

Leveduras vivas e monensina em dietas de alto concentrado para bovinos: parâmetros ruminais e degradabilidade “*in situ*”¹

Live yeast culture and monensin in high grain diets for cattle: rumen fermentation and “in situ” degradability

GOMES, Rodrigo da Costa²; ANTUNES, Maria Tereza²; NOGUEIRA FILHO, José Carlos Machado²; ÍTAVO, Luis Carlos Vinhas³; LEME, Paulo Roberto²

¹Projeto financiado pela FAPESP.

²Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Departamento de Zootecnia, Pirassununga, São Paulo, Brasil.

³Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

*Endereço para correspondência: gomes_rc@hotmail.com

RESUMO

Leveduras têm sido utilizadas para substituir antibióticos em dietas para ruminantes. Assim, objetivou-se avaliar o efeito de leveduras vivas (*Saccharomyces cerevisiae*, Beef-Sacc[®], Alltech, Inc.), monensina (Rumensin[®], Elanco, Inc.) e a combinação de ambos em dietas com alto concentrado, sobre a fermentação, os protozoários e a degradação ruminal *in situ*. Quatro novilhos Nelore canulados no rúmen foram alimentados com uma dieta base (2,8Mcal EM/kg de matéria seca [MS]; 14% PB) e submetidos, de acordo com um delineamento Quadrado Latino 4x4, aos tratamentos: controle (CON; sem aditivos), levedura (LEV; 0,6 g/kg de MS), monensina (MON; 0,3g/kg de MS) e monensina mais levedura (MON+LEV). Avaliou-se os números de protozoários e os parâmetros de fermentação ruminal e de degradação do milho (MI), farelo de soja (FS) e casca de soja (CS). Não houve efeito sobre o pH, butirato e N amoniacal, mas todos tratamentos diminuíram a concentração total de ácidos graxos de cadeia curta. MON e MON+LEV reduziram acetato (%) e a relação acetato:propionato. O propionato aumentou com MON e MON+LEV e com LEV nos tempos 4 e 6 horas após a alimentação. LEV aumentou o número de protozoários enquanto que MON e MON+LEV os inibiram. Não houve efeitos de LEV e MON+LEV sobre a degradação *in situ* de nenhum dos alimentos avaliados, porém a monensina aumentou a taxa de degradação do FDN da CS. Os efeitos

da monensina sobre a fermentação ruminal são mais significantes do que aqueles observados com leveduras, e a combinação de ambos os aditivos não potencializa os resultados.

Palavras-chave: aditivos alimentares, *Bos indicus*, modificadores da fermentação ruminal, promotores de crescimento, protozoários ciliados

SUMMARY

Live yeast cultures have been used as an alternative to replace antibiotics in diets for ruminants. Therefore, the aim was to evaluate the effects of adding live yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*, Beef Sacc[®], Alltech, Inc.), monensin (Rumensin[®], Elanco, Inc.) and the combination of both additives in high grain diets, on rumen fermentation patterns, protozoa organisms and *in situ* degradability of diet components. Four rumen-cannulated steers were fed a basal ration (2.8Mcal ME/kg DM, 14% CP) and submitted to one of four treatments following a 4x4 Latin Square design: control (CON, no additives), yeast (YEA, 0.6g/kg of dry matter), monensin (MON, 0.3g/kg of dry matter) and monensin plus yeast (MON+YEA). After 14 days of diet adaptation, the rumen fermentation parameters, the protozoa numbers and the degradation kinetics of corn (CO), soybean

meal (SM) and soybean hulls (SH) were assessed. Feed additives did not affect rumen pH, butyrate and ammonia nitrogen concentrations, but decreased total short chain fatty acids (mM). MON and MON+ YEA decreased acetate (%) and acetate:propionate ratio whereas propionate was increased by MON and MON+YEA at all sampling times, and by YEA at 4 and 6h post-feeding only. YEA increased the number of protozoa whereas MON and MON+YEA inhibited those microorganisms (total organisms [$\times 10^4$ /mL]). There were no effects of YEA and MON+YEA on *in situ* degradability parameters of any evaluated feed, however, MON increased NDF degradation rate of SH. Monensin effects on rumen fermentation are more significant than those observed when feeding live yeast cultures, and the combination of both additives does not improve their effects.

Keywords: *Bos indicus*, ciliate protozoa, direct-fed microbials, feed additives, growth promoters, rumen fermentation modifiers

INTRODUÇÃO

Dietas com alto teor de concentrados (entre 70 e 90% em base seca) são utilizadas na terminação de bovinos de corte para a obtenção de alto desempenho e carcaças de boa qualidade. Contudo, a ingestão de grandes quantidades de carboidratos prontamente fermentáveis pode levar à acidose, resultando na redução do desempenho (GALYEAN & RIVERA, 2003). Nesse sentido, aditivos alimentares, como a monensina e as leveduras, têm sido utilizados para minimizar a redução do pH ruminal pela fermentação do amido em ácido láctico.

A monensina inibe bactérias produtoras de lactato e favorece o desenvolvimento de bactérias que o fermentam para a produção de succinato, um precursor do ácido propiônico (IPHARRAGUERRE & CLARK, 2003). Dessa forma, esse ionóforo auxilia a manutenção do pH ruminal estável, favorece a degradação

microbiana e promove uma fermentação mais eficiente, pelo aumento em propionato e por menor produção de metano (BARAN et al., 1986). Portanto, espera-se pelo uso da monensina, melhoras no balanço energético animal (ERASMUS et al., 2008) e aumento em desempenho (SALLES et al., 2008).

Leveduras vivas também têm demonstrado potencial em diminuir os riscos de acidose ruminal (GUEDES et al., 2008; THRUNE et al., 2009), melhorar a digestibilidade (TITI et al., 2008), o ganho de peso, a eficiência alimentar (HADDAD & GOUSSOUS, 2005) e a produção de leite (CAMPANILE et al., 2008). Esse aditivo estimula o crescimento (LASCANO et al., 2009), a utilização de lactato (WALDRIP & MARTIN, 1993), e a digestão da fibra (BEHARKA & NAGAJARA, 1998; TANG et al., 2008) por microorganismos ruminais. Essas características têm credenciado as leveduras como substituto da monensina, uma vez que o uso de antibióticos tem sido proibido na alimentação animal (WEGENER, 2003).

Apesar de apresentar mecanismos de ação distintos, o uso da monensina e da levedura objetiva melhorar a eficiência alimentar e o desempenho animal por meio, principalmente, da manutenção de um ambiente ruminal mais estável e de uma fermentação microbiana mais eficiente. Dessa forma, é razoável também investigar os efeitos da adição de ambos, combinados, em dietas com alto teor de concentrado.

Assim, objetivou-se avaliar o efeito de cultura de leveduras vivas (*Saccharomyces cerevisiae*), da monensina e da combinação de ambos em dietas com alto teor de concentrado sobre a fermentação ruminal, sua população de protozoários e a degradabilidade *in situ*, em novilhos.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo – FZEA/USP. Foram utilizados quatro novilhos Nelore, canulados no rúmen, com 445 ± 13 kg de peso vivo. Os animais foram alimentados uma vez ao dia, sempre às 8 horas da manhã, com uma dieta base com 71,2% de NDT e 14,3%

de PB (Tabela 1), sem a presença de aditivos (CON), com a adição de cultura de leveduras vivas (LEV, *Saccharomyces cerevisiae*, cepa 1026, Beef Sacc®, 0,6g de /kg MS), de monensina (MON, monensina sódica 10%, Rumensin®, 0,3g/kg MS) ou da associação de ambos os aditivos (MON+LEV, adição de levedura e monensina na dieta em quantidades iguais às descritas anteriormente).

Tabela 1. Ingredientes e composição química da dieta experimental com base na matéria seca

Ingredientes	% na MS ¹
Milho grão seco, moído grosso	39,7
Farelo de soja 45%	6,8
Casca de soja	29,0
Uréia	1,0
Núcleo mineral	1,0
Sulfato de amônia	0,3
Cloreto de potássio	0,2
Calcáreo calcítico	1,0
Bagaço de cana <i>in natura</i>	21,0
Nutrientes	
Extrato etéreo	2,3
Fibra em detergente neutro	44,8
Fibra em detergente ácido	30,1
Matéria mineral	2,9
Proteína bruta	14,3
Proteína degradável no rúmen	9,8
Nutrientes digestíveis totais	71,4

¹Percentagem com base no teor de matéria seca.

O experimento constou de quatro períodos experimentais de 21 dias, cada, com 14 dias de adaptação dos animais à dieta e cinco dias de coletas. No dia 15 de cada período experimental, amostras de líquido

ruminal foram coletadas via fístula ruminal às 0, 2, 4 e 6 horas após a alimentação para determinação do pH e das concentrações de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e nitrogênio amoniacal (N-amoniacal). O número de

protozoários ciliados foi determinado nas amostras de líquido ruminal colhidas às 0 e 4 horas. Alíquotas de 2mL de líquido ruminal foram armazenadas em frascos de vidro contendo 0,4mL de ácido fórmico e 1,0ml de ácido sulfúrico 1N para dosagens posteriores de AGCC's e N-amoniacal, respectivamente.

Para a determinação do número de protozoários ciliados, alíquotas de líquido ruminal de 10 ml foram armazenadas em frascos com formaldeído 37% e analisadas como descrito por Valinote et al. (2005). Concentrações de acetato, propionato e butirato foram determinadas por cromatografia gasosa, e a dosagem de N-amoniacal foi realizada de acordo com o método descrito por Weatherburn (1967).

No 18º dia, a técnica de Orskov & McDonald (1979), foi utilizada para a avaliação da degradabilidade ruminal *in situ* do milho, farelo de soja e da casca de soja. Os alimentos foram secos em estufa de ventilação forçada (55°C, 72 horas), moídos para serem passados em peneira de 2mm, colocados em sacos de náilon de 7x14cm e poros de 50µm, numa quantidade aproximada de 6g, e incubados em triplicata no rúmen por 0, 3, 6, 12, 24, 48 horas para milho e farelo de soja. Para a casca de soja, foi incluído o tempo de 72 horas. Os sacos foram incubados na ordem inversa dos tempos, de forma a todos serem retirados ao mesmo tempo e lavados uniformemente. Para análise do tempo zero, os sacos de náilon foram incubados no rúmen por 15 minutos e retirados em seguida. Após as incubações, os sacos foram lavados em água corrente, até que a água de lavagem permanecesse limpa, e então foram secos em estufa de ventilação forçada (55°C, 72 horas). A diferença

de peso no tempo zero foi considerada fração solúvel “a” do modelo proposto por Ørskov & McDonald (1979).

Os dados de degradabilidade foram ajustados pelo modelo de Orskov & McDonald (1979), conforme a equação $Y = a + b \times (1 - e^{-ct})$, e as constantes “a”, “b” e “c” foram utilizadas para cálculos da degradabilidade potencial e degradabilidade efetiva, conforme equação $p = a + [(b \cdot c)/(c+k)]$. Para as equações acima citadas, Y é degradação acumulada do componente nutritivo analisado, após o tempo t; “p” representa a degradabilidade efetiva; “a” é a intersecção da curva no tempo zero, a qual representa a fração solúvel; “b” é a fração potencialmente degradável, ou seja a fração do componente do alimento degradado no tempo total de incubação; “c” é a taxa de degradação da fração potencialmente degradável; “t” é o tempo de incubação e “k” é a taxa do alimento no compartimento ruminal, considerada de 5%/h, o que representa níveis médios de ingestão alimentar.

Foram realizadas as análises de matéria seca (MS) e proteína bruta (PB) para o farelo de soja, MS para milho, MS e fibra em detergente ácido (FDA) e fibra em detergente neutro (FDN) para a casca de soja. As frações FDN e FDA foram determinadas segundo Van Soest et al. (1991), e a PB segundo a AOAC (1990). A degradabilidade potencial das frações MS e PB dos alimentados avaliados foi obtida pela soma das frações “a” e “b”.

O delineamento experimental utilizado foi o Quadrado Latino 4x4. Os dados foram testados para normalidade dos resíduos (teste de Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variâncias (teste de Hartley). Para as respostas que não foram medidas no tempo, os efeitos foram avaliados por análise de variância, através do procedimento

GLM do *software* SAS (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA). Foram adotados, no modelo, os efeitos fixos de período, tratamento e animal. Médias foram comparadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de significância, protegido por teste F prévio ($\alpha = 0,05$). Já, para as medidas repetidas no tempo, os dados foram submetidos à análise de variância, mediante os estimadores de máxima verossimelhança restrita (REML) para obtenção das estimativas segundo o delineamento em Quadrado Latino 4x4, por meio do procedimento Mixed do SAS. Comportamentos lineares, quadráticos e cúbicos do efeito de tempo de amostragem de líquido ruminal foram testados por contrastes ortogonais. As médias foram obtidas pelo procedimento LSMEANS e comparadas pelo teste ajustado de Tukey-Kramer. Probabilidades entre 5 e 10% foram discutidas como tendências.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O pH ruminal diminuiu linearmente com o tempo de coleta ($P < 0,05$), porém não foram observados efeitos dos aditivos e interação tratamento x tempo de coleta sobre esse parâmetro ($P > 0,10$, Tabela 2).

O tempo de coleta em relação à hora da alimentação dos animais influenciou quadraticamente as concentrações de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) totais e de butirato ($P < 0,001$), contudo não afetou a percentagem de acetato ($P > 0,10$; Tabela 3). Verificou-se que o perfil de AGCC ruminal foi alterado com o acréscimo dos aditivos. A concentração de AGCC totais foi menor em animais do tratamento MON, LEV e MON+LEV, em comparação ao tratamento controle, e que não houve diferença entre esses tratamentos

Tabela 2. Efeitos da adição de aditivos alimentares em dietas de alto concentrado sobre o pH ruminal

Tempo ¹	Tratamento				Significância dos efeitos
	Controle	Levedura	Monensina	Mon+Lev ³	
pH ruminal					Tratamento: $P = 0,4285$
0 hora	6,74	6,75	6,78	6,92	Tempo: $P = 0,0448$
2 horas	6,83	6,84	6,69	6,88	Interação: $P = 0,4657$
4 horas	6,68	6,74	6,61	6,78	Linear: $P = 0,0132$
6 horas	6,63	6,67	6,56	6,48	Quadrático: $P = 0,0573$
Média	6,72	6,75	6,66	6,76	Cúbico: $P = 0,4185$
EPM ²	0,04	-	-	-	-

¹Tempo de coleta em relação à hora de alimentação; ²Erro-padrão da média; ³Combinação entre monensina e levedura.

Tabela 3. Efeitos da adição de aditivos alimentares em dietas de alto concentrado sobre a concentração de ácidos graxos de cadeia curta ruminais

Tempo ¹	Tratamento				Significância dos efeitos
	Controle	Levedura	Monensina	Mon+Lev ⁵	
AGCC ² (mM)					Tratamento: $P = 0,0334$
0 hora	76,5	68,5	64,6	63,1	Tempo: $P < 0,0001$
2 horas	74,8	70,5	68,2	66,7	Interação: $P = 0,8014$
4 horas	79,1	68,5	71,9	67,3	Linear: $P < 0,0001$
6 horas	87,6	78,6	76,1	80,6	Quadrático: $P = 0,0203$
média	79,5 ^a	71,5 ^b	70,2 ^b	69,4 ^b	Cúbico: $P = 0,2137$
EPM ³	1,93	-	-	-	
Acetato (%)					Tratamento: $P = 0,0598$
0 hora	70,1	70,6	67,7	69,1	Tempo: $P = 0,3407$
2 horas	70,7	70,9	67,4	67,8	Interação: $P = 0,0761$
4 horas	71,4	70,4	66,6	67,9	
6 horas	71,5	69,8	66,7	66,9	
Média	70,9	70,4	67,1	67,7	
EPM ³	0,91	-	-	-	
Propionato (%)					Tratamento: $P = 0,0026$
0 hora	18,7 ^a	19,0 ^a	21,7 ^b	22,1 ^b	Tempo: $P < 0,0001$
2 horas	19,2 ^a	19,4 ^a	22,5 ^b	22,6 ^b	Interação: $P = 0,0479$
4 horas	19,0 ^a	20,2 ^b	23,7 ^c	22,6 ^c	
6 horas	19,1 ^a	20,8 ^b	24,0 ^c	23,3 ^c	
Média	19,0	19,9	22,9	22,7	
EPM ³	0,49	-	-	-	
Butirato (%)					Tratamento: $P = 0,9881$
0 hora	11,2	10,5	10,6	9,88	Tempo: $P < 0,0001$
2 horas	10,1	9,67	10,1	9,58	Interação: $P = 0,1617$
4 horas	9,65	9,47	9,66	9,47	Linear: $P < 0,0001$
6 horas	9,42	9,52	9,37	9,73	Quadrático: $P = 0,0050$
Média	10,1	9,78	9,93	9,67	Cúbico: $P = 0,7648$
EPM ³	0,93	-	-	-	
A:P ⁴					Tratamento: $P = 0,0016$
0 hora	3,78 ^a	3,73 ^a	3,14 ^b	3,13 ^b	Tempo: $P = 0,0027$
2 horas	3,71 ^a	3,66 ^a	3,02 ^b	3,03 ^b	Interação: $P = 0,0395$
4 horas	3,81 ^a	3,52 ^b	2,84 ^c	3,05 ^c	
6 horas	3,84 ^a	3,38 ^b	2,81 ^c	2,90 ^c	
Média	3,78	3,57	2,95	3,03	
EPM ³	0,09	-	-	-	

^{a,b,c}Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste Tukey-Kramer ($P < 0,05$).

¹Tempo de coleta em relação à hora de alimentação; ²Ácidos graxos de cadeia curta; ³Erro-padrão da média; ⁴Relação acetato:propionato; ⁵Combinação entre monensina e levedura.

A percentagem de acetato em relação à concentração de AGCC totais tendeu a ser modificada ($P = 0,0598$), e foram observados valores inferiores nos tratamentos que receberam monensina,

quando comparados aos que não a receberam. Foi observada interação tratamento x tempo de coleta para percentagem de propionato e para a relação acetato:propionato (A:P;

$P < 0,05$). Nos tempos 0 e 2 horas, após a alimentação, a adição de monensina e a combinação entre esse aditivo e a levedura aumentou a percentagem de propionato e diminuiu a A:P, em comparação ao controle e ao tratamento levedura. Os tratamentos CON e LEV não diferiram entre si, para ambos os parâmetros, assim como os tratamentos MON e MON+LEV. Já, nos tempos 4 e 6 horas, a percentagem de propionato foi maior e a relação A:P menor para os

tratamentos com monensina, seguidos por LEV e então por CON. A percentagem de butirato em relação ao total de AGCC não foi alterada pelos tratamentos ($P > 0,10$).

A concentração ruminal de N-amoniaco comportou-se quadraticamente em relação ao tempo de coleta ($P < 0,0001$), porém efeitos dos diferentes aditivos e a interação tempo x tratamento não foram significativos ($P > 0,10$; Tabela 4).

Tabela 4. Efeitos da adição de aditivos alimentares em dietas de alto concentrado sobre a concentração ruminal de nitrogênio amoniacal (N-NH₃)

Tempo ¹	Tratamento				Significância dos efeitos
	Controle	Levedura	Monensina	Mon+Lev ³	
N-NH ₃ (MG/dl)					Tratamento: $P = 0,2768$
0 hora	7,56	8,06	9,84	7,71	Tempo: $P < 0,0001$
2 horas	19,10	24,30	20,50	21,30	Interação: $P = 0,6338$
4 horas	22,40	28,60	27,30	24,50	Linear: $P < 0,0010$
6 horas	15,60	20,80	16,60	15,00	Quadrático: $P < 0,0001$
Média	16,20	20,40	18,60	17,10	Cúbico: $P = 0,2463$
EPM ²	1,45	-	-	-	

¹Tempo de coleta em relação à hora de alimentação; ²Erro-padrão da média; ³Combinação entre monensina e levedura.

Observamos que o pH ruminal médio e seu padrão de redução em função do início de um ciclo de alimentação foram bastante semelhantes entre os tratamentos e seguiram a tendência descrita em estudos anteriores que avaliaram a adição de leveduras (ROBINSON & GARRET, 1999; ENJALBERT et al., 1999; GARCIA et al., 2000; ERASMUS et al., 2005), de monensina (ROGERS et al., 1997) e da combinação de ambos os aditivos (ERASMUS et al., 2005) em dietas para ruminantes. Porém, essa parece não ser uma tendência consolidada, já que há relatos do aumento nos valores desse parâmetro (BACH et al., 2007) ou ainda da redução na queda do pH ruminal com o uso de leveduras

vivas (MATHIEU et al., 1996). Já a adição de monensina em dietas de alto concentrado apresenta resultados conflitantes, pois há relatos que apresentam aumento (SALLES & LUCCI, 2000), diminuição (ZINN et al., 1994) ou mesmo manutenção do pH ruminal em bovinos.

Efeitos inconsistentes das leveduras sobre o perfil de AGCC ruminal também foram relatados em estudos que abordam dietas com alto teor de concentrado ou de forragem (NEWBOLD et al., 1995; MCGINN et al., 2004). Contudo, outros têm relatado um aumento na concentração de AGCC totais (LASCANO & HEIRICHS, 2009) e de propionato, em detrimento à de acetato

(ENJALBERT et al., 1999; MILLER-WEBSTER et al., 2002, ERASMUS et al., 2005).

Quanto à monensina, as observações realizadas no presente estudo confirmam o que a maioria dos trabalhos publicados anteriormente relatou. Em geral, tem sido notado que esse ionóforo pode aumentar a concentração de propionato ruminal, em detrimento à de acetato, de forma a reduzir a relação A:P (LANA & RUSSEL, 2001; MCGINN et al., 2004). Em relação à combinação entre monensina e levedura, quando ovinos receberam a associação de ambos os aditivos (GARCIA et al., 2000), observou-se que houve um aumento na concentração de acetato e propionato, em relação ao grupo controle e ao tratamento monensina, e que as concentrações ruminais de butirato e de AGCC totais não foram afetadas, o que se assemelha, em parte, com os resultados aqui apresentados.

Ainda, publicações anteriores mostraram que a adição de leveduras (ROBINSON & GARRET, 1999; ERASMUS et al., 2005, FRANCO et al., 2008) e de monensina (ERASMUS et al., 2005),

separadamente, não teve efeitos sobre a concentração de N amoniacal no rúmen, o que está de acordo com os resultados do presente experimento. Diferentemente, a levedura tendeu a aumentar a concentração do N amoniacal em um estudo realizado *in vitro* (MILLER-WEBSTER et al., 2002), enquanto que uma redução desse produto da fermentação microbiana foi obtida quando bezerros leiteiros alimentados com dietas de alto concentrado foram tratados com monensina (SALLES & LUCCI; 2000).

A população de protozoários ciliados foi marcadamente modificada pelos aditivos alimentares (Tabela 5). Organismos do gênero *Entodinium* responderam por 85-90% da população de protozoários ruminal. O número de organismos de todos os gêneros foi alterado pela adição dos aditivos alimentares na dieta ($P < 0,0001$). Em geral, houve uma tendência para a redução da concentração de protozoários, pela adição da monensina na dieta, e um aumento no número de organismos com a suplementação da dieta com leveduras vivas.

Tabela 5. Efeitos dos aditivos alimentares em dietas de alto concentrado sobre a concentração de protozoários ciliados ruminais ($\times 10^4/\text{ml}$)

Gênero	Tratamento				EPM ³	P-valor
	Controle	Levedura	Monensina	Mon + Lev		
<i>Entodinium</i>	97,50 ^b	130,50 ^a	49,50 ^c	60,30 ^c	3,59	<0,0001
<i>Diplodinium</i>	3,43 ^b	5,53 ^a	1,30 ^c	2,01 ^c	0,37	0,0008
<i>Epidinium</i> ¹	1,55 ^a	1,99 ^a	0,57 ^b	0,68 ^b	0,15	0,0014
<i>Isotricha</i>	1,63 ^b	3,21 ^a	0,00 ^d	0,57 ^c	0,16	<0,0001
<i>Dasytricha</i>	2,07 ^b	4,11 ^a	0,00 ^d	0,90 ^c	0,23	<0,0001
<i>Ostracodinium</i>	1,69 ^a	1,33 ^a	0,00 ^b	0,00 ^b	0,14	0,0002
<i>Eudiplodinium</i>	4,60 ^b	8,07 ^a	1,82 ^c	2,80 ^c	0,41	<0,0001
Total	112 ^b	155 ^a	53,10 ^d	67,20 ^c	4,04	<0,0001

^{a,b}Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste Tukey-Kramer ($P < 0,05$).

¹Interação tempo de coleta x tratamento ($P = 0,0402$), não existente para total e outros gêneros avaliados;

²Combinação entre monensina e levedura; ³Erro-padrão da média.

A população dos gêneros *Entodinium*, *Diplodinium*, *Isotricha* e *Eudiplodinium* foi aumentada pela adição de leveduras, enquanto que os tratamentos com monensina (MON e MON+LEV) apresentaram as menores populações desses gêneros. Não foram encontrados protozoários dos gêneros *Isotricha* nos tratamentos MON e MON+LEV.

Interação tratamento x tempo de coleta foi observada para o número de *Epidinium* ($P < 0,05$). A monensina e a combinação entre esse aditivo e a levedura diminuiu o número de organismos no tempo 0 quando em comparação aos tratamentos LEV e CON. Às 4 horas após a alimentação, a contagem de organismos do gênero *Epidinium* nos tratamentos MON e MON+LEV permaneceu menor que nos outros dois tratamentos, mas o tratamento LEV aumentou a concentração desses protozoários no rúmen. O número médio de protozoários desse gênero por mililitro de líquido ruminal foi de 1,41; 1,58; 0,60 e 0,82 ($\times 10^4$) e de 1,69; 2,40; 0,54 e 0,54 ($\times 10^4$), para CON, LEV, MON e MON+LEV, às 0 e 4 horas, respectivamente. Não foram encontrados organismos do gênero *Ostracodinium* para os tratamentos MON e MON+LEV, e nenhum efeito da adição da levedura foi observado ($P > 0,10$). O número de organismos do gênero *Dasytricha* e o número total de protozoários foram maiores para o tratamento LEV, seguido por CON, MON+LEV e MON, respectivamente.

Em comparação ao grupo controle, a adição na dieta de cultura de leveduras vivas aumentou a concentração ruminal de protozoários em aproximadamente 40% (Tabela 5). Por sua vez, a adição

de monensina reduziu a população desses organismos no rúmen aproximadamente pela metade. Quando leveduras vivas foram fornecidas em combinação da monensina (tratamento MON+LEV), a concentração de protozoários diminuiu de forma menos acentuada quando comparada ao fornecimento da monensina como único aditivo (MON).

Os resultados observados no presente trabalho diferem daqueles encontrados em estudos anteriores, em que foi observado que o uso de monensina, levedura ou da combinação de ambos os aditivos não influenciou o número total de organismos ciliados (GARCIA et al., 2000), ou, ainda, que apenas alguns gêneros tiveram sua concentração no rúmen modificada (ARAKAKI et al., 2000).

Não houve efeitos dos tratamentos LEV e MON+LEV (Tabela 6) sobre os parâmetros de degradação *in situ* de nenhum dos alimentos avaliados. Porém, a monensina aumentou a taxa de degradação da FDN da casca de soja ($P < 0,05$) e tendeu a aumentar a taxa de degradação da FDA da casca de soja, a degradabilidade potencial da MS do milho e a degradabilidade efetiva para taxa de passagem igual a $5\%h^{-1}$ da FDN da casca de soja ($P < 0,10$).

Publicações anteriores também mostraram que a levedura e a monensina não apresentaram efeitos consistentes sobre a cinética de degradação ruminal (OSBORNE et al., 2004, FRANCO et al., 2008). Entretanto, outros autores relataram efeitos da levedura sobre a fração potencialmente degradável de dietas de alto concentrado (BEAUCHEMIN et al., 2003).

Tabela 6. Efeitos da adição de aditivos alimentares em dietas de alto concentrado sobre os parâmetros de degradação da casca de soja, do farelo de soja e milho

Parâmetros de degradação	Frações dos alimentos					
	Casca de soja			Farelo de soja		Milho
	MS	FDA	FDN	MS	PB	MS
Taxa de degradação (%/h)						
Controle	3,16	3,17	3,87 ^b	9,90	9,90	4,18
Levedura	3,15	3,32	4,01 ^b	10,10	10,10	3,97
Monensina	4,81	4,47	5,67 ^a	12,50	12,60	5,35
Mon+Lev ¹	3,17	3,26	3,86 ^b	11,40	11,40	4,59
EPM ²	0,003	0,002	0,003	0,006	0,007	0,002
Probabilidade do teste-F	0,1591	0,0995	0,0400	0,4949	0,4779	0,1890
Degradabilidade potencial (%)						
Controle	77,1	77,0	83,2	94,9	94,7	85,1
Levedura	77,2	78,5	84,1	96,3	96,1	86,4
Monensina	89,0	87,7	91,3	98,8	99,0	91,9
Mon+Lev	78,8	78,1	83,7	98,0	97,7	89,6
EPM ²	2,50	1,72	1,38	0,64	0,67	1,02
Probabilidade do teste-F	0,3937	0,1515	0,1982	0,1251	0,1206	0,0750
Degradabilidade efetiva (%) ³						
Controle	43,2	38,5	43,2	71,9	70,7	51,6
Levedura	43,4	39,9	44,3	72,8	71,5	53,6
Monensina	55,9	47,3	52,3	76,9	76,3	58,7
Mon+Lev	45,0	39,4	43,7	75,5	74,3	55,6
EPM ²	2,12	1,34	1,35	1,04	1,09	1,13
Probabilidade do teste-F	0,1653	0,1088	0,0814	0,3172	0,2420	0,2010

^{a,b}Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste HSD-Tukey, ao nível de 5%.

¹Combinação entre monensina e levedura; ²Erro-padrão da média; ³Degradabilidade efetiva considerando uma taxa de passagem de 5%/h; MS = matéria seca, FDA = fibra em detergente ácido, FDN = fibra em detergente neutro, PB = proteína bruta.

O que foi observado no presente estudo confirma os efeitos da monensina já relatados anteriormente e a inconsistência das propriedades da levedura sobre o ambiente ruminal. A literatura existente a respeito do uso de leveduras vivas em dietas para

ruminantes tem se mostrado bastante variável. Algumas investigações mostraram que os efeitos da levedura sobre a fermentação ruminal podem ser variáveis em função da cepa utilizada e da concentração do aditivo na dieta (SULLIVAN & MARTIN, 1999). No

entanto, nenhuma explicação plausível para tal variação tem sido realmente demonstrada. Outros estudos não mostram qualquer benefício da adição de leveduras nem mesmo em situações de desafio ao ambiente ruminal (MOYA et al., 2009).

Alguns resultados podem suportar a tese que os efeitos desses aditivos são fortemente dependentes da composição da dieta utilizada. Lynch & Martin (2002) simularam *in vitro* o ambiente ruminal e utilizaram, como substratos, milho moído, amido solúvel, feno de alfafa ou feno de gramínea, adicionados ou não a culturas de *Saccharomyces cerevisiae*, e observaram que os efeitos da levedura sobre padrão de fermentação microbiana variou marcadamente em função do substrato utilizado. Relatos semelhantes foram também realizados no trabalho de Sullivan & Martin (1999).

Em outro trabalho (ENJALBERT et al., 1999), os autores justificaram não terem observado efeitos da levedura sobre o pH ruminal em vacas lactantes pelo fato de o ambiente ruminal não ser acidificado o bastante a ponto de prejudicar a degradação dos alimentos pelos microrganismos, ou seja, de atingir valores de pH abaixo de 6,0, o que pode ter mascarado a atuação daquele aditivo. No presente trabalho, ficou caracterizado que o pH ruminal não foi modificado pelos aditivos avaliados. Apesar de o volumoso ter participado com somente 21% da dieta, uma proporção de 29% dessa foi composta por casca de soja, alimento que apresenta taxa e extensão de degradação ruminal semelhantes à do milho (Tabela 6), mas sua fermentação não resulta em uma redução do pH ruminal tão drástica quanto aquela geralmente observada com alimentos ricos em amido (GRIGSBY et al., 1993). Assim, mesmo que o presente trabalho tenha proposto avaliar o uso de aditivos alimentares para animais que receberam

dietas com alto concentrado, a inferição de seus efeitos sobre o pH ruminal foi prejudicada pela composição da dieta em si, já que esse parâmetro não chegou a valores que poderiam afetar significativamente a fermentação ruminal.

Ainda, é provável que as leveduras vivas tenham efeitos importantes sobre o ambiente ruminal em situações em que o balanceamento da dieta não permita uma manutenção adequada do pH ruminal, enquanto que a monensina parece ser mais consistente em promover uma fermentação microbiana mais eficiente, pelo aumento na concentração de propionato ruminal e pela degradação dos ingredientes da dieta. Contudo, as observações aqui colocadas, quanto ao ionóforo, devem ser interpretadas com cautela, uma vez que um estudo complementar demonstrou que o desempenho de novilhos confinados com a mesma dieta não foi afetado pela uso da monensina.

Quanto à associação entre monensina e levedura, os resultados aqui apresentados demonstraram que efeitos aditivos entre ambas aconteceram apenas sobre a população de protozoários ciliados, de maneira que a levedura amenizou o efeito tóxico do ionóforo sobre esses microrganismos. De forma geral, o tratamento MON+LEV resultou apenas em efeitos semelhantes aos da monensina, quando administrada como aditivo único, o que também havia sido observado anteriormente (BEHARKA & NAGARAJA, 1998; SULLIVAN & MARTIN, 1999).

Por fim, os efeitos da monensina sobre a fermentação ruminal são mais significantes que aqueles observados com a administração de leveduras. Por isso, é mais provável que o antibiótico tenha maiores implicações sobre o aproveitamento de nutrientes e o desempenho de bovinos. A associação

entre monensina e levedura não potencializa efeitos. Investigações futuras devem avaliar esses aditivos em situações mais desafiadoras ao ambiente do rúmen.

REFERÊNCIAS

ARAKAKI, L.C.; STAHRINGER, R.C.; GARRET, J.E.; DEHORITY, B.A. The effects of feeding monensin and yeast culture, alone or in combination, on the concentration and generic composition of rumen protozoa in steers fed on low-quality pasture supplemented with increasing levels of concentrate. **Animal Feed Science and Technology**, v.84, n.1-2, p.121-127, 2000. [[Links](#)].

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 11.ed. Washington: D.C, 1990. 1051p. [[Links](#)].
BACH, A.; IGLESIAS, C.; DEVANT, M. Daily rumen pH pattern of loose-housed dairy cattle as affected by feeding pattern and live yeast supplementation. **Animal Feed Science and Technology**, v.136, n.1, p.146-153, 2007. [[Links](#)].

BARAN, M.; BODA, K.; SIROKA, P. The effect of monensina on rumen fermentation in sheep fed on all-roughage and barley/roughage diets. **Animal Feed Science and Technology**, v.15, n.1, p.7-12, 1986. [[Links](#)].

BEAUCHEMIN, K.A.; YANG, W.Z.; MORGAVI, D.P. Effects of bacterial direct-fed microbials and yeasts on site and extent of digestion, blood chemistry, and subclinical ruminal acidosis in feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v.81, n.6, p.1628-1640, 2003. [[Links](#)].

BEHARKA, A.A.; NAGARAJA, T.G. Effects of *Aspergillus oryzae* extract alone or in combination with antimicrobial compounds on ruminal bacteria. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.6, p.1591-1598, 1998. [[Links](#)].

CAMPANILE, G.; ZICARELLI, F.; VECCHIO, D.; PACELLI, C.; NEGLIA, G.; BALESTRIERI, A.; DI PALO, R.; INFASCELLI, F. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* on in vivo organic matter digestibility and milk yield in buffalo cows. **Livestock Science**, v.114, n.2-3, p.358-361, 2008. [[Links](#)].

ENJALBERT, F.; GARRET, J.E.; MONCOULON, R.; BAYOURTHE, C.; CHICOTEAU, P. Effects of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on ruminal digestion in non-lactating dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v.76, n.3-4, p.195-206, 1999. [[Links](#)].

ERASMUS, L.J.; ROBINSON, P.H.; AHMADI, A.; HINDERS, R.; GARRET, J.E. Influence of prepartum and postpartum supplementation of a yeast culture and monensin, or both, on ruminal fermentation and performance of multiparous dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v.122, n.3-4, p.219-239, 2005. [[Links](#)].

ERASMUS, L.J.; MUYA, C.; ERASMUS, S.; COERTZE, R.F.; CATTON, D.G. Effect of virginiamycin and monensin supplementation on performance of multiparous Holstein cows. **Livestock Science**, v.119, n.1-3, p.107-115, 2008. [[Links](#)].

FRANCO, G.L.; FERREIRA, R.F.; ROCHA, M.T.; CYSNEIROS, C.S.S.; DIOGO, J.M.S. Parâmetros ruminais e desaparecimento da matéria seca e fibra em detergente neutro da forragem em bovinos que recebendo levedura e enzimas fibrolíticas na dieta. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.9, n.3, p.488-496, 2008. [[Links](#)].

GALYEAN, M.L.; RIVERA, J.D. Nutritionally related disorders affecting feedlot cattle. **Canadian Journal of Animal Science**, v.83, n.1, p.13-20, 2003. [[Links](#)].

GARCIA, C.C.G.; MENDOZA, M.G.D.; GONZÁLES, M.S.; COBOS, P.M.; ORTEGA, C.M.E.; RAMIREZ, L.R. Effect of a yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) and monensin on ruminal fermentation and digestion in sheep. **Animal Feed Science and Technology**, v.83, n.2, p.165-170, 2000. [[Links](#)].

GRIGSBY, K.N.; KERLEY, M.S.; PATERSON, J.A.; WEIGEL, J.C. Combinations of starch and digestible fiber in supplements for steers consuming a low-quality bromegrass hay diet. **Journal of Animal Science**, v.71, n.4, p.1057-1064, 1993. [[Links](#)].

GUEDES, C.M.; GONÇALVES, D.; RODRIGUES, M.A.M.; DIAS-DASILVA, A. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* yeast on ruminal fermentation and fibre degradation of maize silages in cows. **Animal Feed Science and Technology**, v.145, n.1-4, p.27-40, 2008. [[Links](#)].

HADDAD, S.G.; GOUSSOUS, S.N. Effect of yeast culture supplementation on nutrient intake, digestibility and growth performance of Awassi lambs. **Animal Feed Science and Technology**, v.118, n.3-4, p.343-348, 2005. [[Links](#)].

IPHARRAGUERRE, I.R.; CLARK, J.H. Usefulness of ionophores for lactating dairy cows: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v.106, n.1-4, p.39-57, 2003. [[Links](#)].

LANA, R.P.; RUSSEL, J.B. Efeitos da monensina sobre a fermentação e sensibilidade de bactérias ruminais de bovinos sob dietas ricas em volumoso ou concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.1, p.254-260, 2001. [[Links](#)].

LASCANO, G.J.; HEINRICHS, A.J. Rumen fermentation pattern of dairy heifers fed restricted amounts of low, medium, and high concentrate diets without and with yeast culture. **Livestock Science**, v.124, n.1-3, p.48-57, 2009. [[Links](#)].

LASCANO, G.J.; ZANTON, G.I.; HEINRICHS, A.J. Concentrate levels and *Saccharomyces cerevisiae* affect rumen fluid-associated bacteria numbers in dairy heifers. **Livestock Science**, v.126, n.1-3, p.189-194, 2009. [[Links](#)].

LYNCH, H.A.; MARTIN, S.A. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* culture and *Saccharomyces cerevisiae* live cells on in vitro mixed ruminal microorganisms fermentation. **Journal of Dairy Science**, v.85, n.10, p.2603-2608, 2002. [[Links](#)].

MATHIEU, F.; JOUANY, J.P.; SÉNAUD, J.; BOHATIER, J.; BERTIN, G.; MERCIER, M. The effect of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* on fermentations in the rumen of faunated and defaunated sheep: Protozoal and antibiotics interactions. **Reproduction Nutrition Development**, v.36, n.3, p.271-287, 1996. [[Links](#)].

MCGINN, S.M.; BEAUCHEMIN, K.A.; COATES, T.; COLOMBATTO, D. Methane emissions from beef cattle: effects of monensin, sunflower oil, enzymes, yeast, and fumaric acid. **Journal of Animal Science**, v.82, n.11, p.3346-3356, 2004. [[Links](#)].

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**, v.85, n.8, p.2009–2014, 2002. [[Links](#)].

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**, v.87, n.9, p.2008-1446, 2009. [[Links](#)].

NEWBOLD, C.J.; WALLACE, R.J.; CHEN, X.B.; McINTOSHI, F.M. Different strains of *Saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on ruminal bacterial numbers in vitro and in sheep. **Journal of Animal Science**, v.73, n.6, p.1811-1818, 1995. [[Links](#)].

ORSKOV, E.R.; McDONALD, I. Estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurement weighted according to rate of passage. **Journal of Agricultural Science**, v.92, n.4, p.499-503, 1979. [[Links](#)].

OSBORNE, J.K.; MUTSVANGWA, T.; ALZAHAL, O.; DUFFIELD, T.F.; BAGG, R.; DICK, P.; VESSIE, G.; MCBRIDE, B.W. Effects of monensin on ruminal forage degradability and total tract diet digestibility in lactating dairy cows during grain-induced subacute ruminal acidosis. **Journal of Dairy Science**, v.87, n.6, p.1840-1847, 2004. [[Links](#)].

ROBINSON, P.H.; GARRETT, J.E. Effect of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on adaptation of cows to postpartum diets and on lactational performance. **Journal of Animal Science**, v.77, n.4, p.988-999, 1999. [[Links](#)].

ROGERS, M.; JOUANY, J.P.; THIVEND, P.; FONTENOT, J.P. The effects of short-term and long-term monensin supplementation, and its subsequent withdrawal on digestion in sheep. **Animal Feed Science and Technology**, v.65, n.1-4, p.113-127, 1997. [[Links](#)].

SALLES, M.S.V.; LUCCI, C.S. Monensina para bezerros ruminantes em crescimento acelerado. 2. Digestibilidade e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.2, p.582-588, 2000. [[Links](#)].

SALLES, M.S.V.; ZANETTI, M.A.; TITTO, E.A.L.; CONTI, R.M.C. Effect of monensin on performance in growing ruminants reared under different environmental temperatures. **Animal Feed Science and Technology**, v.147, n.4, p.279-291, 2008. [[Links](#)].

SULLIVAN, H.M.; MARTIN, S.A. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* culture in vitro mixed ruminal microorganisms fermentation. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.2, p.2011-2016, 1999. [[Links](#)].

TANG, S.X.; TAYO, G.O.; TAN, Z.L.; SUN, Z.H.; SHEN, L.X.; ZHOU, C.S.; XIAO, W.J.; REN, G.P.; HAN, X.F.; SHEN, S.B. Effects of yeast culture and fibrolytic enzyme supplementation on in vitro fermentation characteristics of low-quality cereal straws. **Journal of Animal Science**, v.86, n.5, p.1164-1172, 2008. [[Links](#)].

THRUNE, M.; BACH, A.; RUIZ-MORENO, M.; STERN, M.D.; LINN, J.G. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* on ruminal pH and microbial fermentation in dairy cows: Yeast supplementation on rumen fermentation. **Livestock Science**, v.124, n.1-3, p.261-265, 2009. [[Links](#)].

TITI, H.H.; DMOUR, R.O.; ABDULLAH, A.Y. Growth performance and carcass characteristics of Awassi lambs and Shami goat kids fed yeast culture in their finishing diet. **Animal Feed Science and Technology**, v.142, n.1-2, p.33-43, 2008. [[Links](#)].

VALINOTE, A.C.; NOGUEIRA FILHO, J.C.M.; LEME, P.R.; SILVA, S.L.; CUNHA, J.A. Fontes de lipídeos e monensina na alimentação de novilhos Nelore e sua relação com a população de protozoários ciliados do rúmen. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.4, p.1418-1423, 2005. [[Links](#)].

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991. [[Links](#)].

WALDRIP, H.M.; MARTIN, S.A. Effects of an *Aspergillus oryzae* fermentation extract and other factors on lactate utilization by the ruminal bacterium *Megasphaera elsdenii*. **Journal of Animal Science**, v.71, n.10, p.2770-2776, 1993. [[Links](#)].

WEATHERBURN, M.V. Phenol-hipochlorite reaction for determination of ammonia. **Analytical Chemistry**, v.39, n.8, p.971-974, 1967. [[Links](#)].

WEGENER, H.C. Antibiotics in animal feed and their role in resistance development. **Current Opinion in Microbiology**, v.6, n.5, p.439-445, 2003. [[Links](#)].

ZINN, R.A.; PLASCENCIA, A.; BARAJAS, R. Interaction of forage level and monensin in diets for feedlot cattle on growth performance and digestive function. **Journal of Animal Science**, v.72, n.9, p.2209-2215, 1994. [[Links](#)].

Data de recebimento: 06/01/2009

Data de aprovação: 17/12/2009