 Desempenho animal e características de carcaça	81
4.3 Experimento 3	84
5 CONCLUSÕES	87
REFERÊNCIAS	89

RESUMO

Aditivos (monensina sódica, probióticos e leveduras) para bovinos da raça Nelore terminados com rações com concentrado rico em subprodutos

Foram conduzidos três experimentos no confinamento experimental do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP com o objetivo de estudar os efeitos de diferentes aditivos em rações para bovinos terminados em confinamento. No experimento 1 foram utilizados 100 bovinos machos Nelore castrados (392 kg), distribuídos em 20 baias, por 60 dias. As rações continham 41% de sorgo moído, 40% de polpa cítrica peletizada e 15% de silagem de cana-de-açúcar. Os tratamentos foram: (1) controle, (2) monesina sódica Rumensin[®] (MON1), (3) monensina sódica Rumenfort[®] (MON2), levedura *Saccharomyces cerevisiae* Yea-Sacc[®] 1026 (LEV1) e levedura *Saccharomyces cerevisiae* Biosaf[®] SC47 (LEV2). A IMS foi reduzida pelo tratamento MON1 ($P<0,05$), quando comparada ao tratamento controle. O GPD dos animais não foi afetado pelos tratamentos ($P>0,05$). A EA dos animais não foi afetada pelos tratamentos ($P>0,05$). O tratamento MON2 apresentou um menor rendimento de carcaça ($P<0,05$) e o tratamento MON 1 apresentou uma maior AOL ($P<0,05$). No experimento 2 foram utilizados 96 tourinhos Nelore não castrados (396 kg), distribuídos em 16 baias por 95 dias. Os tratamentos foram: (1) Controle, (2) levedura *Saccharomyces cerevisiae* Biosaf[®] SC47 (LEV), (3) combinação de levedura *Saccharomyces cerevisiae* e bactérias probióticas na dose de 1g /bovino/dia (PROB1) e (4) combinação de levedura *Saccharomyces cerevisiae* e bactérias probióticas na dose de 3g/bovino/dia (PROB2). As rações continham 59% de polpa cítrica peletizada, 35% de farelo de glúten de milho úmido e 5% de feno de tifton 65. A adição dos aditivos levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) e a combinação de leveduras e bactérias probióticas não afetou a IMS o GPD e a EA dos animais ($P>0,05$). A energia líquida de manutenção e de ganho das rações também não foi afetada pelos tratamentos ($P>0,05$), assim como os dados de carcaça. No experimento 3, que avaliou a digestibilidade das rações, foram utilizados 20 tourinhos Nelore, alocados em 20 baias individuais durante 15 dias, sendo 10 dias de adaptação ao marcador e 5 dias de coleta de fezes. A ração foi a mesma utilizada no experimento 2, e o marcador utilizado foi o óxido de cromo. Os tramentos utilizados foram: (1) Controle, (2) monensina sódica Rumenfort[®] (MON), (3) levedura *Saccharomyces cerevisiae* Biosaf[®] SC47 (LEV), (4) combinação de levedura *Saccharomyces cerevisiae* e bactérias probióticas na dose de 1g /bovino/dia (PROB1) e (5) combinação de levedura *Saccharomyces cerevisiae* e bactérias probióticas na dose de 3g/bovino/dia (PROB2). Os aditivos testados não afetaram as digestibilidades da MS, da MO, da FDN e da PB das rações ($P>0,05$). Com os resultados obtidos é possível afirmar que bovinos Nelore, castrados ou não, confinados com rações com altos teores de concentrado ricos em co-produtos como polpa cítrica e farelo de glúten de milho úmido não apresentam melhor desempenho nem melhor digestibilidade dos nutrientes quando suplementados com monensina sódica ou com micorganismos probióticos.

Palavras-chave: *Saccharomyces cerevisiae*; *Lactobacillus acidophilus*; *Bifidobacterium bifidum*; Desempenho animal; Parâmetros de carcaça; Digestibilidade; Bovinos em terminação

ABSTRACT

Feed additives (sodium monensin, DFMs and yeast) for feedlot fed Nellore cattle receiving high by-products rations

Three trials were conducted at the ESALQ/USP Animal Sciences Department experimental feedlot to evaluate the effects of different feed additives in feedlot finished cattle. On trial 1 100 Nellore steers (392kg) were allocated to 20 pens for 60 days. Experimental rations had 41% ground milo, 40% dried citrus pulp and 15% sugarcane silage. Treatments were: (1) control, (2) sodium monensin Rumensin[®] (MON1), (3) sodium monensin Rumenfort[®] (MON2), (4) yeast culture *Saccharomyces cerevisiae* Yea-Sacc[®] 1026 (LEV1) and (5) yeast culture *Saccharomyces cerevisiae* Biosaf[®] SC47 (LEV2). DMI was reduced by MON1 treatment ($P < 0,05$) in relation to control. WDG was not affected by treatments ($P > 0,05$). Treatments did not affect FE ($P > 0,05$). Animals on treatment MON2 showed the lowest dressing percentage (DP) and those on MON1 showed the highest rib eye area (REA) ($P < 0,05$). Trial 2 used 96 young Nellore bulls (396kg), allocated to 16 pens for 95 days. Treatments were: (1) control, (2) *Saccharomyces cerevisiae* Biosaf[®] SC47 (LEV), (3) *Saccharomyces cerevisiae* and probiotic bacteria mix at 1g /animal/day dose (PROB1) and (4) *Saccharomyces cerevisiae* probiotic bacteria mix at 3g/animal/day dose (PROB2). Rations contained 59% dried citrus pulp, 35% wet corn gluten feed and 5% Tifton 65 hay. Treatments didn't affect DMI, WDG and FE ($P > 0,05$). Rations net energy for maintenance and gain were also not affected by treatments ($P > 0,05$), well as carcass data. Trial 3 utilized 20 young Nellore bulls allocated to individual pens for 15 days (10 days for adaptation to marker and 5 days for data collection) to evaluate rations digestibility. Experimental ration was the same utilized on trial 2, with chromium oxide as an external marker. Treatments were (1) control, (2) sodium monensin Rumenfort[®] (MON1), (3) yeast culture *Saccharomyces cerevisiae* Biosaf[®] SC47 (LEV), (4) *Saccharomyces cerevisiae* and probiotic bacteria mix at 1g /animal/day dose (PROB1) and (5) *Saccharomyces cerevisiae* probiotic bacteria mix at 3g/animal/day dose (PROB2). Treatments did not affect rations DM, OM, NDF and CP digestibilities ($P > 0,05$). Results show that Nellore cattle, castrated or not, feedlot finished receiving rations with high levels of byproducts such as dried citrus pulp and wet corn gluten feed don't have higher performance nor better nutrients digestibility when supplemented with sodium monensin or probiotic microorganisms.

Keywords: *Saccharomyces cerevisiae*; *Lactobacillus acidophilus*; *Bifidobacterium bifidum*;
Animal performance; Carcass Characteristics; Digestibility; Finishing cattle

LISTA DE SIGLAS

AOL: área de olho de lombo
EA: eficiência alimentar
EE: extrato etéreo
EGS: espessura de gordura subcutânea
EL: energia líquida
Elm: energia líquida para manutenção
Elg: energia líquida para ganho
EM: energia metabolizável
FDA: fibra insolúvel em detergente ácido
FDN: fibra insolúvel em detergente neutro
FUG: farelo úmido de glúten de milho
GPD: ganho diário de peso
LA: *Lactobacillus acidophilus*
IMS: ingestão de matéria seca
MM: matéria mineral
MO: matéria orgânica
MS: matéria seca
PB: proteína bruta
PC: polpa cítrica
RC: rendimento de carcaça
SC: *Saccharomyces cerevisiae*

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, tem-se observado um avanço significativo da pecuária brasileira, particularmente nas exportações, fazendo com que o país ocupe um lugar de destaque no cenário mundial, permanecendo atualmente como o maior exportador de carne bovina. Nesse cenário, os sistemas de produção intensiva têm sido uma forma eficiente de maximização dos lucros, permitindo a multiplicação das unidades de confinamento de grande porte. Esse fato, somado ao aumento das safras de grãos ocorrido na última década, a maior disponibilidade de co-produtos agroindustriais e a melhoria no potencial genético dos animais, contribuiu para aumentar a viabilidade da utilização de rações com altos teores de concentrado que podem permitir, muitas vezes, maiores ganhos (SANTOS, 2004). Porém, a utilização de tais rações pode afetar negativamente a saúde ruminal, gerando um acúmulo excessivo dos produtos da fermentação ruminal, como o lactato, que poderiam causar distúrbios fermentativos como a acidose e o timpanismo, prejudicando o desempenho dos animais.

Torna-se, portanto, necessária a realização da manipulação da fermentação ruminal a qual, segundo Nagaraja (1997) possui como objetivos a melhoria dos processos benéficos no rúmen, como a degradação da fibra, e a diminuição ou eliminação dos processos prejudiciais, como a produção de metano e o excesso de lactato, mantendo assim o pH estável e contribuindo com a saúde ruminal. Para que tal saúde ruminal seja alcançada, possuímos diversas ferramentas, como a mistura uniforme da ração, o manejo de cocho adequado e a formulação correta da ração, incluindo assim a utilização dos aditivos. Segundo a definição de Loyola e Paule (2006), são substâncias ou mistura de substâncias adicionadas à ração com a finalidade de incrementar a produção animal e também melhorar a qualidade dos produtos de origem animal. Entre os aditivos utilizados na alimentação de ruminantes atualmente estão os antibióticos ionóforos e não-ionóforos, leveduras, probióticos, prebióticos e ácidos orgânicos.

Os ionóforos foram utilizados inicialmente como coccidiostáticos na avicultura, passando a ser utilizados também como promotores de crescimento para bovinos desde 1975. São produzidos por várias linhagens de *Streptomyces*, existindo mais de 120 diferentes ionóforos descritos, diferindo entre si pela especificidade por cátions. A monensina sódica é certamente a mais estudada e empregada, porém nos últimos anos sua utilização tem sofrido diversas restrições, principalmente pela União Européia, que através do Regulamento nº 1831/2003 determinou a proibição da utilização de antibióticos e coccidiostáticos como aditivos

alimentares para bovinos. Tal medida almeja prevenir os efeitos de uma possível relação entre o aumento da incidência de microorganismos resistentes aos antibióticos, observada na medicina humana, e a utilização destas substâncias nas rações animais (MARINO et al., 2008). A OMS (Organização Mundial da Saúde) também considera o uso de antibióticos na produção animal um risco crescente para a saúde humana. Perante tais restrições, tem crescido o interesse pela utilização de outros aditivos, surgindo então oportunidades para se pesquisar aditivos que ofereçam resultados semelhantes ao dos ionóforos, entretanto sem riscos à saúde humana.

Dentre inúmeras possibilidades existem alguns aditivos já utilizados na avicultura e suinocultura que se destacam como alternativas para substituição dos aditivos usuais para bovinos em confinamento. Trata-se da levedura *Saccharomyces cerevisiae* e da combinação de microorganismos probióticos (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecium*, *Bifidobacterium bifidum*) com a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Portanto, torna-se imprescindível a avaliação do desempenho de bovinos, sob regime de confinamento, alimentados com rações contendo tais aditivos.

Desta forma, a hipótese deste trabalho é a de que as leveduras e os microorganismos probióticos possam melhorar o desempenho de bovinos nelore alimentados com rações com altos teores de concentrados ricos em co-produtos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Utilização de aditivos alimentares em dietas para bovinos em terminação

2.1.1 Monensina sódica como aditivo alimentar

Data de 1950 o início da utilização de antibióticos na nutrição de ruminantes, sendo fornecidos em doses subterapêuticas diariamente, atuando como promotores de crescimento. Como as condições sanitárias da época eram muitos inferiores quando comparada com as atuais, os resultados foram extremamente positivos, gerando uma melhoria expressiva na eficiência alimentar dos animais. Porém, nas décadas seguintes, devido à possibilidade da indução da resistência aos seus princípios terapêuticos, como a penicilina e a tetraciclina, a utilização de tais antibióticos passou a ser uma preocupação constante, o que levou à redução de sua utilização.

Durante a década de 70, teve início a utilização de uma nova classe de antibióticos, os ionóforos. Resultantes da fermentação de vários tipos de actinomicetos, são produzidos principalmente por bactérias do gênero *Streptomyces* (REIS, 2006). Em 1971, foi aprovada a utilização do ionóforo monensina sódica para aves, com o objetivo de controle da coccidiose e em 1975, o Food and Drug Administration aprovou a sua utilização para bovinos confinados, como promotor de crescimento (McGUFFEY, 2001).

Atualmente, existem mais de 120 tipos diferentes, apesar de apenas a monensina, lasalocida, salinomicina e laidlomocina propionato serem aprovadas para uso em dietas de ruminantes (REIS, 2006). A utilização dos ionóforos já é consagrada na nutrição de ruminantes, principalmente em confinamentos, e os efeitos decorrentes de seu uso são bem relatados na literatura. A monensina sódica é a sua principal representante, sendo o íonoforo mais estudado e utilizado.

Extensas revisões sobre os ionóforos já foram realizadas; algumas descreveram seu modo de ação (BERGEN; BATES, 1984; SCHELLING, 1984; RUSSELL; STROBEL, 1989), outras o efeito da utilização de nutrientes (Spears, 1990), e ainda o desempenho dos animais terminados em confinamento (GOODRICH et al., 1984), e também de vacas leiteiras (McGUFFEY et al., 2001).

A monensina é um ionóforo antibiótico que é utilizado com o objetivo de aumentar o desempenho dos animais pela melhora da eficiência energética, principalmente, em função do

aumento da produção do ácido propiônico, da redução da relação acetato/propionato e diminuição da produção de metano, além da diminuição da produção de ácido láctico e redução nas perdas de aminoácidos que seriam potencialmente fermentados no rúmen (McGUFFEY et al., 2001).

2.1.1.1 Modo de ação da monensina sódica

Os agentes responsáveis pela fermentação ruminal são microorganismos unicelulares representados por bactérias, protozoários e fungos. Em termos quantitativos, 60-90% da massa microbiana ruminal é composta por bactérias, 10-40% por protozoários ciliados e o restante 5-10% por fungos (VAN SOEST, 1994). Segundo Kamra (2005), o ecossistema ruminal consiste principalmente de bactérias (10^{10} - 10^{11} células/mL), protozoários (10^4 - 10^6), fungos anaeróbicos (10^3 - 10^5 zoosporos/mL) e bacteriófagos (10^8 - 10^9 / mL).

As bactérias ruminais são agrupadas em função do substrato que fermentam e podem ser classificadas em fermentadoras de carboidratos estruturais, não-estruturais, proteolíticas, metanogênicas, lácticas e lipolíticas. Os protozoários auxiliam a fermentação por ingerirem partículas insolúveis e solúveis (grânulos de amido) no fluido ruminal, porém o processo digestivo é mais lento que o das bactérias. Possuem ainda atividade hemicelulolítica e celulolítica. Já os fungos colonizam as fibras presentes no rúmen com produção de grandes quantidades de celulasas e xilanasas de alta atividade (KOZLOSKI et al., 2002).

Todas as bactérias existentes, incluindo as bactérias ruminais, são classificadas em dois grandes grupos: Gram positivas e Gram negativas. De acordo com Russell e Strobel (1989), a diferença no modo de ação dos ionóforos entre os microorganismos se deve à diferença entre os envoltórios celulares das bactérias dos dois grupos. As Gram-negativas possuem uma parede celular e uma membrana externa de proteção com canais (orifícios que ligam o meio intracelular ao extracelular) com aproximadamente 600 Dalton. Já as bactérias Gram-positivas apresentam apenas uma membrana porosa, não seletiva, sendo portanto sensíveis a ação dos ionóforos.

Os diferentes ionóforos têm um modo de ação comum, com pequenas diferenças, como a especificidade por cátions e a capacidade de atingir determinadas concentrações ruminais (PRESSMAN, 1976).

Segundo McGuffey (2001), cada ionóforo é capaz de se ligar conforme seu tamanho com um cátion apropriado. A ligação formada, ionóforo-cátion se liga a bactéria e então se solubiliza na bicamada lipídica das membranas celulares. Uma vez solubilizada na membrana celular, o complexo cátion é trocado por um próton. Gradientes catiônicos e as relações de afinidade entre ionóforo e cátions levam aos resultados primários e mudanças iônicas secundárias.

O modelo desenvolvido por Russell e Strobel (1989) visa explicar os efeitos da utilização da monensina sódica sobre o desenvolvimento do *Streptococcus bovis*, uma bactéria ruminal gram-positiva. Primeiramente, a concentração de K^+ intracelular é muito superior à extracelular. Quando a monensina liga-se à membrana celular, a primeira reação que ocorre é a rápida saída de K^+ e uma entrada de H^+ na célula, provocada pela mudança no gradiente iônico externo. O H^+ acumulado no interior da célula ocasiona diminuição do pH. A célula responde a esta queda no pH com uma segunda reação, exportando H^+ para o meio exterior e permitindo a entrada de Na^+ para o interior da célula. Outra forma de exportar o H^+ é através do mecanismo de “bomba” próton ATPase.. Grande parte da energia produzida pela célula é utilizada pelas bombas de Na^+/K^+ e próton ATPase, na tentativa de manter o pH e o balanço iônico celular, de forma que com o passar do tempo, a célula se torne incapaz de manter seu metabolismo energético, diminuindo sua capacidade de crescimento e reprodução, e acaba morrendo ou assume um nicho microbiano sem expressão ruminal.

Nagaraja (1981) conduziu um experimento para avaliar a sensibilidade das bactérias Gram positivas, produtoras de lactato no rúmen (*Butyvirio fibrissolvens*, *Eubacterium cellulosolvens*, *E.ruminantium*, *Lachnospira multiparus*, *Lactobacillus ruminis*, *L. vitulinus*, *Ruminococcus albus*, *R. flavefaciens* e *Streptococcus bovis*) e das Gram Negativas, fermentadoras de lactato (*Anaerovibrio*, *Megasphaera*, *Selenomonas*) aos ionóforos monensina e lasalocida. A maioria das bactérias produtoras de lactato foram inibidas por ambos ionóforos, ao contrário das utilizadoras de lactato, que não foram sensíveis.

Outros microorganismos, além das bactérias, são afetados pelos ionóforos, como os fungos (ELLIOTT et al., 1987), e os protozoários (RICHARDSON et al., 1978; HABIB; LENG 1986).

Segundo Bergen e Bates (1984), os benefícios da ação biológica dos ionóforos aos bovinos são distribuídos em três áreas:

1. Aumento da eficiência do metabolismo energético das bactérias ruminais e (ou) do animal;
2. Aumento do metabolismo de nitrogênio das bactérias ruminais e (ou) do animal;
3. Diminuição das desordens digestivas resultantes da fermentação ruminal anormal.

2.1.1.2 Efeitos da utilização de monensina sódica no metabolismo energético e protéico de bovinos

Quanto aos efeitos sobre o metabolismo energético ruminal, o grande objetivo das pesquisas com ionóforos nas décadas de 70 e 80 eram as mudanças causadas na produção de AGV, devido à ênfase dada à utilização da energia nas dietas de bovinos em terminação (MCGUFFEY, 2001). Vários estudos, como os de Füller e Johnson (1981), Russell e Strobel (1989), Lana e Russell (1997), Hristove et al. (2001) e Guan et al. (2006) obtiveram resultados similares com a suplementação com ionóforos, em que a produção total de AGV não foi afetada, mas observou-se diminuição da relação acetato:propionato, uma vez que as bactérias produtoras de propionato e utilizadoras de lactato são favorecidas, e as produtoras de acetato, butirato, lactato e amônia são desfavorecidas.

Além do aumento da eficiência energética, também se atribui à utilização de ionóforos a melhoria da utilização de proteína pelo ruminante. Basicamente, tal benefício deve-se ao fato de as bactérias proteolíticas e fermentadoras de aminoácidos serem sensíveis aos ionóforos, o que diminui a concentração de N-amoniacal no fluído ruminal (RUSSELL, 1996). Segundo McGuffey (2001), o acúmulo de alfa-amino-nitrogênio e peptídeos sugere que a monensina gera uma maior inibição da deaminação do que da proteólise propriamente dita.

Desde meados da década de 70 o efeito dos ionóforos no metabolismo protéico já era relatado em vários estudos. Segundo revisão realizada por Scheling et al. (1984), experimentos de desempenho como os de Dartt et al. (1978) e McCarthy et al. (1979) já sugeriam que a inclusão de monensina poderia diminuir os requerimentos de proteína, e estudos in vitro e in vivo (VAN NEVEL; DEMEYER, 1977; POOS et al., 1979; CHALUPA, 1980) demonstraram que a monensina reduzia significativamente a degradação ruminal da proteína da dieta. Em tais estudos observou-se que uma maior proporção de proteína verdadeira pode escapar do rúmen, gerando um aumento na digestibilidade total do N e na proporção de N retido.

Tais observações estimularam outros pesquisadores na década de 80 a investigar as ações da monensina em bactérias que utilizavam proteína como substrato energético. As mudanças no metabolismo de N resultantes da adição de ionóforos não poderiam ser medidas quantitativamente com o conhecimento existente na época sobre a atividade das bactérias ruminais. A hipótese era a de que existissem linhagens desconhecidas de bactérias, que possuíam altas taxas de produção de amônia. Usando técnicas clássicas de isolamento, Russell et al. (1988) identificaram duas novas bactérias, *Peptostreptococcus spp.* e *Clostridium spp.*, que produziam de 18 a 39 vezes mais amônia do que outras espécies ruminais conhecidas. Ambas são gram-positivas e requerem aminoácidos como fonte de crescimento, sendo sensíveis à ação da monensina (MCGUFFEY et al., 2001).

Spears (1990) revisou sobre os efeitos da administração de ionóforos na digestão e absorção de nutrientes. Primeiramente, observou que a adição de monensina gerou um aumento médio de 2.0% na digestibilidade aparente de energia. Relatou que a digestibilidade da fibra em bovinos alimentados com alto teor de concentrado foi frequentemente aumentada (HORTON, 1980; HORTON et al., 1980; WEDEGAERTNER; JOHNSON, 1983). Segundo o autor, os resultados observados sugerem que o efeito dos ionóforos na digestibilidade da fibra parecem depender da fonte de fibra utilizada, assim como da composição da dieta. Ao sumarizar os efeitos dos ionóforos na digestibilidade aparente do nitrogênio em bovinos, observou aumentos de 3.5% em média. Quanto à digestibilidade total do amido no trato gastrointestinal, relatou que ela geralmente não foi afetada por ionóforos (MUNTIFERING et al., 1980, 1981; FERRELL et al., 1982; WEDEGAERTNER; JOHNSON, 1983). Apesar disso, a monensina reduziu a porcentagem de amido digerido no rúmen e aumentou a quantidade de amido digerido no intestino.

2.1.1.2.1 Efeitos na metanogênese

Porém, a ação dos ionóforos vai além das alterações nas proporções dos AGVs produzidos, pois eles parecem reduzir também a produção de metano no rúmen. Segundo Tedeschi et al. (2003), no ambiente ruminal ocorre produção de hidrogênio durante a fermentação anaeróbica da glicose, sendo o excesso desse hidrogênio eliminado primeiramente através da formação de metano por microorganismos metanogênicos do grupo Archea, que são normalmente encontradas no ecossistema ruminal (BAKER, 1999). Segundo Wolin (1960), o balanço estequiométrico de AGV, CO₂ e CH₄ indicam que a síntese de acetato e butirato promove a produção de CH₄, enquanto que a de propionato reduz o hidrogênio, portanto reduzindo a produção de metano. Os protozoários ciliados parecem também estar envolvidos na produção de metano, pois apresentam grande potencial para produção de hidrogênio, e a produção de metano é modulada principalmente pela presença de dióxido de carbono e hidrogênio livres no ambiente ruminal. Tal fato pode ser evidenciado pelo experimento realizado por Van Nevel e Demeyer, em 1977, em que se observou que a adição de gás hidrogênio aumentou a produção de metano em culturas mistas de microorganismos ruminais, mesmo com a adição da monensina.

Os microorganismos metanogênicos podem ser encontrados tanto aderidos aos protozoários quanto na fase intracelular destes (CHAGAN; USHIDA, 2004), indicando uma possível relação simbiótica em que eles, ao utilizarem o hidrogênio produzido pelos protozoários, favorecem a manutenção de um ambiente ruminal adequado.

Segundo Lana et al. (1998), a produção de gás metano pelas bactérias ruminais e intestinais (*Methanobrevibacter spp.* e *Methanomicrobium mobile*) corresponde a uma perda energética de até 13% em relação à energia do alimento ingerido.

Habib e Leng (1986) e Denis e Nagaraja (1986), realizaram experimentos in vitro e in vivo em que se observou que os protozoários eram sensíveis aos ionóforos monensina e lasalocida. Porém, experimento recente de Guan et al. (2006), demonstrou essa sensibilidade existe, mas não persiste a longo prazo. Nesse experimento, mediu-se os efeitos a curto e longo prazo dos ionóforos na emissão entérica de metano, durante 16 semanas, para bovinos alimentados com dietas com alto e baixo teor de concentrado, com a adição de monensina

durante todo o período experimental, ou a alternância de monensina e lasalocida durante o período experimental. Tanto a monensina como a alternância de monensina e lasalocida diminuíram a população de protozoários ciliados inicialmente, porém a população original foi restabelecida após a 4ª e 6ª semana (para alto e baixo concentrado, respectivamente), assim como a emissão de metano. Porém, a diminuição da relação acetato:propionato, assim como a concentração de N-amoniaco persistiu, tanto para as dietas de alto como para as de baixo concentrado. Segundo o autor, tais dados sugerem que os efeitos dos ionóforos estão relacionados com as populações de protozoários ciliados, e que tais populações podem se adaptar à presença dos ionóforos. Tais dados suportam outros experimentos *in vivo* anteriores (RUMPTER et al., 1986; CARMEAN; JOHNSON, 1990). Segundo Johnson e Johnson (1995), após curtos períodos de tempo (30 dias) os níveis da produção de metano retornam aos observados antes da administração de ionóforos, provavelmente devido à habilidade da microflora em se adaptar aos ionóforos. Rogers et al. (1997) também não observou adaptação dos protozoários aos ionóforos, quando estes foram administrados a longo prazo.

Hook et al. (2009) realizaram ensaio com 14 vacas em lactação e observaram, através das técnicas de PCR e desnaturação por eletroforese, que as bactérias metanogênicas não foram alteradas, tanto quantitativa quanto qualitativamente, com a adição de monensina a longo prazo.

Segundo Johnson e Johnson (1995), uma possível explicação para resultados tão contrastantes sobre os efeitos da administração de ionóforos na produção de metano seria a aplicação de diferentes metodologias para se avaliar a produção ruminal de gases. Tedeschi et al. (2003), sugerem que outra explicação seja a de que diferentes proporções de volumoso e concentrado presentes nas dietas possam alterar a produção de metano.

2.1.1.2.2 Efeitos no consumo dos animais

De acordo com Rodrigues (2000), Schelling (1984), em um extenso trabalho de revisão a respeito da monensina, afirmou que os ionóforos deprimem o consumo voluntário de alimentos em 10,7%, quando os animais são alimentados com dietas predominantemente concentradas, mas podem incrementar o consumo em até 15%, quando em condições de pastejo. Segundo Rogers e Davis (1982), a diminuição no consumo ocorre provavelmente devido ao aumento do tempo de retenção da matéria seca no rúmen, enquanto que há a possibilidade deste efeito ser devido à

ação do ácido propiônico como substância responsável pela regulação da saciedade em ruminantes, a semelhança do que ocorre com a glicose sanguínea, que regula o consumo de animais em monogástricos. Porém, tais sugestões não estão de acordo com Baile et al. (1979), que afirmaram que os ionóforos reduzem o consumo de alimentos em qualquer tipo de dieta, embora com maiores efeitos em dietas predominantemente concentradas. Segundo o autor, o sabor da monensina não é palatável para os ruminantes. Araújo-Febres e Fernández (1991) ao estudarem os efeitos da monensina em novilhos consumindo dietas com níveis de fibra bruto baixo (15%) e alto (26%), observaram que a monensina diminuiu a ingestão de matéria seca em ambas dietas, porém a queda foi maior para a ração com baixo nível de fibra (25,6% vs 11%). Por outro lado, Zinn, Plascencia e Barajas (1994) não observaram diminuição na ingestão de matéria seca de animais alimentados com dietas compostas por milho floculado a vapor, com 10 ou 20% de volumoso.

2.1.1.3 Efeitos da monesina sódica na prevenção de distúrbios da fermentação ruminal

Com o aumento do número de animais confinados observado nos últimos anos, é cada vez maior a ocorrência de desordens como a acidose ruminal. Devido ao fato de os ionóforos atuarem sobre as bactérias gram positivas, como já citado anteriormente, e tais bactérias estarem envolvidas na ocorrência dos distúrbios da fermentação ruminal, como a acidose e o timpanismo, a utilização dos ionóforos apresenta ainda o benefício de reduzir a incidência de tais desordens. Como a utilização de dietas com altíssimos teores de concentrado é cada vez maior, a ocorrência da acidose e do timpanismo é cada vez mais comum nos confinamentos. O processamento dos grãos, envolvendo altas temperaturas e pressão, a diminuição do tamanho das partículas e a utilização de grãos ensilados de alta umidade aumentam a disponibilidade do amido desses grãos, aumentando ainda mais o risco da ocorrência da acidose.

A etiologia da acidose ruminal e sistêmica foi descrita em excelentes revisões feitas por Elam (1976), Britton e Stock (1987), Huntington et al. (1988), Harmon (1996) e Owens (1998). Em todas elas, o fornecimento de dietas com altos teores de concentrado e o aumento das populações de bactérias produtoras de lactato estão associadas.

Segundo Nocek (1997), a síndrome da acidose láctica em bovinos é resultante de dietas com alto teor de carboidratos fermentáveis no rúmen, baixo teor de fibra efetiva na forragem, ou ambos. A síndrome envolve duas áreas anatômicas separadas, o trato gastrointestinal e os fluídos corporais, estando relacionada com a taxa e a extensão de produção do ácido láctico, assim como sua utilização e absorção. As manifestações clínicas vão de diminuição do apetite à morte.

O lactato normalmente está presente no trato digestivo, porém em baixas concentrações. Lactato apresenta maior pKa, sendo portanto mais forte do que os ácidos graxos voláteis comumente produzidos no rúmen (acetato, propionato, butirato, etc.), promovendo maior efeito na redução do pH ruminal (DAWSON et al., 1997, citado por MILLEN, 2008). Porém, quando o teor de carboidratos não-estruturais é aumentado abruptamente, o suprimento total de ácidos e a prevalência do lactato no rúmen aumentam, ocorrendo seu acúmulo. Segundo Owens (1998), a ação da amilase resulta em liberação de glicose no rúmen, e sua presença poderá gerar três efeitos: primeiramente, bactérias ruminais que normalmente não são competitivas podem crescer rapidamente com grandes quantidades de glicose disponíveis. Como exemplo, temos a *Streptococcus bovis*, que apresenta grande taxa de crescimento quando glicose livre está disponível. Em segundo, outros microorganismos oportunistas, incluindo coliformes e descarboxiladores de aminoácidos, podem também crescer (SLYTER; RUMSY, 1991; LEEDLE, 1993), gerando endotoxinas. Por último, a glicose livre pode aumentar a osmolaridade do conteúdo ruminal e se esse aumento for exagerado, poderá inibir a absorção de AGV. Como resultado, teremos altas concentrações de ácidos que, não sendo absorvidos, gerarão a queda do pH ruminal. Harmon et al. demonstrou que a infusão intraruminal de glicose diminui o pH a valores inferiores a 4,5, 14 horas depois.

O ácido láctico se acumula no rúmen quando a população de bactérias produtoras do ácido, como as *Streptococcus bovis*, torna-se maior do que a de utilizadoras, como *Selenomonas ruminantium*. Enquanto as primeiras são favorecidas pelo pH ruminal baixo, aumentando cada vez mais a quantidade de lactato produzido e acumulado no rúmen, as utilizadoras são desfavorecidas (Por exemplo, a *Megasphaera elsdenii* tem seu crescimento prejudicado a partir de pH abaixo de 6,5). Como o pH ruminal continua caindo, o crescimento da *Streptococcus bovis* também acaba sendo prejudicado, (abaixo de pH 5,3); entretanto, os lactobacilos ocupam esse

nicho e continuam a produzir ácido láctico, iniciando portanto o efeito espiral ou seja, o aumento do lactato com consequente diminuição do pH ruminal (RUSSELL; HINO, 1985).

As mudanças ruminais deflagram diversas mudanças sistêmicas. O aumento na concentração de ácidos orgânicos, particularmente ácido láctico, e a consequente queda no pH do meio resulta em diminuição da motilidade ruminal, ruminite e hiperqueratose (NOCEK; HEALD; POLAN, 1984). Mudanças na osmolaridade sanguínea levam ao enrijecimento dos membros inferiores e laminite (NOCEK, 1997), assim como lesões na parede do rúmen que podem ser mais tarde colonizadas por microrganismos patogênicos como *Fusobacterium necrophorum* ou *Actinomyces pyogenes*, ambos agentes etiológicos de abscessos de fígado (NAGARAJA; CHENGAPPA, 1998). Como consequência, a função hepática é prejudicada, o que limita o desempenho dos animais. A acidose dos ruminantes pode apresentar-se nas formas aguda (clínica) e crônica (subclínica). Redução no consumo de matéria seca e no desempenho são observados mais comumente na acidose subclínica (KOERS et al., 1976; OWENS et al., 1998). O diagnóstico da acidose depende da medição do pH ruminal e sanguíneo, sendo o limite para a crônica 5,6 e para a aguda, 5,2, ambos valores para o pH ruminal (COOPER; KLOPFENSTEIN, 1996).

Durante a acidose aguda, o fluxo de sangue para o trato gastrointestinal é diminuído, reduzindo portanto a absorção de ácidos orgânicos no rúmen (HUBER, 1971). A exposição prolongada do epitélio ruminal às altas concentrações de ácidos resulta em hiperqueratose e paraqueratose, o que pode reduzir a capacidade de absorção dos ácidos orgânicos, ocorrendo a queda do pH (NOCEK, 1997).

Estão envolvidos na acidose ruminal, além dos *Streptococcus bovis* e *Lactobacillus spp.* os coliformes, que podem ser responsáveis por choque anafilático e morte súbita, e os microorganismos que degradam aminoácidos, associados com a produção de tiramina e histamina, que estão envolvidos também com a ocorrência de laminite.

Segundo Owens (1998), duas práticas comuns de manejo para a prevenção da acidose são a diluição da dieta com volumoso ou a modulação da ingestão de amido. Aumentando-se a concentração de volumoso seco aumenta-se o tempo de ruminação, assim como a produção de saliva e, apesar do aumento da extensão da mastigação diminuir o tamanho das partículas presentes no rúmen e aumentar a sua taxa de fermentação, o aumento da concentração dos tampões presentes na saliva irão neutralizar os ácidos presentes no rúmen. Quando o pH ruminal

é mantido acima de 5,5, ocorre o equilíbrio entre os produtores e utilizadores de ácido láctico, fazendo com que ele não se acumule (NOCEK, 1997). Segundo Millen (2008), se bovinos são gradualmente adaptados a dietas com alto teor de concentrado, o acúmulo de ácido láctico é prevenido; no entanto, o pH ruminal poderá ainda permanecer baixo devido a maior produção de ácidos graxos voláteis (NAGARAJA, 2003). O pH de 5,5 é considerado por alguns autores (SLYTER, 1976; NAGARAJA, 2003) a barreira, abaixo da qual, bactérias produtoras de lactato como *Streptococcus bovis* e *Lactobacillus spp.* proliferam. Além da acidose, *Streptococcus* também estão relacionadas à ocorrência de timpanismo ruminal, pois causam o aumento da viscosidade do líquido ruminal, já que produzem mucopolissacarídeos, o que poderá resultar no aumento da viscosidade do líquido ruminal e formação de bolhas, características desse distúrbio (CHENG et al., 1998).

Segundo McGuffey (2001), os ionóforos amenizam a acidose através de dois mecanismos distintos: o primeiro é seu efeito nas bactérias produtoras de ácido láctico, como a *Streptococcus bovis*. O segundo mecanismo ocorre através de mudanças na dinâmica de consumo dos bovinos alimentados com ionóforos. Stock et al. (1995) avaliaram a adição de monensina em bovinos individualmente e observaram a redução da variação no consumo, especialmente quando havia 85% ou mais de concentrado na dieta.

Alguns autores, como Nagaraja (1997), sugerem que a ocorrência do timpanismo espumoso em bovinos com suplementação de monensina e lasalocida pode ser diminuída. Os ionóforos também têm demonstrado ação anti-coccídea (VAN AMBURGH, 1997), evitando problemas como diarreia, desidratação, perda de peso, perda de apetite e sinais neurológicos.

Os efeitos dos ionóforos na fermentação, como mudanças estequiométricas e aumento do fluxo de proteína microbiana, são de muitas maneiras consistentes com seus efeitos na população bacteriana (CHEN; WOLIN, 1979; NAGARAJA; TAYLOR, 1987; RUSSELL; STROBEL, 1989). Tem sido sugerido que alguns efeitos, incluindo mudanças na produção de propionato, possam ser devidos principalmente aos efeitos antifúngicos, mais do que os efeitos antibacterianos (ELLIOTT et al., 1987). Entretanto, alguma ambigüidade ainda existe a respeito dos efeitos antimicrobianos dos ionóforos, mesmo após quase 40 anos de sua introdução na nutrição de ruminantes. Além disso, ainda não são claros seus benefícios de origem pós-ruminal.

Na atual conjuntura de intensificação dos sistemas de produção de bovinos, é preciso cada vez mais efetuar pequenos ajustes para que se possa explorar ao máximo a eficiência dos animais, sem haver problemas de distúrbios como a acidose.

2.1.1.4 Restrições ao uso de ionóforos

A questão da segurança dos alimentos sempre foi uma preocupação constante entre os consumidores, porém se intensificou com fatos recentes ocorridos, como a encefalopatia espongiforme bovina, causada pela ingestão de produtos de origem animal por bovinos, e a contaminação de frangos com dioxina, contaminante considerado cancerígeno. Tal preocupação pode ser exemplificada pelo fato de a União Européia, adotando o princípio da precaução, proibir a utilização de antibióticos como promotores de crescimento para bovinos. A Dinamarca foi o primeiro país a adotar tal postura, em 1999.

Apesar de sua eficácia ser comprovada por inúmeros experimentos, sendo sua utilização já consagrada, a monensina nos últimos anos tem sofrido sérias restrições, principalmente pela União Européia. Alguns autores como Barton (2000), consideram seu uso controverso, devido ao seu potencial de seleção para organismos resistentes e seu subsequente risco à saúde humana. Por outro lado, segundo Russell e Houlihan (2003), pelo fato de os ionóforos não possuírem um modo de ação comum aos antibióticos usados na medicina humana, é improvável que contribuam com o aumento da resistência aos antibióticos.

De acordo com Donoho (1984), extensos estudos foram conduzidos com animais de laboratório para se determinar a concentração em tecidos, rotas de eliminação, metabolismo e farmacocinética da monensina, e tais estudos indicaram que, quando administrada oralmente, ela é absorvida, extensamente metabolizada, excretada na bile e eliminada nas fezes das várias espécies examinadas. Segundo o autor, não foi observado o acúmulo de monensina (menos de 05ppm) nos tecidos de bovinos e galinhas.

Callaway et al. (2003), realizou um estudo sobre a presença de *E. coli* O157:H7, causadora de quadros de diarreias agudas, muitas vezes acompanhadas de colite hemorrágica, na contaminação de carcaças bovinas. Segundo os autores, devido ao fato de bactérias patogênicas de interesse humano, como a *E. coli* e *Salmonella*, serem Gram-negativas e, portanto, insensíveis aos ionóforos, preocupações têm sido levantadas sobre a possibilidade de os ionóforos proporcionarem uma vantagem competitiva para as espécies gram-negativas, incluindo tais bactérias patogênicas. Porém, os autores relataram que experimentos *in vitro* e *in vivo*,

relatados por Wick et al. (2003), demonstraram que tal vantagem não ocorre no que diz respeito a *Salmonella* e *E. coli* em ruminantes.

Os ionóforos como a monensina e lasalocida são classificados pelo FDA (Foods and Drugs Administration) como antibióticos. Organizações com a NCBA (National Cattlemans Beef Association) americana fazem esforços para reclassificá-los como ionóforos, baseado no fato de que estes não têm função terapêutica quando usados nas dietas bovinos, e não são usados como agentes terapêuticos na medicina humana (MILLEN et al., 2008).

Mediante tais restrições, torna-se cada vez mais interessante a descoberta de aditivos alternativos aos ionóforos, assim como a realização de estudos com os aditivos já existentes, aumentando assim as opções existentes.

2.1.1.5 Resultados da utilização de monensina sódica

Quanto ao desempenho dos bovinos suplementados com monensina, Goodrich, em 1984, realizou uma extensa revisão, na qual compilou dados de 228 experimentos com monensina, que envolveram mais de 11.000 animais, com dose média de 246 mg de monensina/animal/dia. Descrevendo efeitos estatisticamente significativos para o aumento de ganho de peso diário, diminuição de consumo de alimento e aumento da eficiência alimentar, observaram que bovinos consumindo dietas com alta energia metabolizável apresentaram uma resposta maior à monensina do que bovinos consumindo dietas com energia metabolizável menor.

Segundo Reis et al. (2006), recomenda-se em média para bovinos confinados 33 ppm ou de monensina sódica como dose ótima para a obtenção da melhor resposta no desempenho (POTTER et al., 1976; WILKINSON et al., 1980; GOODRICH et al., 1984), na eficiência alimentar (POTTER et al., 1976), no padrão de fermentação ruminal (POTTER et al., 1976; RAUN et al., 1976), menor produção de metano (O'KELLY; SPIERS, 1992) e menor incidência de timpanismo (MAY, 1990).

Clary et al. (1993), observou os efeitos da suplementação com gordura e ionóforos em dietas para bovinos confinados em terminação, tendo o milho como fonte de concentrado. Os fatores avaliados foram nível de gordura (0 ou 4%) e tipo de ionóforo (ausente (N), lasalocida (L), monensina mais tilosina (MT), ou lasalocida e combinação de monensina e tilosina intercaladas diariamente (LMT); os tratamentos L, M e T continham 31,25 e 10 ppm dos

ionóforos, respectivamente. Foi observada interação entre a inclusão de gordura e os ionóforos quanto a IMS, GPD e EA. Quando comparado com as dietas sem gordura, as com 4% diminuíram a IMS dos bovinos alimentados com MT em 8.9%. Nas dietas sem gordura, MT aumentou o GPD e a EA, se comparado à ausência de ionóforo ou a lasalocida. Alternar os aditivos lasalocida com a combinação monensina e tilosina não melhorou a performance dos animais em comparação a administração individual de tais ionóforos. Paralelamente, foi realizado em ensaio metabólico para avaliar os potenciais mecanismos nas interações observadas nos experimentos de desempenho, utilizando-se os mesmos tratamentos, exceto o com LMT. A cinética da digesta ruminal não foi alterada através da adição de gordura ou ionóforos a dieta. Foi observada interação entre a gordura e os ionóforos para as proporções molares de acetato e propionato, havendo diminuição de acetato e aumento de propionato com a adição de ionóforos à dieta sem gordura. Entretanto, quando foi adicionado 4% de gordura, tanto a lasalocida quanto a combinação de monensina com tilosina não afetaram a produção de acetato ou propionato. Segundo os autores, tais resultados sugerem que a resposta de bovinos em terminação aos ionóforos pode ser alterada pela suplementação com gordura, resultando talvez em uma associação negativa entre esses aditivos com os produtos finais da fermentação ruminal.

Erickson et al. (2003) realizaram dois experimentos de desempenho e um ensaio metabólico com objetivo de avaliar a interação entre o manejo de cocho e a concentração de monensina sobre o desempenho, comportamento alimentar e metabolismo ruminal de bovinos confinados. Foram utilizados 1.793 animais no primeiro experimento e 1.615 no segundo, sendo avaliados três tratamentos: 1) manejo de cocho *ad libitum* com 28.6 mg/kg de monensina ou manejo de cocho sem sobra com 2) 28,6 ou 3) 36,3 mg/kg de monensina. No primeiro experimento, o manejo de cocho e a concentração de monensina não afetaram o desempenho dos animais. No segundo, os bovinos alimentados *ad libitum* apresentaram maiores IMS e GPD, mas a eficiência alimentar foi similar aos manejados sem sobras no cocho. A concentração de monensina não afetou o desempenho dos bovinos em ambos experimentos. No ensaio de metabolismo, os autores observaram que a monensina, indiferente da concentração utilizada, aumentou o número de refeições e diminuiu a taxa de consumo (%/hora). O tamanho das refeições e as variações no pH ruminal foram menores para os bovinos alimentados com monensina em relação aos bovinos alimentados sem sobras no cocho. Entretanto, não se observou efeito na adição de monensina para bovinos alimentados *ad libitum*.

Oliveira (2003), em experimento conduzido com 36 bovinos nelore castrados, testou os ionóforos monensina sódica (44mg/MS concentrado) e lasalocida sódica (44 mg/ MS concentrado). Foi observada diminuição na ingestão de matéria seca nos bovinos alimentados com monensina, porém não se observou diferenças significativas quanto ao ganho médio diário dos animais e eficiência alimentar.

Segundo Guan et al. (2006), tanto a monensina quanto a alternância de monensina e lasalocida não influenciaram a IMS, GPD e EA de bovinos recebendo dietas com baixo teor de concentrado, o que foi consistente com outros estudos (STOCK et al., 1990; ZINN et al., 1994). Entretanto, para animais recebendo dietas com alto teor de concentrado, tanto a monensina quanto a alternância de monensina e lasalocida diminuíram a IMS e aumentaram a EA, sem efeito sobre o GPD. Como previamente relatado por Russell e Strobel, (1989), o aumento da eficiência alimentar com a suplementação com íonóforos em dietas com alto teor de concentrado está relacionado com a redução da ingestão de matéria seca.

Depenbusch et al. (2008) avaliaram a eficácia da monensina e da tilosina em dietas para bovinos de terminação baseadas em milho floculado a vapor (MFV) com ou sem resíduo úmido de destilaria (WDGS). Foram utilizados 371 bovinos com peso inicial de 299 kg, sendo testadas dietas compostas por MFV ou MFV e 25% de WDGS, com ou sem antibióticos (0, 300 mg de monensina/dia ou 300 mg de monensina + 90 mg de tilosina/dia). Não se observou diferença quanto a IMS entre os tratamentos, sendo o GPD dos animais alimentados com a dieta com apenas MFV superior ao dos alimentados com a combinação de MFV e WDGS. Tanto nas dietas com MFV quanto nas com MFV e WDGS, a adição de monensina não resultou em diferenças significativas quanto a IMS, GPD e EA.

Barducci et al. (2009), testando o efeito da adição de anticorpos policlonais e monensina sódica em bovinos confinados, alimentados com dieta contendo 72% de concentrado, observou que a adição de monensina resultou num melhor GPD dos animais, assim como numa melhoria da eficiência alimentar, apesar de não ter sido observada uma menor IMS pelos animais. A adição de anticorpos policlonais, entretanto, não gerou a melhoria de nenhum dos parâmetros avaliados.

As interações entre o tipo de grão (sorgo, milho ou trigo), nível de volumoso e nível de monensina foram estudadas por Spears et al. (1990) em quatro experimentos de confinamento,

utilizando novilhos cruzados. No primeiro experimento, os bovinos alimentados com milho de alta umidade foram mais eficientes (0,1537 vs 0,1406) do que os bovinos alimentados com sorgo laminado. À medida que o nível de volumoso foi aumentando (0, 3, 6 e 9%), a eficiência alimentar diminuiu linearmente (0,1566, 0,1461, 0,1479, 0,1382). No segundo experimento, avaliaram-se os efeitos do tipo de grão (sorgo laminado, milho laminado e trigo laminado) e da interação com nível de volumoso sobre o ganho de peso diário e a eficiência alimentar. A EA foi diminuída quando o volumoso foi adicionado às dietas contendo milho laminado (0,1608 vs 0,1750) ou sorgo laminado (0,1674 vs 0,1465), mas não na dieta contendo trigo laminado (0,1664 vs 0,1607). No terceiro experimento testou-se a interação do tipo de grão x nível de volumoso x nível de monensina em relação à eficiência alimentar. A adição de 27.5 mg de monensina / kg de MS da dieta com milho laminado e 0% de volumoso tendeu a aumentar a EA (0,1633 vs 0, 1531), mas a adição de ionóforo à dieta com milho laminado e 7.5% de volumoso tendeu a deprimir a EA (0,1476 vs 0,1575). A adição tanto da forragem (0,1493 vs 0,1420) como de monensina (0,1500 vs 0,1413) a dieta com trigo laminado aumentou a EA. No quarto experimento, bovinos alimentados com uma combinação de 75% de trigo laminado e 25% de milho laminado foram mais eficientes (0,1618 vs 0,1591) quando comparados a bovinos alimentados com milho laminado. Conforme aumentou o nível de volumoso (0, 3,75, 7,5%), a eficiência alimentar diminuiu linearmente (0,1645, 0,1599, 0,1569). Assim, segundo os autores, o resultado da adição de volumoso e monensina foi variável entre os tipos de grãos e com tipos de grãos semelhantes.

Marino et al. (2008) conduziram ensaio metabólico com nove fêmeas canuladas no rúmen para avaliar o efeito do preparado de anticorpos policlonais (PAP) contra *Streptococcus bovis*, *Fusobacterium necrophorum*, *Clostridium aminophilum*, *Peptostreptococcus anaerobius* e *Clostridium sticklandii*, microorganismos altamente patogênicos. O PAP apresentou capacidade semelhante à da monensina de elevar o pH ruminal dos bovinos alimentados com dietas com alto teor de concentrado, entretanto não foi tão eficaz quanto a monensina em reduzir o tempo em que o pH ruminal permaneceu abaixo de 6,0. Não houve efeito sobre IMS, concentração total de AGV e nitrogênio amoniacal. Millen et al. (2008), testaram anticorpos policlonais contra os microorganismos ruminais *S.bovis* e *F.necrophorum* e várias cepas de bactérias proteolíticas avaliando o desempenho de bovinos jovens confinados e incidências de paraqueratose ruminal e abscessos hepáticos. Utilizando como aditivos a monensina sódica (30 mg/kg MS) e os anticorpos

policlonais (10 ml/bovino/dia) em dietas com níveis crescentes de concentrado (73, 82 e 85%), foi observado que os animais suplementados com anticorpos policlonais apresentaram ingestão de matéria seca, ganho de peso diário e conversão alimentar semelhantes aos suplementados com monensina, apresentaram menor incidência de paraqueratose ruminal. Assim, os autores concluíram que os anticorpos policlonais podem ser eventuais substitutos da monensina sódica.

Barducci et al.(2009), avaliaram os efeitos do preparado de anticorpos policlonais e da monensina sobre o desempenho de bovinos alimentados com dietas com alto teor de concentrado. Não foram observadas diferenças significativas para nenhum dos parâmetros avaliados (peso final, GPD, EA, IMS) nos animais do tratamento com PAP. Entretanto, os animais do tratamento com monensina apresentaram maiores pesos finais, GDP e EA, quando comparados aos do tratamento controle.

2.1.2 Microorganismos probióticos como aditivo alimentar

Há vários anos nutricionistas e microbiologistas têm amplo interesse na manipulação do ecossistema ruminal, com o objetivo de aumentar a eficiência de produção dos ruminantes domésticos. Uma das maneiras existentes de se realizar tal manipulação com sucesso é através do balanceamento adequado da dieta dos animais, principalmente em relação a energia e proteína, além de vitaminas e minerais. Com o aumento do potencial produtivo dos rebanhos, torna-se cada vez mais importante a utilização correta de aditivos alimentares, dentre eles, os aditivos microbianos, ou DFMs, que surgem como uma opção bastante promissora.

O termo DFM (direct-fed microbials) é definido pelo FDA (Foods and Drugs Administration) americano como “fonte natural de microorganismos vivos (viáveis)”. Por solicitação do FDA, os fabricantes de tais aditivos passaram a usar a denominação DFM em substituição ao termo probiótico. Os DFMs incluem bactérias, fungos e leveduras. Yoon e Stern (1995) caracterizaram os DFMs como culturas microbianas viáveis, extratos de culturas, preparações enzimáticas ou suas várias combinações. Sendo assim, se enquadram na categoria de DFMs as leveduras, como a *Saccharomyces cerevisiae* e as bactérias probióticas, como *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium bifidum*, entre outras.

2.1.2.1 Levedura *Saccharomyces cerevisiae* como aditivo alimentar

Dentre as leveduras, o gênero *Saccharomyces* é utilizado desde a antiguidade na alimentação humana, sendo a espécie *Saccharomyces cerevisiae* tradicionalmente empregada na fermentação do álcool e do açúcar. As destilarias de álcool e as fábricas de cerveja são basicamente as fornecedoras de leveduras empregadas na nutrição animal, que são utilizadas na fermentação alcoólica do melaço, sendo recuperadas através de um processo de centrifugação, passando a serem denominadas de leveduras de recuperação. Após estarem secas e moídas, são então destinadas à suplementação dos animais (BERTO, 1985). Muitas vezes as leveduras são também chamadas de culturas de leveduras, pois os produtos com leveduras são fornecidos como misturas de células de leveduras vivas e mortas, juntamente com o meio em que as leveduras foram cultivadas, ou destilados solúveis secos, sendo tais meios considerados importantes na atividade das leveduras (WALLACE; NEWBOLD, 1995).

Na nutrição animal, elas foram inicialmente utilizadas como fontes protéicas para monogástricos, mais precisamente suínos, sendo fornecidas em grandes quantidades. Segundo Yousri (1982), as leveduras reúnem características favoráveis, como proteínas de alta qualidade (45 a 55%), carboidratos, lipídeos e vitaminas do complexo B, além de aminoácidos. Na nutrição de ruminantes, foram inicialmente utilizadas em dietas de bovinos leiteiros, sendo que já em 1925 Eckles e Williams publicaram um artigo sobre a sua utilização como alimento suplementar para vacas em lactação, sendo que posteriormente Beeson e Perry (1952) e Renz (1954) relataram aumentos expressivos, em ganho de peso e produção de leite, respectivamente. Entretanto, os resultados foram variáveis em muitos outros estudos, relatando pouco ou nenhum aumento na produção (NORTON, 1945; RENZ; KOCH, 1956; LASSITER et al., 1958; WALLACE; NEWBOLD, 1995).

Apesar da quantidade considerável de estudos realizados, os efeitos das leveduras na fermentação ruminal e no desempenho dos animais, assim como seu mecanismo de ação, não está tão evidente, quando comparado ao de outros aditivos, como os ionóforos.

2.1.2.1.1 Modo de ação da *Saccharomyces cerevisiae*

Apesar de as leveduras ocorrerem naturalmente no ecossistema microbiano do rúmen, como Lund (1974) demonstrou através da identificação de nove espécies diferentes de leveduras, a *Saccharomyces* não está entre elas, fato demonstrado por Arambel e Tung (1987), que em

condições *in vitro* observaram que tanto a temperatura quanto a composição química do fluido ruminal tendem a inibir seu crescimento. As condições ótimas para seu crescimento incluem pH de aproximadamente 4,5. Como o pH ruminal é bem superior, ela apresenta uma taxa de crescimento baixa, ocorrendo lise celular, com secreção de compostos químicos como nucleotídeos, aminoácidos e enzimas (NICODEMO, 2001). Dawson (1987) obtiveram dados de experimentos *in vitro* em que *Saccharomyces cerevisiae* poderia crescer no rúmen, sendo que Harrison et al. (1988) observaram aumento no número de leveduras de $2,5 \times 10^5$ para $4,7 \times 10^5$ /ml quatro horas após a alimentação em vacas recebendo cultura de leveduras. Em ovelhas, foi relatado aumento de $1,5 \times 10^3$ para $3,3 \times 10^5$ após uma hora (Newbold et al., 1990). Porém, tais aumentos parecem ocorrer apenas poucas horas após a alimentação, não persistindo. Como consequência, torna-se necessária a sua suplementação contínua, já que a *Sacharomyces* não se multiplica expressivamente no rúmen.

Basicamente, o principal efeito da adição de culturas de leveduras em dietas de ruminantes seria uma maior estabilidade do pH ruminal, o que favoreceria as bactérias anaeróbicas em geral e as celulolíticas em particular, com consequente melhoria da degradação da fibra presente na dieta. Datam da década de 80 (Wiedmeier, 1987) os primeiros relatos sobre o aumento do número de bactérias celulolíticas com a suplementação com *Saccharomyces cerevisiae*, concordando com as observações posteriores de Harrison et al. (1988) e Dawson et al. (1990) que, em um ensaio metabólico, observaram que bovinos suplementados apresentaram aumentos expressivos (de 5 a 40 vezes) de bactérias celulolíticas, quando comparados aos não-suplementados com leveduras. O mecanismo de ação que resulta em tal efeito ainda não está totalmente esclarecido, apesar das inúmeras revisões já realizadas (ROSE, 1987; MARTIN; NISBET, 1992; WALLACE; NEWBOLD, 1992; DAWSON, 1993; NEWBOLD; WALLACE, 1996). Atualmente existem duas hipóteses relevantes, sendo a primeira a de que a ação principal das leveduras seria o consumo do oxigênio presente no ambiente ruminal, o que protegeria as bactérias anaeróbicas dos danos causados pela presença do oxigênio. Apesar do rúmen ser um ambiente anaeróbico, o oxigênio pode ser introduzido através da ingestão de água e alimentos e também pela ruminação. Segundo Rose (1987), a principal ação das leveduras seria o consumo do oxigênio do ambiente ruminal, o que resultaria no favorecimento principalmente das bactérias estritamente anaeróbicas, em especial as bactérias celulolíticas. Segundo Roger et al. (1990), o

oxigênio dificulta a adesão das bactérias celulolíticas à celulose, prejudicando a degradação da fibra.

Numa tentativa de comprovar tal hipótese, Newbold et al. (1993) realizou ensaio com diferentes linhagens de leveduras e leveduras mutantes, que apresentavam respiração deficiente. Observou que a capacidade de estimulação das bactérias anaeróbicas depende da atividade respiratória das leveduras, já que as mutantes com respiração deficiente não foram hábeis em realizar tal estimulação. Newbold et al. (1995) realizaram um experimento com diferentes linhagens de levedura (*Saccharomyces cerevisiae* NCYC 240, NCYC 1026 e Yea-Saac), as quais já tinham demonstrado anteriormente possuir diferentes habilidades em aumentar a contagem total de bactérias ruminais. Elas foram adicionadas ao fluído ruminal *in vitro* em 1.3mg/ml, e aumentaram de 46 a 89% a taxa de desaparecimento do oxigênio. Tal estimulação parece ocorrer apenas com culturas de leveduras vivas. Dawson et al. (1990) relataram que, quando submetidas a temperatura de 121°C por 15 minutos em autoclave, as células das leveduras são inativadas, não alterando as concentrações de bactérias celulolíticas nas culturas. Resultados semelhantes foram obtidos por El Hassan, 1993, também após realizar o processo com autoclave; porém, no mesmo estudo, o autor relatou resultados diferentes quando as leveduras passaram por processo de irradiação, relatando que mesmo não se reproduzindo, ainda eram capazes de estimular as atividades microbianas no rúmen. Segundo Denev et al. (2007), esses estudos sugerem que a atividade metabólica, e não a reprodução (multiplicação) ativa, é parte integral do processo que gera o benefício da suplementação com leveduras. Apesar de tais resultados poderem parecer um tanto óbvios, comprovaram que apenas as leveduras vivas atuam no ambiente ruminal, e que seu mecanismo de ação está intimamente relacionado com sua respiração.

Os valores relatados para a captação de oxigênio pela *Saccharomyces cerevisiae* de 200-300 $\mu\text{mol/min}$ por g, por Barford e Hall (1979), sugerem que a levedura possui capacidade de utilização de oxigênio muito superior à quantidade de oxigênio presente no fluído ruminal. Portanto, pode exercer efeitos mesmo com pequenas inclusões. Está pouco claro na literatura o quanto a atividade respiratória varia entre as diferentes linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* (NEWBOLD; WALLACE, 1996).

A segunda hipótese considerada é a de que a suplementação com leveduras diminuiria a concentração de lactato no fluído ruminal. Apesar do ácido láctico não ser utilizado como

substrato pelas *Sacharomyces cerevisiae* para seu crescimento (Panchal et al., 1984), pode ocorrer redução em sua concentração devido ao fato de as leveduras fornecerem nutrientes, como o ácido málico e outros ácidos dicarboxílicos, que estimulariam o crescimento de algumas bactérias ruminais, em especial as fermentadoras de lactato, gerando uma diminuição da concentração desse ácido no fluído ruminal, tornando o ambiente ruminal mais estável, proporcionando às bactérias celulolíticas uma melhor condição para a degradação da fibra presente na dieta.

Resultados observados por Williams e Newbold (1990), em um experimento em que bovinos alimentados com dietas com cevada laminada e feno, sugerem que a adição de culturas de leveduras poderiam atenuar a redução do pH ruminal, através da estimulação da utilização de lactato pelos microorganismos ruminais, como a *Selenomonas ruminantium*, bactéria Gram-negativa de grande importância no ecossistema ruminal, fermentadora de lactato. Apesar de sua importância, pouco se sabe sobre os fatores que influenciam a captação de lactato. Nisbet e Martin (1991) reportaram a habilidade da *Saccharomyces cerevisiae* em estimular o crescimento da *Selenomonas ruminantium*, sugerindo que a primeira fornece fatores de crescimento, como vitaminas do complexo B e aminoácidos, possivelmente limitantes para o crescimento da segunda, estimulando assim a utilização do lactato. Segundo os autores, ocorre uma melhor utilização do ácido láctico e, conseqüentemente, uma maior produção de propionato. Callaway e Martin (1997) estudaram o crescimento *in vitro* das bactérias *Selenomonas ruminantium* H18, *Megasphaera elsdenii* B159 e T81, *Fibrobacter succinogenes* S85 e *Ruminococcus albus* B199 em culturas suplementadas com filtrados de leveduras, observando aumento no crescimento das bactérias *Selenomonas ruminantium* e *Megasphaera elsdenii* na presença de lactato, e também aumento da degradação inicial da celulose nas primeiras 24 horas de incubação, pelas bactérias como *Fibrobacter succinogenes*. Chaucheyras et al. (1995) relataram que ao fornecer aminoácidos e vitaminas para as bactérias *Megasphaera elsdenii*, as *Saccharomyces cerevisiae* estimularam a captação do ácido láctico, aumentando sua capacidade de competição pela glicose com a *Streptococcus bovis*, prevenindo então o acúmulo de ácido láctico.

Williams et al. (1991) observou redução na concentração de oligossacarídeos, incluindo hexoses como maltose e maltotriose, no líquido ruminal na presença de *Saccharomyces cerevisiae*. Segundo Panchal et al. (1984), esses oligossacarídeos entram na célula das leveduras e são convertidos em glicose, atuando como substrato para seu crescimento (PANCHAL et al.,

1984). Conseqüentemente, ocorreria uma redução na concentração desses açúcares, o que causaria uma queda do lactato, que geralmente aumenta quando açúcares e outros alimentos rapidamente fermentáveis são digeridos no rúmen (HUNGATE, 1966).

Newbold et al. (1995) testaram esta segunda hipótese através da comparação dos efeitos da levedura e ácido málico sobre a fermentação ruminal em ovinos. Os ovinos foram suplementados com 4 g de *Sacharomyces cerevisiae* NCYC 240 ou 100 mg ácido málico, diariamente. Enquanto observou-se aumento da contagem total de bactérias ruminais com a adição da levedura, não houve mudanças com a adição do ácido málico. Assim, os autores sugeriram que a estimulação das bactérias ruminais pelas leveduras é, ao menos parcialmente, dependente de sua atividade respiratória, como proposto originalmente por Rose (1987). Observou-se efeito benéfico da adição de ácido málico na fermentação ruminal (KUNG et al, 1982; MARTIN; STREETER, 1995), porém as quantidades suplementadas eram bem maiores.

De acordo com Wallace e Newbold (1996), a mensuração de alguns parâmetros ruminais, como o pH, AGV e concentração de amônia do fluído ruminal, muitas vezes ajuda a compreender os efeitos de diferentes manipulações de dietas na nutrição de ruminantes. Porém, com os aditivos fúngicos, como a levedura, com exceção do pH ruminal, as tendências podem ser discernidas, mostrando muito pouco de como as culturas de leveduras atuam. Talvez haja tal discrepância devido ao fato de não haver uniformidade entre os estudos, com a utilização de diferentes linhagens de leveduras, quantidades, e dietas muito contrastantes.

De acordo com Wiedmeier et al. (1987), grãos de cereais adicionados à dieta de ruminantes proporcionam aumento da densidade energética e melhoram o desempenho animal, porém resultam em efeitos negativos sobre a digestão de carboidratos estruturais, resultando na diminuição do número de bactérias celulolíticas, em decorrência do abaixamento do pH ruminal. Segundo Stewart (1977), o pH é um dos pontos cruciais para a determinação da função ruminal, em particular para as bactérias celulolíticas, que param de crescer em pHs inferiores a 6.0. Tal queda do pH é resultante de altas quantidades de concentrado na dieta, típicas de confinamento, podendo gerar efeitos negativos na degradabilidade dos compostos fibrosos da dieta. Sendo assim, o aumento do pH ruminal pela adição de leveduras poderia gerar benefícios ao ambiente ruminal, em particular às bactérias celulolíticas.

Williams et al. (1991), realizaram experimento com novilhos alimentados com dietas contendo 50% volumoso e 50% concentrado, e observaram aumento do pH ruminal por 4 horas

após a alimentação, sugerindo que tal aumento ocorreu devido à redução na concentração de L-lactato no fluído ruminal. Observaram também redução na proporção de acetato:propionato nos animais que receberam culturas de leveduras.

Doreau e Jouany (1998) e Chevayx e Fabre (2007) observaram que a suplementação com leveduras reduziu as flutuações diárias do pH ruminal, resultando numa maior estabilidade ao longo do dia.

Diversos trabalhos, como os de Adams et al. (1981), Wiedmeier et al. (1987); Fumholtz (1989); Oellermann et al. (1990); Dawson et al. (1990); Fiems et al. (1993) relataram aumentos discretos no pH ruminal com a adição de aditivos fúngicos às dietas. Greene (2002), trabalhando com novilhos alimentados com dieta contendo 90% de concentrado, observou aumento significativo no pH ruminal (5,8 controle vs 6,5 levedura) com a adição de levedura. Porém, Arambel et al. (1990); Chademana e Offer (1990); Quigley et al. (1992); Piva et al. (1993); Sievert e Shaver (1993); Zanetti et al. (2009) não observaram nenhuma diferença no pH ruminal, e ainda Harrison et al. (1988); Edwards et al. (1990) chegaram até mesmo a observar queda do pH ruminal com a suplementação com leveduras.

Quanto a alteração da fermentação ruminal pelas leveduras, Adams et al. (1981) observaram um pequeno efeito com a adição de *Saccharomyces cerevisiae* na concentração de amônia, AGV e na digestão da fibra. Entretanto, Miller-Webster (2002), conduzindo um estudo com culturas contínuas, observaram que as culturas de leveduras aumentaram a digestão de matéria seca, produção de ácido propiônico e a digestão de proteína, contribuindo com menos proteína bypass do que o tratamento controle. Enquanto Erasmus et al. (1992) observou uma tendência de aumentar a síntese de proteína microbiana em vacas leiteiras, alterando significativamente o perfil de aminoácidos da digesta duodenal, sendo que McLeod et al. (1990) e Hassan (1996) não encontraram diferenças na síntese de proteína microbiana.

Existem diversas evidências de que a suplementação com leveduras pode afetar benéficamente o metabolismo de nitrogênio no rúmen, resultando em menor concentração de amônia e aumento no número de microorganismos (DAWSON, 2002). Tais mudanças refletem num aumento do fluxo de nitrogênio bacteriano para o intestino delgado (ERASMUS et al., 1992). Segundo Denev (2007), o aumento do fluxo de proteína microbiana sugere um importante papel das leveduras em estimular o crescimento microbiano no rúmen, tanto em bovinos de corte como em de leite.

Dawson (1987) e Williams e Newbold (1990) relataram a influência positiva da levedura na captação de amônia, o que, segundo os autores, poderia aumentar a síntese e/ou a eficiência, microbiana, ocorrendo portanto um aumento do suprimento de aminoácidos pós-ruminais, com efeito positivo sobre o desempenho. Em outros estudos (WIEDMEIER et al., 1987; CARRO et al., 1992; HESSION et al., 1992) não foi observada redução na concentração de amônia no rúmen. Vários estudos têm examinado os efeitos dos suplementos de levedura nas concentrações de amônia no rúmen. Entretanto, os resultados têm sido extremamente variáveis, podendo ser resultado das diferenças das dietas ou dos níveis de ingestão, ou podem ser devido a variações nos suplementos utilizados (DAWSON et al., 1990).

Possíveis mecanismos de ação para as leveduras foram propostos por diversos autores, através de suas observações. Tais mecanismos foram sumarizados por Wallace (1994), que propôs um esquema em que a remoção de oxigênio do ambiente ruminal pela *Saccharomyces cerevisiae* tem um papel fundamental no aumento da viabilidade bacteriana. Com isso, ocorre um aumento na ingestão de alimentos, gerada por uma melhor taxa de degradação da fibra e também, por um melhor fluxo de nitrogênio absorvível para o duodeno. Isso resulta em uma população microbiana mais ativa, já que a suplementação com as leveduras aumenta a quantidade de bactérias anaeróbicas no fluido ruminal, especialmente as bactérias celulolíticas, além de aumentar a utilização de lactato por bactérias como a *Selenomas ruminantium*. Como consequência, ocorre o aumento da eficiência de produção pelo animal.

Lila et al. (2004), observou aumento do número de bactérias totais viáveis e bactérias celulolíticas, concordando com os resultados obtidos por Newbold et al. (1995), tanto em estudos in vitro como in vivo, e sugeriu que tal aumento seria um dos efeitos mais consistentes em animais alimentados com *Saccharomyces cerevisiae*, sendo sua ação central no rúmen, que levaria ao aumento da população bacteriana, com consequente aumento tanto da degradação da fibra no rúmen como do fluxo de proteína microbiana do rúmen.

Em muitos trabalhos em que foram reportados resultados positivos com a suplementação com aditivos fúngicos, como os de Adams et al. (1981); Van Horn et al. (1984); Malcolm e Kiesling (1986); Harris e Lobo (1988); Edwards et al. (1990); Gómez-Alarcon et al. (1990); Williams et al. (1991), observou-se que ocorre um aumento maior na ingestão de matéria seca do que na eficiência alimentar propriamente dita. Segundo Williams e Newbold (1990), os cálculos de aumento da ingestão em bovinos leiteiros correspondem bem com os efeitos observados na

produtividade. Sendo assim, os efeitos dos aditivos fúngicos podem ser considerados como conseqüentes do aumento do consumo. Muitos fatores são conhecidos por influenciar o consumo. Segundo Wallace e Newbold (1996), os que têm sido considerados para culturas de leveduras em ruminantes são a palatabilidade, taxa de digestão da fibra (portanto afetando diretamente o preenchimento do intestino) e taxa de passagem. Martin e Nisbet (1991) e Wallace e Newbold (1992), julgam que o aumento no consumo de alimento é impulsionado em parte pelo aumento da taxa (mas normalmente não da extensão) da degradação da fibra. Entretanto, Rose (1987), sugeriu que o aumento na ingestão de matéria seca ocorreria devido à produção de ácido glutâmico pelas leveduras, que melhoraria o sabor dos alimentos, uma vez que produtos fermentados são muitas vezes utilizados como flavorizantes. Como Williams et al. (1985) sugeriu que o baixo pH ruminal de dietas com altos teores de carboidratos rapidamente fermentáveis seja um fator limitante de apetite, estando o pH baixo relacionado com altos níveis de ácido láctico no rúmen, a melhoria do ambiente ruminal gerado pelas leveduras poderia então estimular o apetite dos animais. Concordando com tais sugestões, Fallon e Harte (1987) e Hughes (1988) relatam que o efeito benéfico da *Saccharomyces cerevisiae* em aumentar a IMS de bovinos possa estar relacionado com a modulação do pH ruminal através de reduções nas concentrações de ácido láctico. Segundo Wallace (1994), o uso de culturas dos fungos *Saccharomyces cerevisiae* pode melhorar o ganho de peso e a produção de leite com intensidade semelhante aos ionóforos (7,0% - 8,0%), decorrentes do aumento na ingestão de matéria seca.

Ao promover uma maior degradação da fibra da dieta, que resultaria em um pH mais estável, as *Saccharomyces cerevisiae* poderiam diminuir a incidência de distúrbios metabólicos como a acidose e o timpanismo, comuns em bovinos confinados alimentados com dietas ricas em concentrado. Moya et al. (2009) avaliou os efeitos da suplementação com leveduras sobre a fermentação ruminal em 12 novilhas holandesas fistuladas, que foram submetidas a uma mudança brusca de dieta, a fim de induzir a ocorrência de distúrbios digestivos. O experimento consistiu de 2 períodos de 5 semanas, sendo que em cada período, após 3 semanas de adaptação a uma dieta com 100% de forragem, as quantidades de grãos da dieta eram aumentadas em 2,5 kg MS/dia durante um período de quatro dias, até que se atingisse relação de volumoso:concentrado de 10:90, mantida por 10 dias. A levedura foi administrada desde o primeiro dia do período. As bactérias *Streptococcus bovis* e *Megasphaera elsdenii* foram determinadas por PCR quantitativo. Um total de 20 casos de distúrbios digestivos (83%), 10 no

tratamento com levedura e 10 no tratamento controle, foram relatados em ambos os períodos durante a mudança da dieta, todos diagnosticados através da redução no consumo. A adição de cultura de levedura não gerou impacto significativo na fermentação ruminal, e não afetou a incidência ou tempo de duração do distúrbio digestivo. Porém, diminuiu a viscosidade da espuma no dia posterior à ocorrência do distúrbio, sugerindo um potencial benefício na redução do risco da ocorrência de timpanismo.

Quanto à redução na produção de metano, a mensuração *in vitro* da adição de cultura de *Saccharomyces cerevisiae*, mostrou redução na produção total de gases e produção de metano em experimento realizado por Mutsvangwa et al. (1992). Segundo os autores, tal redução pode ser explicada possivelmente pelo aumento das concentrações de propionato, já que ela envolve a utilização de metabólicos hidrogenados, o que por sua vez, provoca redução na síntese de metano. Resultados semelhante foram observados por Wiedmeier et al. (1987); Harrison et al. (1988); Williams et al. (1991).

A literatura atual é muito escassa em relação a ensaios de desempenho com a *Saccharomyces cerevisiae*. Têm sido relatados resultados inconsistentes, e tal fato pode estar relacionado a diversos fatores, como a utilização de diferentes linhagens da levedura, ou ainda a interação das culturas de leveduras com as diferentes dietas empregadas.

2.1.2.1.2 Resultados da adição de *Saccharomyces cerevisiae* as dietas de bovinos

Mutsvangwa et al. (1992) conduziram um estudo com o objetivo de avaliar os efeitos de diferentes níveis de adição de leveduras (8 a 10g de SC/animal/dia) sobre o ganho de peso e a eficiência alimentar em bezerros Limousin X British Friesian. Observou-se um aumento significativo na ingestão de matéria seca, mas esse aumento não foi acompanhado de melhoria no ganho de peso dos animais, nem da eficiência alimentar.

Parra e DeConstanzo (1992) compararam os efeitos da adição de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* durante os 28 dias iniciais após da mudança dos bovinos para o confinamento ou durante os 58 dias do período experimental. Maiores ganhos de peso e eficiência alimentare foram observados dos dias 32 a 58 em bovinos alimentados com leveduras, quando comparados aos do tratamento controle. O aumento no desempenho foi atribuído a uma maior digestibilidade da MS da dieta que continha a levedura (84,3 vs 76,1%). Hudyma e Gray,

1993 observaram maiores ganhos de peso, consumo e conversão alimentar com a adição de cultura de leveduras em uma dieta a base de silagem de milho, para bovinos cruzados.

Mir e Mir (1994) realizaram um extenso estudo sobre o efeito das leveduras em dietas com diferentes proporções de volumoso e concentrado para bovinos confinados. Dois experimentos, com duração total de dois anos, avaliaram o desempenho e características de carcaça de bovinos alimentados com dietas compostas por 75% de silagem de alfafa e 25% de cevada, 75% de cevada e 25% de silagem de alfafa, e 96% de silagem de milho e 4% de farelo de soja, com ou sem a adição de leveduras. Observou-se que a adição de *Saccharomyces cerevisiae* não afetou o desempenho dos animais, independente da dieta utilizada, não havendo também melhoria sobre as características de carcaça dos animais. Uma observação relevante foi a de que, apesar de as concentrações de ácido láctico no fluído ruminal terem sido numericamente menores para os tratamentos com leveduras nas três dietas; a variabilidade dessa medida foi alta e as diferenças entre os tratamentos não foram estatisticamente significativas. Além disso, também observou-se diminuição da ocorrência de acidose ruminal aguda nas dietas de alto teor de grãos em bovinos suplementados com as leveduras, quando comparado ao tratamento controle (5 vs 11 bovinos). Segundo os autores, tal observação concorda com a sugestão de que as leveduras promovem a utilização de lactato no rúmen.

Conforme relatado por Huber (1997), Cole, Purdy e Hutchenson (1992) reportaram os resultados de dois experimentos conduzidos para determinar a influência de *Saccharomyces cerevisiae* na saúde, desempenho e resposta ao vírus da rinotraqueíte bovina (IBVR) em bovinos. Os resultados mostraram não ocorrer efeito significativo da cultura de levedura na saúde e desempenho dos bovinos em ambos estudos. Entretanto, os animais suplementados com leveduras necessitaram de menos dias de tratamento com antibiótico em relação aos do tratamento controle. Além disso, bovinos desafiados intranasalmente com IBVR que receberam leveduras mantiveram maiores pesos e consumo do que os do controle.

Hassan et al. (1996), trabalhando com touros Limousin x Holandês, com dietas com altos teores de concentrado, não observaram diferenças estatísticas quanto ao ganho de peso.

Rameshwar et al. (1998), em experimento com novilhos cruzados, alimentados com dieta a base de palhada de trigo e concentrado, observaram maior ganho de peso, porém não observaram diferenças significativas quanto a ingestão de matéria seca e conversão alimentar.

Em um estudo com novilhas Holandês-Zebu alimentados com dietas à base de cana-de-açúcar (82 a 88% da MS), e fornecendo 10 g/animal/dia de levedura, Miranda et al. (1999) observaram melhorias tanto no consumo de matéria seca como no ganho de peso diário dos animais suplementados. Porém, em experimento posterior realizado com novilhos Simental, com dietas contendo 49% de feno de Tifton, os autores não obtiveram resultados positivos ao fornecerem 5 g/animal/dia de levedura (Miranda et al., 2001).

Greene (2002) conduziu um experimento com 669 novilhas confinadas, com três tratamentos: controle, 5 e 20g levedura/animal/dia, em uma dieta com 97% de concentrado. Ele observou aumento linear no ganho de peso diário para os tratamentos com leveduras, não ocorrendo diferenças no consumo de matéria seca.

Kuss et al. (2008), utilizando uma dieta composta de silagem de milho e 1,2% do peso vivo de concentrado com base da matéria natural, não observou nenhum efeito com a adição de levedura *Sacchaoromyces cerevisiae*, sozinha ou associada à monensina.

Agazzi et al. (2009), avaliou os efeitos da administração de *Saccharomyces cerevisiae* sobre o desempenho de bovinos alimentados com dietas lenta ou rapidamente fermentáveis. As dietas que receberam a adição de *Saccharomyces cerevisiae* apresentaram GPD superior à dieta rapidamente fermentável sem aditivos.

Em estudo recente, Ferreira et al. (2009) avaliou diferentes doses de *Saccharomyces cerevisiae*, 0, 3, 6, 9 e 12 g/animal/dia e a adição de 3 g de monensina/animal/dia em relação ao desempenho de bovinos confinados, alimentados com dieta contendo 30% de silagem de milho, 41% de milho moído e 15% de polpa cítrica. Maiores IMS foram observadas para os tratamentos com 6, 9 e 12g de levedura/dia, porém não foi observada nenhuma diferença significativa entre os tratamentos quanto ao GPD e a CA.

Erasmus et al. (2009) realizou uma meta-análise para observar o efeito da monensina, leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e a combinação de ambos aditivos na produção de bovinos de corte, utilizando 15 ensaios. O banco de dados incluía dados de 1.875 animais, para análise de GPD e CA. Observou-se que o GPD dos animais que não receberam nenhum tipo de aditivo foi menor (1,45 kg/dia) do que aqueles suplementados com leveduras (1,54 kg/dia), com monensina apenas (1,54 kg/d) ou, ainda, da combinação dos dois aditivos (1,57 kg/dia). A conversão alimentar dos bovinos suplementados com leveduras (6,40 kg MS/kg de ganho de peso) foi melhor do que a dos não-suplementados, (6,61 kg de MS/kg de ganho de peso), mas não

diferiu da dos bovinos suplementados com monensina (6,32 kg MS/kg de ganho de peso) ou da combinação dos aditivos (6,13 kg de MS/kg de peso ganho) ($P > 0,05$). Segundo os autores, os resultados sugerem efeitos semelhantes das leveduras e da monensina sobre o desempenho de bovinos em confinamento.

Monnerat et al. (2009) compararam os efeitos da suplementação com *Saccharomyces cerevisiae* e monensina sobre a ingestão de matéria seca, digestibilidade dos nutrientes, produção de AGV, pH e concentração de amônia ruminal em bovinos confinados alimentados com dietas contendo 80% de concentrado, com dois níveis de amido (23 e 38%). Os tratamentos consistiam em 250 mg de monensina, levedura em baixa dose (1g/100kg PV), e levedura em alta dose (2.5g/100kg/PV). A ingestão de carboidratos não-fibrosos, amido e matéria seca foram menores para o tratamento com baixa dose de levedura, quando comparado aos outros tratamentos. O pH ruminal não foi influenciado pela inclusão de aditivos nas dietas, sendo o valor médio de 6.49. As concentrações de AGV foram maiores em animais recebendo as menores quantidades de amido, monensina e levedura, e as de lactato foram menores para os tratamentos em que a monensina foi adicionada, assim como nas com maiores níveis de amido.

Segundo Wallace (1994), os efeitos da utilização de leveduras são altamente dependentes da dose e da dieta fornecida. Sendo o estímulo ao crescimento microbiano o mecanismo central da ação benéfica das culturas de leveduras no rúmen, precauções adicionais devem ser tomadas no momento de selecionar leveduras comerciais, a fim de garantir que estas preparações sejam capazes de estimular bactérias ruminais. Segundo Williams et al. (1991), resultados equivocados em bovinos de leite podem ter sido influenciados pela composição da dieta, possivelmente o mesmo pode ter ocorrido com bovinos confinados.

Sugere-se também que a idade dos bovinos possa influenciar a resposta a adição de leveduras. Dados de nove comparações foram sumarizados na revisão de Wallace e Newbold (1992), que demonstrou maiores aumentos nos ganhos e peso (8,3%) para bovinos mais leves (144kg), comparados com aumentos de 6,3% em animais maiores (334 kg) alimentados com o aditivo. Um exemplo é o trabalho de Anderson (1993), que reportou que a suplementação com *Saccharomyces cerevisiae*, aumentou o GPD mas não afetaram significativamente o consumo ou a conversão alimentar (HUBER, 1997).

Com resultados tão numerosos quanto controversos, a adição de leveduras às dietas de bovinos permanece como uma opção à utilização de ionóforos, sendo necessária a padronização

de doses suplementadas, assim como de linhagens, nos experimentos realizados futuramente, para que se possa avaliar melhor seus benefícios.

2.1.3 Bactérias probióticas como aditivo alimentar

Inicialmente, o termo probiótico foi definido por Fuller (1989) como suplemento microbiano vivo, eu afeta benéficamente o animal através da melhoria do seu balanço microbiano intestinal. Posteriormente esta definição foi mais refinada por Guarner e Schaafsman, 1988, para “microorganismos vivos, que quando digeridos em certo número, exercem benefícios à saúde, além da nutrição básica inerente”. Segundo Van Soest (1994), os probióticos se distinguem de outros suplementos por serem fornecidos em pequenas quantidades.

Porém, muito tempo antes de tais definições serem criadas, alimentos probióticos já faziam parte da alimentação humana, sendo que o consumo de leite fermentado data dos tempos pré-bíblicos. Segundo Fuller (1997), o surgimento do conceito de probiótico nasceu em 1908, através do trabalho de Metchnikoff no Instituto Pasteur, quando ele propôs que o consumo de lactobacilos capazes de viver no trato intestinal era desejável. Krehbiel et al. (2003) relata que a popularidade no uso da terapia com lactobacilos nos Estados Unidos atingiu seu ápice na década de 30, sendo longamente utilizados após a Segunda Guerra Mundial, com o objetivo de restaurar a flora intestinal dos pacientes, que após a utilização de antibióticos encontrava-se em total desequilíbrio, ocorrendo transtornos intestinais. Segundo Fuller (1989), a pronta disponibilidade de antibióticos a partir dos anos 50 resultou no uso indiscriminado dos mesmos como agentes terapêuticos e estimulantes de crescimento para os animais. Porém com o tempo, percebeu-se que os antibióticos poderiam estar causando resistência das bactérias aos antibióticos, quando era necessário o tratamento terapêutico. Desde então, tem ocorrido um crescente interesse na utilização de microorganismos probióticos na alimentação humana, seja como produto terapêutico ou profilático, sendo que nos dias atuais podemos observar uma ampla variedade de produtos com propriedades probióticas, principalmente produtos lácteos. Na nutrição humana, os probióticos, juntamente com os prebióticos, são considerados aditivos alimentares que compõem os alimentos funcionais, que são aqueles que, além de fornecerem nutrição básica, possuem potencial para promover a saúde, através de mecanismos não previstos através da nutrição convencional (SAAD, 2008).

Tal interesse na utilização de microorganismos probióticos, os DFMs, não está restrito apenas à alimentação humana. O marco na utilização de probióticos na nutrição animal ocorreu na avicultura, quando pesquisadores finlandeses (NURNI; RANTALA, 1973) observaram que o conteúdo intestinal de aves adultas normais, administrados oralmente a aves com um dia de idade, alterava sua sensibilidade à infecção por *Salmonella spp.*, prevenindo o estabelecimento desta no intestino. Tal fato foi chamado de “conceito de Nurni” (CARLI, 2006). É compreensível que tal fato tenha ocorrido na criação de aves, já que os ovos são eclodidos em incubadoras estéreis, portanto não ocorrendo contato com a galinha e a conseqüente aquisição das bactérias benéficas, ficando os animais então mais susceptíveis a infecções.

Na nutrição de ruminantes os probióticos vêm ocupando um lugar de destaque, principalmente após a ocorrência da proibição do uso de antibióticos, ionóforos ou não, na produção de aves, suínos e bovinos, pela União Européia. Se na avicultura e na suinocultura eles já são considerados uma alternativa viável, na bovinocultura, tanto de corte como de leite, os resultados ainda são um tanto quanto controversos. Talvez isso se deva ao fato de seu mecanismo de ação não estar estabelecido pela literatura existente tão claramente como o dos ionóforos. Ou talvez por serem utilizados diferentes microorganismos com diferentes cepas, ou ainda em diferentes concentrações, o que faz com que os ensaios realizados não apresentem um padrão. Porém, como tão bem colocado por Krehbiel et al. (2003), a preocupação quanto ao uso de antibióticos e outros promotores de crescimento tem aumentado nos últimos anos, havendo uma crescente ênfase na redução do uso de antibióticos através da prevenção de doenças, assim como um consenso público sobre os patógenos na carne e nos produtos cárneos. Assim, o interesse nos efeitos dos DFMs na saúde animal e em seu desempenho tem aumentado, tornando a investigação de seus efeitos cada vez mais necessária.

Segundo Wallace e Newbold (1996), a adição de aditivos microbianos às dietas de ruminantes apresenta diferentes objetivos. O primeiro seria semelhante ao utilizado para monogástricos, ou seja, a estabilização da flora intestinal, sendo aplicável apenas em pré-ruminantes, como bezerros. O segundo seria o de aumentar o desenvolvimento da microflora do rúmen, em animais jovens, estimulando o desenvolvimento da estrutura ruminal e acelerando o desmame. Outro objetivo ainda seria o de melhorar a eficiência de produção em ruminantes adultos.

Sendo assim, as culturas microbianas podem ter o potencial de substituir ou reduzir o uso de antibióticos em bovinos jovens ou estressados, aumentar a produção de leite em vacas leiteiras ou, ainda, aumentar a eficiência alimentar e ganho de peso em bovinos de corte.

2.1.3.1 Modo de ação dos microorganismos probióticos

Para que se compreenda o modo de ação dos microorganismos probióticos, primeiramente devemos distinguí-los dos aditivos descritos anteriormente, em relação ao local onde ocorre sua ação. Ao contrário dos ionóforos e das leveduras (que também são consideradas DFMs), que atuam basicamente no ambiente ruminal, os microorganismos probióticos têm como local principal de ação o intestino do animal, podendo também atuar no rúmen, apesar de não estar tão claro como tal mecanismo funciona.

Para ser considerado um probiótico, o microorganismo deve apresentar as seguintes características:

- Ser comprovadamente seguro;
- Estar presente na forma de células vivas e em quantidades adequadas no alimento antes da ingestão;
- Exercer benefícios clinicamente comprovados;
- Chegar vivo e ativo ao seu sítio de atuação no organismo, sobrevivendo aos ataques dos ácidos gástricos e sais biliares.

As bactérias pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* e, em menor escala, *Enterococcus faecium*, são as mais frequentemente empregadas como suplementos probióticos para alimentos, uma vez que elas têm sido isoladas de todas as porções do trato gastrointestinal do humano saudável (SAAD, 2008). A ênfase na restrição em bactérias ácido-láticas deve-se em parte ao fato de existirem evidências de que tais bactérias ocupem um papel central na flora intestinal, que possibilita sua influência na composição da flora, beneficiando o hospedeiro. Tal fato foi demonstrado pelo trabalho de Tannock e seu grupo na Nova Zelândia, através do desenvolvimento de população de ratos com microflora livre de lactobacilos, em que estudaram a forma na qual estes microorganismos intestinais no intestino podem afetar o

metabolismo e crescimento do hospedeiro (FULLER, 1997). Além disso, a maioria das bactérias ácido-láticas possui a capacidade de produzir algumas vitaminas de maneira constante e regular, tais como tiamina, riboflavina, piridoxina, cianocobalamina, ácido pantotênico, biotina, ácido fólico, niacina e vitamina K. (FULLER, 1997).

2.1.3.1.1 Modo de ação no ambiente intestinal

De acordo com Lee et al. (1999), em condições normais, inúmeras espécies de bactérias estão presentes no intestino, sendo a maioria delas anaeróbicas restritas. Tal composição torna o intestino capaz de responder a possíveis variações anatômicas e físico-químicas. Quando em equilíbrio, a microbiota intestinal impede que microorganismos potencialmente patogênicos, nela presentes, exerçam efeitos negativos. Por outro lado, o desequilíbrio dessa microbiota pode resultar na proliferação de patógenos, tendo como consequência uma infecção bacteriana (ZIEMER; GIBSON, 1998). O ambiente intestinal, assim como o ruminal, seleciona constantemente as espécies capazes de sobreviver, seja por mecanismos físico-químicos (pH, concentração de oxigênio e presença de ácidos) ou, ainda, pelo peristaltismo. Evidências do efeito protetor da microbiota ruminal foram demonstradas por Collins e Carter (1978), ao utilizarem camundongos para demonstrar que apenas dez células de *Salmonella* são suficientes para causar uma infecção letal em indivíduos sem microbiota intestinal, sendo que em camundongos normais, são necessárias 10.000.000 células.

De acordo com Fuller (2000), o conhecimento da microbiota intestinal e suas interações levou ao desenvolvimento de estratégias alimentares, com o objetivo da manutenção e do estímulo das bactérias normais ali presentes. Segundo Crittenden (1999), citado por Saad (2008), é possível aumentar o número de microorganismos promotores da saúde do trato gastrointestinal através da introdução de probióticos pela alimentação, o qual irá modificar seletivamente a composição da microbiota, fornecendo ao probiótico vantagem competitiva sobre outras bactérias do ecossistema.

A eficiência dos microorganismos probióticos têm sido estudada mais extensivamente em bezerros leiteiros. Logo após seu nascimento, o bezerro ainda não apresenta sua fauna intestinal estabelecida, sendo seu intestino posteriormente colonizado por bactérias provenientes do

ambiente. Na vida adulta sua microbiota torna-se mais complexa, atingindo de 400 a 600 diferentes espécies. Entretanto, somente 10 a 20 espécies compõem cerca de 90% das células bacterianas. (RODRIGUES, 2008).

A eficiência da utilização de microorganismos probióticos em bezerros já foi constatada em diversos estudos (TOURNUT, 1989; FUMIAKI et al., 1995; ABU-TARBOUSH et al., 1996). Segundo Krehbiel (2003), a resposta no desempenho desses animais não é tão importante, já que as doenças entéricas são mais prevalentes. A melhoria na saúde e a redução na incidência ou severidade da diarreia, apesar da dificuldade de mensuração para análises estatísticas, é o principal objetivo. Tais diarreias seriam consequência do estabelecimento de bactérias patogênicas no intestino dos bezerros, sendo a sua ocorrência muito comum. Smith (1965) relatou que no nascimento dos bezerros, o trato gastrointestinal é colonizado inicialmente por espécies coliformes e Clostrídios mas a colonização por *Lactobacillus* rapidamente aumenta, resultando na diminuição das bactérias patogênicas. Entretanto, Fuller (1989) relatou que durante condições de estresse, a tendência geral é os lactobacilos diminuírem, enquanto os coliformes aumentam. Tal fenômeno parece ser resultado de mudanças hormonais que rompem a produção normal de muco. Portanto, as bactérias probióticas podem ser importantes em animais jovens para estabelecer e manter os microorganismos intestinais "normais" (KREHBIEL et al., 2003).

Além disso, os probióticos podem também auxiliar no desenvolvimento ruminal dos bezerros, tornando mais rápida a sua adaptação à alimentação com sólidos. Tal adaptação depende do desenvolvimento do epitélio ruminal e da capacidade ruminal. Nakanishi et al. (1993), sugeriram que lactobacilos adicionadas a dietas "starter" afetaram a função ruminal de bezerros.

De acordo com Huber (1997), os resultados observados com a adição de *Lactobacillus spp.* ao leite utilizado na alimentação dos bezerros incluem: diminuição dos coliformes fecais (ELLINGER et al., 1978; BRUCE et al., 1979; GILLILAND et al., 1980), redução da incidência de diarreia (BECHMAN et al., 1977; BEEMAN, 1985; BONALDI et al., 1986) e aumento da ingestão e ganho de peso (WREN, 197; LEE; BOTTS, 1988; HIGGINBOTHAM et al., 1993).

Em bovinos adultos, a adição de microorganismos probióticos pode ser benéfica em duas situações. A primeira seria na chegada de animais jovens ao confinamento. Segundo Elam

(2003), na mudança dos bovinos das fazendas para os confinamentos, eles são expostos a múltiplos fatores estressantes como transporte, manejo na chegada e sua introdução em um novo ambiente. Williams e Mahoney (1984), citado por Krehbiel et al. (2003), relatou que tal estresse poderia alterar a flora microbiana do rúmen e do intestino, causando aumento da mortalidade. Assim, a utilização de DFMs poderia atenuar tais mudanças, diminuindo a incidência de problemas de saúde nos animais. Segundo Krehbiel (2003), o objetivo principal da utilização dos microorganismos probióticos em bovinos jovens ou estressados seria estabelecer e manter seu equilíbrio intestinal. A outra situação seria com animais já adultos confinados, em que o uso dos probióticos resultaria na melhoria da eficiência alimentar, através de sua ação tanto no intestino como no rúmen.

De acordo com Fuller (1989), o espectro de atividade dos probióticos pode ser dividido em efeitos nutricionais, fisiológicos e antimicrobianos. Três possíveis mecanismos de atuação são atribuídos aos microorganismos probióticos. O primeiro seria a supressão do número de células viáveis através da produção de compostos com atividade antimicrobiana, competição por nutrientes e competição por sítios de adesão. O segundo mecanismo seria a alteração do metabolismo microbiano, através do aumento ou da diminuição da atividade enzimática. E, ainda, o terceiro, seria o estímulo da imunidade do hospedeiro, através do aumento dos níveis de anticorpos e do aumento da atividade dos macrófagos (SAAD, 2008). Cada um desses efeitos ou a sua combinação parecem explicar os resultados favoráveis obtidos com a adição de culturas bacterianas para o desenvolvimento dos ruminantes e bovinos na adaptação ao confinamento ou outras situações estressantes.

Segundo Fuller (1997), um fator que tem sido utilizado na seleção de culturas de probióticos é a habilidade de aderência às células epiteliais intestinais do animal, e como tal adesão geralmente é aceita como um importante fator de colonização é essencial na seleção dos microorganismos para a inclusão nas preparações probióticas. Quanto ao estímulo da imunidade do hospedeiro, segundo Saad (2008), grande parte das evidências de sistemas *in vitro* e de modelos animais e humanos sugere que os probióticos podem estimular tanto a resposta imune não-específica quanto a específica. É suposto que tais efeitos sejam mediados pela ativação dos macrófagos, pelo aumento nos níveis de citocinas, assim como da atividade das células “natural killer”, além dos níveis de imunoglobulinas. Porém, tais efeitos dos probióticos ocorrem sem o desencadeamento de uma resposta inflamatória prejudicial, que seria resultado de uma resposta

imune exacerbada. Segundo Van de Water (2003), a resposta imune pode ser estimulada quando um ou mais probióticos são consumidos concomitantemente e atuam sinergicamente. Sabe-se que as placas de Peyer estão envolvidas no estímulo imunológico da mucosa, ocorrendo a produção de anticorpos IgA que bloqueiam os receptores e reduzem o número de bactérias patogênicas na luz intestinal (JIN et al., 1998).

2.1.3.1.2 Modo de ação no ambiente ruminal

Originalmente, os aditivos microbianos eram recomendados para o uso em animais com o objetivo de prevenir ou corrigir desordens no trato intestinal. Porém, recentemente, alguns estudos têm indicado que os DFMs têm potencial para alterar a fermentação ruminal, assim como os seus produtos. Segundo Elam (2003) a inoculação contínua com certas bactérias DFMs poderia adaptar o ambiente ruminal a condições de acidez elevada.

Dawson e Newman (1988) não observaram mudanças na concentração de bactérias anaeróbicas, celulolíticas e lactobacilos no fluído ruminal de animais suplementados com bactérias probióticas e leveduras, porém a concentração de AGV tendeu a ser maior no fluído dos animais suplementados com DFMs.

Lodge et al. (1996) utilizando tratamentos semelhantes aos de Dawson et al. (1990), induziu a acidose em bovinos canulados que previamente recebiam uma dieta com 50% de concentrado. Os animais foram alimentados com uma dieta com 50:50 de milho moído fino e trigo laminado. Os resultados indicaram que os bovinos controle tiveram um pH ruminal abaixo de 6.0 durante mais tempo do que os bovinos alimentados com DFMs, sendo a proporção acetato+butirato:propionato dos bovinos tratados com *Lactobacillus* menor ($P < 0.10$) do que os bovinos recebendo o tratamento com *Lactobacillus* e leveduras.

Huffman et al. (1992) suplementou bovinos canulados com *Lactobacillus acidophilus* para quantificar seus efeitos na prevenção da acidose subaguda (crônica). Os bovinos foram adaptados por um período de 12 dias com uma dieta de 50% de concentrado e depois as condições acidóticas foram induzidas através de uma dieta com 100% de concentrado. Corroborando com os resultados de Lodge et al. (1996), ocorreu diminuição do tempo em que o pH ruminal ficou abaixo de 6,0 nos bovinos suplementados com DFMs.

Kmet et al. (1993) citado por Elam (2003) testou a habilidade das bactérias *Lactobacillus cellobiosus* em alterar a fermentação ruminal, e os resultados indicaram que tal suplementação

aumentou o pH ruminal em 10% (pH = 6,94), aumentando também a eficiência de produção de AGV.

Nocek et al. (2002), em experimento com vacas leiteiras canuladas alimentadas com dieta com 70% de concentrado, suplementada com combinação de *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus acidophilus* e *Sacharomyces cervicia* observaram que as concentrações mais elevadas de DFMs poderiam suplantar os mecanismos de remoção de ácidos no rúmen. Os autores sugeriram que os DFMs com a capacidade de produzir lactato poderiam sustentar um nível mais elevado desse ácido no rúmen, o que poderia estimular a as bactérias utilizadoras de ácido láctico.

De acordo com Elam (2003) o potencial dos DFMs em diminuir o risco ou a severidade da ácidos em bovinos alimentados com dietas com alto teor de concentrado ainda está em questão. Segundo ele, a inconsistência nos dados relatados em sua revisão não rejeita a hipótese de que os DFM podem minimizar os episódios de acidose. Apesar de alguns estudos revisados sugerirem que os DFMs possam alterar os processos de fermentação ruminal, mais pesquisas com microorganismos específicos são necessárias.

2.1.3.1.3 Estimulação do sistema imunológico

A adição de bactérias probióticas à dieta parece ainda resultar no estímulo do sistema imune dos bovinos suplementados. Apesar de sua influência já ter sido estudada quanto à acidose ruminal, microflora ruminal e ganho de peso em bovinos confinados (GHORBANI et al. 2002; BEAUCHEMIN et al., 2003), pouca informação existe sobre seus efeitos no sistema imune.

Segundo Perdigon e Fuller (2001), o intestino de todo mamífero apresenta funções essenciais à saúde do organismo, que vão além da digestão de nutrientes, exercendo um papel fundamental também no sistema imunológico. Sendo considerado o maior órgão imunológico do organismo, ele exerce a função imune através de vários mecanismos, como a produção de células de defesa, principalmente imunoglobulinas. O peristaltismo intestinal ajuda a prevenir a colonização po microorganismos patogênicos ingeridos com alimentos. O epitélio intestinal é também uma barreira para os antígenos presentes na dieta, sendo o epitélio intestinal rico em células imunes como linfócitos, neutrófilos, eosinófilos e macrófagos.

Animais com microflora intestinal completa são mais resistentes a infecções do que animais "estéreis". Ainda não se conhece detalhadamente o motivo dessa diferença, mas parece estar relacionado a certas mudanças na imunidade. A microflora intestinal estimula tanto a resposta imune local como da parede intestinal. Tal imunidade da mucosa é um importante elemento da condição imune do animal, pois é responsável pelo controle de infecções, assim como da indução da tolerância ao ambiente e antígenos da dieta (EMMANUEL et al., 2006).

Em condições normais, o nível de imunidade da maioria dos animais é adequado. Porém, em condições de confinamento, fatores estressantes podem gerar deficiências, gerando o desequilíbrio da microflora intestinal, tornando o animal mais susceptível a diversas infecções. Em tais circunstâncias, a suplementação com microorganismos vivos, em especial as bactérias probióticas, para reparar as deficiências na composição da microflora do intestino pode estimular a resposta imune e restaurar a resistência do hospedeiro às infecções.

Segundo Emmanuel et al. (2006), a ativação do sistema imune em condições como inflamação, injúria a tecidos e infecções está associada com a liberação de proteínas de fase aguda através do fígado, conhecida como resposta de fase aguda (SUFFREDINI et al., 1999). As proteínas de fase aguda comumente estudadas em bovinos são a sérum amiloide A (SAA), lipopolissacarídeo ligado a proteína (LBP), haptoglobulina e α_1 -ácido glicoproteína (α_1 -AGP) (AMETAJ et al., 2005; GOZHO et al., 2005).

A sérum amilóde A é uma proteína produzida pelo fígado, associada com lipoproteínas de alta densidade no plasma. Apesar de seu papel fisiológico no sistema imune não ser totalmente compreendido, segundo Bauemberger et al. (1991) ela está envolvida na ligação, neutralização e rápida remoção das endotoxinas da circulação sanguínea. Endotoxinas são componentes da parede celular de bactérias gram-negativas que, quando produzidas em grandes quantidades, podem afetar as funções protetoras da mucosa intestinal, com subsequente translocação de bactérias e produtos bacterianos (DEITCH, 1990).

A LBP é uma proteína de fase aguda derivada do fígado que está envolvida na modulação das respostas do hospedeiro a endotoxinas produzidas por bactérias gram-negativas. Essa proteína interage com endotoxinas na circulação para formar complexos que ligam-se à CD14, que facilitam a ligação e ativação do complexo TLR4/MD-2 nas células de monócitos e neutrófilos, resultando em sua ativação (FITZGERALD et al., 2004). Tipicamente, as concentrações de haptoglobinas no plasma são baixas, mas aumentam quando ocorre uma

resposta inflamatória e translocação de bactérias na circulação (DEIGNAN et al., 2000). Ao se ligar com a hemoglobina, a haptoglobina previne a utilização de ferro da hemoglobina pelas bactérias translocadas na circulação. (WASSEL, 2000.)

Emmanuel et al (2006) realizaram dois experimentos com o objetivo de investigar os efeitos da adição de *Enterococcus faecium* sozinho ou em combinação com *Sacharomyces cerevisiae* na resposta dos mediadores da fase aguda em bovinos confinados alimentados com alta proporção de grãos. No primeiro experimento, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos quanto às concentrações de SAA, LBP, haptogloulina e alfa1-AGP. No segundo experimento, os animais suplementados com a combinação *E.faecium* e *S.cerevisiae* mostraram elevadas concentrações de SAA no plasma. Tal produção e liberação de SAA pelos hepatócitos do fígado são estimuladas pelas citocinas IL-1, IL-6 e TNF-alfa, que são secretadas através da ativação de macrófagos depois da remoção de endotoxinas da circulação (WATANABE et al., 2000). Também foram observadas diferenças na concentração de LBP. Segundo os autores, o aumento nas concentrações de LBP no plasma suportam a hipótese de que a adição de leveduras à dieta pode aumentar a translocação de endotoxinas, ou compostos antigênicos como glucanas ou mananas. Os tratamentos afetaram as concentrações de haptoglobinas no plasma de bovinos alimentados com a combinação *E. faecium* e *S. cerevisiae*, o que sugere translocação de bactérias na circulação sanguínea. Como conclusão, os autores relatam que a combinação de *Enterococcus faecium* e *Sacharomyces cerevisiae* estimulou a resposta inflamatória em bovinos confinados alimentados com dietas com alta proporção de grão.

Segundo Perdigon e Fuller (201), diversos estudos realizados com outros animais mostraram que os DFMs vivos são capazes de modificar a imunidade inata e adquirida a nível local e sistêmico (Isolauri et al., 2001). Como exemplo, a administração oral de *E.faecium* estimula tanto a resposta imune da mucosa como a sistêmica em cachorros, com o aumento da produção de imunoglobulina A (BENYACOUN et al., 2003). Similarmente, a administração a curto prazo de *Saccharomyces cerevisiae* resulta no aumento da resistência de ratos contra infecções contra *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae* e *Streptococcus pyogenes* (BIZZINI; FATTAL-GERMAN, 1990).

2.1.3.2 Resultados da adição de microorganismos probióticos às dietas de bovinos

Experimentos com a adição de aditivos microbianos, especialmente bactérias do gênero *Lactobacillus*, em dietas de confinamento têm sido conduzidos desde a metade dos anos 80. Como explicado anteriormente, acredita-se que a exclusão competitiva no intestino delgado, em que tais lactobacilos competem por sítios de adesão com bactérias, beneficiando a absorção de nutrientes, somado ao estímulo do sistema imune, que melhoraria a saúde do animal, possam gerar uma melhoria no desempenho dos animais.

Além disso, segundo Huck et al. (2000), como os bovinos confinados consomem alimentos rapidamente fermentáveis, como milho floculado ou de alta umidade, eles têm maior propensão a desenvolver a acidose ruminal, sendo que tais condições ocorrem quando o lactato é produzido mais rápido do que o ambiente ruminal consegue removê-lo. Devido ao fato da bactéria *Propionibacterium freudenreichii* utilizar lactato, ela poderia prevenir o acúmulo de ácido láctico.

Em um experimento de 28 dias, Kiesling et al. (1982) compararam o desempenho de bovinos alimentados com lactobacilos, adicionado ao alimento ou na forma de pasta. Não foram observadas diferenças quanto a IMS, GPD ou eficiência alimentar. Após o término do experimento, o autor repetiu o experimento, agora com 209 dias de duração e apenas com dois tratamentos, controle e com adição de cultura de lactobacilos na ração. Novamente não observou diferenças quanto a IMS, GPD e EA.

Entretanto, outros experimentos realizados em períodos próximos mostraram a habilidade dos microorganismos probióticos em aumentar o GPD e a EA de bovinos em terminação, sem alterar a IMS (GILL et al., 1987; ORR et al., 1988; WARE et al., 1988). Orr et al. (1988) testou diferentes dosagens (0 , $2,2 \times 10^6$, $2,2 \times 10^8$, ou $2,2 \times 10^{10}$ UFC) de *Lactobacillus acidophilus* BT1386 para bovinos confinados. Não foram observadas diferenças quanto a IMS, entretanto o GPD dos animais que receberam as doses menores foram significativamente maiores (16,7%) comparados com os animais controle e os que receberam altas doses. No entanto, a EA de bovinos que receberam doses menores foi significativamente menor (13,4%) do que os bovinos que receberam doses maiores. Ware et al. (1988), revisando dados de oito experimentos conduzidos durante um período de dois anos, avaliaram os efeitos dos *Lactobacillus acidophilus* BT1386. Apesar de não se ter observado grande diferença como no experimento de Orr et al.

(1988), o GPD e a EA foram significativamente aumentados (4.3 e 3.2%, respectivamente) nos bovinos tratados com DFMs, quando comparados com os animais controle.

Swiney-Floyd (1999), em experimento com bovinos recém-chegados ao confinamento, tratados com *Propionibacterium* P-63 apenas ou em combinação com *Lactobacillus acidophilus* LA 53545 durante 120 dias, observou benefícios na performance dos animais. O GPD dos animais com rações com a combinação de DFMs foi maior do que o dos animais alimentados só com *Propionibacterium* ou dos animais controle (1.63 vs 1.11 e 0,93 kg/dia, respectivamente). A EA nos primeiros dez dias não foi diferente entre os tratamentos. No período total, não foram observadas diferenças quanto ao GPD entre os tratamentos; entretanto, a combinação de probióticos gerou uma melhor eficiência alimentar em relação aos animais tratados com P-63 sozinha ou os controle (4,97 vs 5.32 e 5.17, respectivamente). Além disso, as características de carcaça não foram alteradas pelos tratamentos, mas a combinação dos probióticos gerou uma menor incidência de abscessos hepáticos, comparados com os animais P-63 ou dos controle (0 vs. 8% e 8%, respectivamente).

Rust et al. (2000), testaram três diferentes combinações de *Propionibacterium freudenreichii* (PF24) e *Lactobacillus acidophilus*, cepas 51 e 45 em dietas para bovinos terminados em confinamento. Não foram observadas diferenças quanto a IMS nos 115 dias de experimento. Além disso, o GPD ajustado para rendimento de carcaça, assim como as características de carcaça não foram afetadas pelos tratamentos. Entretanto, o GPD foi significativamente maior (6,2 e 2.1%, respectivamente), para os animais tratados, quando comparados com os controles. Além disso, a EA também foi melhorada com a adição dos microorganismos probióticos. No entanto, Galyean et al. (2000), entretanto, usando tratamentos semelhantes, observaram resultados diferentes, não observando diferenças quanto a IMS, ocorrendo aumento no GPD de 2.1 e 4.3% nos animais tratados, quando comparados aos animais controle. Não foram observadas diferenças quanto a EA e ao rendimento de carcaça. McPeake et al. (2002), compilaram dados de seis experimentos de confinamento, conduzido em vários estados dos EUA, nos quais várias combinações de *Lactobacillus acidophilus* cepas 45 e 51 e *Propionibacterium freudenreichii* PF-24 foram testados. Os contrastes dos tratamentos com DFMs em relação aos tratamentos controle revelaram maiores GPD e IMS para os bovinos tratados. Além disso, um efeito linear foi observado para a IMS conforme aumentava a

concentração de *L.acidophilus* no suplemento, e uma tendência foi observada na melhoria da eficiência alimentar.

Huck et al. (2000), com o objetivo de determinar se durante a fase de terminação a adição de aditivos microbianos poderia ser mais efetiva, suplementou bovinos continuamente ou alternando *Lactobacillus* e *Propionibacterium spp.* em um experimento de 126 dias. Os tratamentos eram: controle, apenas *L.acidophilus* por todo o período experimental, apenas *P.freudenreichii* P-63 por todo o período experimental, *L.acidophilus* durante 28 dias, seguido por *P.freudenreichii* pelo restante do período experimental, e por último, *P.freudenreichii* durante os primeiros 28 dias e *L.acidophilus* até o restante do período experimental. O desempenho nos primeiros 28 dias não foi afetado pelos tratamentos. Observou-se uma tendência de aumento no GPD em animais recebendo os aditivos alternados. Semelhante resposta foi observada quanto a EA no tratamento *L. acidophilus* seguido de *P.freudenreichii*.

Em uma revisão recente, Krehbiel et al. (2003) resumiu os resultados de numerosos ensaios de confinamento, e sugeriu um aumento no GPD entre 2.5 e 5% e uma melhoria na EA de 2%, quando bovinos foram alimentados com rações contendo DFMs.

Segundo Elam (2003), parece razoável assumir que os DFMs podem funcionar em condições de confinamento, porém os mecanismos através dos quais ocorre melhoria do desempenho ainda não estão adequadamente definidos. De acordo com Hubber (1997), uma característica dos estudos realizados com a inclusão de probióticos nas rações de bovinos tem sido a variabilidade dos resultados observados. Uma possível razão seria a adaptação ao probiótico pelos microorganismos, além de mudanças na alimentação ou condições de manejo que poderiam tornar as culturas fúngicas ou bacterianas ineficientes.

Vasconcelos et al. (2008), realizaram dois experimentos com o objetivo de avaliar os efeitos da adição de microorganismos probióticos a dietas de bovinos, baseados em três doses de linhagens específicas de *Lactobacillus acidophilus* em combinação com uma dose de uma linhagem específica de *Propionibacterium freudenreichii* no desempenho e características de carcaça de bovinos em terminação. No experimento 1 foram utilizados 308 bovinos já adaptados no início do período experimental, com dietas com 92% de concentrado. No experimento 2, 269 bovinos, que foram adaptados gradualmente à dieta com alto teor de concentrado (65%) antes do período experimental. Foram selecionados 240 bovinos para cada experimento. Todos os

tratamentos continham 1×10^9 PF NP24, tendo os outros tratamentos diferentes concentrações de LA P51. Não foram observadas diferenças entre os tratamentos quanto ao GPD, exceto pela tendência de um efeito quadrático da dose NP51 dos dias 0 a 56 e dos dias 0 ao final. O peso ajustado para carcaça não diferiu entre os tratamentos. Resultados similares foram obtidos por Peterson et al. (2007), que utilizaram a mesma cepa NP51 do *Lactobacillus acidophilus*, porém não incluíram a bactéria *Propionibacterium freudenreichii*.

Além da melhoria no desempenho dos animais, a adição de DFMs às dietas de bovinos pode apresentar outros benefícios, como a diminuição de bactérias como *E.coli* O157:H7. A *E.coli* O157:H7 foi reconhecida como um patógeno alimentar em 1982 através de dois surtos de infecções alimentares, associados com dois produtos cárneos malpassados (RILEY et al., 2003; WELLS et al., 1983). Desde então, numerosos surtos têm sido direta ou indiretamente associados com produtos cárneos, que podem estar contaminados com *E.coli* patogênicas e outros patógenos associados com o trato intestinal de animais. Conforme relatado por Brashears et al. (2002), estudos iniciais indicaram que a prevalência de *E.coli* foi relativamente baixa, sendo menor do que 5%. Entretanto, com a melhoria dos métodos de detecção, tornou-se evidente que a prevalência deste patógeno no ambiente dos confinamentos é maior do que previamente reportado. Estimativas recentes da prevalência de *E.coli* O157:H7 nas fezes de bovinos confinados incluem 15,7% (Chapman et al., 1993), 28% (MIDGLEY; DESMARCHELIER, 2001) e 23% (SMITH et al., 2001). Além disso, tem sido reportado que em 72% das baias e 100% dos confinamentos em um estudo (SMITH et al., 2001) continham pelo menos um animal positivo para *E.coli*. Como há uma correlação direta entre animais positivos e amostras de carcaças positivas, devem ser realizadas estratégias de intervenção para se evitar tal contaminação.

Segundo Zhao et al. (1996), a adição de DFMs à ração de bovinos pode ser efetiva para diminuir a *E.coli* O157:H7 nos animais. Fornecendo aos bovinos uma combinação de *E.coli* e *Proteus mirabilis*, reportou que a *E.coli* foi detectada em animais tratados por apenas 9 a 17 dias, enquanto que os animais controle foram positivos por 32 dias.

Brashears et al. (2002), realizou experimento com 185 bovinos mestiços, previamente adaptados, distribuídos em 37 baias. Cada bovino foi pesado individualmente a cada 49 dias e amostras de fezes individuais foram coletadas para o isolamento da *E.coli*. Os tratamentos eram:

controle, *Lactobacillus acidophilus* NPC 747, e *Lactobacillus cristatus* NPC 750. Os aditivos eram misturados com 2,5 litros de água destilada. Amostras fecais foram coletadas do chão de cada baia a cada 14 dias, alternando as coletas com as de amostras individuais. As carcaças foram amostradas após refrigeração, sendo utilizada a separação imunomagnética para isolar a *E.coli* O157:H7. Não foram observadas diferenças quanto ao GPD, nem quanto a IMS. Para a EA, quando baseado no PV não houve diferença, mas houve uma tendência de ser maior para os dois tratamentos com DFMs, para a EA baseada no ganho de peso ajustado para carcaça. Não foram observadas diferenças para os dados de carcaça entre os tratamentos. Quanto à incidência, *E.coli* estava presente em 155 (12%) das 1.290 amostras, sendo presente em 45% dos animais do tratamento NPC 747, 60% dos animais NPC 750, e 65% dos animais controle, havendo diferença significativa entre o tratamento NPC 747 e o tratamento controle. O tratamento NPC 747 resultou em diminuição da detecção de *E.coli* ao longo do tempo. Nenhuma das carcaças quentes foram positivas para os patógenos. Com base em tais observações, o autor concluiu que a suplementação de bovinos com certos DFMs diminui a ocorrência de *E.coli* O157:H7 nas fezes de bovinos em terminação. Além disso, os níveis de prevalência para amostras coletadas das baias diferiram através dos períodos, indicando que a contaminação ambiental pode diminuir com a suplementação dos animais com os dois DFMs utilizados.

Jones e Rutter (1972), citado por Krehbiel (2003), relataram que cepas de *Escherichia coli* produtoras de enterotoxinas causadoras de diarreia necessitam se ligar à mucosa intestinal. Segundo Yoon e Stern (1995), tal ligação é necessária para suportar a proliferação e diminuir a remoção pelo peristaltismo de certos organismos. Phillips et al. (2000) demonstraram que a *E.coli* O157:H7 causa lesões no intestinos dos bovinos, levando à inflamação. Assim, além da redução do risco de surtos alimentares, a administração de DFMs também diminui a inflamação no trato gastrointestinal, fazendo com que o animal gaste menos energia para reparar danos ou tecidos inflamados, havendo, portanto, mais energia disponível para o animal, o que poderá melhorar seu desempenho.

Quanto à diminuição da ocorrência de distúrbios digestivos, de acordo com Ghorbani et al. (2002), apesar das bactérias probióticas não serem capazes de competir com a microflora ruminal, ou manter uma população estável no rúmen, está claro que elas são metabolicamente ativas e podem gerar efeitos na fermentação ruminal. Swiney-Floyd et al. (1999) sugeriram que a

combinação de DFMs usada em seu estudo diminuiu a incidência da severidade da acidose. Nocek et al. (2000) reportaram uma redução no risco de acidose em vacas alimentadas com uma combinação de bactérias produtoras de lactato, *Lactobacillus* e *Enterococcus*, provavelmente porque a presença dessas bactérias no rúmen pode gerar a adaptação dos microorganismos à presença de lactato no rúmen.

Huffman et al. (1992) também observaram que a *L. acidophilus* reduziu o risco de acidose subclínica. Bovinos foram alimentados com dietas contendo 50% de concentrado, mudado abruptamente para uma dieta com 100% de concentrado, oferecido via cânula para induzir a acidose subclínica. A adição de 5×10^8 /dia de *Lactobacillus acidophilus* reduziu a tempo de permanência do pH ruminal abaixo de 6,0, comparado com o tratamento controle.

Os dados de numerosos experimentos aqui considerados têm demonstrado benefícios na adição de probióticos a rações de bovinos. Entretanto não é possível ter uma resposta consistente do seu real benefício, pois outros resultados, além dos de desempenho, devem ser considerados para que se avalie o real valor da adição dos probióticos às rações de bovinos. Sabe-se que adição de DFMs pode diminuir a incidência de diarreias em bezerros, melhorar a saúde dos bovinos recém-chegados ao confinamento ou, ainda, diminuir o risco de incidência de surtos alimentares relacionados a patógenos alimentares. Segundo Huber (1997), como os DFMs podem atuar sob múltiplos organismos, em diferentes porções do trato digestivo, diferentes probióticos podem ter múltiplas ações, tendo alguns ações aditivas ou negativas em relação a outros.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados dois ensaios de desempenho animal e um de digestibilidade para estudar diferentes aditivos alimentares para bovinos terminados em confinamento. No experimento 1, os aditivos testados foram a monensina sódica e a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. No experimento 2 foram testadas as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e a combinação das mesmas com bactérias probióticas. O experimento 3 foi um ensaio de digestibilidade onde foram comparados os aditivos monensina sódica, leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e a combinação da mesma levedura com bactérias probióticas.

Os ensaios estão sendo apresentados conjuntamente, para fins de descrição metodológica.

3.1 Local dos experimentos

Os ensaios de desempenho foram conduzidos nas instalações de confinamento do setor de Ruminantes do Departamento de Zootecnia, da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (USP-ESALQ), localizada em Piracicaba/SP.

O experimento 1 foi realizado entre os meses de outubro e dezembro de 2007, o experimento 2 foi realizado entre os meses de maio e agosto de 2008. O ensaio de digestibilidade ocorreu durante o mês de agosto de 2008.

3.2 Parâmetros avaliados

No experimento 1 foram avaliados o consumo de MS das rações, o ganho de peso diário e a eficiência alimentar dos animais, o rendimento de carcaça, a espessura de gordura subcutânea e a área de olho de lombo.

No experimento 2 foram avaliados o consumo de MS das rações, o ganho de peso diário e a eficiência alimentar dos animais, o valor energético das rações, o rendimento de carcaça, a espessura de gordura subcutânea, a área de olho de lombo e a incidência de abscessos hepáticos.

No experimento 3 foram avaliados o consumo de MS e as digestibilidades dos nutrientes para os diferentes tratamentos testados.

3.3 Delineamento experimental e tratamentos experimentais

3.3.1 Experimento 1

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com cinco tratamentos e quatro repetições, totalizando 20 unidades experimentais (baidas). Os animais foram alocados nos blocos de acordo com seu peso inicial. Foram utilizados 100 bovinos da raça Nelore, castrados, com idade média de 18 meses.

Os tratamentos testados foram:

CONTROLE: sem a inclusão de aditivos;

MONENSINA 1: monensina sódica (Rumensin[®]) na dosagem de 30 ppm;

MONENSINA 2: monensina sódica (Rumenfort[®]) na dosagem de 30 ppm;

LEVEDURA 1: levedura *Saccharomyces cerevisiae* (YEA-SAAC[®]1026) na dosagem de 10g/animal/dia - 10^9 UFC/g

LEVEDURA 2: levedura *Saccharomyces cerevisiae* (BIOSAF SC 47 termoe estável[®]) na dosagem de 10 g/ animal/ dia - 10^9 UFC/g

O período experimental teve duração de 60 dias. Os animais já estavam adaptados a rações com altos teores de concentrado antes do início do experimento.

3.3.2 Experimento 2

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com quatro tratamentos e quatro repetições, totalizando 16 unidades experimentais (baidas). Os animais foram alocados nos blocos de acordo com seu peso inicial. Foram utilizados 96 bovinos Nelore, não-castrados, com idade média de 18 meses.

Os tratamentos testados foram:

CONTROLE: sem a inclusão de aditivos;

LEVEDURA: levedura *Saccharomyces cerevisiae* (BIOSAF SC 47 termoeestável®) na dosagem de 10 g/ animal/ dia - 10^9 UFC/g

PROBIÓTICO 1: combinação dos microorganismos probióticos *Bifidobacterium bifidum* ($3,33 \times 10^6$ UFC/g), *Lactobacillus acidophilus* ($3,33 \times 10^6$ UFC/g), *Lactobacillus plantarum* ($1,66 \times 10^6$ UFC/g), *Enterococcus faecium* ($1,66 \times 10^6$ UFC/g) e *Saccharomyces cerevisiae* ($3,33 \times 10^5$ UFC/g) - FLORAFORT®, na dosagem de 1g/animal/dia

PROBIÓTICO 2: combinação dos microorganismos probióticos *Bifidobacterium bifidum* ($3,33 \times 10^6$ UFC/g), *Lactobacillus acidophilus* ($3,33 \times 10^6$ UFC/g), *Lactobacillus plantarum* ($1,66 \times 10^6$ UFC/g), *Enterococcus faecium* ($1,66 \times 10^6$ UFC/g) e *Saccharomyces cerevisiae* ($3,33 \times 10^5$ UFC/g) - FLORAFORT®, na dosagem de 3g/animal/dia

O período experimental foi de 94 dias, sendo 21 dias de adaptação, inclusos no período experimental.

3.3.3 Experimento 3

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com cinco tratamentos e quatro repetições. Os animais foram alocados nos blocos de acordo com seu peso inicial. Foram utilizados 20 bovinos Nelore, não-castrados, com idade média de 18 meses alocados em baias individuais.

Os tratamentos testados foram:

CONTROLE: sem a inclusão de aditivos;

MONENSINA: monensina sódica (Rumenfort®) na dosagem de 30 ppm;

LEVEDURA: levedura *Saccharomyces cerevisiae* (BIOSAF SC 47 termoestável®) na dosagem de 10 g/ animal/ dia - 10^9 UFC/g

PROBIÓTICO 1: combinação dos microorganismos probióticos *Bifidobacterium bifidum* ($3,33 \times 10^6$ UFC/g), *Lactobacillus acidophilus* ($3,33 \times 10^6$ UFC/g), *Lactobacillus plantarum* ($1,66 \times 10^6$ UFC/g), *Enterococcus faecium* ($1,66 \times 10^6$ UFC/g) e *Saccharomyces cerevisiae* ($3,33 \times 10^5$ UFC/g) - FLORAFORT®, na dosagem de 1g/animal/dia

PROBIÓTICO 2: combinação dos microorganismos probióticos *Bifidobacterium bifidum* ($3,33 \times 10^6$ UFC/g), *Lactobacillus acidophilus* ($3,33 \times 10^6$ UFC/g), *Lactobacillus plantarum* ($1,66 \times 10^6$ UFC/g), *Enterococcus faecium* ($1,66 \times 10^6$ UFC/g) e *Saccharomyces cerevisiae* ($3,33 \times 10^5$ UFC/g) - FLORAFORT®, na dosagem de 3g/animal/dia

O período experimental teve duração de 15 dias, sendo 10 dias de adaptação ao marcador óxido de cromo e 5 dias de coleta. Os animais utilizados já se encontravam adaptados á rações com altos teores de concentrado.

3.4 Instalações

As baias experimentais mediam 32m^2 (4x8m) com piso de concreto, cobertura parcial, 4metros lineares de concho e bebedouro.

Semanalmente o piso do confinamento era raspado e os bebedouros esvaziados e lavados.

3.5 Animais, manejo alimentar e rações experimentais

3.5.1 Experimento 1

Foram utilizados 100 bovinos Nelore castrados, com idade aproximada de 18 meses e peso vivo inicial de 396 kg.

No início do período experimental, os animais foram pesados após jejum de sólidos por 16 horas, desverminados e vacinados contra clostridioses, e distribuídos nos respectivos blocos. Foram realizadas pesagens a cada 30 dias após jejum de sólidos por 16 horas.

Foi formulada uma ração experimental para todos os animais, dieferindo apenas quanto aos aditivos testados. A ração formulada continha níveis adequados de proteína degradável no rúmen e de proteína metabolizável de acordo com o NRC (1996). A composição da ração está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição da ração experimental do experimento 1

Ingredientes (% da MS)	Tratamentos¹
Silagem de cana-de-açúcar	15
Sorgo moído	40,9
Polpa Cítrica	41
Mineral ²	1,3
Uréia	1,8

¹ Tratamentos: C = controle; Mon1 = monesina sódica Rumensin[®]30ppm; Mon2 = monesina sódica Rumenfort[®]30ppm; Lev1=levedura *Saccharomyces cerevisiae* Alltech, na dose de 10g/animal/dia; Lev1=levedura *Saccharomyces cerevisiae* Biosaf[®]SC 47, na dose de 10g/animal/dia;

² Composição da mistura mineral dos tratamentos (por kg): Ca = 100,0 g; P = 80,0 g; S = 80,0 g; Na = 90,0 g, Co = 25,0 mg; Cu = 700,0 mg; I = 40,0 mg; Mn = 1000,0 mg; Se = 19,0 mg; Zn = 2500,0 mg; vit. A = 300000 UI;vit. D = 25000 UI e vit. E = 2500 UI

As rações foram misturadas em vagão misturador equipado com balança eletrônica diariamente e ofertadas uma vez ao dia, no período da manhã. Diariamente, antes da alimentação, as sobras do dia anterior eram estimadas realizando-se a leitura dos chochos, ajustando-se o fornecimento de ração para que ocorressem sobras de no máximo 3%. As sobras foram coletadas e pesadas diariamente, de modo a se obter o consumo efetivo de cada baia.

O sorgo moído, a uréia e a mistura mineral foram pesados individualmente em balança com precisão de 0,1 kg, com capacidade para até 100 kg (Marte[®]). A monensina foi adicionada à mistura mineral quando do preparo desta antes do início do experimento. Os aditivos

probióticos foram pesados em balança de precisão com capacidade de 1 kg e diariamente eram misturados com 2 kg de sorgo moído antes de serem adicionados ao vagão misturador.

3.5.2 Experimento 2

Foram utilizados 96 tourinhos Nelore, com idade aproximada de 18 meses e peso vivo inicial de 392 kg.

No início do período experimental, os animais foram pesados após jejum de sólidos por 16 horas, desverminados e vacinados contra clostridioses, e distribuídos nos respectivos blocos. Foram realizadas pesagens a cada 30 dias, sendo as pesagens intermediárias sem jejum e a pesagem final após jejum de sólidos por 16 horas.

Foi formulada uma ração experimental para todos os animais, dieferindo apenas quanto aos aditivos testados. A ração formulada continha níveis adequados de proteína degradável no rúmen e de proteína metabolizável de acordo com o NRC (1996). A composição da ração está apresentada na Tabela 2.

Os animais eram provenientes de pastagens e foram adaptados à rações com 95% de concentrado em 21 dias. Tal adaptação consistiu no fornecimento de dieta com teores crescentes de concentrado e decrescentes de volumoso. Assim, do dia 0 ao 7 foi ofertada ração com 30% de volumoso, do dia 8 ao 14 ração com 20% de volumoso, do dia 15 ao 21 foi ofertada ração com 10% de volumoso e, a partir do dia 22 foi ofertada a ração final com 95% de concentrado (Tabela 2).

Com o objetivo de se obter uma ração homogênea, evitando a seleção pelo animal, o feno de tifton era moído em um triturador (Agroform®), obtendo-se partículas de no máximo dois centímetros.

Ao término de cada período de 30 dias os animais foram pesados, sendo que foram submetidos a jejum prévio apenas na primeira e na última pesagem.

Foi formulada uma ração experimental para todos os animais, dieferindo apenas quanto aos aditivos testados. A ração formulada continha níveis adequados de proteína degradável no

rúmen e de proteína metabolizável de acordo com o NRC (1996). A composição da ração experimental final está apresentada na Tabela 2.

Tabela 2 - Composição da ração experimental do Ensaio 2

Ingredientes (% da MS)	Tratamentos ¹
Polpa cítrica	59,00
Farelo de glúten de milho úmido	35,00
Feno de tifton 65	5,00
Mineral ²	0,2
Uréia	0,7
Composição com base na análise de ingredientes ³	
MS (%) ⁴	70,24
PB (% da MS) ⁴	11,40
FDN (% da MS) ⁴	35,74
FDA (% da MS) ⁴	21,26
Lignina (% da MS) ⁴	1,65
EE (% da MS) ⁴	1,7
MM (% da MS) ⁴	6,31
FDNe (% da MS) ⁵	14,7
EL manutenção (Mcal/kg) ⁶	1,91
EL ganho (Mcal/kg) ⁶	1,27
NDT (% da MS) ⁷	71,6

¹ Tratamentos: C = controle; Lev = levedura *Saccharomyces cerevisiae*, na dose de 10g/animal/dia; Prob1 = combinação de levedura *Saccharomyces cerevisiae* e bactérias probióticas, na dose de 1g/animal/dia; Prob2 = combinação de levedura *Saccharomyces cerevisiae* e bactérias probióticas, na dose de 3g/animal/dia.

² Núcleos minerais: 4,5g Ca, 3g P, 6g S, 2g Mg, 170 g Na, 20 mgCo, 1.200 mg Cu, 75 mg I, 17 mg Se, 2500 mg Zn, 1200 mg Mn, 600.000 UI/kg Vit.A, 45.000 UI/kg/ Vit.D, 4.000 UI/kg Vit.E.

³ MS = matéria seca, PB = proteína bruta, FDN = fibra insolúvel em detergente neutro, FDA = fibra insolúvel em detergente ácido, EE = extrato etéreo, MM = matéria mineral, FDNe = FDN efetivo

⁴Valores obtidos com base no resultado das análises bromatológicas dos ingredientes

⁵ Valores estimados pelo NRC (1996) nível 1, com base em análise do FDN dos ingredientes

⁶ Valores estimados pelo NRC (1996) nível 1, com base no NDT estimado de acordo com Weiss et al. (1992).

⁷ Nutrientes digestíveis totais, estimados segundo metodologia de Weiss et al. (1992)

As rações foram misturadas em vagão misturador equipado com balança eletrônica diariamente e ofertadas uma vez ao dia, no período da manhã. Diariamente, antes da alimentação, as sobras do dia anterior eram estimadas realizando-se a leitura dos chochos,

ajustando-se o fornecimento de ração para que ocorressem sobras de no máximo 3%. As sobras foram coletadas e pesadas diariamente, de modo a se obter o consumo efetivo de cada baia.

A mistura mineral e a uréia foram pesados individualmente, em balança com precisão de 0,1 kg, com capacidade para 100 kg (Marte®). Os aditivos foram pesados em balança de precisão com capacidade de 1 kg, sendo misturados em um misturador manual com a mistura mineral e a uréia imediatamente antes de serem adicionados ao vagão misturador.

3.5.3 Experimento 3

Foram utilizados 20 tourinhos Nelore, com idade aproximada de 18 meses e peso inicial de 518 kg. No início do período experimental, os animais foram pesados após jejum de sólidos por 16 horas, desverminados e vacinados contra clostridioses, e distribuídos nos respectivos blocos. No final do período experimental os animais foram pesados após jejum de 16 horas.

A ração utilizada, o preparo da mesma e fornecimento foi o mesmo adotado no experimento 2.

3.6 Amostragens dos ingredientes da ração

No experimento 1 não foram coletados e analisados os ingredientes da ração. Para formulação da ração foram adotados valores tabulares do NRC (1996).

No experimento 2 foram colhidas amostras de todos os ingredientes quinzenalmente, para posteriores análises químico-bromatológicas. No experimento 3 foram colhidas amostras dos ingredientes da ração ao longo dos cinco dias do período de coleta.

3.7 Amostragens de fezes

No experimento 3 foram realizadas as coletas de fezes dos animais, duas vezes ao dia, as 06:00h e 18:00 durante os 5 dias do período de coleta de dados. As fezes eram coletadas diretamente do piso da baia logo após o animal ter defecado, evitando assim uma possível contaminação.

3.8 Preparo das amostras e análises químico-bromatológicas

As amostras dos ingredientes das rações totais, após serem coletadas, eram ensacadas, e identificadas e conduzidas para a secagem. As amostras de fezes após serem coletadas, eram ensacadas, identificadas e congeladas a -20°C .

Todos os ingredientes das rações totais, assim como as fezes dos bovinos, foram secos em estufa com ventilação forçada (55°C) por 72 horas (SILVA; QUEIROZ, 2002) e moídas em moinhos tipo “Wiley” providos de peneiras com malha de 1,0 mm.

No experimento 2 as amostras de ingredientes após a secagem foram compostas em amostra única por ingrediente para posteriores análises bromatológicas.

No experimento 3 as amostras de ingredientes após a secagem foram compostas em amostra única por ingrediente para posteriores análises bromatológicas. As amostras de fezes secas foram compostas por baia (animal) para posteriores análises químico-bromatológicas.

As análises químico-bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ/USP).

As amostras dos ingredientes foram analisadas para matéria seca (MS) e matéria orgânica (MO), cinzas (MM), extrato etéreo (EE) e proteína bruta (PB) de acordo com A.O.A.C. (1990), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina de acordo com o método de Van Soest et al. (1991).

As amostras das fezes foram analisadas para matéria seca (MS) e matéria orgânica (MO), cinzas (MM), proteína bruta (PB) de acordo com A.O.A.C. (1990), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) de acordo com o método de Van Soest et al. (1991).

As digestibilidades dos nutrientes no trato digestivo total foi estimada através do emprego do indicador externo o óxido de cromo. Os animais receberam diariamente a dose única de 10 g de óxido de cromo, misturados à 200 g de ração total, antes do fornecimento diário da ração total. Para a determinação do cromo nas fezes, foi utilizada a metodologia de fluorescência de

raios X, no laboratório de Instrumentação Nuclear do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, CENA-USP, descrita por Korndorfer et al. (2001).

Para os cálculos da produção de fezes (PF) foi utilizada a seguinte relação:

$$PF = \frac{\text{dose diária do indicador (g/dia)}}{\text{g do indicador nas fezes / g de MS fecal}}$$

3.9 Avaliação de características de carcaça

Nos ensaios 1 e 2 após o abate dos animais, foram determinados o rendimento de carcaça quente. Após 24 horas, com a carcaça já resfriada, foram medidas as espessuras de gordura e de área de olho de lombo entre a 12ª e 13ª costelas, segundo metodologia de Luchiari Filho (2000), através da retirada de porção do *Longissimus dorsi* de aproximadamente três centímetros de espessura.

3.10 Cálculo do valor energético das rações

No experimento 2, através dos dados observados de CMS e GPD foram estimadas a energia líquida das rações de acordo com a metodologia proposta por Zinn e Shen (1998), descrita a seguir.

Foram calculadas as exigências de energia para ganho (E_g) e para manutenção (E_m) dos animais através das fórmulas 1 e 2, utilizando os valores de GPD (kg/dia) e peso metabólico (kg) dos animais durante o período experimental. A partir destes valores, calculou-se a energia líquida das rações (Mcal/kg de MS) para ganho (EL_g) e manutenção (EL_m), através das fórmulas 3 e 4.

$$(1) E_g = [0,0493 PV^{0,75}] GPD^{1,097} ; (NRC, 1984)$$

$$(2) E_m = 0,077 PV^{0,75} ; (LOFGREEN; GARRETT, 1968 \text{ apud ZINN; SHEN, 1998})$$

$$(3) EL_m = (-b - ((b^2) - (4ac))^{0,5}) / (2a) ; (ZINN; SHEN, 1998)$$

$$a = -0,877 \text{ IMS}$$

$$b = 0,877 E_m + 0,41 \text{ IMS} + E_g$$

$$c = -0,41 E_m$$

$$(4) EL_g = 0,877 EL_m - 0,41 ; (ZINN \& SHEN, 1998)$$

Onde, E_g = exigência em energia para ganho (Mcal/dia)

E_m = exigência em energia para manutenção (Mcal/dia)

EL_m = energia líquida de manutenção (Mcal/kg de MS)

EL_g = energia líquida de ganho (Mcal/kg de MS)

3.11 Análise estatística

Nos três experimentos o delineamento experimental utilizado foi o de blocos completos aleatorizados, em que os animais foram alocados de acordo com o peso inicial. Para os dados desempenho animal, características de carcaça e energia líquida das rações utilizou-se o procedimento GLM do pacote estatístico SAS (1999), versão 9 para Windows. Utilizou-se o método dos quadrados mínimos para obtenção das médias dos tratamentos.

A baia foi considerada como unidade experimental para todos os parâmetros avaliados. Quando o teste F deu significativo ($P < 0,05$) as médias dos tratamentos foram comparadas através do teste de Tukey. As médias dos tratamentos foram comparadas através do teste t. Utilizou-se o nível de significância de 5% de probabilidade como significativo.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimento 1.

Na tabela 3 são apresentados os dados de desempenho animal e das características de carcaça do experimento 1.

Tabela 3 - Desempenho e características de carcaça de bovinos Nelore em terminação alimentados com rações com diferentes aditivos (monensina sódica e levedura)

Item	Tratamentos ¹					EPM ²	P ³
	Controle	Mon 1	Mon 2	Lev 1	Lev 2		
PI, kg	386,8	397,1	386,9	396,8	387,2	5,52	0,4509
PF, kg	446,9	444,8	441,7	445,1	442,3	3,68	0,8480
IMS, kg	9,45 ^a	8,77 ^b	9,06 ^{ab}	9,46 ^a	9,38 ^a	0,16	0,0393
GPD, kg	1,126	1,020	0,994	1,004	0,984	0,45	0,2401
EA, GPD/IMS	0,119	0,116	0,110	0,106	0,105	0,005	0,2416
RC, %	54,69 ^a	54,69 ^a	54,06 ^b	54,99 ^a	54,69 ^a	0,16	0,0176
AOL, cm ²	51,95 ^b	55,95 ^a	51,18 ^b	50,55 ^b	50,83 ^b	0,56	0,0001
EGS, mm	4,36	4,40	3,93	4,50	4,46	0,284	0,1276

¹Tratamentos: C = controle; Mon1 = monesina sódica Rumensin®30ppm; Mon2 = monesina sódica Rumenfort®30ppm; Lev1=levedura *Saccharomyces cerevisiae* Alltech, na dose de 10g/animal/dia; Lev1=levedura *Saccharomyces cerevisiae* Biosaf®SC 47, na dose de 10g/animal/dia;

²Erro padrão da média

³Valor de probabilidade

^{ab}Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferiram entre si (P<0,05)

A IMS foi afetada pelos tratamentos (P<0,05). A monensina sódica reduziu a IMS em comparação ao tratamento controle e aos tratamentos com levedura. A redução foi significativa apenas para uma das monensinas testadas.

Embora seu motivo ainda não seja consenso no meio científico, um dos efeitos mais marcantes da adição de monensina sódica em rações para bovinos confinados com rações ricas em energia é a redução na IMS. Tal redução tem sido relatada ao longo das últimas 3 décadas como na revisão realizada por Goodrich et al.(1984) e nos trabalhos de Oliveira (2003), Kuss

(2008), Berthiaume et al. (2006) e Valero et al. (2009). Entre as várias suposições existentes, Baile et al. (1979), sugeriram que tal efeito se deva ao sabor desagradável da monensina; Já Oliveira et al. (2002), sugeriram que o efeito depressivo da monensina na IMS ocorre em função do aumento da eficiência energética. Tal aumento de eficiência está relacionado à mudança no perfil microbiano no ambiente ruminal, consequente do aumento das bactérias gram-negativas em detrimento das gram-positivas, que resultaria na alteração na concentração dos ácidos graxos voláteis, com o aumento da concentração dos ácidos propiônico e butírico em relação ao ácido acético. Sustentando tal afirmação, Allen (2000) realizou ensaio em que infundiu propionato e acetato nas veias porta e mesentérica de novilhos, observando a redução da ingestão de alimento expressiva apenas quando o propionato foi infundido. Grovum (1995) sugeriu que os efeitos da infusão de propionato na redução da IMS são decorrentes do aumento na secreção de insulina, que é um dos hormônios envolvidos, juntamente com a leptina (FAVERDIN; BAREILLE, 1999), com a redução da IMS. Com isso, há evidência significativa de que o propionato absorvido afeta a saciedade (Millen, 2008). Além do aumento da eficiência energética, também se atribui a utilização de monensina a melhoria da utilização de proteína pelo ruminante (VAN NEVEL; DEMEYER, 1977; POOS et al., 1979; CHALUPA, 1980).

Por outro lado, autores como Green et al. (1999), Plazier et al. (2000), e Ruiz et al. (2001) e Depenbusch et al. (2008) não observaram alterações no consumo dos animais suplementados com monensina.

Na maioria dos trabalhos revisados sobre uso de monensina para bovinos em confinamento, a principal fonte energética das rações foi o milho. No presente estudo, as rações continham 40% de polpa cítrica na MS. A magnitude de redução na IMS observada foi dentro da faixa observada nos trabalhos revisados. Vijchulata et al. (1981) realizaram dois experimentos com rações contendo polpa cítrica ou milho e monensina sódica como aditivo. A monensina diminui a IMS, aumentou a concentração de ácido propiônico ruminal e diminuiu a de ácido acético na mesma extensão tanto para o tratamento com polpa cítrica como para o com milho.

No presente experimento não foi observada alteração da ingestão de matéria seca pela adição de *Saccharomyces cerevisiae* ($P>0,05$) em comparação ao tratamento Controle, o que corrobora com os resultados observados por Mir e Mir (1994), Rameshwar et al. (1998), Greene (2002) e Kuss et al. (2008). Porém, Mutsvangwa et al. (1992) e Ferreira et al. (2009) observaram aumentos significativos ($p<0,05$) no consumo dos animais com a adição de leveduras a ração.

Segundo Wallace (1994), a remoção do oxigênio do ambiente ruminal pela *Saccharomyces cerevisiae* geraria um aumento na viabilidade das bactérias ruminais, gerando uma maior degradação da fibra, aumentando o consumo alimentar. Williams et al. (1991) sugeriram que a melhoria do ambiente ruminal gerado pelas leveduras poderia estimular o apetite dos animais. Porém tais aumentos no consumo não foram observados no presente experimento.

No presente estudo, assim como na maioria dos trabalhos com bovinos confinados, as rações testadas continham baixo teor de forragem. Este fato pode ter limitado a chance de efeito positivo da adição de levedura nessas rações em estimular a IMS.

O GPD dos animais não foi afetado pelos tratamentos ($P>0,05$).

Na maioria dos trabalhos revisados a monensina sódica não afetou o GPD dos animais (DEPENBUSCH et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2002; KUSS et al., 2008; JUSTUS NETO; ROSSI JUNIOR, 2008; VELORA et al., 2009; FERREIRA et al., 2009). Apesar do aumento no ganho de peso diário de animais suplementados com monensina ter sido relatado em alguns estudos (GOODRICH et al., 1984; BERTHIAUME et al., 2006; BARDUCCI, 2009), normalmente o que se observa são ganhos de peso semelhantes ao dos tratamento controle, porém com uma menor ingestão de matéria seca, o que resulta na melhoria da conversão alimentar, e não no ganho de peso propriamente dito.

Em sua revisão sobre o efeito da monensina no desempenho de bovinos, Goodrich et al. (1984) observaram que em experimentos em que o ganho de peso diário foi baixo, a monensina aumentou tal medida mais do que em experimentos em que o ganho de peso diário foi alto. Segundo os autores, isso indica que bovinos que são ineficientes em converter alimento em ganho de peso respondem mais a monensina do que bovinos altamente eficientes.

Assim como as monensinas, as leveduras testadas também não afetaram o GPD dos animais ($P>0,05$). Segundo Williams e Newbold (1990) os efeitos das leveduras no desempenho animal podem ser considerados como consequentes do aumento da IMS. Sendo assim, como no presente estudo não se observou aumento da IMS, não seria esperado aumento no GPD dos animais.

A eficiência alimentar dos animais não foi afetada pelos tratamentos ($P>0,05$).

A ausência de efeito positivo da monensina na eficiência alimentar dos animais no presente estudo também foi relatada nos trabalhos de Ferreira et al. (2009), Kuss et al. (2008), Millen (2008), Velora et al. (2009). Porém, tais resultados contrariam vários outros estudos,

como os Potter et al. (1986); Callaway et al. (2003), e principalmente a revisão de Goodrich et al. (1984). Nesta última revisão foi feita a compilação de 228 ensaios que envolveram mais de 11.000 animais e observou-se aumento médio de 7,6% na eficiência alimentar com o uso de monensina sódica na ração. Nessa mesma revisão, os autores relataram que a adição de monensina resultou em um maior aumento na eficiência alimentar quando as rações continham 2.9 Mcal de EM/kg de MS. Em rações com maior ou menor concentração de EM, a resposta a monensina foi reduzida. No presente estudo, a monensina reduziu a IMS sem afetar o GPD, entretanto, houve redução numérica não significativa no GPD dos animais. Este fato impediu que a monensina melhorasse a eficiência alimentar dos animais.

Quanto ao efeito da *Saccharomyces cerevisiae* na eficiência alimentar dos animais, não foi observada nenhuma diferença significativa entre os tratamentos avaliados ($P>0,05$). Diversos trabalhos relataram resultados semelhantes com a adição de leveduras, como os de Mir e Mir (1994) em que, apesar de terem sido testadas diferentes dietas com diferentes teores de concentrado e volumoso em um período experimental de dois anos, nenhuma das variáveis relativas ao desempenho dos animais foi alterada. Também não foram observados efeitos positivos da *Saccharomyces cerevisiae* na eficiência alimentar nos trabalhos de Miranda et al. (1991), Mutsvangwa et al. (1992), Rameshwar et al. (1998), Kuss et al. (2008) e de Ferreira et al. (2009).

No presente estudo, não foram observados efeitos consistentes da monensina sódica nos parâmetros de carcaça avaliados. Uma das monensinas diminuiu o rendimento de carcaça ($P<0,05$) e a outra aumentou a área de olho de lombo ($P<0,05$) em comparação com os demais tratamentos. Na revisão de Goodrich et al. (1984) apenas para AOL houve resposta positiva à monensina, ao passo que o rendimento de carcaça, o escore de marmoreio e a espessura de gordura foram afetadas negativamente pela monensina.

As leveduras testadas não afetaram os parâmetros de carcaça avaliados ($P>0,05$).

4.2 Experimento 2

4.2.1 Composição químico-bromatológica dos ingredientes e das rações experimentais

A composição químico-bromatológica dos ingredientes das rações experimentais podem ser observadas na Tabela 4.

Tabela 4 - Composição bromatológica dos ingredientes utilizados no experimento 2

Item ¹	Polpa cítrica	FGMu ²	Feno
MS, %	89,26	35,70	90,41
PB, % MS	6,42	19,93	4,89
FDN, % MS	22,91	51,68	76,84
FDA, % MS	-	13,77	40,79
Lignina, % MS	1,87	0,69	5,54
EE, % MS	1,92	1,52	0,61
MM, % MS	6,74	5,2	7,6
NDT ³ , % MS	74,52	70,10	51,13

¹ MS = matéria seca, PB = proteína bruta, FDN = fibra insolúvel em detergente neutro, FDA = fibra insolúvel em detergente ácido, EE = extrato etéreo, MM = matéria mineral

²FGMu: farelo de glúten de milho úmido (Refinazil®)

³ Nutrientes digestíveis totais, calculado segundo metodologia de Weiss et al. (1992);

O farelo de glúten de milho úmido apresentou alta porcentagem de FDN, bem superior aos relatados na literatura (SANTOS et al., 2004; NRC, 1996). Segundo Moscardini (2009), este teor elevado de FDN do FGM é resultado da alta eficiência de extração do amido pela indústria fornecedora do produto.

Quanto aos resultados obtidos na análise da polpa cítrica peletizada, tal co-produto apresentou valores de matéria mineral mais altos que os relatados pelo NRC (1996), o que explica o seu teor de NDT de apenas 74,52%, inferior ao apresentado nas tabelas do NRC (1996).

O NDT dos ingredientes foi obtido através de metodologia de Weiss et al. (1992), utilizando os valores das análises bromatológicas, com exceção do N-FDN e N-FDA dos ingredientes, para os quais foram adotados os valores tabulares do NRC (1996).

4.2.2 Desempenho animal e características de carcaça Os dados de desempenho animal e características de carcaça do experimento 2 são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Desempenho e características de carcaça de bovinos Nelore em terminação alimentados com rações com diferentes aditivos

Variáveis	Tratamentos ¹				EPM ²	P ³
	CON	LEV	PROB1	PROB2		
Desempenho						
Peso inicial, kg	378,41	391,66	378,83	392,79	10,60	0,6608
Peso final, kg	502,33	501,34	502,16	507,66	4,07	0,6887
IMS, kg/d	9,14	9,48	9,20	9,31	0,18	0,5896
GPD, kg/d	1,15	1,15	1,15	1,20	0,04	0,8484
EA, GPD/IMS	0,126	0,121	0,125	0,129	0,0036	0,5437
ELm obs.	1,98	1,92	1,96	2,00	0,0276	0,2781
ELg obs.	1,32	1,27	1,30	1,34	0,0243	0,2778
Características carcaça						
Peso carcaça quente, kg	280,96	279,02	277,00	274,26	2,98	0,4691
Rendimento, %	56,02	55,53	55,20	54,13	0,47	0,0978
AOL, cm	70,20	68,03	68,11	69,28	2,45	0,9091
EGS, mm	5,18	3,89	4,53	4,08	0,32	0,0808

¹Tratamentos: C = controle; LEV = levedura *Saccharomyces cerevisiae* Biosaf[®]; PROB1 = combinação de levedura *Saccharomyces cerevisiae* e bactérias probióticas, dose 1g/bovino/dia.; PROB 2 = combinação de levedura *Saccharomyces cerevisiae* e bactérias probióticas, dose 3g/bovino/dia

² Erro padrão da média

³ Valor de probabilidade

⁴ Valores ajustados (Peso final ajustado = Peso de carcaça quente/0,54)

^{ab} Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferiram entre si (P<0,05)

Os aditivos testados não afetaram a IMS, o GPD, a eficiência alimentar dos animais, a energia líquida de manutenção e de ganho das rações ($P>0,05$) e a AOL dos animais. Também não foi observado efeito de tratamento para RC e EGS ($P>0,05$).

A adição dos aditivos levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) e a combinação de leveduras e bactérias probióticas não afetou a IMS o GPD e a EA dos animais. Em diversos trabalhos com bovinos leiteiros, onde foram reportados aumentos na produção de leite com a suplementação com aditivos fúngicos (ADAMS et al., 1981; VAN HORN et al., 1984; MALCOLM; KIESLING, 1986; HARRIS; LOBO, 1988; EDWARDS et al., 1990; GÓMEZ-ALARCON et al., 1990; WILLIAMS et al., 1991), houve sempre aumento na IMS. Martin e Nisbet (1991) e Wallace e Newbold (1992), julgam que o aumento no consumo de alimento é impulsionado em parte pelo aumento da taxa (mas normalmente não da extensão) da degradação da fibra.

Mir e Mir (1994), utilizando dietas com diferentes níveis de volumoso, também não observaram efeito de leveduras na IMS e desempenho de bovinos confinados. Hassan et al. (1996), trabalhando com touros Limousin x Holandês, com dietas com altos teores de concentrado, não observaram efeito de leveduras no ganho de peso dos animais. Rameshwar et al. (1998) também não observaram diferenças quanto a ingestão de matéria seca e conversão alimentar, porém observaram melhorias no ganho de peso de animais suplementados com leveduras. Greene et al. (2002) também não observaram diferenças na IMS e GPD e EA de bovinos suplementados com leveduras. Kuss et al. (2008) não observaram diferenças no desempenho dos bovinos alimentados com leveduras. Ferreira et al. (2009), apesar de não observarem diferenças quanto ao GPD e a CA, observaram efeitos variáveis na IMS em função da dose de leveduras que foi suplementada aos animais.

Krehbiel et al. (2003) sumarizaram os resultados de diversos ensaios de confinamento publicados a partir da década de 80 e relataram aumento no GPD de aproximadamente 2.5 a 5% e uma melhoria na EA de 2%, quando bovinos foram alimentados com rações contendo probióticos.

A ração utilizada neste experimento foi composta quase que totalmente por co-produtos, como a polpa cítrica rica em pectina e em FDN de alta digestibilidade e o FGMu rico em fibra de alta digestibilidade. É possível que esta ração não tenha causado estresse no ambiente ruminal

suficiente para possibilitar resposta positiva ao uso de probióticos. Quando a digestão da fração fibrosa da ração não está sendo prejudicada por ambiente ruminal inadequado, a chance de aumento na IMS e conseqüente aumento no GPD com uso probióticos deve ser limitada.

De acordo com Fuller (1989), a atividade dos probióticos inclui, além de melhoria na eficiência alimentar, ativação do sistema imune do animal. O principal local de ação dos próbióticos bacterianos é no intestino, onde, através da exclusão competitiva, diminuem a prevalência de microrganismos patogênicos, melhorando a absorção de nutrientes pelo hospedeiro, no caso os bovinos. Tal melhoria na absorção geraria uma melhoria na eficiência alimentar, pois o animal ingeriria uma quantidade menor de alimento, obtendo o mesmo ganho de peso. Porém, no presente estudo, a ração utilizada, assim como as condições do ambiente em que os animais estavam alocados, podem não ter sido tão desafiadores, não possibilitando aos probióticos expressarem seus efeitos positivos na digestão de fibras e absorção de nutrientes. Isto pode ser evidenciado pelo fato de os animais pertencentes ao tratamento controle não terem apresentado incidência de desordens digestivas, tanto ruminais quanto intestinais.

Os aditivos testados não afetaram os valores de EL_m e de EL_g das rações experimentais. Esse dado está de acordo com os dados de desempenho animal observados.

Os aditivos testados não tiveram efeitos nos dados de carcaça. Tais resultados também foram observados, no caso da inclusão de leveduras, por Mir e Mir (1994). Elam et al. (2003) também não observaram melhoria no rendimento de carcaça e na área de olho de lombo dos animais suplementados com bactérias probióticas.

4.2.3 Experimento 3

Os Valores médios da digestibilidade aparente no trato digestível total da MS, PB, FDA e FDN são apresentados na Tabela 12.

Tabela 12 – Digestibilidade aparente de nutrientes no trato digestivo total

	Tratamentos					
	CONT	MON	LEV	PROB1	PROB3	EPM
IMS, kg/dia	11,24	10,67	9,98	10,51	10,91	0,61
Dig. MS,%	62,52	62,71	58,98	57,26	61,43	4,81
Dig. PB,%	65,83	66,09	62,81	61,04	65,16	4,53
Dig. FDA,%	49,32	47,40	42,12	40,80	44,81	7,40
Dig. FDN,%	39,52	39,61	38,45	31,93	37,74	7,16

Os aditivos testados não afetaram as digestibilidades da MS, da MO, da FDN e da PB das rações ($P>0,05$). Esses dados corroboram a ausência de efeitos positivos dos aditivos testados no desempenho dos animais nos experimentos 1 e 2.

Tanto a digestibilidade da MS, MO e da FDN não foram melhoradas com o uso dos probióticos, justificando a ausência de efeito positivo destes aditivos na IMS dos animais. Esses dados reforçam a hipótese de que as rações utilizadas nos experimentos 1 e 2 não causaram desafio suficiente para o ambiente ruminal e intestinal dos animais.

Quanto à digestibilidade da matéria seca, alguns autores como Simpson (1978) observaram diminuição com a adição de monensina a dieta de bovinos confinados. Entretanto, Wedegaertner e Johnson (1983), em experimento realizado com bovinos confinados, alimentados com dieta a base de milho, observou aumento da digestibilidade e Marino (2008) não observou alteração no coeficiente de digestibilidade com a adição de monensina à dieta de nove vacas.

Diversos autores, como Horton (1980), Wedegaertner e Johnson (1983) e Beede et al. (1986) relataram que a digestibilidade da fibra em bovinos alimentados com alto teor de concentrado foi frequentemente aumentada com a adição de monensina sódica à dieta. Segundo Spears (1990), o efeito dos ionóforos na digestibilidade da fibra parece depender da fonte de fibra utilizada, assim como da composição da dieta.

Zinn (1994), em experimento realizado com bovinos confinados, alimentados com diferentes níveis de volumoso (10 e 20%), relataram que a digestibilidade da MO e da FDA no trato digestivo total não foi afetada ($P>10$) pela adição de monensina,

No caso da monensina, apesar da ausência de efeito estatístico, numericamente houve redução na IMS em relação ao tratamento controle, conforme relatado no experimento 1. Entretanto, as digestibilidades dos nutrientes não foram afetadas por esse aditivo.

Quanto a digestibilidade das rações contendo leveduras, Mir e Mir (1994), realizaram extenso experimento com bovinos confinados alimentados com dietas com diferentes proporções de volumoso e concentrado, com adição de *Saccharomyces cerevisiae*. Não observaram diferenças quanto a digestibilidade dos nutrientes, com exceção da dieta com maior teor de concentrado, em que ocorreu aumento ($P<0,05$) na digestibilidade da MS e da PB da dieta. Gattass (2008), também em experimento com bovinos em confinamento, não observou nenhuma diferença quanto a digestibilidade aparente da MS, MO, PB, EE, FDN, FDA, HCEL, CHOT e CNF com a adição de leveduras.

Em relação a digestibilidade das dietas para bovinos terminados em confinamento contendo microrganismos probióticos, Beauchemin et al. (2003) observou que a adição de *Enterococcus faecium* I combinação de *Enterococcus faecium* e *Saccharomyces cerevisiae* aumentou a digestibilidade da MS da ração com alto teor de concentrado. Lehloenya et al. (2008) realizou experimento com o objetivo de avaliar os efeitos da adição de *Propionibacterium* P169, da levedura *Saccharomyces cerevisiae* e da combinação de ambas na digestibilidade dos nutrientes. Observou que a adição de apenas levedura tendeu a aumentar a digestibilidade total da MO, FDN e FDA. Yang et al. (2004) relatou que a adição de bactérias probióticas e a sua combinação com leveduras não tiveram efeitos na digestibilidade da ração no trato digestivo total.

5 CONCLUSÕES

Machos Nelore castrados ou não, confinados com rações com altos teores de concentrado ricos em co-produtos como polpa cítrica e farelo de glúten de milho úmido (Refinazil úmido) não apresentaram melhor desempenho nem melhor digestibilidade dos nutrientes quando suplementados com monensina sódica ou com microrganismos probióticos.

REFERÊNCIAS

- ABU-TARBOUSH, H.M.; AL-SAIADY, M.Y; KEIR EL-DIN, A.H. Evaluation of diet containing lactobacilli on performance, fecal coliform, and lactobacilli of young dairy calves. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 57, p. 39-49, 1996.
- ADAMS, A.L.; HARRIS JUNIOR, B.; VAN HORN, H.H. Effects of varying forage types on milk production responses to whole cottonseed, tallow, and yeast. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 78, n. 3, p.573-581, 1995.
- AGAZZI, AL; INVERNIZZI, G.; FERRONI, M.; VANDONI, V.; SOGIFO ROSSI, C. A.; SAVOINI, G.; DELL'ORTO, V.; CHEVAUX, E. Effects of live yeast on growth performances and meat quality of beef cattle fed fast or slow fermentable diets. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 87, suppl. 2, Abstract T266, 2009.
- AMETAJ, B.N.; BRADFORD, B.J.; BOBE, G.; NAFIKOV, R.A.; LU, Y.; YOUNG, J.W.; BEITZ, D.C. Strong relationships between mediators of the acute phase response and fatty liver in dairy cows. **Canadian Journal Animal Science**, v. 85, p. 15-175, 2005.
- ANDERSON, V.L. Diets with and without yeast for early weaned beef calves. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 71, suppl. 1, p. 239, 1993
- ARAMBEL, M.J.; TUNG, R.S. Effects of yeasts on the rumen ecosystem. In: RUMEN FUNCTION CONFERENCE, 19., 1987, Chicago. **Proceedings...**
- BAILE, C.A.; McLAUGHLIN, C.L. Mechanisms controlling feed intake in ruminants: a review. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 64, p. 915-922, 1987.
- BAKER, S.K. Rumen methanogens and inhibition of methanogenesis. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 50, n. 8, p. 1293-1298, 1999.
- BARDUCCI, R.S.; SARTI, L.M.N.; ARRIGONI, M.D.B.; PACHECO, R.D.L.; MILLEN, D.D.; MARTINS, C.L.; BALDIN, S.R.; PARRA, F.S.; RONCHESSES, J.R.; TOMAZELLA, D.; LEIVA, T.; ROSA, H.D.; MARIANI, T.M.; BASTOS, J.P.S.T.; PUTAROV, T.C. Feedlot performance of Brangus cattle fed monensin or polyclonal antibody preparation against lactate-producing rumen bacteria. **Journal of Animal Science**, v.87 (Suppl.2), Abstract T276, 2009.
- BARFORD, J.P.; HALL, R.J. An examination of the crabtree effect in *Saccharomyces cerevisiae*: the role of respiratory adaptation. **Journal of General Microbiology**, Reading, v. 114; p. 267-275, 1979.
- BARTON, M.D. Antibiotic use in animal feed and its impact on human health. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v. 13, p. 279-299, 2000.
- BAUMBERGER, C.; ULEVITHC, R.J.; DAYER, J.M. Modulation of endotoxic activity of lipopolysaccharide by high-density lipoprotein. **Pathobiology**, Basel, v. 59, p. 378-383, 1991.

BEAUCHEMIN, K.A.; YANG, W.Z.; MORGAVI, D.P.; GHORBANI, G.R.; KAUTZ, W.; LEEDLE, J.A.Z. Effects of bacterial direct fed microbials and yeast on site and extent of digestion, blood chemistry, and subclinical ruminal acidosis in feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 81, p. 1628-1640, 2003.

BECHMAN, T. J.; CHAMBERS, J. V.; CUNNINGHAM, M. D. Influence of *Lactobacillus acidophilus* on performance of young dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 60, suppl. 1, p. 74, 1977

BEEMAN, K. The effect of *Lactobacillus spp.* on convalescing calves. **Agripractice**, Santa Barbara, v.6, p. 8-10, 1985.

BEESON, W.M.; PERRY, T.W.; REYNOLDS, P.J. The effect of surfactants on the growth rate of swine. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 12, p. 619-622, 1953.

BENYACOU, J.; CZARNECKI-MAULDEN, G.L.; CAVADINI, C.; SAUTHIER, T.; ANDERSON, R.E.; SCHIFFRIN, E.J.; VAN DER WEID, T. Supplementation of food with *Enterococcus faecium* (SF68) stimulates immune functions in young dogs. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 133, p. 1158-1162, 2003.

BERGEN, W.G.; BATES, D.B. Ionophores: their effect on production efficiency and mode of action. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 58, p. 1465-1483, 1984.

BERTO, D.A. **Levedura seca de destilarias de álcool de cana-de-açúcar (*Saccharomyces spp.*) na alimentação de leitões em recria**. 1985. 133 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1985.

BIZZINI, B.; FATTAL-GERMAN, M. Use of *Saccharomyces cerevisiae* vells as a biological response modifier in experimental infections. **FEMS Microbiology Immunology**, Amsterdam, v. 2, p. 155-167, 1990.

BONALDI, G.; BURATTO, L.; DARSIE, G.; DIDONE, G.P.; MONDINI, S. Use of *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus acidophilus* in calves. **Obiettivi e Documenti Veterinari**, Bologna, v.7, p. 49-53, 1986.

BRASHEARS, M. M.; GALYEAN, M. L.; LONERAGAN, G.H. Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 and performance by beef feedlot cattle given *Lactobacillus* direct-fed microbials. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 66, p. 748-754, 2003.

BRITTON, R.A.; STOCK, R.A. **Annual report 1987**. Oklahoma City: Oklahoma Agricultural Experiment Station, 1987. p. 125-137. (Annual Report, 121)

BRUCE, B.B.; GILLILAND, S.E.; BUSH, L.J.; STALEY, T.E. Influence of feeding cattle cells of *Lactobacillus acidophilus* on fecal faecal flora of young dairy calves. **Oklahoma Animal Science Research Report**, v. 207.

CALLAWAY, E.S.; MARTIN, S.A. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* culture on ruminal bacteria that utilize lactate and digest cellulose. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 80, p. 2035-2044, 1997.

CALLAWAY, T.R.; ELDER, R.O.; KEEN, J.E.; ANDERSON, R.C.; NISBET, D.J. Forage feeding to reduce pre harvest *Escherichia coli* populations in cattle: a review. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 86, p. 852-860, 2003.

CARLI, E.M. **Utilização de *Lactobacillus paracasei* como probiótico para controle de *Salmonella spp.* em frangos de corte.** 2002. 67 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia em Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2002.

CARMEAN, B.R.; JOHNSON, D.E. Persistence of monensin-induced changes in methane emissions and ruminal protozoa numbers in cattle. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 68, suppl. 1, Abstract 517, 1990.

CARRO, M.D.; LEBZIEN, P.; ROHR, K. Effects of yeast culture on rumen fermentation, digestibility and duodenal flow in dairy cows fed a silage based diet. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 32, p. 219-229, 1992.

CHADEMANA, I.; OFFER, N. W.; The effect of dietary inclusion of yeast culture on digestion in the sheep. **Animal Production**, Edinburgh, v. 50, p. 483-489, 1990.

CHAGAN, I.; USHIDA, K. Detection of methanogens and proteolytic bacteria from a single cell of rumen ciliate protozoa. **Journal of General and Applied Microbiology**, Tokyo, v. 50, p. 203-212, 2004.

CHALUPA, W.; CORBETT, W.; BRETHOUR, J.R. Effects of monensin and ampicillin on rumen fermentation. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 51, p. 170-179, 1980.

CHAUCHEYRAS, F.; FONTY, G.; BERTIN, G. In vitro H₂ utilization by a ruminal acetogenic bacterium cultivated alone or in association with an archaea methanogen is stimulated by a probiotic strain of *Saccharomyces cerevisiae*. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v. 61, p. 3466-3469, 1995.

CHEN, M.; WOLIN, M.J. Effect of monensin and lasalocid-sodium on the growth of methanogenic and rumen saccharolytic bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v. 38, p. 72-77, 1979.

CHENG, K.J.; McALLISTER, T.A.; POPP, J.D.; HRISTOV, A.N.; MIR, Z.; SHIN, H.T. A review of bloat in feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 76, p. 299-308, 1998.

CHEVAUX, E.; FABRE, M.M. Probiotic yeast in small ruminants. **Feed Mix**, Doetinchem, v. 15, p. 28-29, 2007.

CLARY, E.M.; BRANDT, R.T.; HARMON JUNIOR, J.; NAGARAJA, T.G. Supplemental fat and ionophores in finishing diets: feedlot performance and ruminal digesta kinetics in steers. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 71, p. 3115-3123, 1993.

COLE, C.B.; FULLER, R. A note on the effect of host specific fermented milk on the coliform population of the neonatal rat gut. **The Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 56, p. 495-498, 1984.

COLE, N.A.; PURDY, C.W.; HUTCHESON, D.P. Influence of yeast culture on feeder calves and lambs. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 70, p. 1682-1690, 1992.

COLLINS, F.M.; CARTER, P.B. Growth of salmonellae in orally infected germfree mice. **Infection and Immunity**, Bethesda, v.21, p. 41-44, 1978.

COOPER, R.; KLOPFENSTEIN, T.; STOCK, R.; PARROTT, C.; HERROLD, D. Effect of rumensin and feed intake variation on ruminal pH. In: UNIVERSITY OF NEBRASKA. **Nebraska beef report**. Lincoln: University of Nebraska, 1997.

CORREA, C.E.S.; SHAVER, R.D.; PEREIRA, M.N.; LAUER, J.G.; KOHN, K. Relationship between corn vitreousness and ruminal in situ starch degradability. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 85, n. 11, p. 3008-3012, 2002.

CRITTENDEN, R.G. Prebiotics. In: TANNOCK, G. (Ed.). **Probiotics: a critical review**. Wymondham: Horizon Scientific Press, 1999.

DARTT, R.M.; BOLING, J.A.; BRADLEY, N.W. Supplemental protein withdrawal and monensin in corn silage diets of finishing steers. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 46, p. 345-349, 1978.

DAWSON, K.A. Mode of action of the yeast culture, Yea-Sacc, in the rumen: a natural fermentation modifier. In: LYONS, T.P. (Ed.). **Biotechnology in the feed industry**. Nicholasville: Alltech Technical Publications, 1987. p. 119-125.

_____. Current and future role of yeast culture in animal production: a review of research over the last six years. In: ALLTECH'S ANNUAL SYMPOSIUM, 8., 1992, Nicholasville. **Proceedings...** Nicholasville: Alltech Technical Publications, 1992. p. 45-56.

DAWSON, K.A.; NEWMAN, K.E. Fermentations in rumen-simulating continuous cultures receiving probiotic supplements. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 66, suppl. 1, Abstract 500, 1988.

DAWSON, K.A.; NEWMAN, K.E.; BOLING, J.A. Effects of microbial supplements containing yeast and lactobacilli on roughage-fed ruminal microbial activities. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 68, n. 10, p. 3392-3398, 1990.

DAWSON, K.A.; RASMUSSEN, M.A.; ALLISON, M.J. Digestive disorders and nutritional toxicity. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Ed.). **The rumen microbial ecosystem**. London: Elsevier, 1997. p. 633-660.

DEIGNAN, T.; ALWAN, A.; KELLY, J.; McNAIR, J.; WAREN, T.; FARRELY, C.O. Serum haptoglobin: an objective indicator of experimentally-induced salmonella infection in calves. **Residence Veterinary Science**, v. 69, p. 153-158, 1990.

DEITCH, E.A. Bacterial translocation on the gut flora. **Journal of Trauma**, Hagerstown, v. 30, p.S184-S188, 1990.

DENEV, S.A.; PEEVA, Tz; RADULOVA, P.; STANCHEVA, N.; STAYKOVA, G.; BEEV, G.; TODOROVA, P.; TCHOBANOVA, S. Yeast cultures in ruminant nutrition. **Bulgarian Journal of Agricultural Science**, Sofia, v. 13, p.357-374, 2007.

DENNIS, S.M.; NAGARAJA, T.G.; BARTLEY, E.E. Effects of lasalocid or monensin on lactate-producing or using rumen bacteria. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 52, p. 418-426, 1981.

DEPENBUSCH, B.E.; DROUILARD, J.S.; LOE, E.R.; HIGGINS, J.J.; CORRIGAN, M.E.; QUINN, M. Efficacy of monensin and tylosin in finishing diets based on steam-flaked corn with and without corn wet distillers grains with solubles. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 86, p. 2270-2276, 2008.

DONOHU, A.L. Biochemical studies on the fate of monensin in animals and in the environment. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 58, p. 1528-1539, 1984.

DOREAU, M.; JOUANY, J.P. Effect of a *Sacharomyces cerevisiae* culture on nutrient digestion in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 81, n. 12, p. 3214-3221, 1998

ECKLES, C.H.; WILLIAMS, V.M.; WILBUR, J.W.; PALMER, L.S.; HARSHAW, H.M. Yeast as a supplementary feed for calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 7, p. 421-439, 1924.

EDWARDS, I.E.; MUTSVANGWA, T.; TOPPS, J.H.; PATERSON, G.F.M. The effect of supplemental yeast culture (Yeastacc) on patterns of rumen fermentation and growth performance of intensively fed bulls. **Animal Production**, Edinburgh, v. 51, p.579, 1990.

EL HASSAN, S.M.; NEWBOLD, C.J.; WALLACE, R.J. The effect of yeast culture on rumen fermentation: growth of the yeast in the rumen and the requirement for viable yeast cells. **Animal Production**, Edinburgh, v. 56, p. 463, 1993.

ELAM, C.J.J. Acidosis in feedlot cattle: practical observations. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 43, p. 898-901, 1976.

ELAM, N.A.; GLEGHORN, J.F.; RIVERA, J.D.; GALYEAN, M.L.; DEFOOR, P.J.; BRASHEARS, M.M.; YOUNTS-DAHL, S.M. Effects of live cultures of *Lactobacillus acidophilus* (strains NP45 and NP51) and *Propionibacterium freudenreichii* on performance, carcass, and intestinal characteristics, and *Escherichia coli* O157 shedding of finishing beef steers. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 81, p. 2686-2698, 2003.

ELLINGER, D.K.; MULLER, L.D.; GLANTZ, P.J. Influence of feeding fermented colostrum and *Lactobacillus acidophilus* on fecal flora and selected blood parameters of young dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 61, suppl. 1, p. 126, 1978.

ELLITOTT, R.; ASH, A.J.; CALDERON-CORTES, F.; NORTON, B.W. The influence of anaerobic fungi on rumen volatile fatty acid concentrations in vivo. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 109, p. 13-17, 1987.

EMMANUEL, D.G.V.; JAFARI, A.; BEAUCHEMIN, K.A.; LEEDLE, J.A.Z.; AMETAJ, B.N. Feeding live cultures of *Enterococcus faecium* and *Saccharomyces cerevisiae* induces an inflammatory response in feedlot steers. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 85, p. 233-239, 2007.

ERASMUS, L.J.; BOTHA, P.M.; KISTNER, A. Effect of yeast culture on production, rumen fermentation, and duodenal nitrogen flow in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 75, n. 11, p. 3056-3066, 1992.

ERASMUS, L.J.; COERTZEL, R.F.; LEVITON, M.N.; CHEVAUX, E. A meta-analysis of the effect of monensin or live yeast or a combination thereof on performance of beef cattle. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 87, suppl. 2, Abstract T220, 2009.

FALLIN, R.J.; HARTE, F.J. The effect of yeast culture inclusion in the concentrate diet on calf performance. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 70, suppl. 1, p. 119, 1987.

FERREIRA, L.H.; SIQUEIRA, G.R.; POLETO, C.L.; RESENDE, F.D.; FARIA, M.H.; ROTH, M.T.P.; MIGUEL, F.B. Terminação de bovinos de corte em confinamento com dietas contendo leveduras vivas (*Saccharomyces cerevisiae*). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 46., 2009, Maringá. **Anais...** Maringá: SBZ, 2009.

FIEMS, L.O.; COTTYN, B.G.; BOUCQUE, C.V. Effect of yeast supplementation on health, performance and rumen fermentation in beef bulls. **Archiv fuer Tierernaehrung**, Langhorne, v. 47, n. 3, p. 295-300, 1995.

FITZGERALD, K.A.; ROWE, D.C.; GOLENBOCK, D.T. Endotoxin recognition and signal transduction by the TLR4/MD2-complex. **Microbes Infectology**, v. 15, p. 1361-1367, 2004.

FONDEVILA, M.; NEWBOLD, C. J.; HOTTEN, P. M.; ORSKOV, E. R. A note on the effect of *Aspergillus oryzae* fermentation extract on the rumen fermentation of sheep fed straw. **Animal Production**, Edinburgh, v. 51, p. 422-425, 1990.

FRUMHOLTZ, P.P.; NEWBOLD, C.J.; WALLACE, R.J. Influence of *Aspergillus oryzae* fermentation extract on the fermentation of a basal ration in the rumen simulation technique (Rusitec). **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 113, p. 169-172, 1989

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

_____. Introduction. In: _____. (Ed.). **Probiotics 2: applications and practical aspects**. London: Chapman & Hall, 1997. p. 1-8.

FULLER, R.; PERDIGÓN, G. Immunomodulation by the gut microflora and prebiotics. In: _____. (Ed.). **Probiotics 3: immunomodulation by the gut microflora and prebiotics**. Dordrecht: Kluwer Academic, 2000. p. 271-273.

FUMIAKI, A.; ISHIBASHI, N.; SHIMAMURA, S. Effect of administration of bifidobacteria and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 78, p. 2838-2846, 1995.

GHORBANI, G.R.; MORGAVI, D.P.; BEAUCHEMIN, K.A.; LEEDLE, J.A.Z. Effects of bacterial direct-fed microbials on ruminal fermentation, blood variables, and the microbial populations of feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 80, p. 1977-1986, 2002.

GILL, D.R.; SMITH, R.A.; BALL, R.L. The effect of probiotic feeding on health and performance of newly-arrived stocker calves. **Oklahoma Agricultural Experiment Station**, Stillwater, v. 119, p. 202-204, 1987.

GILLILAND, S.E.; BRUCE, B.B.; BUSCH, L.J.; STALEY, T.E. Comparison of two strains of *Lactobacillus acidophilus* as dietary adjuncts for young calves. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 63, p. 964-972, 1980.

GOMEZ-ALARCON, R.A.G.; HUBER, J.T.; HIGGINBOTHAM, G.E. Influence of feeding an *Aspergillus oryzae* culture on the milk yields, eating patterns, and body temperatures of lactating cows. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 69, p. 1733-1740.

GOODRICH, R.D.; GARRET, J.E.; GHAST, D.R.; KIRICH, M.A.; LARSON, D.A.; MEISKE, J.C. Influence of monensin on the performance of cattle. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 58, p. 1484-1498, 1984.

GOZHO, G.N.; PLAIZIER, J.C.; KRAUSE, D.O.; KENNEDY, A.D.; WITTENBERG, K.M. Subacute ruminal acidosis induces ruminal lipopolysaccharide endotoxin release and triggers an inflammatory response. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 88, p. 1399-1403, 2005.

GREENE, W. Use of *Saccharomyces cerevisiae* in beef cattle. In: SIMPÓSIO GOIANO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE BOVINOS DE CORTE, 4., 2002, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2002. p. 79-96.

GUAN, H.; WITTENBERG, K.M.; OMINSKI, K.H. KRAUSE, D.O. Efficacy of ionophores in cattle diets for mitigation of enteric methane. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 84, p. 1896-1906, 2006.

GUARNER, F.; SCHAAFSMAN, G.J. Probiotics. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 39, p. 237-238, 1988.

HABIB, G.; LENG, R.A. The effects of monensin on rumen fungi population in sheep given diets based on oaten chaff or wheat straw. In: _____. **Recent advances in animal nutrition in Australia**. Armidale: University of New England, 1986.

HARMON, D. Sudden feedlot deaths: are pen deaths due to ruminal or systemic dysfunction or a combination of both? In: ELANCO ANIMAL HEALTH. **Scientific update on rumensin/tylan/mycotil for the professional feedlot consultant**. Indianapolis, 1996. p. L1-L6.

HARRIS, B.; LOBO, R. Feeding yeast culture to lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Albany, v. 77, suppl. 1, p. 276, 1988.

HARRISON, G.A.; HEMKEN, R.W.; DAWSON, K.A. Influence of addition of yeast culture supplement to diets of lactating cows on ruminal fermentation and microbial population. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 71, n. 11, p. 2967-2975, 1988.

HASSAN, S.M.; NEWBOLD, C.J.; EDWARDS, I.E.; TOPPS, J.H.; WALLACE, R.J. Effect of yeast culture on rumen fermentation, microbial protein flow from the rumen and live-weight gain in bulls given high cereal diets. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 62, n. 2, p. 43-48, 1996.

HESSION, A.O.; TUNG, R.S.; KRECK, E.M.; KUNG JUNIOR, L. Effect of adding live yeast cultures on in vitro ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 70, suppl. 1, p. 309, 1992.

HIGGINBOTHAM, G.E.; BATH, D.L. Evaluation of *Lactobacillus* fermentation cultures in calf feeding systems. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 76, n. 2, p. 615-620, 1993.

HOOK, S.E.; NORTHWOOD, K.S.; WRIGHT, A.D.G.; McBRIDE, B.W. Long-term monensin supplementation does not significantly affect the quantity or diversity of methanogens in the rumen of the lactating dairy cow. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v. 75, n. 2, p. 374-380, 2009.

HORTON, G.M.J.; BASSENDOWSKI, K.A.; KELLER, E.H. Digestion and metabolism in lambs and steers fed monensin with different levels of barley. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 50, p. 997-1008, 1980.

HRISTOV, A.N.; IVAN, M.; RODE, L.M.; McALLISTER, T.A. Fermentation characteristics and ruminal ciliate protozoal populations in cattle fed medium or high-concentrate barley diets. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 79, p. 515-524, 2001.

HUBER, T. L. 1971. Effect of acute indigestion of compartmental water volumes and osmolarity in sheep. **American Journal Veterinary Medicine**, v. 32, p.887, 1971.

HUBER, J.T. Probiotics in cattle. In: FULLER, R. (Ed.). **Probiotics 2: applications and practical aspects**. London: Chapman & Hall, 1997. chap. 7, p. 162-181.

HUCK, G.L.; KREIKEMEIR, K.K.; DUCHARME, G.A. **Effects of feeding two microbial additives in sequence on growth performance and carcass characteristics of finishing heifers, 2000**. Disponível em: <<http://www.oznet.ksu.edu/library/lvstk2/srp850.pdf>> Acesso em: 16 maio 2009.

HUDYMA, W.T.; GRAY, D. Effect of feeding yeast culture an sorting calves by weight on feedlot performance of calves fed a corn silage diet. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 68, suppl. 1, p.471, 1993.

HUFFMAN, R.P.; KARGES, K.K.; KLOPFENSTEIN, R.A.; STOCK, R.; BRITTON, A.; ROTH, L.D. The effect of *Lactobacillus acidophilus* on subacute ruminal acidosis. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 70, suppl. 1, p. 87, 1992.

HUGUES, J. Yeast culture applications in calf and dairy diets:a brief appraisal. In: LYONS, T.P. (Ed.). **Biotechnology in the feed industry**. Nicholasville: Alltech Technical Publications, 1987. p. 143-148.

HUNGATE, R.E. **The rumen and its microbes**. New York: Academic Press, 1966.

HUNTINGTON, G.B. Acidosis. In: CHURCH, D.C. (Ed.). **The ruminant animal: digestive physiology and nutrition**. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, 1988. p. 474-480.

HUTCHINSON, D. P.; COLE, N. A.; KEATON, W.; GRAHAM, G.; DUNLAP, R.; PITMAN, K. The use of living, nonfreeze-dried *Lactobacillus acidophilus* culture for receiving feedlot calves. **Proceedings Western Section of the American Society of Animal Science**, v. 31, p. 213, 1992.

ISOLAURI, E.; SÜTAS, Y.; KANKAANPÄÄ, P.; ARVILOMMI, H.; SALMINE, S. Probiotics: effects on immunity. **American Journal of Clinical Nutrition**. Bethesda, v. 73, p. 444S-450S, 2001.

JIN, L.Z.; HO, Y.W.; ABDULLAH, N.; JALALUDIN, S. Growth performance, intestinal microbial populations, and serum cholesterol of broilers fed diets containing *Lactobacillus* cultures. **Poultry Science**, Ithaca, v. 77, p. 1259-1265, 1998.

JOHNSON K.A.; JOHNSON, D.E. Methane emissions from cattle. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 73, p. 2483-2492, 1995.

JONES, G.W.; RUTTER, J.M. Role of K88 antigen in the pathogenesis of neonatal diarrhoea caused by *Escherichia coli* in piglets. **Infection and Immunity**, Bethesda, v. 6, p. 918-927, 1972.

KAMRA, D.N. Rumen microbial ecosystem. Special Section: Microbial Diversity. **Current Science**, Bangalore, v. 89, p.124-135. 2005

KIESLING, H.E.; LOEFGREEN, G.P. THOMAS, J.D. A viable *Lactobacillus* culture for feedlot cattle. **Proceedings Western Section of the American Society of Animal Science**, v. 33, p. 53-56, 1982.

KMET, V.; FLINT, H.J.; WALLACE, R.J. Probiotics and manipulation of rumen development and function. **Archives of Animal Nutrition**, Berlin, v. 44, p. 1-10, 1993.

KOERS, W.C.; BRITTON, R.; KLOPFENSTEIN, T.J.; WOODS, W.R. Ruminant histamine, lactate and animal performance. **Journal of Animal Science**, Albany, v.43, p. 684-691, 1976.

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

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**, Albany, v. 81, suppl. 2, p. E120-E132, 2003.

KUNG JR., L.; HUBER, J.T.; KRUMMEREY, J.D.; ALLISON, L. COOK, R.M. Influence of adding malic acid to dairy cattle rations on milk production, rumen volatile acids, digestibility, and nitrogen utilization. **Journal of Dairy Science**, Albany, v. 65, p. 1170-1174, 1982.

KUSS, F.; RESTLE, J.; PASCOAL, L.L.; SANTOS, A.P. dos; MENEZES, L.F.G. de; OSMARI, M.P. Desempenho de vacas de descarte recebendo dietas com ou sem monensina. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 1, jan./fev. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000100028&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 16 set. 2009.

LANA, R.P.; RUSSELL, J.B. Use of potassium depletion to assess adaptation of ruminal bacteria to ionophores. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v. 62, p. 4499-4503, 1996.

LANA, R.P.; RUSSELL, J.B.; AMBURGH, M.E.V. The role of pH in regulating ruminal methane and ammonia production. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 76, p. 2190-2196, 1998

LASSITER, C.A.; HUFFMAN, C.F.; DUNCAN, C.W. Effect of a live yeast culture and trimethylalkylammonium stearate on the performance of milking cows. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.41, p. 1077-1080, 1958.

LEE, R.W.; BOTTS, R.L. Evaluation of single oral dose and continuous feeding of *Streptococcus faecium* M74 (Syntabac) on the performance of incoming feedlot cattle. **Journal of Animal**, Albany, v. 66, suppl. 1, p. 460, 1988.

LEEDLE, J.A.Z.; GREENING, R.C. Posprandial changes in methanogenic and acidogenic bacteria in the rumens of steers fed high- or low-forage diets once daily. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v.54, p.502-506, 1988.

LILA, Z.A.; MOHAMMED, N.; YASUI, T. Effects of a twin strain of *Saccharomyces cerevisiae* live cells on mixed ruminal microorganism fermentation in vitro. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 82, p. 1847-1854, 2004.

LOYOLA, V.R.; PAULE, B.J.A. Utilização de aditivos em rações de bovinos: aspectos regulatórios e de segurança alimentar. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 8., 2006, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2006. 373 p.

LUND, A. Yeasts and moulds in the bovine rumen. **Journal of General Microbiology**, Reading, v. 81, p. 453-462, 1974.

LODGE, S.T.; KLOPFENSTEIN, S.T.; STOCK, R.; HEROLD, D. **Use of direct-fed microbials to alleviate subacute acidosis**. Lincoln: University of Nebraska, Institute of Agriculture and Natural Resources, 1996. (Beef Cattle Report, MP 66-A).

LUCHIARI FILHO, A. **Pecuária da carne bovina**. São Paulo: o Autor, 2000. 134p.

MALCOM, K.J.; KIESLING, H.E. Influence of live yeast culture and whole cottonseed on milk production and butterfat production of lactating dairy cows and rumen fermentation of steers. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 63, suppl. 1, p. 473, 1986.

MARINO, C.T. **Efeito do preparado de anticorpos policlonais sobre o consumo alimentar, fermentação ruminal e digestibilidade *in vivo* de bovinos suplementados com três fontes energéticas**. 2008. 121 p. Tese (Doutorado em Zootecnia). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2008.

MARTIN, S.A.; NISBET, D.J. Effect of direct-fed microbial on rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 75, p.1 736-1744, 1992.

MARTIN, S.A.; STREETER, M.N. Effect of malate on in vitro mixed ruminal microorganism fermentation. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 73, p. 2141-2145, 1995.

MAY, P.J. Controlling bloat with monensin in cattle fed diets containing lupin seed. **Proceedings of the Australian Society of Animal Production**, Armidale, v. 18, p. 517, 1990.

McCARTHY, F.D.; BERGEN, W.G.; HAWKINS, D.R. Protein sparing effect and performance of growing: finishing steers fed monensin. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 49, suppl. 1, p. 79, 1979

McGUFFEY, R.K.; RICHARDSON, L.F.; WILKINSON, J.I.D. Ionophores for dairy cattle: current status and future outlook. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 84, suppl. E, p. E194-E203, 2001.

McLEOD, K.R.; KARR, K.J.; DAWSON, K.A.; TUCKER, R.E.; MITCHELL Jr., G. Rumen fermentation and nitrogen flow in lambs receiving yeast culture and/or monensin. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 73, suppl. 1, p.266, 1990.

McPEAKE, C.A.; ABNEY, C.S.; KIZILKAYA, K.; GALYEAN, M.L.; TRENKLE, A.H.; WAGNER, J.J.; WARE, D.R.; RUST, S.R. Effects of direct-fed microbial products on feedlot performance and carcass characteristics of feedlot steers. In: PLAINS NUTRITION CONFERENCE, 2002 **Proceedings...** 2002. p. 133. (Texas A&M Agricultural Experiment Station. Publication, AREC 02-20).

MIDGLEY, J.; DESMARCHELIER, P. Pre-slaughter handling of cattle and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC). **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 32, p. 307–311, 2001.

MILLEN, D.D. **Desempenho, avaliação ruminal e perfil metabólico sanguíneo de bovinos jovens confinados suplementados com monensina sódica ou anticorpos policlonais**. 2008. 130 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2008.

MILLER-WEBSTER, T.; HOOVER, W.H.; HOLT, M.; NOCEK, J.E. Influence of yeast culture on ruminal microbial metabolism in continuous culture. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 85, p. 2009-2014, 2002.

MIR, Z.; MIR, P.S. Effect of the addition of live yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on growth and carcass quality of steers fed high-grain diets and on feed digestibility and in situ degradability. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 72, p. 537-545, 1994.

MIRANDA, L.F. **Desempenho, desenvolvimento ponderal e comportamento ingestivo de novilhas leiteiras alimentadas com dietas à base de cana-de-açúcar**. 1998. 55 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 1998.

MIRANDA, L.F.; CARVALHO, M.A.G.; TAVARES, F.S.; RIBEIRO, G.V.; ZANINI, S.F.; LOUREIRO NETO, A.C.; MATTOS, F.M.; GIUBERT, G.R.; PAULINO NETO, D. Desempenho e características das carcaças de novilhos Simental suplementados com probióticos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2001. p. 1035-1037.

MORAIS, J.A.S.; BERCHIELLI, T.T.; REIS, R.A. Aditivos. In: BARCHIELI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Ed.). **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2006. p. 539-561.

MOSCARDINI, M.C. **Substituição do milho moído fino por polpa cítrica e por farelo de glúten de milho em rações para bovinos terminados em confinamento**. 2009. 94 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

MOYA, D.; CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A.; BLANCH, M.; FANDINO, J. I.; CASTILLEJOS, L.; YOON, I. Effects of dietary changes and yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on rumen microbial fermentation of Holstein heifers. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 1, p. 1446, 2009.

MUNTIFERING, R.B.; THEURER, B.; NOON, T.H. Effects of monensin on site and extent of whole corn digestion and bacterial protein synthesis in beef steers. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 53, p. 1565-1573, 1981.

MUNTIFERING, R.B.; THEURER, B.; SWINGLE, R.S.; HALE, W.H. Effect of monensin on nitrogen utilization and digestibility of concentrate diet by steers. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 50, p. 930-936, 1980.

MUTSVANGWA, T.; EDWARDS, I.E.; TOPPS, J.H.; PATERSON, G.F.M. The effect of dietary inclusion of yeast culture (Yea-Sacc) on patterns of rumen fermentation, food intake and growth of intensively fed bulls. **Animal Production**, Edinburgh, v. 55, p. 35-40, 1992.

NAGARAJA, T.G. Response of the gut and microbial populations to feedstuffs: the ruminant story. In: MINNESOTA NUTRITION CONFERENCE, 64., 2003, St. Paul. **Proceedings...** St. Paul, Minnesota, 2003. p. 64-77.

NAGARAJA, T.G.; CHENGAPPA, M.M. Liver abscesses in feedlot cattle: a review. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 76, p. 287-298, 1998.

NAGARAJA, T.G.; TAYLOR, M.B. Susceptibility and resistance of ruminal bacteria to antimicrobial feed additives. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v. 53, n. 7, p. 1620-1625, 1987.

NAGARAJA, T.G.; AVERY, T.B.; BARTLEY, E.E. Prevention of lactic acidosis in cattle by lasalocid or monensin. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 53, p.206-216, 1981.

NAGARAJA, T.G.; NEWBOLD, C.J.; VAN NEVEL, C.J. Manipulation of ruminal fermentation. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. **The rumen microbial ecosystem**. London: Blackie Academic and Professional, 1997. p. 523-632.

NAKANISHI, Y.; ARAVE, C.W.; STEWART, P.H. Effects of feeding *Lactobacillus acidophilus* yogurt on performance and behavior of dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 76, suppl. 1, p. 244, 1993.

NEWBOLD, C. J. Probiotics as feed additives in ruminant diets. In: MINNESOTA NUTRITION CONFERENCE, 51., 1990. **Proceedings...** p. 102-118.

NEWBOLD, C.J.; MCKAIN, N.; WALLACE, R.J. The effect of tetracycline and monensin on fermentation, microbial numbers and the development of ionophore-resistant bacteria in the rumen. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 75, p. 129-134, 1993.

NEWBOLD, C.J.; WALLACE, R.J.; CHEN, X.B. Different strains of *Saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on ruminal bacterial numbers in vitro and in sheep. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 73, p. 1811-1818, 1995.

NEWBOLD, C.J.; WALLACE, R.J.; McINTOSH, F.M. Mode of action of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a feed additive for ruminants. **British Journal of Nutrition**, London, v. 76, n. 2, p. 249-261, 1996.

NICODEMO, M.L.F. **Uso de aditivos na dieta de bovinos de corte**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2001. 54 p. (Embrapa Gado de Corte. Documentos).

NISBET, D.J.; MARTIN, S.A. The effect of *Saccharomyces cerevisiae* culture on lactate utilization by the ruminal bacterium *Selenomonas ruminatum*. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 69, p. 4628-4633, 1991.

NOCEK, J.E. Bovine acidosis: implications on laminitis. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 80, p. 1005-1028, 1997.

NOCEK, J.E.; HEALD, C.W.; POLAN, C.E. Influence of ration of physical form and nitrogen availability on ruminal morphology of growing bull calves. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 67, p. 334, 1984.

_____. Ruminal supplementation of direct-fed microbials on diurnal pH variation and in situ digestion in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 85, p. 429-433, 2002.

NOCEK, J.E.; KAUTZ, W.P.; LEEDLE, J.A.Z.; ALLMAN, J.G. Altering diurnal pH and in situ digestion in dairy cows with ruminal supplementation of direct-fed microbials and yeast. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 83, suppl.1, p. 296, 2000.

NORTON, C.L. The value of the addition of fresh bakers yeast to a normal ration for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 28, p. 927, 1945.

_____. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7th ed. Washington: National Academy Press, 1996. 242 p.

NURNI, E.; RANTALA, M. New aspects of Salmonella infection in broiler production. **Nature**, London, v. 241, p. 210-211, 1973.

OELLERMANN, S.O.; ARAMBEL, J.M.; KENT B.A. Effect of graded amounts of *Aspergillus oryzae* fermentation extract on ruminal characteristics and nutrient digestibility in cattle. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 73, p. 2413, 1990.

O'KELLY, J.C.; SPIERS, W.G. Effect of monensin on methane and heat productions of steers fed lucerne hay either ad libitum or at the rate of 250 g/h. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 43, p. 1789, 1992.

OLIVEIRA, M.V.M. **Utilização do ionóforo monensina sódica na alimentação de ruminantes**. 2003. 110 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

OLIVEIRA, M.V.M.; LANA, R.P.; CAMPOS, J.M.S. Desempenho de novilhas leiteiras sob dietas com diferentes níveis de monensina. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife. **Anais...** Recife: SBZ, 2002. 1 CD-ROM.

OLIVER, S.P.; PATEL, D.A.; CALLAWAY, T.R.; TORRENCE, M.E. ASAS Centennial Paper: developments and future outlook for preharvest food safety. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 87, p. 419-437, 2009.

ORR, C.L.; WARE, D.R.; MANFREDI, E.T.; HUTCHESON, D.P. The effect of continuous feeding of *Lactobacillus acidophilus* strain BT1386 on gain and feed efficiency of feeder calves. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 66, suppl. 1, p. 460, 1988.

OWENS, F.N.; SECRIST, D.S.; HILL, W.J. Acidosis in cattle: a review. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 76, p. 275-286, 1998.

PANCHAL, C.J.; WHITNEY, G.K.; STEWART, G.G. Susceptibility of *Saccharomyces spp.* and *Schwanniomyces spp.* to the aminoglycoside antibiotic G418. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v. 47, p. 1164-1166, 1984.

PARRA, I.; DeCONSTANZO, A. Influence of yeast culture supplementation during the initial 23 d on feed, or throughout a 59-d feeding period on performance of yearling bulls. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 70, suppl. 1, p. 287, 1992.

PETERSON, R.E.; KLOPFENSTEIN, T.J.; ERICKSON, G.E.; FOLMER, J.; HINKLEY, S.; MOXLEY, R.A.; SMITH, D.R. Effect of *Lactobacillus acidophilus* strain NP51 on *Escherichia coli* O157:H7 fecal shedding and finishing performance in beef feedlot cattle. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 70, p. 287-291, 2007.

PHILLIPS, A.D.; NAVABPOUR, S.; HICKS, S.; DOUGAN, G.; WALLIS, T.; FANKEL, G. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 target Peyer's patches in humans and cause attaching/effacing lesions in both human and bovine intestine. **Gut**, London, v. 47, p. 377-381, 2000.

PIVA, G.; BELLADONA, S.; FUSCONI, G. Effects of yeast on dairy cow performance, ruminal fermentation, blood components, and milk manufacturing properties. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 76, n. 9, p. 2717-2722, 1993.

POOS, M.I.; HANSON, T.L.; KLOPFENSTEIN, T.J. Monensin effects on diet digestibility, ruminal protein bypass and microbial protein synthesis. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 48, p. 1516-1524, 1979.

POTTER, E.L.; RAUN, A.P.; COOLEY, C.O.; RATHMACHER, R.P.; RICHARDSON, L.F. Effect of monensin on carcass characteristics, carcass composition and efficiency of converting feed to carcass. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 43, p. 678–683, 1976.

PRESSMAN, B.C. Biological applications of ionophores. **Annual Review of Biochemistry**, Palo Alto, v. 45, p. 501-503, 1976.

QUEIROZ, R.C.; BERGAMASCHINE, A.F.; BASTOS, J.F.P.; SANTOS, P.C.; LEMOS, G.C. Uso de produto à base de enzima e levedura na dieta de bovinos: digestibilidade dos nutrientes e desempenho em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n.6, p. 1548-1556, 2004.

QUIGLEY, J.D.; WALLIS, L.B.; DOWLEN, H.H.; HEITMANN, R.N. Sodium bicarbonate and yeast culture effects on ruminal fermentation, growth, and intake in dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 75, p. 3531-3538, 1992.

RAMESHWAR, S.; CHAUDHARY, L.C.; KAMRA, D.N.; PATHAK, N.N. Effect of dietary supplementation with yeast cell suspension (*Saccharomyces cerevisiae*) on nutrient utilization and growth response in crossbred calves. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, Seoul, v. 11, p.268-271, 1998.

RAUN, A.P.; COOLEY, C.O.; POTTER, E.L.; RATHMACHER, R.P.; RICHARDSON, L.F. Effect of monensin on feed efficiency of feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 43, p. 670–677, 1976.

RENZ, F. Milk production with the active yeast concentrate "Astrol". **Zuchtungskunde**, Berlin, v. 26, p. 228-304, 1954.

RENZ, F.; KOCH, A. Milk production with the active yeast concentrate "Astrol". **Zuchtungskunde**, Berlin, v. 28, p. 298-304, 1956.

RICHARDSON, L.F.; POTTER, E.L.; COOLEY, C.O. Effect of monensin on ruminal protozoa and volatile fatty acids. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 47, suppl. 1, p. 45, 1978.

RILLEY, M.A.; GOLDSTONE, C.M.; WERTZ, J.E.; GORDON, D. A phylogenetic approach to assessing the targets of microbial warfare. **Journal of Evolutionary Biology**, Basel, v. 16, p.4, 2003.

RODRIGUES, P.H.M. **Efeitos dos níveis de monensina e proporções volumosos/concentrados na ração sobre a utilização dos alimentos e parâmetros da fermentação ruminal em animais ruminantes**. 2000. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.

ROGER, V.; FONTY, G.; KOMISARCZUK-BONY, S.; GOUET, P. Effects of physiochemical factors on the adhesion to cellulose Avicel of the rumen bacteria *Ruminococcus flavefaciens* and *Fibrobacter succinogenes*. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v. 56, p. 3081-3087, 1990.

ROGERS, J.A.; DAVIS, C.L. Rumen volatile fatty acid production and nutrient utilization in steers fed a diet supplemented with sodium bicarbonate and monensin. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 65, n.6, p.944-952, 1982.

_____. The effect of short term and long term monensin supplementation and its subsequent withdrawal on digestion in sheep. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 65, p. 113-127, 1997.

ROGERS, M.; JOUANY, M.J.P.; THIVEND, P.; FONTENOT, J.P. Comparative effects of feeding and duodenal infusion of monensin on digestion in sheep. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 71, p. 1125-1133, 1991.

ROSE, A.H. Yeast, a microorganism for all species: a theoretical look at its mode of action. In: LYONS, T.P. (Ed.). **Biotechnology in the feed industry**. Nicholasville: Alltech Technical Publications, 1987. p. 113-118.

RUMPLER, W.V.; JOHNSON, D.E.; BATES, D.B. The effect of high dietary cation concentration on methanogenesis by steers fed diets with and without ionophores. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 62, p. 1737-1741, 1986.

RUSSELL, J.B.; HINO, T. Regulation of lactate production in *Streptococcus bovis*: a spiraling effect that contributes to rumen acidosis. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 68, p. 1712, 1985.

RUSSELL, J.B.; HOULIHAN, A.J. Ionophore resistance of ruminal bacteria and its potential impact on human health. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam, v.27, p. 65-74, 2006.

RUSSELL, J.B.; STROBEL, H.J. Effect of ionophores on ruminal fermentation. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v. 55, p. 1-6, 1989.

RUSSELL, J.B.; STROBEL, H.J.; CHEN, G. Enrichment and isolation of a ruminal bacterium with a very high specific activity of ammonia production. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v. 54, p. 872-877, 1988.

RUST, S.R.; METZ, K.; WARE, D.R. **Effects of Bovamine™ rumen culture on the performance and carcass characteristics of feedlot steers**. 2000. Disponível em: <http://beef.ans.msu.edu/Extension/Publications/Beef_Sheep_and_Forage_Research/MSU_Beef_Sheep_and_Forage_Report_2000.pdf>. Acesso em: 15 set. 2008.

SAAD, S.M.I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 42, n. 1, p. 1-16, 2006.

SANTOS, F.A.P.; MOSCARDINI, M.C. Substituição de fontes de amido por subprodutos ricos em pectina ou fibra de alta digestibilidade na ração de bovinos confinados. In: SIMPÓSIO DE NUTRIÇÃO DE RUMINANTES, 3., 2007, Botucatu. **Anais...** Botucatu: Grupo Nutrir, 200. p. 35-52.

SANTOS, F.A.P.; PEREIRA, E.M.; PEDROSO, A.M. Suplementação energética de bovinos de corte em confinamento. In: SIMPÓSIO SOBRE BOVINOCULTURA DE CORTE, 5., 2004, Piracicaba, 2004. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2004. p. 262-297

SAS INSTITUTE. **SAS:** user's guide: statistics. Cary, 1999. 965 p.

SCHELLING, G.T. Monensin mode of action in the rumen. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 61, p. 1518-1527, 1984.

SHIER, W.T.; DuBORDIEU, D.J. Sodium and calcium dependent steps in the mechanism of neonatal rat cardiac myocyte killing by ionophores: I. The sodium-carrying ionophore, monensin. **Toxicology and Applied Pharmacology**, San Diego, v. 116, p. 38-46, 1992.

SIEVERT, S.J.; SHAVER, R.D. Effect of nonfiber carbohydrates level and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on intake, digestion and milk production in lactating dairy cows. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 71, p. 1032-1040, 1993.

SLYTER, L.L. Influence of acidosis on rumen function. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 43, p. 910-929, 1976.

SLYTER, L.L.; RUMSEY, T.S. Effect of coliform bacteria, feed deprivation, and pH on ruminal D-lactic acid production by steer or continuous-culture microbial populations changed from forage to concentrates **Journal of Animal Science**, Albany, v. 69, p. 3055-3066, 1991.

SMITH, H.W. The development of the flora of the alimentary tract in young animals. **Journal of Pathology and Bacteriology**, Cambridge, v. 90, p. 495-513, 1965.

SMITH, D.; BLACKFORD, M.; YOUNTS, S.; MOXLEY, R.; GRAY, J.; HUNGERFORD, L.; MILTON, T.; KLOPFENSTEIN, T. Ecological relationships between the prevalence of cattle shedding *Escherichia coli* O157:H7 and characteristics of the cattle or conditions of the feedlot pen. **Journal of Food Production**, v. 64, p. 1889-1903, 2001.

SPEARS, J.W. Ionophores and nutrient digestion and absorption in ruminants. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 117, p. 632-638, 1990

STEWART, C.S. Factors affecting the cellulolytic activity of rumen contents. **American Society for Microbiology**, Baltimore, v. 33, p. 497-502, 1977.

STOCK, R.A.; LAUDERT, S.B.; STROUP, W.W. Effects of monensin and monensin and tylosin combination on feed intake variation of feedlot steers. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 73, p. 39-44, 1995.

SUFFREDINI, A.F.; FANTUZZI, G.; BADOLATO, R.; OPPENHEIM, J.J.; O'GRADY, N. New insights into the biology of the acute phase response. **Journal of Clinical Immunology**, New York, v. 19, p. 203-214, 1999.

SWINNEY-FLOYD, D.B.A.; GARDNER, T.; OWENS, F.N.; REHBERGER, T.; PARROT, T. Effect of inoculation with either *Propionibacterium* strain P-63 alone or combined with *Lactobacillus acidophilus* strain LA53545 on performance of feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 77, suppl. 1, p. 77, 1999.

TEDESCHI, L.O. FOX, D.G.; TYLUTKI, T.P. Environmental benefits of ionophores in ruminant diets. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 32, p. 1591-1602, 2003.

TOURNUT, J. Applications of probiotics to animal husbandry. **Revue Scientifique et Technique. Office International des Epizooties**, Paris, v. 8, p. 551-556, 1989.

VAN AMBURGH, M.E. Effect of ionophores on growth and lactation in cattle. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 59., 1997, Ithaca. **Proceedings...** Ithaca. Cornell University, 1997. p. 93-103.

VAN NEVEL, C.J.; DEMEYER, I. Effect of monensin on rumen metabolism in vitro. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v. 34, p. 251-257, 1977.

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

VAN SOEST, P.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for raçãory fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, Amsterdam, v.74, p.3583-3596, 1991.

VAN HORN, H.H.; HARRIS, B.; TAYLOR, M.J.; BACHMAN, K.C.; WILCOX, C.J. By product feeds for lactating dairy cows: effects of cottonseed hulls, sunflower hulls, corrugated paper, peanut hulls, sugarcane bagasse and whole cottonseed with additives of fat, sodium bicarbonate and *Aspergillus oryzae* product on milk production. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 67, p. 2922-2938, 1984.

VAN DE WATER, J. Yogurt and immunity: the health benefits of fermented milk products that contain lactic acid bacteria. In: FARNWORTH, E.R. (Ed.). **Handbook of fermented functional foods**. Boca Raton: CRC Press, 2003. p. 113-144.

VASCONCELOS, J.T.; GALYEAN, M.L. ASAS Centennial Paper: contributions in the Journal of Animal Science to understanding cattle metabolic and digestive disorders. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 86, p. 1711-1721, 2008.

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

WALLACE, R.J.; NEWBOLD, C.J. Probiotics for ruminants. In: FULLER, R. (Ed.). **Probiotics, the scientific basis**. London. Chapman and Hall, 1992. p. 317-353.

_____. probiotics: prospects of use in opportunistic infection. In: FULLER, R.; HEIDT, P.J.; VOLKER, R.; VAN DER WAAIJ, D. (Ed.). **Microbial feed additives for ruminants**. Institute for Microbiology and Biochemistry. 1995. p. 101-118.

WARE, D.R.; READ, P.L.; MANFREDI, E.T. Pooled summary of eight feedlot trials evaluating performance and carcass characteristics of steers fed *Lactobacillus acidophilus* strain BT1386. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 66, suppl. 1, p. 436, 1988.

WASSELL, J. Haptoglobin: function and polymorphism. **Clinical Laboratory**, Pittsburgh, v. 46, p. 547-552, 2000.

WATANABE, A.; YAGI, Y.; SHIONO, H.; YOKOMIZO, Y. Effect of intramammary infusion of tumor necrosis factor-alpha on milk protein composition and induction of acute phase protein in the lactating cow. **Journal Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health**, v. 47, p. 653-662, 2000.

WEDEGAERTNER, T.C.; JOHNSON, D.E. Monensin effects on digestibility, methanogenesis and heat increment of a cracked corn-silage diet fed to steers. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 57, p. 168-177, 1983.

WELLS, J.G.; DAVIS, B.R.; WACHSMUTH, I.K.; RILEY, L.W., REMIS, R.S.; SOKOLOW, R.; MORRIS, G.K. Laboratory investigation of hemorrhagic colitis outbreaks associated with a rare *Escherichia coli* serotype. **Journal Clinical Microbiology**, Washington, v. 18, p. 512-520, 1983.

WICK, J.W. The role of dendritic cells in the immune response to *Salmonella*. **Immunology Letters**, Amsterdam, v. 85, p. 99-102, 2003.

WIEDMEIER, R.; ARAMBEL, M.J.; WALTERS, J.L. Effects of yeast culture and *Aspergillus oryzae* fermentation extracts on ruminal characteristics and nutrient digestibility. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 70, n. 10, p. 2063-2068, 1987.

WILKINSON, J.I.D.; APPLEBY, W.G.C.; SHAW, C.J.; LEBAS, G.; PFLUG, R. The use of monensin in European pasture cattle. **Animal Production**, Edinburgh, v. 31, p. 159-162, 1980.

WILLIAMS, D.L.; MAHONEY, J.H. Pre-weaning and post-weaning nutrition. In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION, 17., 1984. **Proceedings...** p. 98.

WILLIAMS, P.E.V.; NEWBOLD, C.J. Rumen probiosis: the effects of novel microorganisms on rumen fermentation and ruminant productivity. In: HARESIGN, W.; COLE, D.J.A. (Ed.). **Recent advances in animal nutrition**. London: Butterworths, 1990. p. 211-227.

WILLIAMS, P.E.V.; TAIT, C. A.G.; INNES, G.M. Effects of the inclusion of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae* plus growth medium) in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of steers. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 69, p. 3016-3026, 1991.

WOLIN, M.J. A theoretical rumen fermentation balance. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 43, p. 1452-1459, 1960.

WREN, B. Probiotics: fact or fiction. **Large Animal Veterinarian**, Mount Morris, p. 28-30, Nov./Dec. 1987.

YANG, W.Z.; BEAUCHEMIN, K.A.; VEDRES, D.D.; GHORBANI, G.R.; COLOMBATTO, D.; MORGAVI, D.P. Effects of direct-fed microbial supplementation on ruminal acidosis, digestibility, and bacterial protein synthesis in continuous culture. **Animal Feed Science and Technology**, v. 114, p.179-193, Abstract, 2002.

YOON, I.K.; STERN, M.D. Influence of direct-fed microbials on ruminal microbial fermentation and performance of ruminants: a review. **Asian Australasian Journal of Animal Science**, Seoul, v. 8, p. 533-555, 1995.

YOUSRI, R.M. Single cell protein: its potential use for animal and human nutrition. **World Review of Animal Production**, Rome, v. 18, n. 2, p. 49-67, 1982.

ZANETTI, M.A.; ORTOLAN, J.H.; DIAZ, P.D.; GAST, L.E. Efeito do uso de aditivos alimentares no pH ruminal de novilhos nelore alimentados com dieta de alto teor de concentrado. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 46., 2009, Maringá. **Anais...** Maringá: SBZ, 2009.

ZHAO T.; DOYLE, M.P.; HARMON, B.G.; BROWN, C.A.; MUELLER, P.O.E. PARKS, A.H. Reduction of carriage of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in cattle by inoculation with Probiotic Bacteria. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 36, p. 641-647, 1998.

ZIEMER J.C.; GIBSON, G.R. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: perspectives and futures strategies. **International Dairy Journal**, Oxford, v. 8, p. 473-479, 1998.

ZINN, R.A.; PLASCENCIA, A. Interaction of forage level and monensin in diets for feedlot cattle on growth performance and digestive function. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 72, p. 2209-2215, 1994.