

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**SUBSTITUIÇÃO DA VIRGINIAMICINA POR PRODUTOS À BASE DE LEVEDURA
(*SACCHAROMYCES CEREVISIAE*) EM DIETAS DE BOVINOS**

Daiana dos Santos de Oliveira

Orientador: Prof. Dr. Juliano José de Resende Fernandes

GOIÂNIA

2020



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES
E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

Dissertação Tese

2. Nome completo do autor

Daiana dos Santos de Oliveira

3. Título do trabalho

Substituição da Virginiamicina por produtos à base de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) em dietas de bovinos

4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

- a) consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);
- b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.

O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.



Documento assinado eletronicamente por **Juliano José De Resende Fernandes, Professora do Magistério Superior**, em 25/05/2020, às 16:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **DAIANA DOS SANTOS DE OLIVEIRA, Discente**, em 25/05/2020, às 17:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

DAIANA DOS SANTOS DE OLIVEIRA

**SUBSTITUIÇÃO DA VIRGINIAMICINA POR PRODUTOS À BASE DE LEVEDURA
(*SACCHAROMYCES CEREVISIAE*) EM DIETAS DE BOVINOS**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Zootecnia junto a Escola de Veterinária e
Zootecnia da Universidade Federal de Goiás.

Área de concentração:

Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Juliano José Resende de Fernandes

Comitê de orientação:

Prof. Dr. Victor Rezende Moreira Couto

Dra. Maurícia Brandão da Silva

GOIÂNIA

2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

dos Santos de Oliveira, Daiana
SUBSTITUIÇÃO DA VIRGINIAMICINA POR PRODUTOS À BASE
DE LEVEDURA (*SACCHAROMYCES CEREVISIAE*) EM DIETAS DE
BOVINOS [manuscrito] / Daiana dos Santos de Oliveira. - 2020.
xiii, 35 f.

Orientador: Prof. Dr. Juliano José de Resende Fernandes; co
orientador Dr. Victor Rezende Moreira Couto; co-orientador Dr.
Maurícia Brandão da Silva.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Escola
de Veterinária e Zootecnia (EVZ), Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia, Goiânia, 2020.

Bibliografia.

Inclui siglas, abreviaturas, símbolos, gráfico, tabelas, lista de
figuras, lista de tabelas.

1. cultura de levedura. 2. levedura autolisada. 3. parâmetros
ruminais. 4. digestibilidade aparente. I. de Resende Fernandes,
Juliano José, orient. II. Título.

CDU 63



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Ata nº 78 da sessão de Defesa de Dissertação de **Daiana dos Santos de Oliveira** que confere o título de **Mestre (a) em Zootecnia** pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, na área de concentração em Produção Animal.

Aos dez dias do mês de março do ano de dois mil e vinte – (10/03/2020) a partir das 14h00min, na Escola de Veterinária e Zootecnia, Departamento de Zootecnia, realizou-se a sessão pública de Defesa de Dissertação intitulada “**Substituição da Virginiamicina por produtos à base de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) em dietas de bovinos**”. Os trabalhos foram instalados pelo Orientador, **Juliano José de Resende Fernandes** com a participação dos demais membros da Banca Examinadora Professores: **Sérgio Lucio Salomon Cabral Filho-UnB**, membro titular externo; **Ricardo Pereira Manzano**, membro titular externo. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Dissertação tendo sido a candidata APROVADA pelos seus membros. Proclamados os resultados pelo (a) **Juliano José de Resende Fernandes**, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA



Documento assinado eletronicamente por **Juliano José De Resende Fernandes, Professor do Magistério Superior**, em 10/03/2020, às 16:03, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ricardo Pereira Manzano, Usuário Externo**, em 10/03/2020, às 16:05, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Sergio Lucio Salomon Cabral Filho, Usuário Externo**, em 10/03/2020, às 16:06, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 1214984 e o código CRC 80BAB664.

AGRADECIMENTOS

O mestrado foi um período muito desafiador na minha vida, mas eu consegui! Com certeza tudo seria MUITO mais difícil se Deus não tivesse colocado pessoas maravilhosas no meu caminho, então primeiramente agradeço ele!

Agradeço a minha mãe Tereza que nunca mediu esforços, DESDE SEMPRE, para que hoje eu estivesse onde estou, sempre me incentivou e nunca deixou de acreditar que eu conseguiria. À minha irmã Daniela e meu irmão Eduardo que também me incentivaram de todas as maneiras possíveis, vocês foram muito importantes em mais essa etapa!

Agradeço ao meu marido Rodrigo, que sempre esteve ao meu lado me incentivando, ajudando no experimento, nas incubações de madrugada, por ajudar a carregar sacos de ração, pelos puxões de orelha quando nem eu acreditava que era capaz, enfim por estar comigo em todos os momentos!

Agradeço a minha família de coração, CEBC, que me acolheu como se eu fosse da família. Aos estagiários São Luis, Wallace, Leidiano, Elisa, Joice, Milenna, Manuela, Aline, Denise, Sarah, Felipe, João Cleber, Carrijo, Breno, Bruno, André e Tiago. Ao irmãozinhos da pós graduação Luan, Bruno, Daniel, Lorena, Kaique, Laís e Ana Laura. Em especial ao meu amigo de todas as horas, Luan, tudo teria sido muito mais difícil sem a tua ajuda!

Ao Pikachu, que tentava acalmar a minha ansiedade de começar o experimento e não ter experiência nas coletas que eu iria realizar, ele dizia: “no eu puder te ajudar estarei aqui” e foi assim sempre. Pikachu, tu mora no meu coração! À Wal por sempre cuidar de nós como uma mãe, sempre fazendo comidas deliciosas, nos animando e incentivando.

Ao meu orientador professor Juliano Fernandes pela confiança, disposição e por ter acreditado que eu “daria conta”.

Agradeço ao meu co-orientador Victor Rezende por toda ajuda e incentivo e à Maurícia Brandão pelas considerações feitas no trabalho.

À todos os amigos da pós-graduação, pela troca de experiências e amizade.

Aos técnicos de laboratório, Miron e Éder por todo apoio e ensinamentos na época de análises laboratoriais.

O meu muito obrigado à todos vocês!

SUMÁRIO

RESUMO	xii
ABSTRACT	xiii
1. Introdução.....	1
2. Revisão bibliográfica.....	3
2.1 Aditivos	3
2.3 Virginiamicina	4
2.4.1 Levedura Autolisada	8
2.4.2 Cultura de Levedura.....	9
Referências	11
ARTIGO: SUBSTITUIÇÃO DA VIRGINIAMICINA POR PRODUTOS À BASE DE LEVEDURA (SACCHAROMYCES CEREVISIAE) EM DIETAS DE BOVINOS.....	17
Resumo	1
Abstract.....	2
Introdução.....	3
Material e Métodos.....	4
Resultados e Discussão.....	7
Conclusão	15
Referências	16

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Porcentagem de inclusão dos ingredientes da dieta fornecida aos animais e composição bromatológica da ração oferecida.	4
TABELA 2. Média de consumo e digestibilidade dos componentes da dieta.	8
TABELA 3. Tempo médio dos animais ruminando, em ócio ou se alimentado em um período de avaliação de onze horas.	9
TABELA 4. Médias de concentração de Ácidos Graxos de Cadeia Curta, pH e nitrogênio amoniacal.	14

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1. pH médio do líquido ruminal nos diferentes horários de coleta	10
GRÁFICO 2. Concentrações de ácido acético após o fornecimento da alimentação.....	11
GRÁFICO 3. Concentrações de ácido propiônico após o fornecimento da alimentação.....	12
GRÁFICO 4. Concentrações de ácido butírico após o fornecimento da alimentação.	12
GRÁFICO 5. Concentrações médias de Nitrogênio Amoniacal ao longo do dia.	13

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

> - maior

°C - graus Celsius

AGCC - Ácidos Graxos de Cadeia Curta

CL – Cultura de Levedura;

cm²- centímetros quadrados

CMS - consumo de Matéria Seca

CN - Concentração de Nutrientes

CNF - Carboidrato Não Fibroso

DAN - Digestibilidade Aparente dos Nutrientes

EE - Extrato Etéreo

EPM - Erro Padrão da Média

FDA -Fibra em Detergente Ácido

FDN - Fibra em Detergente Neutro

FDNi - Fibra em Detergente Neutro indigestível

IN – Instrução Normativa

Kg - quilos

LA – Levedura Autolisada

MAPA - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento

mg - miligramas

min - minutos

MM - matéria mineral

MO - Matéria Orgânica

MOS - Mananoligossacarídeos

MS - Matéria Seca

NAR - Nitrogênio Amoniacal Ruminal

N-NH₃ - Nitrogênio Amoniaco

O₂ – oxigênio

PB - Proteína bruta

PC- Peso Corporal

PDR - Proteína Degradável no Rúmen

pH - potencial Hidrognico

PMSF - Produção de Matéria Seca Fecal

UFC - Unidades Formadoras de Colônias

VM - Virginamicina

RESUMO

Com a intensificação dos sistemas de produção, aditivos como os antibióticos vem sendo muito empregados na dieta dos animais com o objetivo de manipular o ambiente ruminal, evitando distúrbios metabólicos e melhorando a eficiência digestiva dos nutrientes. Contudo, alguns antibióticos possuem em sua composição substâncias presentes também em remédios de uso humano, o que pode tornar tratamentos menos eficazes devido à resistência de certos micro-organismos, além do alto potencial em poluir o meio ambiente, podendo ser banido da dieta fornecida aos animais. Com o objetivo de substituir o uso de antibiótico na dieta de bovinos, neste estudo foram utilizados produtos à base de levedura que são considerados produtos naturais e possuem custo de aquisição inferior quando comparado a alguns antibióticos. A viabilidade desta substituição foi avaliada através da digestibilidade dos nutrientes e parâmetros ruminais. Foram utilizados cinco novilhos com aptidão leiteira distribuídos em quadrado latino 5x5. As dietas continham relação volumoso:concentrado de 35,5:64,5 sendo a silagem de milho o volumoso utilizado e o concentrado foi composto por milho moído, farelo de soja, casca de soja, núcleo mineral, calcário calcítico, uréia e sal comum. Os tratamentos foram: VM: 18mg/kg na matéria (MS) de Virginiamicina (VM); CL7: 7g de cultura de levedura; CL14: 14g de cultura de levedura; LA7: 7g de levedura autolisada; LA14: 14g de levedura autolisada. Não foi encontrada diferença significativa ($P>0.05$) para consumo de matéria seca com: 8.22; 8.45; 8.33; 8.51 e 8.27 kg consumidos; a digestibilidade da matéria seca foi de 61.41%; 53.79%; 57.46%; 54.45% e 55.83%, pH ruminal médio de 6.75; 6.76; 6.76; 6.78 e 6.69, para VM; CL7; CL14; LA7 e LA14, respectivamente. Assim como também não foi encontrada diferença significativa para ácidos graxos de cadeia curta e nitrogênio amoniacal entre os tratamentos, sugerindo então a possibilidade da substituição de Virginiamicina por produtos à base de levedura.

Palavras chave: cultura de levedura; levedura autolisada; parâmetros ruminais; digestibilidade aparente

ABSTRACT

With the intensification of production systems, additives such as antibiotics have been widely used in the animals' diet in order to manipulate the rumen environment, avoiding metabolic disorders and improving the digestive efficiency of nutrients. However, some antibiotics have in their composition substances also present in medicines for human use, which can make treatments less effective due to the resistance of certain microorganisms, in addition to the high potential to pollute the environment, and can be banned from the diet provided to animals. In order to replace the use of antibiotics in the diet of cattle, this study used yeast-based products that are considered natural products and have a lower acquisition cost when compared to some antibiotics. The viability of this substitution was evaluated through the digestibility of nutrients and ruminal parameters. Five steers with dairy aptitude were distributed in a 5x5 Latin square. The diets contained roughage: concentrate ratio of 35.5: 64.5, with corn silage being the roughage used, and the concentrate was composed of ground corn, soybean meal, soybean husk, mineral core, calcitic limestone, urea and common salt. . The treatments were: VM: 18mg / kg in the material (MS) of Virginiamycin (VM); CL7: 7g of yeast culture; CL14: 14g of yeast culture; LA7: 7g of autolysed yeast; LA14: 14g of autolyzed yeast. No significant difference was found ($P > 0.05$) for dry matter consumption with: 8.22; 8.45; 8.33; 8.51 and 8.27 kg consumed; the dry matter digestibility was 61.41%; 53.79%; 57.46%; 54.45% and 55.83%, average ruminal pH of 6.75; 6.76; 6.76; 6.78 and 6.69, for VM; CL7; CL14; LA7 and LA14, respectively. Likewise, no significant difference was found for short-chain fatty acids and ammoniacal nitrogen between treatments, thus suggesting the possibility of replacing Virginiamycin with yeast-based products.

Keywords: yeast culture; autolysed yeast; ruminal parameters; apparent digestibility

1. Introdução

O Brasil possui o segundo maior rebanho bovino do mundo contendo cerca de 218,23 milhões de cabeças, ficando atrás somente da Índia. No que se refere a pecuária leiteira, existe um aumento no desenvolvimento deste setor desde os anos 90, com estimativa de mais de quatro milhões de empregos nos diferentes segmentos ¹.

Segundo dados publicados no Anuário do Leite² o Brasil foi o 3º maior produtor mundial de leite produzido nos anos de 2016 e 2017. De acordo com o levantamento trimestral do IBGE¹ a produção total brasileira de leite cru captado e industrializado no primeiro trimestre de 2019 foi de 6,2 bilhões de litros, o equivalente a um aumento de 3% quando comparado ao mesmo período do ano anterior, além de esta ter sido a maior captação para o primeiro trimestre desde 1997. Entre os estados que mais produzem leite no País estão: Minas Gerais; Rio Grande do Sul; Paraná e o estado de Goiás.

Apesar do grande volume produzido, existe a necessidade dos sistemas de produção se tornarem mais eficientes, já que segundo dados publicados no Anuário do Leite² a produtividade nos anos de 2016 e 2017 foram de 1.710 e 1.963 kg/vaca, respectivamente, tendo um aumento de 14,8% de um ano para o outro. Mas se compararmos com a produtividade dos Estados Unidos, por exemplo, que nos mesmos anos chegou a uma produtividade de 10.350 e 10.457 kg/vaca, podemos concluir que a ainda há muito o que melhorar.

Entre os desafios que os produtores de leite enfrentam ano após ano, podemos citar o alto custo de produção e o retorno financeiro muito baixo, sendo que um dos fatores de maior impacto é a alimentação, que pode representar até 70% dos custos. Com isso, se faz necessário que sejam adotadas medidas que possam melhorar a eficiência de aproveitamento da dieta pelos animais e se possível com baixo custo³.

Com a finalidade de obter-se melhora no aproveitamento dos componentes da dieta pelos animais, sem que a produção despenque, os aditivos vem sendo utilizados na dieta de ruminantes. Dentre estes, os antibióticos vem sendo muito utilizados e os seus resultados já são conhecidos. Entre os benefícios podemos citar: modificação da concentração de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC); diminuição na produção de metano; melhora na digestibilidade dos nutrientes e melhora na eficiência alimentar^{4 5}.

Contudo, existe uma preocupação referente ao uso deste tipo de aditivo na alimentação animal, já que a sua utilização frequente pode causar resistência de certos micro-organismos no solo. Tendo em vista que a principal forma de eliminação dos antibióticos é

pelas fezes, essa resistência pode ser disseminada à bactérias patogênicas, o que resulta em um efeito indesejado sob o ponto de vista médico. Por isso, o uso concomitante de antimicrobianos tanto no combate de doenças humanas como para o uso veterinário têm gerado preocupação no mundo todo, havendo a possibilidade de banimento do uso de alguns antimicrobianos na alimentação animal, tais como promotores de crescimento⁶.

Como os produtos a base de levedura podem ser possíveis substitutos aos antibióticos, torna-se pertinente a realização de estudos visando a verificação da semelhança entre os diferentes aditivos: antibiótico x leveduras. Por isso, o objetivo deste estudo foi avaliar os parâmetros ruminais e digestibilidade dos nutrientes ao utilizar diferentes níveis de produtos a base de levedura como substitutos à Virginiamicina, na dieta de bovinos.

2. Revisão bibliográfica

2.1 Aditivos

Com uma demanda crescente por alimentos, os sistemas de produção vêm sendo cada vez mais intensificados, e em contrapartida existe o desafio de manter o sistema de forma rentável já que os custos com alimentação podem se tornar muito altos⁷. Nessa linha, os aditivos vêm sendo muito utilizados na alimentação animal, com o objetivo de modificar o ambiente ruminal, através da seleção de certos micro-organismos, promovendo melhora na eficiência alimentar.

O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento⁸ (IN 13/2004) definiu como aditivo: “substância, micro-organismo ou produto formulado, adicionado intencionalmente aos produtos, que não é utilizado normalmente como ingrediente, tenha ou não valor nutritivo e que melhore as características dos produtos destinados à alimentação animal dos produtos animais, melhore o desempenho dos animais sadios ou atenda às necessidades nutricionais.” Dentro desta definição Almeida e Ostrensky⁹ citam como exemplos de aditivos: os adsorventes de micotoxinas; bicarbonato de sódio; gordura protegida; antibióticos; produtos a base de levedura, entre outros.

Segundo Nagaraja¹⁰ a utilização de aditivos tem como objetivo diminuir perdas que ocorrem dentro do sistema ruminal, através da maximização dos processos benéficos e minimizando, ou alterando, os processos ineficientes. Entre os processos que devem ser maximizados pode ser citada a degradação da fibra; a fermentação do lactato e a conversão de compostos não protéicos em proteína microbiana, sendo esta última considerada de alto valor biológico para o animal. Por outro lado, entre os processos que devem ser minimizados são: produção de metano e absorção de amônia. Adicionalmente aos processos que devem ser minimizados¹¹, também pode ser citada a produção de calor, por representar perda de energia que poderia ser utilizada para produção de carne ou leite.

Com o objetivo de melhorar o desempenho animal dentro dos sistemas de produção, os antibióticos vêm sendo muito utilizados na dieta de ruminantes como aditivos. Entre os benefícios citados na literatura estão: melhora na eficiência alimentar; estabilização do ambiente ruminal; aumento na produção de propionato em detrimento ao acetato; menor produção de metano e uso preventivo de desordens metabólicas^{4 5 12 13} e entre os antibióticos utilizados na alimentação animal podemos citar a Virginiamicina.

2.3 Virginiamicina

A produção de antibióticos é realizada por determinadas bactérias, sendo a Virginiamicina, produzida pelas bactérias do gênero *Streptomyces virginiae* e são encontradas naturalmente em solos Belga. A Virginiamicina é classificada como um antibiótico não ionóforo, e possui em sua composição dois fatores: fator M e o fator S. Cada fator individualmente é capaz de atuar sobre uma gama de bactérias gram-positivas, possuindo efeito bacteriostático individualmente, mas quando ocorre a combinação dos dois fatores na dose correta, a ação é potencializada e seu efeito torna-se bactericida^{14 15}.

Este antibiótico possui a capacidade de modular o ambiente ruminal através da seleção de bactérias gram-negativas e eliminação das gram-positivas¹⁰. Com a capacidade de penetrar a parede celular das bactérias gram-positivas, a Virginiamicina chega ao seu interior, e então os fatores M e S se ligam aos ribossomos de maneira irreversível impedindo assim a síntese proteica e multiplicação celular, causando eventualmente a morte da bactéria. Já as bactérias gram-negativas não são tão afetadas devido a segunda camada de membrana, o que as tornam menos susceptíveis a ação deste antibiótico¹⁴.

Essa impermeabilidade de membrana dos micro-organismos gram-negativos é considerada positiva, pois entre estas bactérias estão as *Bacteroides succinogenes* produtoras de ácido succínio e as *Selenomonas ruminantium* que fermentam o ácido láctico e descarboxilam o succinato, formando propionato^{16 17}, sendo o ácido succínio um importante precursor de propionato e este último um importante precursor da gliconeogênese¹⁸. Valadares Filho e Pina¹⁹ ainda destacam outra importância do propionato, que é o fato deste ser o principal precursor da síntese de lactose, que por sua vez é reguladora osmótica do leite, e por isso, com o aumento deste ácido graxo de cadeia curta há potencial para aumentar a produção de leite.

Entre as bactérias gram-positivas estão as *Streptococcus bovis*, que ao fermentar o alimento geram como produto final o ácido láctico. A presença deste tipo de micro-organismo está associada a dietas energéticas, já que o seu principal substrato para crescimento é o amido. Como a sua velocidade de crescimento é muito acelerada em comparação a outras bactérias, ocorre uma grande produção de ácido láctico, ocasionando a queda do pH. Devido a enzima lactato desidrogenase ser inibida em baixo pH, a conversão de lactato a piruvato não ocorre. Com isso, o fornecimento deste antibiótico vem sendo empregado na dieta de vacas em lactação com a finalidade de controlar grandes oscilações de pH, reduzir variações no consumo de ração e melhorar o desempenho animal²⁰.

Ao utilizar Virginiamicina ou Monensina associada a Tilosina na dieta de novilhos em fase de adaptação com troca brusca de dieta de alto volumoso para alto concentrado, com a

finalidade de avaliar os produtos da fermentação e população microbiana, foi relatado que apesar dos animais não ter apresentado acidose, a Virginiamicina ainda sim foi mais eficaz na inibição de bactérias produtoras de ácido lático, já que a contagem de *Lactobacillus* e *S. bovis* foi menor quando comparado ao tratamento com Monensina/Tilosina e controle (sem aditivo)²¹.

Já em sistemas de pastejo Ferreira²² ao utilizar diferentes doses de Virginiamicina (108 ou 216 mg/animal/dia), em suplemento proteico energético para bovinos a pasto, não encontraram diferenças significativas para as variáveis de pH, nitrogênio amoniacal, degradabilidade da matéria seca e da fibra em detergente neutro e observaram redução no consumo do suplemento na maior dosagem do antibiótico, relatando a necessidade de mais pesquisas para a utilização de Virginiamicina quando fornecida a animais em pastejo.

No Brasil o uso deste tipo de aditivo como promotor de crescimento na alimentação animal é permitido, mas o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) em 2018 mostrou interesse em remover alguns antibióticos utilizados na produção animal que possuam o mesmo composto presente também em medicamentos humano. O objetivo deste tipo de medida é manter a eficácia dos antibióticos no tratamento de doenças humana, já que existe o risco de resistência cruzada. Entre os antibióticos citados estão: Tilosina, Lincomicina, Virginiamicina, Bacitracina e Tiamulina²³.

O uso de antibiótico na produção animal como promotor de crescimento e também na medicina humana tem causado preocupação quanto à resistência de bactérias, já que o tratamento de certas doenças pode se tornar ineficiente podendo ser visto como uma ameaça à saúde humana. As bactérias resistentes aos antimicrobianos possuem capacidade de se multiplicar no meio e transferir seus genes de resistência a outras bactérias mesmo que sejam taxonômica ou geneticamente diferentes, tornando-as mais resistentes a determinados princípios ativos. Entre as maneiras de transmissão dessas bactérias resistentes aos seres humano são citadas: ingestão de produtos de origem animal; contaminação de alimentos da agricultura; aquíferos e fezes⁶.

Apesar dos benefícios que os antibióticos podem trazer para os sistemas de produção, é relevante a preocupação que existe quanto a resistência cruzada das bactérias e consequente ineficiência no tratamento de doenças humana. Torna-se pertinente encontrar uma alternativa a utilização deste tipo de aditivo na produção animal sem causar prejuízos à saúde humana, ambiente e produção animal, sendo os produtos à base de levedura um possível substituto.

2.4 Leveduras

As leveduras são micro-organismos unicelulares, do reino dos fungos e são obtidas através de processos considerados naturais. Elas se desenvolvem no processo de fermentação da cana-de-açúcar para produção de álcool ao fermentar a sacarose. Apesar de existir mais de 500 espécies de leveduras, a *Saccharomyces cerevisiae* é a mais utilizada na alimentação de bovinos⁹. Elas não são encontradas naturalmente no ambiente ruminal, sendo necessário o fornecimento diário na dieta dos animais. Isso é necessário pois, o ambiente ruminal não possui as condições adequadas no que se refere às concentrações de oxigênio, temperatura (25°C) e pH (4,5) para o seu crescimento^{24 25}.

As leveduras podem ser classificadas de distintas maneiras e essa classificação é dependente do número de células viáveis e composição. As leveduras vivas possuem em sua composição pelo menos 15×10^9 células vivas de unidades formadoras de colônias (ufc) por grama de produto, podendo, ou não, conter o meio onde cresceram^{9 10 26}. Já a cultura de levedura é um produto que contém levedura viva, morta e o meio de cultura em que as células de levedura foram cultivadas, além de produtos metabólicos produzidos durante a fermentação. Já as leveduras mortas/autolisadas são micro-organismos que podem ser obtidos por meio de processos industriais no qual sua morte é induzida, sem atuação ativa no ambiente ruminal, apenas disponibilizado componentes da parede celular como β -glucanos e mananoglicosacarídeos aos micro-organismos ruminais, assim como aminoácidos, nucleotídeos, vitaminas do complexo B, ácidos orgânicos e vitaminas²⁷.

Entre os benefícios que as leveduras podem ocasionar são citados: a remoção do oxigênio, o que é benéfico para as bactérias ruminais já que o O_2 é tóxico para muitas espécies bacterianas, como por exemplo, as fibrolíticas; estabilidade do pH ruminal; aumento no consumo de matéria seca devido a atratividade do produto pelos animais; aumento na produção de leite; incremento na taxa de digestão da fibra, proteína bruta e matéria seca^{28 21 29}.

A *Saccharomyces cerevisiae* vem sendo muito utilizada na alimentação animal com o intuito de promover melhora no ambiente ruminal através do fornecimento de substratos que beneficiam o crescimento das populações microbianas, sendo considerada uma boa fonte de energia e proteína para os micro-organismos. Porém os resultados ainda são controversos podendo variar em função do estágio de lactação; maior ou menor teor de concentrado na dieta³⁰; dose de levedura utilizada³¹ ou ainda pelo número células viáveis³².

Zhu et al³¹ ao fornecer uma dieta com forragem de baixa qualidade (39% na dieta) e suplementar doses crescentes (0, 60, 120 e 180g/vaca/dia) de cultura de levedura verificou

que as concentrações de AGCC aumentaram em função da dose utilizada, porém sem diferença para a razão acetato:propionato, sendo este aumento atribuído ao crescimento das populações de micro-organismos envolvidos na digestão da fibra como bactérias celulolíticas como *Ruminococcus flavefaciens* e *Fibrobacter succinogenes* e fungos, já que este tipo de produto fornece fatores estimulatórios aos micro-organismos ruminais.

Jiang et al³², ao fornecer levedura com alta ou baixa contagem de células viáveis ou ainda células mortas na dieta de vacas em lactação não encontraram diferença significativa para a concentração total de AGCC em comparação ao tratamento controle (sem aditivo), por outro lado a digestibilidade da matéria seca (MS) e fibra em detergente neutro (FDN) aumentou significativamente nos tratamentos com alto e baixo número de células viáveis, porém sem diferença para o tratamento com levedura morta em comparação ao tratamento controle. Os autores atribuem o aumento da digestibilidade destes componentes à capacidade que as leveduras vivas têm de remover o oxigênio presente no ambiente ruminal, o que resulta em um meio mais propício para o seu crescimento.

A digestibilidade da FDN é de extrema importância tendo em vista que, os ruminantes obtêm grande parte da sua energia dos alimentos fibrosos. Alguns fatores podem afetar a digestibilidade da FDN como: presença de oxigênio já que há alta sensibilidade destas bactérias a este gás, podendo a levedura viva ou cultura de levedura ser uma estratégia para melhorar o ambiente ruminal³²; pH do meio, é bem estabelecido que as bactérias celulolíticas apresentam dificuldade de multiplicação em pH abaixo de 6,2³³. Dias et al³⁴ ao fornecer uma dieta com alto teor de amido (29%) na dieta de vacas e suplementá-las com 15g de cultura de levedura, verificou que o pH deste tratamento permaneceu por menos tempo <6,0 com aumento na digestibilidade da FDN e redução na produção de lactato. A justificativa para o ocorrido é a capacidade deste tipo de produto em favorecer o crescimento dos micro-organismos celulolíticos e aqueles capazes de metabolizar lactato, favorendo a digestibilidade da fibra.

Somado a isso, as bactérias ruminais dependem de fonte de nitrogênio para o seu crescimento e utilizam cerca de 50% a 70% da amônia ruminal para isso³⁵, sendo esta a fonte preferencial das bactérias fibrolíticas. A produção de amônia no rúmen depende, em parte, da desaminação da proteína da dieta e também do tamanho da população de micro-organismos capazes de desaminá-las³⁶. Os fatores estimulatórios contidos nos produtos à base de levedura estimulam o crescimento de micro-organismos como *Ruminococcus albus* e *Fibrobacter succinogens*, com esse aumento das populações o requerimento por nitrogênio amoniacal também aumenta e a sua concentração tende a diminuir no meio³⁷.

2.4.1 Levedura Autolisada

O processo de autólise ocorre naturalmente e é causado pelo envelhecimento e morte das células, o que causa o extravazamento do conteúdo intracelular, que por sua vez serve como fator estimulatório para o crescimento dos micro-organismos do rúmen³⁸. Esse conteúdo intracelular é vazado devido a perda de permeabilidade e alteração na porosidade da parede celular, e também pela ocorrência de hidrólise de macromoléculas celulares ocasionadas pela ação de enzimas endógenas³⁹. Esse processo também pode ser induzido industrialmente por meio de altas temperaturas, pela adição de enzimas ou ainda expondo-as a altas concentrações de sal⁴⁰.

As leveduras autolisadas não possuem mecanismo de ação direto no rúmen devido a sua inatividade. Ao invés disso, elas fornecem fatores estimulatórios como ácidos orgânicos, destacando-se o ácido málico, sendo este importante no metabolismo energético; vitaminas do complexo B, podendo ser citada a biotina, que possui participação na síntese de ácido oxaloacético, a partir de ácido pirúvico, na síntese de malonil CoA, na síntese do ácido succínico e carbamil-fosfato⁴² o que pode favorecer a produção de leite⁴³. Além disso as leveduras autolisadas também são uma fonte de peptídeos e aminoácidos prontamente disponíveis para os micro-organismos ruminais⁴⁴.

A fermentação de carboidratos não fibrosos por parte dos micro-organismos ruminais gera a produção de ácido láctico no meio, que por sua vez possui a capacidade de baixar o pH do ambiente ruminal. Com o objetivo de prevenir acidose ruminal medidas podem ser tomadas, sendo que o fornecimento de ácidos orgânicos como o malato podem contribuir⁴⁵. Segundo Newbold²⁸ o malato é um ácido orgânico encontrado principalmente no interior das células das leveduras e a quantidade máxima disponível do mesmo para os micro-organismos ruminais é dada quando ocorre a lise da célula. Sua presença estimula o consumo de lactato pelas *Selenomonas ruminantium*, controlando o acúmulo de lactato no rúmen e assim contribui para manter o pH ruminal estável, favorecendo também a retirada de hidrogênio do meio para a produção de propionato⁴⁶.

Entre os componentes presentes na parede celular das leveduras estão os β -glucanos e Mananiligossacarídeos (MOS)²⁵. Neubauer⁴⁷ com o objetivo de verificar os efeitos da suplementação de levedura autolisada (15g/vaca/dia) nas alterações da população microbiana ruminal forneceu dieta com 65% de concentrado na dieta de vacas secas. Os autores constataram que os componentes da parede celular como os β -glucanos, MOS, quitina e aminoácidos da levedura autolisada serviram de substrato para crescimento das bactérias celulolíticas, com aumento significativo da população de *Ruminococcus spp*, sendo esta uma

das espécies responsáveis pela degradação da celulose, apesar da alta proporção de concentrado na dieta.

Os resultados de consumo de matéria seca da dieta de bovinos alimentados com leveduras autolisadas parecem variar em função da proporção volumoso/concentrado da dieta fornecida aos animais, dose do produto ou até mesmo da cepa utilizada. Gomide⁴⁴ fornecendo dieta com 48% de concentrado, encontrou aumento no consumo dos animais ao utilizar 10g de levedura autolisada e sem diferença para a dose de 30g em comparação ao controle. E Cunha³⁸ fornecendo 80% de concentrado não encontraram diferenças significativas para o consumo dos animais ao suplementar 15 ou 30g/animal/dia em comparação ao tratamento controle.

Campos⁴⁸ realizou um ensaio de digestibilidade dos nutrientes para verificar a possibilidade de substituição do farelo de soja por levedura autolisada em diferentes proporções (0, 25%, 50%, 75% e 100%) em dietas de bovinos de corte contendo relação volumoso:concentrado de 60:40. Houve redução no consumo de matéria seca e aumento linear da digestibilidade da proteína com o aumento das proporções de levedura na dieta. O autor atribuiu o aumento da digestibilidade deste componente a elevada proteína degradável no rúmen (PDR) presente na levedura. Além disso, não foram encontradas diferenças no balanço de nitrogênio para as diferentes proporções adicionadas na dieta, o que pode ser resultado da maior produção de proteína microbiana⁴⁸. Segundo Imaizumi⁴⁹ com o aumento da degradação ruminal de compostos nitrogenados ocorre a formação de amônia, sendo esta importante para o crescimento dos micro-organismos ruminais e produção de proteína microbiana.

2.4.2 Cultura de Levedura

A cultura de levedura consiste na recuperação de células vivas juntamente com o seu meio de crescimento e seus metabólitos. É um produto desidratado com a finalidade de manter a capacidade fermentativa dos micro-organismos, podendo haver variação no número de células viáveis⁹.

O meio de cultivo/crescimento presente na cultura de levedura possui em sua composição vitaminas do complexo B, ácidos orgânicos, aminoácidos de boa qualidade e fonte de nitrogênio para as bactérias ruminais, e aproximadamente 40% do peso da levedura seca é composta por proteínas²⁵.

Apesar do teor de proteína dos produtos a base de levedura ser elevado e de fácil degradação no rúmen, pode haver redução na concentração de amônia no meio, podendo isso ser reflexo do aumento da população de bactérias utilizadoras de amônia e consequente incremento na produção de proteína microbiana⁵⁰. Em um trabalho recente Dias³⁴ verificaram

aumento na concentração de amônia ruminal e conseqüentemente aumento no teor de proteína do leite, além de aumentar a produção leiteira em dietas com alto teor de concentrado.

Um dos atributos dado a cultura de levedura é a retirada do oxigênio presente no rúmen. Apesar do rúmen ser um ambiente anaeróbico, quando o animal ingere alimentos ou água ocorre a entrada de oxigênio, o que não é interessante já que o oxigênio é tóxico para muitos micro-organismos ruminais. Wallace⁵¹, afirma que as bactérias *F. Succinogenes*, entre outras, são mais sensíveis a presença de oxigênio do que ao baixo pH por exemplo, o que pode prejudicar a digestibilidade da fibra. Newbold²⁸ ao realizar um ensaio *in vitro*, adicionando cultura de levedura, verificaram retirada significativa de oxigênio do meio e aumento do crescimento de bactérias celulolíticas, porém houve variação em função da cepa utilizada.

Poppy⁵² ao realizar uma meta-análise de trinta e seis estudos que utilizaram cultura de levedura na dieta de bovinos leiteiros em lactação relatam que, a variabilidade nos resultados encontrados na literatura podem ser devido a fatores como: diferenças entre raças (Jersey ou Holandês), tipo de ração fornecida ou estágio da lactação.

Referências

1. IBGE. *Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística*.(2016). <https://serieestatisticas.ibge.gov.br/series.aspx?no=1&op=0&vcodigo=PPM01&t=efetivo-rebanhos-tipo-rebanho>.
2. Embrapa Gado de Leite. *Anuário Do Leite*.(2019). <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/198698/1/Anuario-LEITE-2019.pdf>.
3. Silva RHP, Sousa BM de, Neta CSS, Inácio DF da S, Muniz TMP. Utilização De Subprodutos Na Alimentação De Bovinos Leiteiros Em Minas Gerais. *Nutritime*. 2014;10(1):2962 – 2981. doi:10.1007/s13398-014-0173-7.2
4. Erasmus LJ, Muya C, Erasmus S, Coertze RF, Catton DG. Effect of virginiamycin and monensin supplementation on performance of multiparous Holstein cows. *Livest Sci*. 2008;119(1-3):107-115. doi:10.1016/j.livsci.2008.03.005
5. Duffield TF, Merrill JK, N BR. Productivity and safety in anesthesia. *J Anim Sci* doi102527/jas2011-5018. 2015;15(4):223-224. doi:10.2527/jas2011-5018
6. Wall BA, Mateus A, Marshall L, Pfeiffer DU. *Drivers, Dynamics and Epidemiology of Antimicrobial Resistance in Animal Production.*; 2016.
7. Caja G. Alternativas a los antibióticos de uso alimentario en rumiantes : probióticos , enzimas y ácidos orgánicos. 2003;(June 2014).
8. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/aditivos>. Published 2009.
9. Almeida R; Ostrensky A. Manejo Alimentar de Bovinos. In: *Livro.* ; 2011.
10. Nagaraja TG. Manipulation of ruminal fermentation. In: *The Rumen Microbial Ecosystem*. 2nd ed. Hong Kong; 1997:523-632. doi:10.1007/978-94-009-1453-7
11. Arrigoni MB, Barduchi R.S, Sarti LMN, Martins, CL MD, RL. P. Aditivos para gado leiteiro. In: Bittar CMM, Santos FAP, Moura JC FV, ed. *Manejo Alimentar de Bovinos*.

- 2nd ed. Piracicaba-SP; 2011:217-256.
12. Bergen WG, Bates DB. Ionophores: their effect on production efficiency and mode of action. *J Anim Sci.* 1984;58(6):1465-1483. doi:10.2527/jas1984.5861465x
 13. Page SW. *The Role of Enteric Antibiotics in Livestock Production.*; 2003. <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:The+role+of+enteric+antibiotics+in+livestock+production#0>.
 14. Cocito C. Antibiotics of the virginiamycin family, inhibitors which contain synergistic components. *Microbiol Rev.* 1979;43(2):145-198.
 15. Araújo DB de, Barbosa LFSP, Borges CAA, et al. Use of Virginimycin in Cattle Feeding. In: *Rumenology.* ; 2016:189-209.
 16. Chen M, Wolin MJ. Effect of monensin and lasalocid-sodium on the growth of methanogenic and rumen saccharolytic bacteria. *Appl Environ Microbiol.* 1979;38(1):72-77.
 17. Morais JSM, Berchielli TT RR. Aditivos. In: Berchielli, TT, Pires AV OS, ed. *Nutrição de Ruminantes.* 2nd ed. Jaboticabal; 2011:565-569.
 18. Bergman EN. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiol Rev.* 1990;70(2):567-590. doi:10.1152/physrev.1990.70.2.567
 19. Valadares Filho SC PD. Fermentação Ruminal. In: Berchielli TT, Pires A V OS, ed. *Nutrição de Ruminantes.* 2nd ed. Jaboticabal; 2011:161-192.
 20. Souza PM. Efeitos da suplementação de virginiamicina na produção e composição do leite em vacas de alta produção. *Diss Mestr.* 2018;(1).
 21. Coe ML, Nagaraja TG, Sun YD, et al. Effect of Virginiamycin on Ruminal Fermentation in Cattle during Adaptation to a High Concentrate Diet and during an Induced Acidosis. *J Anim Sci.* 1999;77(8):2259-2268. doi:10.2527/1999.7782259x
 22. Ferreira SF, De Resende Fernandes JJ, Pádua JT, et al. Desempenho e metabolismo ruminal em bovinos de corte em sistema de pastejo no período seco do ano recebendo

- virginiamicina na dieta. *Semin Agrar.* 2015;36(3):2067-2078. doi:10.5433/1679-0359.2015v36n3Supl1p2067
23. Xie WY, Shen Q, Zhao FJ. Antibiotics and antibiotic resistance from animal manures to soil: a review. *Eur J Soil Sci.* 2018;69(1):181-195. doi:10.1111/ejss.12494
 24. Martins LLB; JR, Oliveira1 ; Bruno Menezes Lopes de , ; et al. Diet digestibility and performance of dairy cows supplemented with live yeast. *Sci Agric.* 2011;68(3):301-307. doi:10.1590/s0103-90162011000300005
 25. Habeeb AAM. Current View of the Significance of Yeast for Ruminants a Review 1- Role of Yeast and Modes of Action. *Am J Libr Inf Sci.* 2017;1(2):53-59. doi:10.11648/j.ajlis.20170102.14
 26. Alugongo GM, Xiao J, Wu Z, Li S, Wang Y, Cao Z. Review: Utilization of yeast of *Saccharomyces cerevisiae* origin in artificially raised calves. *J Anim Sci Biotechnol.* 2017. doi:DOI 10.1186/s40104-017-0165-5
 27. Kröger I, Humer E, Neubauer V, Reisinger N, Aditya S, Zebeli Q. Modulation of chewing behavior and reticular pH in nonlactating cows challenged with concentrate-rich diets supplemented with phytogenic compounds and autolyzed yeast. *J Dairy Sci.* 2017;100(12):9702-9714. doi:10.3168/jds.2017-12755
 28. Newbold CJ, Wallace RJ, Mcintosh FM. Mode of action of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a feed additive for ruminants . *Br J Nutr.* 1996;76(2):249-261. doi:10.1079/bjn19960029
 29. Figueiroa FJF, Branco AF, Barreto JC, et al. Cultura de leveduras na digestibilidade in vitro de dietas com diferentes proporções de volumosos. *Cienc Anim Bras.* 2015;16(2):169-178. doi:10.1590/1089-6891v16i216565
 30. V Ambriz-Vilchis, Jessop NS, Fawcett RH, et al. Effect of yeast supplementation on performance, rumination time, and rumen pH of dairy cows in commercial farm environments. *J Dairy Sci.* 2017. doi:doi.org/10.3168/jds.2016-12346
 31. Zhu W, Wei Z, Xu N, et al. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation products on performance and rumen fermentation and microbiota in dairy cows fed a diet

- containing low quality forage. *J Anim Sci Biotechnol.* 2017;8(1):1-9. doi:10.1186/s40104-017-0167-3
32. Jiang Y, Ogunade IM, Arriola KG, et al. Effects of the dose and viability of *Saccharomyces cerevisiae*. 2. Ruminal fermentation, performance of lactating dairy cows, and correlations between ruminal bacteria abundance and performance measures. *J Dairy Sci.* 2017;100(10):8102-8118. doi:10.3168/jds.2016-12371
 33. Van Soest PJ. Fiber and physicochemical properties of feeds. *Nutritional Ecology of the Ruminant* 2nd edition. 1994:140-147.
 34. Dias ALG, Freitas JA, Micai B, Azevedo RA, Greco LF, Santos JEP. Effect of supplemental yeast culture and dietary starch content on rumen fermentation and digestion in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2018;101(1):201-221. doi:10.3168/jds.2017-13241
 35. Nagaraja TG. Microbiology of the Rumen. In: *Rumenology.* ; 2016:39-60.
 36. Hristov AN, Varga G, Cassidy T, et al. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on ruminal fermentation and nutrient utilization in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2010. doi:10.3168/jds.2009-2379
 37. Adesogan AT, Arriola KG, Jiang Y, et al. Symposium review: Technologies for improving fiber utilization. *J Dairy Sci.* 2019;102(6):5726-5755. doi:10.3168/jds.2018-15334
 38. Cunha CS. Levedura viva e levedura inativa autolisada como aditivos para bovinos. *Diss Mestr.* 2012.
 39. Zhao J, Fleet GH. Degradation of DNA during the autolysis of *Saccharomyces cerevisiae*. *J Ind Microbiol Biotechnol.* 2003;30(3):175-182. doi:10.1007/s10295-003-0028-2
 40. Ganner A, Stoiber C, Dohnal I, Deckardt K K, Schatzmayr G ZQ. Efficacy of an autolysed yeast product (Levabon Rumen) for ruminants versus live yeast culture in vitro. *Join Annu Meet.* 2012.
 41. Robinson PH, Erasmus LJ. Effects of analyzable diet components on responses of lactating dairy cows to *Saccharomyces cerevisiae* based yeast products: A systematic

- review of the literature. *Anim Feed Sci Technol.* 2009;149(3-4):185-198. doi:10.1016/j.anifeedsci.2008.10.003
42. Pedreira MS BT. Minerais. In: Berchielli TT, Pires AV OS, ed. *Nutrição de Ruminantes*. 2nd ed. Jaboticabal; 2011:345-368.
 43. Chen B, Wang C, Wang YM, Liu JX. Effect of biotin on milk performance of dairy cattle: A meta-analysis. *J Dairy Sci.* 2011;94(7):3537-3546. doi:10.3168/jds.2010-3764
 44. Gomide D R. Resposta digestiva de bovinos a doses de levedura autolisada. 2013. <http://repositorio.ufla.br/handle/1/530>.
 45. Berchielli TT BL. Utilização de aditivos na produção de bovinos de corte. In: *Bovinocultura de Corte.* ; 2010.
 46. Nisbet D, SA M. Effect of a *Saccharomyces Ceresiae* Culture on Lactate Utilization by the ruminal bacterium *Selenomonas Ruminantium*. *J Anim Sci.* 1990.
 47. Neubauer V, Petri R, Humer E, et al. High-grain diets supplemented with phytogetic compounds or autolyzed yeast modulate ruminal bacterial community and fermentation in dry cows. *J Dairy Sci.* 2018;101(3):2335-2349. doi:10.3168/jds.2017-13565
 48. Campos AF. Substituição do farelo de soja por levedura seca inativa em dietas de bovinos de corte. *Dissertação.* 2011.
 49. Imaizumi H, Santos FAP, Pires AV, Nussio CMB, Barnabé ÉC, Juchem SDO. Avaliação de diferentes fontes e teores de proteína na dieta sobre o desempenho, fermentação ruminal e parâmetros sanguíneos de vacas da raça Holandesa em final de lactação. *Acta Sci Anim Sci.* 2008;24(0):1031. doi:10.4025/actascianimsci.v24i0.2522
 50. Harrison GA, Hemken RW, Dawson KA, Harmon RJ, Barker KB. Influence of Addition of Yeast Culture Supplement to Diets of Lactating Cows on Ruminal Fermentation and Microbial Populations. *J Dairy Sci.* 1988;71(11):2967-2975. doi:10.3168/jds.S0022-0302(88)79894-X
 51. Wallace RJ. Ruminal microbiology, biotechnology, and ruminant nutrition: progress and problems. *J Anim Sci.* 1994;72(11):2992-3003. doi:10.2527/1994.72112992x

52. Poppy GD, Rabiee AR, Lean IJ, Sanchez WK, Dorton KL, Morley PS. A meta-analysis of the effects of feeding yeast culture produced by anaerobic fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* on milk production of lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 2012;95(10):6027-6041. doi:10.3168/jds.2012-5577

ARTIGO: SUBSTITUIÇÃO DA VIRGINIAMICINA POR PRODUTOS À BASE DE LEVEDURA (SACCHAROMYCES CEREVISIAE) EM DIETAS DE BOVINOS

Substituição da Virginiamicina por produtos à base de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) em dietas de bovinos

Resumo

Os antibióticos vem sendo utilizados como aditivos na dieta de ruminantes com o intuito de manipular o ambiente ruminal, evitando distúrbios metabólicos como a acidose, causados pela rápida fermentação dos carboidratos, além de contribuir para a melhora da eficiência digestiva dos nutrientes. Porém alguns antibióticos podem ser banidos como promotores de crescimento, já que sua utilização pode causar resistência de micro-organismos pelo uso frequente e concomitante na dieta animal e remédios para tratamentos de doenças humanas. Com isso, o objetivo deste estudo foi substituir a Virginiamicina por produtos naturais, leveduras, na dieta de bovinos. A verificação da substituição foi realizada através da digestibilidade dos nutrientes e parâmetros ruminais. Foram utilizados cinco novilhos com aptidão leiteira distribuídos em quadrado latino 5x5. As dietas continham silagem de milho como volumoso e o concentrado foi composto por milho moído, farelo de soja, casca de soja, núcleo mineral, calcário calcítico, uréia e sal comum. Os tratamentos foram: VM: 18mg/kg na MS de Virginiamicina; 7 CL: 7g de cultura de levedura; 14 CL: 14g de cultura de levedura; 7 LA: 7g de levedura autolisada; 14 LA: 14g de levedura autolisada. Não foi encontrada diferença significativa ($P > 0,05$) para o consumo de matéria seca, este foi de: 8,22; 8,45; 8,33; 8,51 e 8,27 kg consumidos; a digestibilidade da matéria seca foi de 61,41%; 53,79%; 57,46%; 54,45% e 55,83%; pH ruminal médio: 6,75; 6,76; 6,76; 6,78 e 6,69 para VM; CL7; CL14; LA7 e LA14, respectivamente. Da mesma forma, não foi encontrada diferença significativa para ácidos graxos de cadeia curta e nitrogênio amoniacal entre os tratamentos, sugerindo a possibilidade de substituição da Virginiamicina por produtos à base de leveduras.

Palavras chave: cultura de levedura; levedura autolisada; parâmetros ruminais; digestibilidade aparente

Abstract

Antibiotics have been used as additives in the diet of ruminants in order to manipulate the rumen environment, avoiding metabolic disorders such as acidosis, caused by the rapid fermentation of carbohydrates, in addition to contributing to the improvement of the digestive efficiency of nutrients. However, some antibiotics can be banned as growth promoters, since their use can cause resistance of microorganisms due to frequent and concomitant use in the animal diet and medicines to treat human diseases. Thus, the aim of this study was to replace Virginiamycin by natural products, as yeasts, in the diet of cattle. The substitution verification was carried out through the digestibility of nutrients and ruminal parameters. Five steers with dairy aptitude were distributed in a 5x5 Latin square. The diets contained corn silage as roughage and the concentrate was composed of ground corn, soybean meal, soybean husk, mineral core, limestone, urea and common salt. The treatments were: VM: 18mg / kg in the Virginiamicina DM; 7 CL: 7g of yeast culture; 14 CL: 14g of yeast culture; 7 LA: 7g of autolysed yeast; 14 LA: 14g of autolyzed yeast. Was not found significant difference ($P > 0.05$) for dry matter consumption, which was: 8.22; 8.45; 8.33; 8.51 and 8.27 kg consumed; the dry matter digestibility was 61.41%; 53.79%; 57.46%; 54.45% and 55.83%; average ruminal pH: 6.75; 6.76; 6.76; 6.78 and 6.69 for VM; CL7; CL14; LA7 and LA14, respectively. Likewise, was not found significant difference for short-chain fatty acids and ammoniacal nitrogen between treatments, suggesting the possibility of replacing Virginiamycin with yeast-based products.

Keywords: yeast culture; autolysed yeast; ruminal parameters; apparent digestibility

Introdução

Visando intensificar os sistemas de produção, uma estratégia adotada é o aumento da quantidade de concentrado adicionada na dieta dos ruminantes. Contudo, uma das consequências desse aumento é a ocorrência da rápida fermentação dos carboidratos presentes na dieta, o que resulta em grande produção de ácidos, causando queda do pH ruminal¹.

Para controlar o pH ruminal, e evitar problemas como a acidose, a procura por aditivos moduladores da fermentação ruminal como os antibióticos é grande, sendo esta uma das finalidades do uso da Virginimicina, já que a mesma possui a capacidade de atuar sobre as bactérias do gênero Gram-positiva, como por exemplo as produtoras de ácido lático, resultando em melhora do pH ruminal², além de maior produção de propionato em detrimento ao acetato, redução dos micro-organismos metanogênicos o que favorece o metabolismo energético³.

Contudo, a utilização de alguns antibióticos, como a Virginiamicina, pode ser banida futuramente como aditivo promotor de desempenho na alimentação animal. Existe a preocupação de órgãos internacionais como a Organização Mundial da Saúde; Organização Mundial de Saúde Animal; Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação e o Codex Alimentarius acerca do tema resistência aos antimicrobianos utilizados na dieta animal e presentes também em medicamentos de uso humano, esta medida visa manter a eficácia de antibióticos no tratamento de doenças humanas⁴.

A resistência de bactérias se torna mais propícia quando os antibióticos são utilizados por longos períodos em doses subterapêuticas nos sistemas de produção configurando condições ideais para bactérias resistentes se fixarem no ambiente⁵. A Virginiamicina, por exemplo, é em grande parte eliminada pelas fezes do animal (>94%), podendo permanecer no ambiente por aproximadamente 2,5 dias no ambiente⁶ podendo esse tipo de micro-organismos resistente ser transmitido pela ingestão de produtos de origem animal ou pela utilização de dejetos não tratados na adubação de produtos consumidos pelos seres humanos⁷.

Com isso, a busca por aditivos alternativos aos antibióticos é uma atividade recorrente, na qual podemos destacar o fornecimento de produtos à base de levedura, sendo este considerado um produto natural, sendo utilizados com a finalidade de alterar os padrões de fermentação ruminal, assim como os antibióticos^{8 9}, ainda que com o modo de ação distinto.

Com o objetivo de substituir o uso de antibiótico por produtos naturais à base de levedura na dieta de bovinos, este estudo verificou a viabilidade desta substituição através da avaliação dos parâmetros ruminais e digestibilidade aparente dos componentes presentes na dieta.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Confinamento Experimental de Bovinos de Corte da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, situada no município de Goiânia, GO. Com aprovação do projeto pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Goiás, protocolo nº 055/18.

Foram utilizados 5 (cinco) novilhos com aptidão leiteira e peso corporal médio inicial de 281kg \pm 9,2 kg. Os animais foram fistulados no rúmen e alojados em baias cobertas e individuais, medindo 1,2m x 3m, com piso cimentado, equipadas com cocho e bebedouro automáticos. As dietas foram isoproteicas e sua composição consta na Tabela 1.

TABELA 1. Porcentagem de inclusão dos ingredientes da dieta fornecida aos animais e composição bromatológica da ração oferecida.

Ingredientes	% na MS ¹
Silagem de milho	35,5
Milho Moído	36,13
Farelo de soja	15,2
Casca de soja	10,5
Núcleo Mineral ²	1,69
Calcário Calcítico	0,42
Sal Comum (NaCl)	0,28
Uréia	0,28
Composição química da ração	% na MS
Matéria Seca	48,08
Proteína Bruta	13,55
Fibra em Detergente Neutro	39,84
Matéria Orgânica	93,75
Extrato Etéreo	2,48
Carboidratos Não Fibrosos	37,88

% na MS¹: percentual de ingredientes da dieta na matéria seca. Núcleo Mineral²: Níveis de garantia por kg: Cálcio (min) 21%; Fósforo: 5%; Vitamina A: 250.000 UI/kg; Vitamina D3: 50.000 UI/kg; Vitamina E: 2.000 UI/kg; Sódio: 8%; Magnésio: 1,6%; Enxofre: 1,30 %; Manganês: 3.200 mg/kg; Zinco: 4.000 mg/kg; Cobalto: 23 mg/kg; Iodo: 50 mg/kg; Selênio: 27 mg/kg; Monensina: 1.080 mg/kg; BHT: 100 mg/kg.

Foram avaliados 5 tratamentos. Um tratamento controle com 18 mg/kg de MS de Virginiamicina, e 4 tratamentos contendo Cultura de Levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) ou Levedura Autolisada (*Saccharomyces cerevisiae*) em duas doses diferentes conforme exposto abaixo:

T1: VM: Virginamicina

T2: CL 7: Cultura de Levedura 7g/cabeça/dia

T3: CL 14: Cultura de Levedura 14g/cabeça/dia

T4: LA 7: Levedura Autolisada 7g/cabeça/dia

T5: LA 14: Levedura Autolisada 14g/cabeça/dia

Os produtos à base de levedura foram misturados ao concentrado fornecido diariamente para cada animal. Já a Virginamicina foi adicionada com base no consumo de matéria seca fornecida diariamente e ao final representou 18mg/kg/MS do produto na dieta.

A cultura de levedura utilizada (Cultron X) neste estudo possui em sua composição células de *Saccharomyces cerevisiae* recuperadas do meio de fermentação juntamente com os metabólitos excretados pelas células de levedura no meio. Estes metabólitos consistem em aminoácidos, vitaminas do complexo B e ácidos orgânicos, importantes fontes de energia, carbono e nitrogênio para as bactérias ruminais.

Já a levedura autolisada (Cultron Pro) foi obtida por processo de adição de sal no meio, causando a ruptura da parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Neste processo de lise da parede celular ocorre a liberação de metabólitos do citoplasma das células rompidas, entre os quais ácidos nucleicos com destaque para o RNA. No processo de quebra por autólise ocorre um intenso fracionamento da parede celular, expondo-a e aumentando a superfície de contato dos micro-organismos ruminais aos componentes da parede celular, os beta-glucanos e os mananoligosacarídeos (MOS). Ambos produtos à base de levedura utilizados neste estudo são detentores da marca Aleris Nutrition.

O delineamento experimental foi um quadrado latino 5 x 5. O ensaio teve duração de 85 dias, divididos em cinco períodos experimentais de 17 dias (11 dias de adaptação e 6 dias de coletas).

A alimentação foi fornecida diariamente às 07:30 horas e as sobras foram pesadas diariamente para ajustar a dieta a ser fornecida no dia seguinte. A proporção volumoso/concentrado foi de 35,5 : 64,5 para todos os tratamentos.

Foi avaliado o comportamento dos animais no 11º dia de cada período, a cada cinco minutos, durante 11 horas consecutivas. As avaliações foram de ruminação, alimentação e ócio. Para obtenção do tempo de cada atividade foi realizada a sua contagem e multiplicado por cinco, totalizando o tempo de cada um em um período de 11h.

Amostras da dieta total oferecida foram coletadas do 12º dia ao 15º dia e amostras da dieta recusada (sobras) foram coletadas do 13º dia ao 16º dia de cada período. Destas

amostragens foi formada uma amostra composta da dieta para cada tratamento a cada período experimental.

Amostras de 200 g de fezes foram coletadas diretamente do reto dos animais do 13° dia ao 16° dia, quatro vezes ao dia, em horários pré-estabelecidos, obtendo-se uma amostra composta para cada tratamento em cada período. As amostras foram congeladas à -20°C para realização das análises bromatológicas, conforme metodologia descrita por Detmann¹⁰. Ao serem descongeladas, as amostras foram secas em estufa com circulação de ar forçado à 55°C, moídas em moinho de facas com peneira de 1,0 mm e acondicionadas em sacos plásticos.

Para estimar a excreção fecal dos animais foi utilizada a técnica da Fibra em Detergente Neutro indigestível (FDNi) como marcador interno, utilizando saquinhos de TNT 100 g/m² incubados por 288 horas em animais fistulados conforme descrito por Detmann¹⁰.

A digestibilidade aparente dos nutrientes (DAN) foi calculada pela diferença da concentração de nutrientes ingeridos e excretados nas fezes, conforme a equação abaixo, onde CN corresponde a concentração do nutriente na dieta ou nas fezes.

$$\text{DAN} = \frac{(\text{Consumo} \cdot \text{CN}) - (\text{excreção} \cdot \text{CN})}{\text{consumo} \cdot \text{CN}} * 100$$

Para estimativa de Produção de Matéria Seca Fecal (PMSF) foi utilizada a seguinte equação, conforme Ferreira¹¹:

$$\text{PMSF} = \frac{(\text{Consumo do indicador (kg/dia)})}{\text{Concentração indicador nas fezes (\%)}}$$

Foram coletadas amostras de fluido ruminal para estimar a concentração de Ácidos Graxos de Cadeia Curta (AGCC), Nitrogênio Amoniacal (N-NH₃) e pH, em quatro pontos diferentes do rúmen antes da alimentação, 2, 4, 8 e 12 horas após a alimentação no 16° e 17° dia de cada período experimental. O conteúdo ruminal coletado foi filtrado em tecido de algodão até obtenção da quantidade desejada de fluido ruminal. O pH do fluido ruminal foi mensurado imediatamente após a coleta com potenciômetro digital.

Uma alíquota de 50 mL de fluido ruminal foi destinada para análise de N-NH₃, sendo acidificada com 1,0 mL de ácido sulfúrico a 50% e posteriormente congelada para realização de análises. A concentração de N-NH₃ foi mensurada pelo método colorimétrico¹⁰.

Para análise de AGCC foram coletados 40 mL de fluido ruminal, que foi acidificado com 10 mL de ácido metafosfórico a 25% antes do congelamento para análises posteriores. A análise e preparo das amostras foram realizadas conforme descrito por Ferreira¹², foram retirados 2 mL de líquido ruminal, transferidos tubo de ensaio e centrifugados a 15.000 x g durante 15 minutos a 4°C. Posteriormente foram retirados 0,8 mL do sobrenadante do

líquido ruminal e transferidos para os Vials, na sequência foram adicionados 0,4 mL de solução 3:1 (3 partes de metafosfórico e 1 parte de ácido fórmico) e, 0,2 mL de solução de ácido 2-etil-butírico (utilizado como padrão interno). Os vials com as amostras preparadas foram agitados em vortex e armazenados sob refrigeração até a leitura. As quantificações de AGCC foram realizadas utilizando um cromatógrafo gasoso GC 2014, Shimadzu Corporation, Tokio, JP. Equipado com detector de ionização de chama e um capilar de polietileno glicol coluna (RESTEK, Bellfonte, PA, USA) 30m de comprimento e 320µm de diâmetro interno, contendo 0,25µM de cianopropil polissiloxano. A aquisição dos dados foi realizada no software CG solution versão 2.42.00. O tempo de leitura das amostras foram separados em três ciclos de aquecimento: 80° C (1min), 120° C (20° C / min por 3 min) e 205° C (10° C / min por 2min) totalizando 16,5min por amostra. O gás Hélio foi usado como gás de arraste a uma taxa de fluxo de 1,0mL / min, e a temperatura utilizada no injetor e detector foi de 260°C. O gás nitrogênio foi usado como gás de reposição a uma taxa de 30mL / min.

As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do Software R. Foi realizada análise de variância (ANOVA) com teste de Tukey a 5% de significância para comparação de médias.

O pH ruminal, concentração de N-NH₃ e AGCC foram analisados nos diferentes horários de coleta usando a análise de medidas repetidas no tempo.

Resultados e Discussão

O consumo de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), matéria orgânica (MO), fibra em detergente neutro (FDN), extrato etéreo (EE) e carboidratos não fibrosos (CNF) não apresentaram diferença entre os tratamentos ($P>0,05$), assim como a digestibilidade dos componentes da dieta (Tabela 2).

TABELA 2. Média de consumo e digestibilidade dos componentes da dieta.

Componentes da dieta ²	Tratamentos ¹					EPM ³	Valor p ⁴
	VM	CL 7g	CL 14g	LA 7g	LA 14g		
Consumo (kg)							
MS	8.22	8.45	8.33	8.51	8.27	0.3069	0.9569
PB	1.1	1.13	1.11	1.17	1.1	0.0448	0.7871
FDN	3.34	3.43	3.41	3.27	3.38	0.1256	0.9035
MO	7.71	7.93	7.81	7.97	7.78	0.2886	0.9634
EE	0.2	0.21	0.2	0.22	0.21	0.0109	0.5524
CNF	3.07	3.16	3.09	3.31	3.1	0.1686	0.8565
Digestibilidade aparente total (%)							
MS	61.41	53.79	57.46	54.45	55.83	3.0887	0.4602
PB	52.75	42.26	49.32	45.76	45.84	3.6274	0.3568
FDN	61.68	55.28	56.19	49.89	55.49	3.8558	0.3699
MO	62.85	56.06	59.09	56.4	57.79	3.0139	0.532
EE	68.29	66.03	63.9	69.42	66.31	3.3497	0.7991
CNF	67.22	60.06	65.31	65.62	63.82	3.1356	0.5771

Tratamentos¹: VM: 18 mg/kg MS; CL7: 7g Cultura de Levedura; CL14: 14g Cultura de Levedura; LA7: 7g Levedura Autolisada; LA14: 14g Levedura Autolisada. Componentes da dieta²: MS: Matéria Seca; PB: Proteína Bruta; FDN: Fibra em Detergente Neutro; MO: Matéria Orgânica; EE: Extrato Etéreo; CNF: Carboidratos Não Fibrosos. EPM³: Erro Padrão Médio. Valor p⁴: médias avaliadas a 5% de significância ($p < 0,05$) sob o teste de Tukey.

Estes resultados demonstram a possibilidade de substituição da Virginiamicina por produtos à base de levedura na menor dose estudada (7 g/cabeça/dia), em dietas de bovinos semelhantes a dieta experimental sem prejuízo para o metabolismo ruminal e na digestibilidade aparente dos componentes analisados.

O consumo da MS foi semelhante entre os tratamentos, com média de 2,3% do peso corporal dos animais, encontrando-se dentro da faixa esperada para animais consumindo 40% de FDN na dieta, mencionada por Mertens¹³. O consumo semelhante da matéria orgânica, proteína bruta, extrato etéreo, fibra em detergente neutro, carboidratos não fibrosos pode ter sido reflexo do consumo da MS, já que segundo Campos¹⁴ ele é o principal responsável pela ingestão dos componentes da dieta.

Olagaray et al¹⁵ ao fornecer uma dieta com 45% de volumoso e 55% concentrado para animais do pós parto suplementando cultura de levedura, não encontraram diferença no consumo de matéria seca, porém verificaram aumento no número de refeições, quando foi adicionada levedura em comparação ao tratamento controle (sem aditivo), essa diferença possivelmente foi reflexo da capacidade que a levedura teria de modular o consumo dos animais, segundo os autores. Resultado este que difere do presente estudo, o qual não foi observado diferença no número de refeições entre os tratamentos (Tabela 3). Possivelmente

esse fato se deve a dose (7g e 14 g) de levedura utilizada no presente estudo, que foi menor em relação a dosagem utilizada por Olagaray et al¹⁵ de 17,5 g/dia ou ainda pelo maior número de vezes de fornecimento da dieta que dos autores de duas ao dia. É válido ressaltar ainda que o tratamento controle do presente trabalho continha em sua composição Virginiamicina e que o resultado obtido é visto de maneira positiva.

TABELA 3. Tempo médio dos animais ruminando, em ócio ou se alimentado e o número de vezes que visitaram o cocho em um período de avaliação de onze horas.

Atividade	Tratamentos ¹					EPM ²	Valor p ³
	VM	7 CL	14 CL	7 LA	14 LA		
Tempo destinado a cada atividade durante 11h de observações							
ALIMENTANDO	142	154	148	148	146	6.0249	0.7243
ÓCIO	374	358	371	338	379	10.7098	0.1083
RUMINANDO	144	148	141	174	135	14.893	0.4335
Número de visitas ao cocho							
Nº DE VISITAS	14.4	12.4	12.8	13.2	11.2	0.9345	0.2482

Tratamentos¹: VM: 18mg/kg MS Virginiamicina; CL7: 7g Cultura de Levedura; CL14: 14g Cultura de Levedura; LA7: 7g Levedura Autolisada; LA14: 14g Levedura Autolisada. EPM²: Erro Padrão Médio. Letras maiúsculas na mesma linha diferem os tratamentos entre si. Valor p³: médias avaliadas a 5% de significância ($p < 0,05$) sob o teste de Tukey.

Kröger et al¹⁶ utilizaram oito vacas, não gestantes e não lactantes fistuladas no rúmen, fornecendo uma dieta com 65% de concentrado de maneira intermitente com 15g de levedura autolisada no concentrado. Os autores verificaram maior consumo de matéria seca para os tratamentos com levedura autolisada em comparação ao tratamento que não continha aditivo e atribuem esse aumento à palatabilidade do produto e alternativamente à melhor digestibilidade já que haveria beneficiamento dos micro-organismos pelos fatores estimulatórios do produto e maior taxa de passagem. Em nosso estudo não foi encontrada essa diferença no consumo pelos animais, um dos motivos da diferença entre os achados do estudo de Kroger et al¹⁶ e o presente trabalho pode ter sido a utilização de distintas cepas, já que segundo ALUGONGO et al¹⁷ este é um dos fatores que pode influenciar no consumo de matéria seca de distintos estudos.

Para a digestibilidade da FDN também não foi encontrada diferença significativa ($P > 0.05$) quando comparada ao tratamento controle, indicando que tanto a cultura de levedura como a levedura autolisada nas menores dosagens são suficientes para boa digestibilidade da fibra em detergente neutro, sendo este resultado coerente com a igualdade estatística do consumo da matéria seca entre os tratamentos. A levedura autolisada¹⁸ e a cultura de levedura⁵, fornecem fatores estimulatórios sendo os micro-organismos fibrolíticos beneficiados, o que

favorece seu crescimento contribuindo então para a melhora na digestibilidade deste componente¹⁹. Contudo, em algumas situações a resposta ao aditivo pode não ser representativa a ponto de não ser encontrada diferença entre tratamentos, podendo ser destacado como um dos fatores que pode interferir, o teor de FDN da dieta, ou seja, quanto maior o teor de FDN menor a resposta para a digestibilidade quando produtos à base de levedura são suplementados⁵.

Não houve diferença ($P>0,05$) para o pH médio do líquido ruminal entre os tratamentos e o seu comportamento ao longo do dia pode ser visto no Gráfico 1.

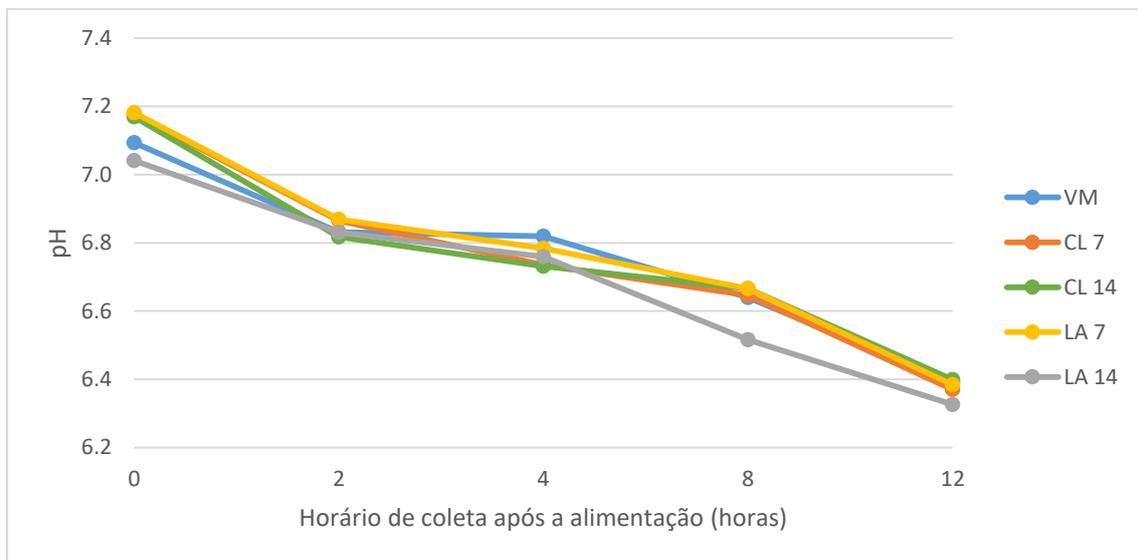


GRÁFICO 1. pH médio do líquido ruminal nos diferentes horários de coleta. VM: 18mg/kg MS Virginiamicina; CL7: 7g Cultura de Levedura; CL14: 14g Cultura de Levedura; LA7: 7g Levedura Autolisada; LA14: 14g Levedura Autolisada.

Os valores de pH ao longo do dia permaneceram na faixa entre 6 e 7,2, considerado adequado para a sobrevivência e multiplicação da maioria dos microrganismos ruminais¹. Além disso, Van Soest²⁰ afirma que o ambiente ruminal com pH abaixo de 6,2 dificultam o crescimento das bactérias celulolíticas com consequente redução na taxa de digestão e aumento do tempo necessário para colonização do alimento por microrganismos ruminais, fenômeno indispensável para o início da degradação da parede celular.

É interessante frisar o fato de que em nenhum dos 5 tratamentos foram mensurados valores de pH médio no fluido ruminal inferiores a 6,3 ao longo do dia, podendo ser constatado que não houve influência negativa deste parâmetro na digestão da fibra.

Ainda no Gráfico 1, podemos observar que, o pH diminuiu linearmente ao longo do dia e seu valor mais baixo foi 12 horas após o fornecimento da dieta em todos os tratamentos coincidindo com a maior concentração de AGCC (Gráficos 2, 3 e 4) que, segundo Millen¹ são os principais contribuintes para que ocorra esta queda quando o pH encontra-se acima de 6,2.

Concordando com os resultados encontrados por Gattas et al²¹ que utilizaram proporção 50:50 volumoso:concentrado em uma dieta de novilhos com e sem cultura de levedura e relataram encontrar valores de pH maiores na coleta antes da alimentação e o menor 12 horas após o fornecimento da ração, e sem diferença estatística entre os tratamentos. Assim como Dias et al²² que após fornecer cultura de levedura (15g/vaca/dia) para vacas primíparas em dieta de baixo e alto amido verificaram as maiores concentrações de AGCC 12h após o fornecimento da dieta.

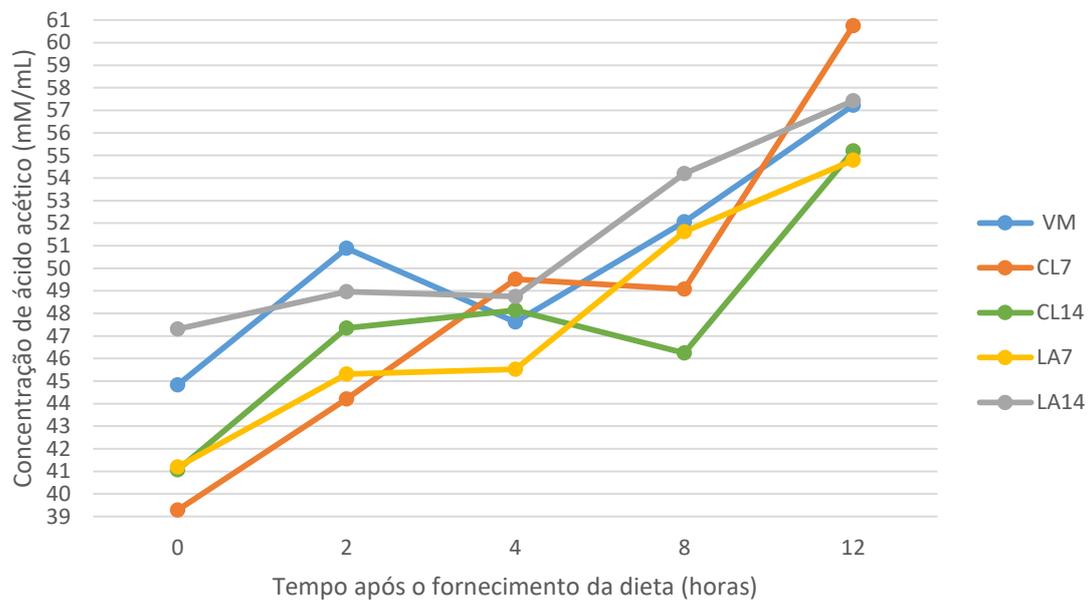


GRÁFICO 2. Concentrações de ácido acético após o fornecimento da alimentação. VM: 18mg/kg MS Virginiamicina; CL7: 7g Cultura de Levedura; CL14: 14g Cultura de Levedura; LA7: 7g Levedura Autolisada; LA14: 14g Levedura Autolisada.

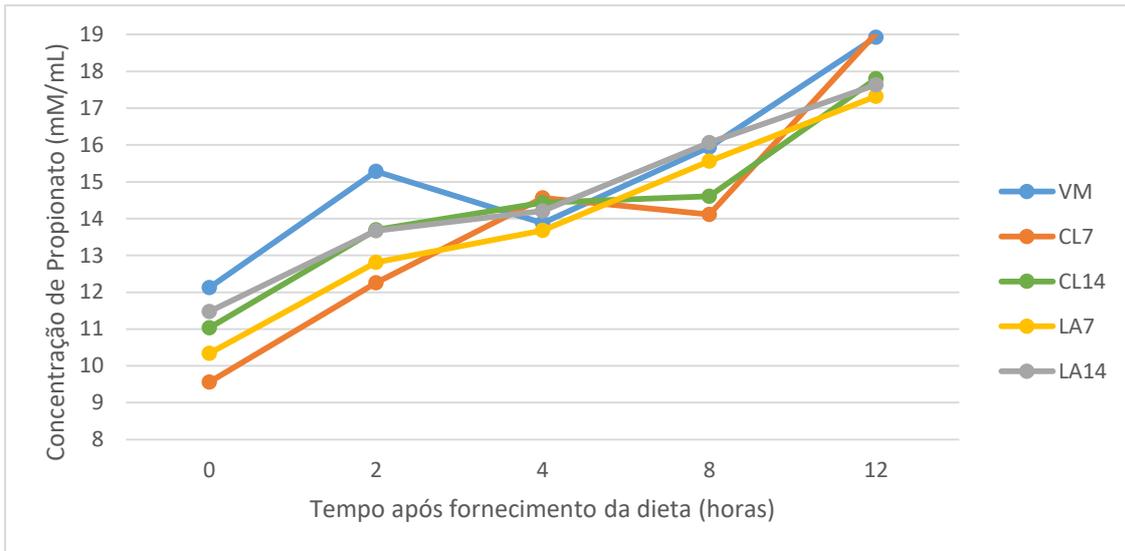


GRÁFICO 3. Concentrações de ácido propiônico após o fornecimento da alimentação. VM: 18mg/kg MS Virginiamicina; CL7: 7g Cultura de Levedura; CL14: 14g Cultura de Levedura; LA7: 7g Levedura Autolisada; LA14: 14g Levedura Autolisada.

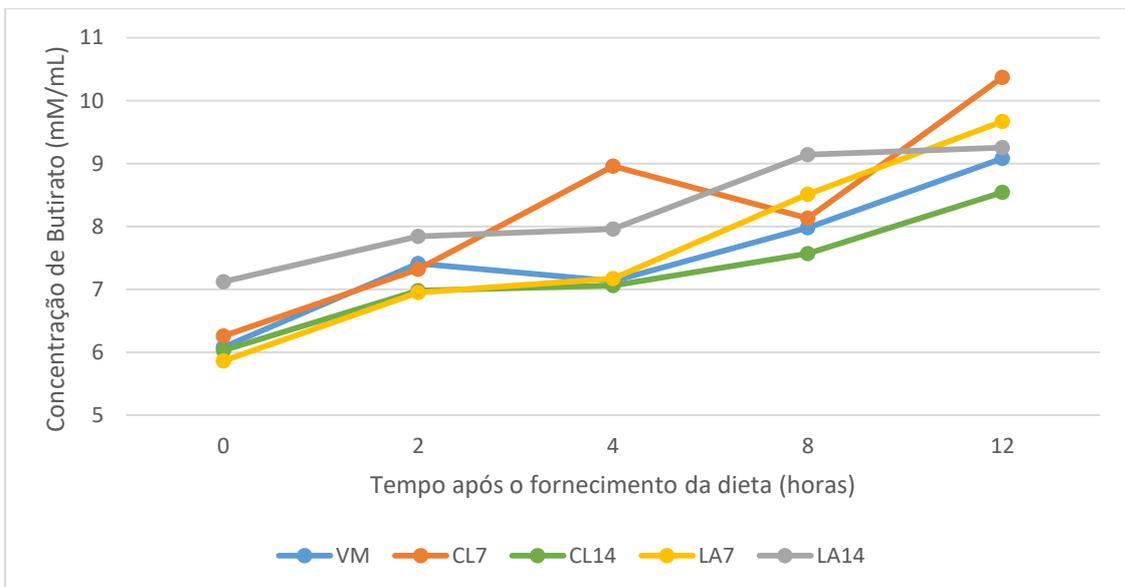


GRÁFICO 4. Concentrações de ácido butírico após o fornecimento da alimentação. VM: 18mg/kg MS Virginiamicina; CL7: 7g Cultura de Levedura; CL14: 14g Cultura de Levedura; LA7: 7g Levedura Autolisada; LA14: 14g Levedura Autolisada.

Cunha²³ ao utilizar cultura de levedura viva (10g/animal/dia) e levedura autolisada (15 ou 30g/animal/dia) em dietas de novilhas nelore com 80% de concentrado não encontraram diferença no pH quando comparado ao tratamento sem aditivo. Os autores atribuíram este resultado ao nível de fibra na dieta, 20% de FDN na MS, possibilitando a seleção do alimento volumoso uma vez que a oferta de ração era de 5% a 10% superior ao seu consumo, com isso,

os autores concluíram que a cultura de levedura e levedura autolisada tiveram pouca ou nenhuma influência sobre o pH ruminal. A seleção de partículas com maior porção de parede celular estimula a ruminação, também chamada de fibra fisicamente efetiva, e consequente produção de saliva a qual tem efeito tamponante no ambiente ruminal Mertens¹³ e no presente estudo também não foram encontradas diferenças significativas para o tempo de ruminação avaliado nos diferentes tratamentos. Além disso, o CNF médio da dieta oferecida foi de 37% (Tabela 1), valor abaixo do limite máximo recomendado pelo NRC²⁴ de 40%, que quando ultrapassado propicia ambiente ideal para o desenvolvimento de *Streptococcus bovis*, espécie produtora de ácido lático.

As diferentes dosagens de cultura de levedura ou levedura autolisada não apresentaram diferença significativa ($P>0,05$) nas concentrações de nitrogênio amoniacal em comparação ao tratamento controle e as maiores concentrações de nitrogênio amoniacal foram encontradas na coleta das duas horas após a alimentação (Gráfico 5).

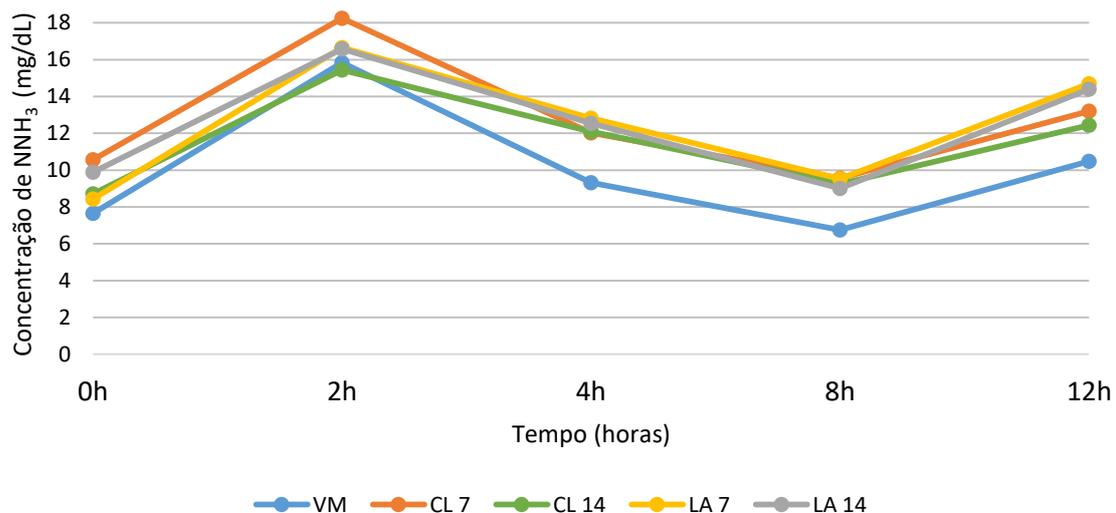


GRÁFICO 5. Concentrações médias de Nitrogênio Amoniacal ao longo do dia. VM: 18mg/kg MS Virginiamicina; CL7: 7g Cultura de Levedura; CL14: 14g Cultura de Levedura; LA7: 7g Levedura Autolisada; LA14: 14g Levedura Autolisada.

No presente trabalho não foi encontrada diferença para digestibilidade aparente da PB nos diferentes tratamentos avaliados, consequentemente as concentrações de N-NH_3 também não apresentaram diferença significativa, já que esta variável está relacionada com o teor de PB da dieta fornecida e com a sua taxa de degradação no rúmen²⁵.

Dias et al²² ao fornecer dietas com baixo amido (23%) e alto amido (29%), utilizando cultura de levedura (15g/animal/dia) ou não na dieta de vacas primíparas, verificaram que ao suplementar cultura de levedura tanto em dietas de alto como baixo amido a

concentração de nitrogênio amoniacal ruminal não diferiu significativamente em comparação ao tratamento controle (sem aditivo), com aumento da digestibilidade da proteína bruta refletindo no aumento de N no leite, para o tratamento com alto amido na dieta.

Hoover²⁶ ao fazer uma revisão de literatura relata que as concentrações de 6,2 mg/dL de nitrogênio amoniacal ruminal (NAR) para que haja um ótimo crescimento dos micro-organismos e 21,4 mg/dL para que ocorra a máxima digestibilidade dos nutrientes. Podendo-se inferir que a concentração de nitrogênio amoniacal não foi limitante para o crescimento dos micro-organismos ruminais em nenhum dos tratamentos deste estudo.

As concentrações de AGCC, nos diferentes tratamentos estão apresentados na Tabela 3, sem verificação de diferença significativa ($P > 0,05$) entre si.

TABELA 4. Médias de concentração de Ácidos Graxos de Cadeia Curta, pH e nitrogênio amoniacal.

Parâmetros Ruminais ²	Tratamentos ¹						Valor p ⁴
	VM	CL7	CL14	LA7	LA14	EPM ³	
pH	6.75	6.76	6.76	6.78	6.69	0.05	0.8438
N-NH ₃ (mg/dL)	10.01	12.63	11.57	12.42	12.48	1.35	0.8565
Ácidos Graxos de Cadeia Curta (mM/mL)							
Acetato	50.52	48.57	47.6	47.69	51.33	1.49	0.3257
Propionato	15.23	13.91	14.32	13.94	14.61	0.43	0.2346
Isobutirato	0.62	0.64	0.7	0.6	0.69	0.05	0.6396
Butirato	7.53	8.21	7.24	7.63	8.26	0.55	0.6306
Iso-Valérico	1.31	1.41	1.41	1.23	1.4	0.13	0.8316
Valérico	0.93	0.94	0.91	0.95	0.86	0.04	0.5277
Total	76.14	73.67	72.18	72.05	77.15	2.36	0.4649
C2:C3 (mM/mM)	3.39	3.6	3.39	3.48	3.61	0.09	0.3234

Tratamentos¹: VM: 18mg/kg MS Virginiamicina; CL7: 7g Cultura de Levedura; CL14: 14g Cultura de Levedura; LA7: 7g Levedura Autolisada; LA14: 14g Levedura Autolisada. Parâmetros Ruminais²: Acetato, Propionato, Butirato, Iso Valérico, Valérico e Total: referem-se as concentrações médias ao longo do dia. EPM³: Erro Padrão Médio. Letras maiúsculas na mesma linha diferem os tratamentos entre si. Valor p⁴: médias avaliadas a 5% de significância ($p < 0,05$) sob o teste de Tukey.

A relação acetato:propionato permaneceu estatisticamente igual em todos os tratamentos ($P > 0,05$), indicando que a população microbiana não foi alterada significativamente nos diferentes tratamentos utilizados, sendo esta hipótese sustentada pelo pH semelhante entre eles ($P > 0,05$), sendo esta última variável altamente relacionada com a população microbiana presente no rúmen. Segundo Metwally e Windisch²⁷ a produção de ácidos graxos está relacionada com a mudança na população de micro-organismos ruminais, sendo o ácido acético produzido majoritariamente pelas bactérias celulolíticas e o propionato

pelas bactérias fermentadoras de amido, podendo-se inferir que as populações de micro-organismos celulolíticos devem ter crescido satisfatoriamente, mesmo utilizando-se alta proporção de concentrado na dieta destes animais.

A igualdade estatística entre os tratamentos para estas concentrações são coerentes com os resultados de consumo e digestibilidade aparente da matéria orgânica, uma vez que também não foram encontradas diferenças ($P>0,05$) para estas avaliações, assim como não foram encontradas diferenças para o tempo de permanência no cocho e número de visitas nos diferentes tratamentos.

Conclusão

Os parâmetros ruminais e a digestibilidade das diferentes frações avaliadas não são afetados pela substituição da Virginamicina pelos produtos à base de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*). É possível a substituição do antibiótico Virginamicina por produtos à base de levedura em dietas de bovinos, reduzindo o uso de antibióticos e os custos na produção animal.

Referências

1. Millen DD, Pacheco RDL, Cabral LS, Cursino LL, Watanabe DHM, Rigueiro A. Ruminal Acidosis. In: Millen DD, Pacheco RDL AM, ed. *Rumenology.* ; 2016:127-156.
2. Duffield TF, Merrill JK, N BR. Productivity and safety in anesthesia. *J Anim Sci* doi102527/jas2011-5018. 2015;15(4):223-224. doi:10.2527/jas2011-5018
3. Page SW. *The Role of Enteric Antibiotics in Livestock Production.*; 2003. <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:The+role+of+enteric+antibiotics+in+livestock+production#0>.
4. World Health Organization. Critically important antimicrobials for human medicine. 2017;5 ed(41p).
5. Robinson PH, Erasmus LJ. Effects of analyzable diet components on responses of lactating dairy cows to *Saccharomyces cerevisiae* based yeast products: A systematic review of the literature. *Anim Feed Sci Technol.* 2009;149(3-4):185-198. doi:10.1016/j.anifeedsci.2008.10.003
6. Araújo DB de, Barbosa LFSP, Borges CAA, et al. Use of Virginimycin in Cattle Feeding. In: *Rumenology.* ; 2016:189-209.
7. Wall BA, Mateus A, Marshall L, Pfeiffer DU. *Drivers, Dynamics and Epidemiology of Antimicrobial Resistance in Animal Production.*; 2016.
8. Coe ML, Nagaraja TG, Sun YD, et al. Effect of Virginiamycin on Ruminal Fermentation in Cattle during Adaptation to a High Concentrate Diet and during an Induced Acidosis. *J Anim Sci.* 1999;77(8):2259-2268. doi:10.2527/1999.7782259x
9. Nisbet D, SA M. Effect of a *Saccharomyces Ceresiae* Culture on Lactate Utilization by the ruminal bacterium *Selenomonas Ruminantium*. *J Anim Sci.* 1990.
10. Detmann E, Souza M, Filho SV, Berchielli T, Cabral L, Ladeira M. *Métodos Para Análise de Alimentos-Ciência Animal.* Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil; 2012.
11. Ferreira MA, Valadares Filho SC, Marcondes MI, Paixão ML, Paulino MF V, RFD. Avaliação de indicadores em estudos com ruminantes: Digestibilidade. *R Bras Zootec.*

2009.

12. Ferreira EM, Vaz A, Susin I, Vinicius M, Shinkai R, Oliveira M De, et al. Nutrient digestibility and ruminal fatty acid metabolism in lambs supplemented with soybean oil partially replaced by fish oil blend. *Anim Feed Sci Technol.* 2016;216:30–9.
13. Mertens D. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy coD., Mertens. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 1997.ws. *J Dairy Sci.* 1997.
14. Campos AF. Substituição do farelo de soja por levedura seca inativa em dietas de bovinos de corte. *Dissertação.* 2011.
15. Olagaray KE, Sivinski SE, Saylor BA, et al. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on feed intake parameters, lactation performance, and metabolism of transition dairy cattle. *J Dairy Sci.* 2019;102(9):8092-8107. doi:10.3168/jds.2019-16315
16. Kröger I, Humer E, Neubauer V, Reisinger N, Aditya S, Zebeli Q. Modulation of chewing behavior and reticular pH in nonlactating cows challenged with concentrate-rich diets supplemented with phytogetic compounds and autolyzed yeast. *J Dairy Sci.* 2017;100(12):9702-9714. doi:10.3168/jds.2017-12755
17. Alugongo GM, Xiao J, Wu Z, Li S, Wang Y, Cao Z. Review: Utilization of yeast of *Saccharomyces cerevisiae* origin in artificially raised calves. *J Anim Sci Biotechnol.* 2017. doi:DOI 10.1186/s40104-017-0165-5
18. Oeztuerk H. Effects of live and autoclaved yeast cultures on ruminal fermentation in vitro. *J Anim Feed Sci.* 2009;18(1):142-150. doi:10.22358/jafs/66378/2009
19. Neubauer V, Petri R, Humer E, et al. High-grain diets supplemented with phytogetic compounds or autolyzed yeast modulate ruminal bacterial community and fermentation in dry cows. *J Dairy Sci.* 2018;101(3):2335-2349. doi:10.3168/jds.2017-13565
20. Van Soest PJ. Fiber and physicochemical properties of feeds. *Nutritional Ecology of the Ruminant* 2nd edition. 1994:140-147.

21. Gattas CBA, Morais MG, Abreu UGP, Lempp B, Stein J ATF. Consumo, digestibilidade aparente e ganho de peso em bovinos de corte confinados e suplementados com cultura de levedura (*Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026). In: *Ciência Animal Brasileira*. Vol 9. ; 2008:535-542.
22. Dias ALG, Freitas JA, Micai B, Azevedo RA, Greco LF, Santos JEP. Effect of supplemental yeast culture and dietary starch content on rumen fermentation and digestion in dairy cows. *J Dairy Sci*. 2018;101(1):201-221. doi:10.3168/jds.2017-13241
23. Cunha CS. Levedura viva e levedura inativa autolisada como aditivos para bovinos. *Diss Mestr*. 2012.
24. Nutrient, National Research Council. Nutrient requirements of domestic animal. Cattle requirements of dairy. *NRC*. 7th ed. Washington; 2001.
25. Lazzarini I. Consumo, digestibilidade e dinâmicas de trânsito e degradação da fibra em detergente neutro em bovinos alimentados com forragem tropical de baixa qualidade e compostos nitrogenados. *OrtonCatieAcCr*. 2007. <http://orton.catie.ac.cr/repdoc/A2242E/A2242E.PDF>.
26. Hoover WH. Chemical Factors Involved in Ruminant Fiber Digestion. *J Dairy Sci*. 1986;69(10):2755-2766. doi:10.3168/jds.S0022-0302(86)80724-X
27. Metwally A, W W. Effect of inactivated yeast on rumen dry matter degradation and fermentation of low concentrate feed. *African J Agric Res*. 2015;10(53):4888-4895. doi:10.5897/ajar2015.10520