

Prébiotico isolado ou combinado com probiótico tem efeito positivo sobre digestibilidade de matéria orgânica, desempenho, resposta imune e antioxidante de bezerros após o desaleitamento

Prebiotic alone or combined with probiotic has a positive effect on organic matter digestibility, performance, immune and antioxidant response of calves after weaning

Los prebióticos solos o combinados con probióticos tienen un efecto positivo en la digestibilidad de la materia orgánica, el rendimiento y la respuesta inmunológica y antioxidante de los terneros después del destete

Received: 06/06/2022 | Reviewed: 06/19/2022 | Accept: 07/20/2022 | Published: 07/27/2022

Rafael Vinicius Pansera Lago

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1537-3750>
Universidade do Estado de Santa Catarina, Brasil
E-mail: rafael.lago@edu.udesc.br

Maksuel Gatto de Vitt

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3989-8554>
Universidade do Estado de Santa Catarina, Brasil
E-mail: mak-witt@hotmail.com

Andrei L. R. Brunetto

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5970-7703>
Universidade do Estado de Santa Catarina, Brasil
E-mail: andreibrunetto03@gmail.com

Bianca F. Bissacotti

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6672-2530>
Universidade Federal de Santa Maria, Brasil
E-mail: bianca_fbissacotti@hotmail.com

Priscila M. Copetti

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1140-6236>
Universidade Federal de Santa Maria, Brasil
E-mail: priscilaa_marquezan@hotmail.com

Raissa A. Carvalho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5047-6571>
Instituto Federal de Santa Catarina, Brasil
E-mail: yssaa_ir@hotmail.com

Wanderson A. B. Pereira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3080-1285>
Instituto Federal de Santa Catarina, Brasil
E-mail: wanderson.pereira@ifc.edu.br

Gabriela Solivo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4769-7821>
Universidade Estadual do Oeste de Santa Catarina, Brasil
E-mail: gabriela_solivo@hotmail.com

Claiton A. Zotti

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6845-9454>
Universidade Estadual do Oeste de Santa Catarina, Brasil
E-mail: claiton.zotti@unoesc.edu.br

Marcelo Vedovatto

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9050-6990>
Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul, Brasil
E-mail: vedovatto@zootecnista.com.br

Aleksandro Schafer Da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5459-3823>
Universidade do Estado de Santa Catarina, Brasil
E-mail: aleksandro.silva@udesc.br

Resumo

O objetivo desse estudo foi avaliar se a adição de combinação de probiótico (PROB) e prébióticos (PREB) ou ambos sozinhos na dieta de bezerros holandeses após o aleitamento tem efeito positivo na resposta imune e antioxidante

capaz de favorecer o crescimento do animal. Dezoito animais da raça holandesa (79,2 kg e 70 dias de idade), alojados em baias individuais por 92 dias foram usados aqui, e divididos em três tratamentos: PROB (n=6), PREB (n=6) e PROB+PREB (n=6). O consumo de PREB e da associação PREB+PROB gerou um ganho de peso corporal cerca de 10% a mais que o PROB. No hemograma, a única alteração foi a interação tratamento x dia para contagem de monócitos, sendo maior no dia 63 e 92 no sangue dos animais do PREB e PROB, respectivamente, comparado aos demais grupos. A associação PREB + PROB a partir do dia 63 elevou a atividade da enzima glutatona S-transferase em 14% quando comprado ao consumo de apenas PREB, além de reduzir em 35% os níveis de TBARS no sangue. Além disso, a associação de PREB+PROB reduziu em 12,5% e 16,2% a concentração de ureia sérica em relação ao PREB e PROB, respectivamente. Animais do grupo PREB+PROB tiveram maiores níveis de IgA no soro em relação ao PROB, ao contrário do que ocorreu referentes aos níveis de IGG de cadeia pesada, isto é, foi maior no PROB comparado a associação PREB+ PROB. No dia 63 foi observado menores níveis haptoglobina no PREB comparado aos demais grupos. No dia 92 foi observado menores níveis de transferrina e glicoproteína ácida para a no sangue dos animais que consumiram PREB+PROB. Também no dia 92, níveis de ceruplasmina no soro do PROB foi maior que nos animais do PREB. Foi observado coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) de matéria orgânica (MO) maior quando os animais consumiram prébiotico comparado ao probiótico, sendo que a associação de ambos não diferiu dos dois tratamentos para CDA de MO. Os resultados permitem concluir a associação PREB+PROB foi importante para minimizar o estresse oxidativo fisiológico, assim como elevar os níveis séricos de IgA, imunoglobulina de mucosa importante a nível de sistema digestivo; além disso a combinação de resultados fisiológicos do consumo de prébiotico isolado ou combinado refletiu em maior ganho de peso dos bezerros.

Palavras-chave: Prébiotico; Probiótico; Simbiótico; Bezerros leiteiros.

Abstract

The aim of this study was to evaluate whether the addition of a combination of probiotics (PROB) and prebiotics (PREB) or both alone in the diet of Holstein calves after lactation has a positive effect on the immune and antioxidant response capable of favoring the animal's growth. Eighteen Holstein animals (79.2 kg and 70 days old), housed in individual pens for 92 days were used here, and divided into three treatments: PROB (n=6), PREB (n=6) and PROB+PREB (n=6). The consumption of PREB and the association PREB+PROB generated a gain in body weight about 10% more than PROB. In the blood count, the only change was the treatment x day interaction for monocyte counts, being higher on days 63 and 92 in the blood of the PREB and PROB animals, respectively, compared to the other groups. The PREB + PROB association from day 63 increased the activity of the glutathione S-transferase enzyme by 14% when compared to the consumption of only PREB, in addition to reducing the levels of TBARS in the blood by 35%. Furthermore, the association of PREB+PROB reduced by 12.5% and 16.2% the concentration of serum urea in relation to PREB and PROB, respectively. Animals in the PREB+PROB group had higher serum IgA levels compared to the PROB, contrary to what happened with the heavy chain IGG levels, that is, it was higher in the PROB compared to the PREB+ PROB association. On day 63, lower levels of haptoglobin were observed in PREB compared to the other groups. On day 92, lower levels of transferrin and acid glycoprotein were observed in the blood of animals that consumed PREB+PROB. Also on day 92, serum ceruplasmin levels in PROB were higher than in PREB animals. A higher of apparent digestibility coefficient (ADC) of organic matter (OM) was observed when the animal's consumed prebiotic compared to probiotic, and the association of both did not differ from the two treatments for ADC of OM. The results allow us to conclude that the PREB+PROB association was important to minimize the physiological oxidative stress, as well as to raise the serum levels of IgA, an important mucosal immunoglobulin at the level of the digestive system; in addition, the combination of physiological results of prebiotic consumption alone or in combination reflected in greater weight gain in calves.

Keywords: Prebiotic; Probiotic; Symbiotic; Dairy calves.

Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar si la adición de una combinación de probióticos (PROB) y prebióticos (PREB) o ambos solos en la dieta de terneros Holstein después de la lactancia tiene un efecto positivo sobre la respuesta inmunológica y antioxidante capaz de favorecer la salud del animal. crecimiento. Se utilizaron dieciocho animales Holstein (79,2 kg y 70 días de edad), alojados en corrales individuales durante 92 días, divididos en tres tratamientos: PROB (n=6), PREB (n=6) y PROB+ PREB (n=6) . El consumo de PREB y la asociación PREB+PROB generó una ganancia de peso corporal de alrededor de un 10% más que PROB. En el hemograma, el único cambio fue la interacción tratamiento x día para el conteo de monocitos, siendo mayor en los días 63 y 92 en la sangre de los animales PREB y PROB, respectivamente, en comparación con los otros grupos. La asociación PREB + PROB a partir del día 63 aumentó la actividad de la enzima glutatión S-transferasa en un 14 % en comparación con el consumo de solo PREB, además de reducir los niveles de TBARS en sangre en un 35 %. Además, la asociación de PREB+PROB redujo en un 12,5% y 16,2% la concentración de urea sérica en relación a PREB y PROB, respectivamente. Los animales del grupo PREB+PROB tenían niveles séricos de IgA más altos en comparación con el PROB, al contrario de lo que ocurría con los niveles de IGG de cadena pesada, es decir, era más alto en el PROB en comparación con la asociación PREB+PROB. En el día 63, se observaron niveles más bajos de haptoglobina en PREB en comparación con los otros grupos. El día 92 se observaron niveles más bajos de transferrina y glicoproteína

ácida en la sangre de los animales que consumieron PREB+PROB. También en el día 92, los niveles de ceruplasmina en suero en los animales PROB fueron más altos que en los animales PREB. Se observó un mayor coeficiente de digestibilidad aparente (ADC) de materia orgánica (MO) cuando los animales consumieron prebiótico en comparación con probiótico, y la asociación de ambos no difirió de los dos tratamientos para CDA de MO. Los resultados permiten concluir que la asociación PREB+PROB fue importante para minimizar el estrés oxidativo fisiológico, así como para elevar los niveles séricos de IgA, importante inmunoglobulina mucosal a nivel del sistema digestivo; además, la combinación de resultados fisiológicos del consumo de prebióticos solos o combinados se reflejó en una mayor ganancia de peso en los terneros.

Palabras clave: Prebiótico; Probiótico; Simbiótico; Terneros lecheros.

1. Introdução

Probióticos e prébioticos tem ganhado espaço nas dietas de animais de produção como aditivos alimentares, pois são capazes de melhorar a eficiência produtiva. A adição deste tipo de aditivo tem efeito positivo sobre a fermentação ruminal e na utilização da fração da fibra, principalmente àquela ligada a lignina (Zeoula et al., 2008). A *Saccharomyces cerevisiae* é uma levedura tradicionalmente utilizada na fermentação do açúcar para o consumo humano; mas na alimentação de ruminantes seus principais efeitos estão relacionados com aumento da maturidade do rúmen, estabilização do pH ruminal por meio da metabolização do lactato e aumento da degradação da fibra (Chaucheyras-Durand et al., 2008). *S. cerevisiae* é capaz de fazer a remoção do oxigênio presente nas partículas ao chegarem ao ambiente ruminal (Roger et al. 1990), e com isso ocorre maior colonização das bactérias celulolíticas no substrato, o que resulta na maior digestibilidade da fibra. Lu et al. (2022) conclui que a adição de probióticos é uma estratégia viável porque é capaz de reduzir os riscos de diarreias, e assim favorecer o crescimento dos animais.

Os mananoligossacarídeos (MOS) e B-glucanos são fragmentos da *Saccharomyces cerevisiae*, que consistem em açúcares da parede celular externa e camada interna da bactéria, respectivamente (Spring et al., 2000). Na presença dos MOS, os patógenos presentes no trato gastrintestinal aderem-se as mananas (polímeros de glicose), que não são degradadas no sistema digestivo e assim excretas aderidas aos patógenos (Dawson; Pirvulescu., 1999). Desde a década de 90, pesquisadores afirmam que a inclusão dos MOS na alimentação de ruminantes previne infecções bacterianas (Newmann, 1994), assim como promove estabilidade do pH ruminal, favorecendo populações de bactérias fermentadores de lactato, o que consequentemente reduz a amônia ruminal (Jana et al., 2021).

Segundo Diaz et al. (2018) a associação de prébioticos com probióticos pode ter efeito positivo no ambiente ruminal, isto é, reduzindo a concentração de amônia e elevando o pH, o que diminui o risco de acidose ruminal subaguda e os processos inflamatórios. Recentemente pesquisas mostraram que a combinação de prebióticos e probióticos melhorou a digestão total e energética da dieta de cordeiros, além de reduzir as bactérias ruminais produtoras de amônia, o que permite reduzir a quantidade de nitrogênio da dieta (Zapata et al., 2021).

O potencial benéfico desses aditivos isolados ou combinados já é bem elucidado. No entanto, estudos com bezerros em fase de transição alimentar, período crítico do sistema de criação são escassos e com diferentes particularidades pois essa categoria animal tem seu estômago em fase de diferenciação estrutural e microbiana; onde os prebióticos e probióticos podem ter papel importante na modulação da microbiota ruminal. No entanto, nossa hipótese é que outros fatores isolados ou associados decorrentes do consumo de prebióticos e probióticos contribuiu para melhor desempenho dos animais, isto é, a ingestão desses aditivos sozinhos ou combinados vai estimular a resposta imune e o sistema antioxidante, por mecanismos que precisam ser compreendidos. Portanto, o objetivo desse estudo foi avaliar se a adição de combinação de probiótico e prébioticos ou ambos sozinhos na dieta de bezerros holandeses após o aleitamento tem efeito positivo na resposta imune e antioxidante capaz de favorecer o crescimento do animal.

2. Metodologia

Esta pesquisa teve caráter exploratório e quantitativo (Pereira et al., 2018). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Bem-Estar Animal da Universidade do Estado de Santa Catarina-UDESC, sob protocolo n° 8269131020.

2.1 Produto teste

O prebiótico usado nesse estudo consiste em uma fração premium de levedura rica em mananoligossacarídeos e B-glucanos (1,3 e 1,6), estruturas e componentes obtidos por meio da autólise de uma cepa de *Saccharomyces cerevisiae* (Safmannan®, Natural Saúde e Nutrição Animal, Chapecó, Brasil). O prébiotico possui no mínimo 20% de B-1,3 glucanos e B-1,6 glucanos e 20% de mananos.

O probiótico usado no presente estudo consiste em um produto com alta concentração desta levedura viva de *Saccharomyces cerevisiae* (Procreatin 7®, Natural Saúde e Nutrição Animal, Chapecó, Brasil). O probiótico possui 1.5x10¹⁰ CFU/g de *S. cerevisiae*.

2.2 Procedência dos animais e instalação

O experimento foi conduzido no setor de ruminantes na fazenda experimental da Universidade do Estado de Santa Catarina (FECEO, Guatambú, SC). Os animais foram alojados em baias individuais de 4,5 m² (piso de concreto), equipados com bebedouros e comedouros para volumosos e concentrados. O galpão tem orientação solar leste-oeste, com pé direito de 2,7 m e cortinas para ajuste do microclima interno.

Um total de 24 bezerros chegaram na fazenda experimental com menos de 10 dias de idade e receberam na fase de aleitamento um substituto de leite comercial (400g/animal/dia). O sucedâneo do leite foi preparado e fornecido na proporção de 4 litros/animal/dia, na temperatura 37 °C, e dividido em duas refeições (8h00 e 17h00). Além disso, nessa fase lactante os animais receberam concentrado com 22% de PB a vontade. Esses eventos ocorreram antes de iniciarmos esse experimento, sendo que com 60 dias de idade dos bezerros foi dado início ao período de transição alimentar, onde o leite foi sendo substituído gradativamente na dieta dos bezerros por seis dias e adicionado o feno Tiffiton 85 picado.

2.3 Desenho experimental e dieta

Para produção desse manuscrito, 18 bezerros machos holandeses na fase crescimento com peso médio de 79,2 ± 8 kg e idade de 70 ± 4 dias foram usados. Mas esse estudo iniciou com 24 animais, isto é, além dos grupos apresentados a seguir tinha um grupo controle positivo, onde seis animais receberam uma dieta com o aditivo monensina, porém por erro de produção da fábrica de ração, a produção da ração ocorreu com uma quantidade aproximadamente 10 vezes maior do aditivo (informação confirmada em laudo laboratorial) do que a prevista na formulação que era de 150 mg/animal/dia. Esse concentrado foi fornecido aos animais quando estávamos com 30 dias de experimento em andamento, causando a morte de cinco animais desse grupo de forma muito rápida e o outro animal ficou severamente debilitado. Os demais grupos usados aqui foram: PREB (prébiotico – dose 800 mg/kg de concentrado), PROB (próbiotico – dose de 800 mg/kg de concentrado) e PREB+PROB (combinação de prebiótico e probiótico - dose de 800 mg/kg de concentrado de cada um dos aditivos). Após a morte dos animais do grupo controle, devido os concentrados já terem sido produzidas, optamos por dar sequência ao experimento visto que o foco principal desse estudo foi no metabolismo e resposta imune e antioxidante a nível sistêmico.

Antes do início do experimento todos os animais passaram por protocolo sanitário, onde foram medicados com Endectocida injetável (Ivomec®, Boehringer Ingelheim), a base de ivermectina a 1%, conforme as instruções do fabricante. Os animais também foram vacinados para carbúnculo previamente ao estudo.

As dietas foram formuladas de acordo com as exigências nutricionais dos animais (NRC, 2001) e foram fornecidas de

forma gradativa ao longo do dia em 3 momentos (07:30h, 13:00h e 17:00h), à fim de estimular o consumo. Primeiramente houve o fornecimento do concentrado, em seguida após consumo de 100% desse era disponibilizado o feno picado. Importante ressaltar, que os primeiros 14 dias de experimento foram definidos como período de adaptação, momento que o fornecimento do concentrado de forma gradual até corresponder a 2,25% do peso corporal; assim como o fornecimento de água e feno foi ad libitum.

2.4 Pesagem e consumo

A pesagem dos animais foi realizada com uma balança digital, semanalmente, com os animais em jejum de 12 h. A partir desses dados foi calculado o ganho de peso e o ganho de peso médio diário. Para a estimativa da ingestão de MS (IMS, kg/dia) foi pesada a quantidade de alimento (feno e concentrado disponível no comedouro) ofertado e as sobras.

2.5 Coleta de amostras

As coletas de sangue foram realizadas através da veia jugular nos dias 1, 14, 35, 63 e 92, com o auxílio de agulhas e tubos vacuolizados, sem anticoagulantes para obtenção do soro para análises bioquímicas, níveis de oxidantes e antioxidantes e análise de células sanguíneas de defesa. Também foram utilizados tubos vacuolizados com anticoagulante (EDTA), para análises de hemograma total. Os tubos foram mantidos refrigerados a 10°C, em caixa isotérmica até a chegada ao laboratório. Para separação do soro, foi realizada a centrifugação dos tubos sem anticoagulante (7000 RPM durante 10 min). O soro foi transferido para microtubos, identificados e armazenados a temperatura de -20°C, até as análises laboratoriais.

Entre os dias 56 e 63 do experimento, foram coletadas amostras de fezes dos bezerros, com a pesagem da alimentação fornecida e da produção de fezes. Com isto foi calculado o coeficiente de digestibilidade de matéria seca e proteína bruta de acordo com a seguinte equação: $((\text{Ingestão (g)} - \text{Excretado nas fezes (g)}) / \text{Ingestão (g)}) \times 100$. No último dia de coleta foi realizado um pool das fezes de cada animais colhidos por 7 dias, assim como também durante esse período foi coletado amostras de alimentos (feno e concentrado) para análises dos alimentos. Durante a coleta das fezes foi estimado e considerado que havia uma perda de 3% das fezes excretadas, pois fezes amolecidas ficavam aderidas ao piso.

2.6 Análises de laboratório

2.6.1 Análise de alimento

Para determinar a matéria seca parcial das amostras, foram submetidas a pré-secagem em estufa de circulação forçada a 55° por 72 horas. Em sequência foram pesadas e moídas em moinho do tipo facas (Marconi, model: MA340), usando peneira de 1-mm. Após foram pesadas e secadas em estufa a 105°C para determinar a matéria seca, para obtenção da matéria mineral foi utilizado a mufla em 600°C. Para determinação da proteína bruta foi, foi primeiramente determinado o conteúdo de nitrogênio, por meio do método micro-Kjeldahl (Method 984.13, AOAC, 1997), e por fim utilizou-se com a fórmula $PB=N*6,25$. Para determinar a concentração de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), as amostras foram adicionadas em sacos de poliéster (Komarek, 1993) e lavadas com detergente neutro, por 40 minutos em 110°C (Senger et al., 2008). Para determinação da fibra em detergente ácido (FDA), novamente adicionou as amostras em sacos de poliéster e lavou-as a 110°C por 40 minutos, porém agora com detergente ácido. Os resultados foram apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Composição química dos alimentos que fizeram parte de uma dieta 40% concentrado e 60% volumoso, o que correspondeu 5 % de matéria natural de peso corporal.

Variáveis	Feno ¹	Concentrado ² – PREB	Concentrado ² – PROB	Concentrado ² – PREB + PROB
Materia seca	82,77	85,93	85,58	84,61
Proteína bruta	11,28	18,96	19,92	20,63
Cinzas	5,59	12,95	9,59	10,79
Fibra de detergente neutro	58,59	25,87	27,33	25,88

Note 1: Para produção do feno usamos a forragem Tifton 85. Esse alimento foi fornecido na proporção de 3% de peso vivo para os tratamentos prebiótico, probiótico e combinação (prebiótico + probiótico).

Note 2: O concentrado foi formulado a base de milho (25,24%), farelo de soja (31,30%), farelo de trigo (25,52%), farelo de arroz (14,42%), núcleo mineral (3,32%). Esse alimento foi fornecido na proporção de 2% de peso vivo.

Fonte: Autores.

2.6.2 Hemograma

Para o hemograma total número de eritrócitos, concentração de hemoglobina (Hb) e número total de leucócitos no sangue, serão preparados e corados com Romanowsky para contagem e avaliação citológica das células. A contagem de leucócitos e eritrócitos e a determinação da concentração de Hb serão realizadas em uma célula eletrônica de Dispositivo (CELM® - mod. CC 530). Contagem diferencial de leucócitos seguirá a técnica descrita por Feldman et al. (2000).

2.6.3 Bioquímica sérica

Nas análises bioquímicas, foram avaliados os níveis séricos de proteínas totais (PT), glicose, albumina, colesterol, e ureia utilizando o analisador semi-automático Bio-2000 BioPlus® e kit comercial Analisa®. Os níveis de globulinas foram obtidos com cálculo matemático (proteínas totais – albumina).

2.6.4 Status oxidativo

A atividade da catalase (CAT) foi medida no sangue total de acordo com o método descrito por Nelson & Kiesow (1972), onde a atividade dessa enzima depende da peroxidação do hidrogênio pela absorvância a 240 nm. Foram utilizados 20 µL de sangue, diluídos em uma solução salina (1:10) e homogeneizado em um tampão de fosfato de potássio (TFK; pH 7,0). A atividade enzimática será expressa em moles/mg de proteína.

A mensuração da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) no sangue total seguiu a metodologia descrita por McCord e Fridovich (1969), onde a velocidade da formação do adenocromo foi observado a 480 nm, em um meio contendo glicina, determina o valor de SOD. O resultado foi expresso em UI/mg de proteína.

A peroxidação lipídica foi analisada no soro pela quantidade de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), onde o método de Jentzsch et al. (1996) auxilia na determinação. A reação foi lida em espectrofotometria a 535 nm. O resultado foi expresso em nmoles malondialdeído/ml de soro.

Para a determinação das espécies reativas de oxigênio (EROs) seguiu-se a técnica descrita por Ali et al. (1992). As amostras foram diluídas 1:10 com Tris 10 nM (pH 7,4) e adicionado 5 µL de dichlorofluorescina diacetato (DCFH-DA) em metanol durante 15 minutos, com uma temperatura de 37°C, para formar um composto não fluorescente dichlorofluorescin (DCFH). A formação do diclorofluoresceína (DCF; DCFH fluorescente) foi monitorado em espectrofotometria a 525 nm. A formação de EROs foi determinada pela curva padrão DCF em metanol (0,05-1,0 µM). Os resultados foram expressos em U

DCF/mg proteína (ALI et al. 1992).

2.6.5 Proteinograma

Para o fracionamento de proteínas, foi realizada eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE), conforme técnica sugerida por Fagliari et al. (1998) usando um mini gel (10 x 10 cm). O gel foi corado com Comassie Blue e fotografado para identificar e quantificar frações de proteínas usando o software Labimage1D (Loccus Biotechnology). Um padrão contendo frações com peso molecular entre 10 e 250 KD (Caleidoscópio - BIORAD) foi utilizado como referência para identificação de frações proteicas.

2.7 Análise estatística

Todos os dados foram analisados usando o 'procedimento MIXED' do SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC, EUA; versão 9.4), com aproximação de Satterthwaite para determinar os graus de liberdade do denominador para o teste de efeitos fixos. O ganho de peso corporal e o ganho médio diário foram testados para efeito fixo de tratamento usando animal (tratamento) como efeito aleatório. Os dados de PC e todos os resultados de sangue foram analisados como medidas repetidas e testados para efeitos fixos de tratamento, dia e tratamento \times dia, usando animal (tratamento) como efeito aleatório. Os resultados de d 1 foram incluídos como uma covariável independente. Além disso, para essas variáveis, para gerar a média por tratamento, os resultados de d 1 foram removidos do conjunto de dados, mas foram mantidos como covariáveis. A estrutura de covariância autorregressiva de primeira ordem foi selecionada de acordo com o critério de informação de Akaike mais baixo. As médias foram separadas usando o método PDIFF e todos os resultados foram relatados como LSMEANS seguido por erro padrão (EP). A significância foi definida quando $P \leq 0,05$, e tendência quando $P > 0,05$ e $\leq 0,10$.

3. Resultados

3.1 Desempenho

O ganho de peso médio diário foi maior para os bezerros dos grupos PREB e PREB+PROBE (Tabela 2), outrossim estes grupos apresentaram maior peso corporal final que o PROB ($p=0,05$). Exceto isso, nenhuma outra diferença foi observada no desempenho dos animais.

Tabela 2. Desempenho de crescimento de bezerros alimentados com prébiotico, probiótico e a combinação de ambos.

Itens	Tratamento ¹			EP	P – valor	
	Prebiotico	Probiotico	Pre- + probiotico		Trat	Trat × Dia
Peso corporal (kg)					0,05	0,13
d 1	79,6	78,9	79,1	11,3		
d 7	82,3	78,9	81,6	10,8		
d 14	88,4	84,1	87,3	10,8		
d 21	90,4	86,4	90,0	10,7		
d 28	96,3	93,2	95,5	9,99		
d 35	99,1	92,5	96,7	10,5		
d 42	106	99,0	103	10,7		
d 49	116	107	112	10,7		
d 56	120	112	117	10,7		
d 63	127	119	122	10,6		
d 70	133	125	128	10,6		
d 77	142	134	137	10,6		
d 85	146	135	142	10,2		
d 92	152	144	152	10,2		
Média ²	115 ^a	108 ^b	113 ^a	6,97		
Ganho de peso (kg)						
d 1 - 92	72,4 ^a	65,4 ^b	72,8 ^a	2,01	0,05	-
d 1 - 35	19,5	17,6	17,5	1,44	0,51	-
d 1 - 63	47,8	45,8	42,9	2,62	0,38	-
d 15 - 92	63,6	65,8	64,6	4,68	0,94	-
Ganho diário peso (kg/dia)						
d 1 - 92	0,79 ^b	0,71 ^b	0,79 ^a	0,03	0,05	-

¹Tratamentos foram: Prebiotico: mananas e glucanas, Probiotico: *Saccharomyces cerevise*, Prebiotico + Probiotico: mananas, glucanas e *Saccharomyces cerevise*

² Os resultados do dia 1 foram removidos do conjunto de dados para gerar a média por tratamento na análise estatística.

^{a-b} Dentro de uma linha, diferem ($P \leq 0,05$) ou tendem a diferir ($P \leq 0,10$) entre os grupos. EP = erro padrão

Fonte: Autores.

3.2 Hematologia

Na diferenciação de leucócitos totais (Tabela3) foi observado diferença significativa nos dias 63 e 92 observou-se uma forte diferença ($p < 0,01$) na concentração de monócitos. Onde no dia 63, PREB apresentou concentração maior que PROB e PREB+PROB. Já no dia 92, PROB possuiu maiores percentagens seguido por PREB+PROB e PREB. Observou-se tendência a ser diferente os valores médios de eosinófilos ($p = 0,09$). Desta vez o PREB apresentou menor concentrações que PROB e PREB+PROB. Nos demais parâmetros hematológicos analisados não foi observado tendencia, nem tão pouco diferença nos resultados.

Tabela 3. Hemograma de bezerros que consumiram prébiotico, probiótico e a combinação de ambos.

Itens	Tratamento ¹			EP	P – valor	
	Prebiotico	Probiotico	Pre- + probiotico		Trat	Trat × Dia
Eritrócitos (x10 ⁶ µL)					0.65	0.91
d 1	7.06	7.01	7.05	0.37		
d 14	7.64	7.35	7.36	0.37		
d 35	7.62	7.40	7.33	0.37		
d 63	6.95	6.81	6.87	0.37		
d 92	8.17	7.50	7.43	0.37		
Média ²	7.60	7.25	7.24	0.35		
Hematocrito (%)					0.63	0.94
d 1	27.9	27.8	27.9	1.15		
d 14	30.4	28.8	29.1	1.15		
d 35	30.2	29.1	28.8	1.15		
d 63	27.4	26.5	26.8	1.15		
d 92	32.8	30.2	29.7	1.15		
Média ²	30.2	28.6	28.6	1.53		
Hemoglobina (g/dL)					0.39	0.85
d 1	7.80	7.63	7.82	0.41		
d 14	8.73	8.36	8.13	0.41		
d 35	8.67	8.23	7.97	0.41		
d 63	7.73	7.46	7.33	0.41		
d 92	9.20	8.60	8.28	0.41		
Média ²	8.60	8.12	7.95	0.41		
Leucócitos (x10 ³ µL)					0.55	0.29
d 1	7.38	6.30	7.29	0.57		
d 14	11.2	9.03	9.19	0.57		
d 35	8.58	7.93	8.66	0.57		
d 63	7.78	8.67	8.69	0.57		
d 92	10.6	9.77	11.6	0.57		
Média ²	9.61	8.68	9.60	0.65		
Neutrófilo (x10 ³ µL)					0.44	0.26
d 1	1.60	1.58	1.87	0.40		
d 14	4.61	3.50	3.34	0.40		
d 35	2.29	2.25	2.30	0.40		
d 63	1.87	3.32	1.78	0.40		
d 92	3.60	2.03	3.28	0.40		
Média ²	3.07	2.75	2.70	0.21		
Linfócito (x10 ³ µL)					0.65	0.93
d 1	4.66	4.26	4.45	0.58		
d 14	5.78	4.91	4.95	0.58		
d 35	5.79	5.50	5.84	0.58		
d 63	4.76	4.97	6.16	0.58		
d 92	6.57	6.61	7.41	0.58		
Media ²	5.75	5.48	6.09	0.39		
Monócito (x10 ³ µL)					0.96	<0.01
d 1	0.79	0.55	0.75	0.17		
d 14	0.71	0.73	0.73	0.17		
d 35	0.38	0.34	0.42	0.17		
d 63	1.03 ^a	0.55 ^b	0.61 ^b	0.17		
d 92	0.32 ^c	1.21 ^a	0.66 ^b	0.17		
Média ²	0.64	0.66	0.62	0.10		
Eosinófilo (x10 ³ µL)					0.09	0.64
d 1	0.19	0.14	0.16	0.05		
d 14	0.00	0.15	0.12	0.05		
d 35	0.00	0.09	0.03	0.05		
d 63	0.00	0.08	0.08	0.05		
d 92	0.00	0.17	0.23	0.05		
Média ²	0.01 ^b	0.12 ^a	0.11 ^a	0.05		

¹Tratamentos foram: Prebiótico: mananas e glucanas, Probiótico: *Saccharomyces cerevise*, Prebiótico + Probiótico: mananas, glucanas e *Saccharomyces cerevise*

² Os resultados do dia 1 foram removidos do conjunto de dados para gerar a média por tratamento na análise estatística.

^{a-b} Dentro de uma linha, diferem ($P \leq 0,05$) ou tendem a diferir ($P \leq 0,10$) entre os grupos. EP = erro padrão

Fonte: Autores.

3.3 Bioquímica / metabolismo

Dentre os resultados bioquímicos presents na Tabela 4, foi observado tendência a de interação tratamento x dia, no dia 63, para globulinas. PROB apresentou maiores níveis em comparação ao PREB e PREB+PROB. Para níveis de ureia, observou-se forma diferença na interação tratamento x dias ($p=0,03$), nos dias 35 e 92. No dia 35 PROB encontrou-se com maiores valores que PREB e PREB+PROB. Já no dia 92 PREB foi superior a PREB+PROB enquanto PROB igual a ambos. Para a média, PREB e PROB apresentaram níveis de ureia superior ao PREB+PROB ($p=0,05$). Para os demais parâmetros bioquímicos analisados não foi observado nenhuma diferença entre os grupos.

Tabela 4. Bioquímica sérica de bezerros que consumiram o prébiotico, probiótico e a combinação de ambos.

Itens	Tratamento ¹			EP	P – valor	
	Prebiótico	Probiótico	Pre- + probiótico		Trat	Trat x Dia
Albumina (g/dL)					0.37	0.20
d 1	3.76	3.63	4.19	0.27		
d 14	3.89	3.53	3.95	0.27		
d 35	4.30	4.33	3.75	0.27		
d 63	3.41	2.63	2.59	0.27		
d 92	3.17	3.31	2.89	0.27		
Média ²	3.66	3.39	3.38	0.17		
Globulina (g/dL)					0.43	0.09
d 1	2.27	2.58	2.04	0.47		
d 14	2.75	3.16	2.75	0.47		
d 35	4.25	4.46	5.69	0.47		
d 63	4.50 ^b	6.30 ^a	4.97 ^b	0.51		
d 92	3.23	2.62	3.08	0.47		
Média ²	3.69	4.22	4.06	0.31		
Proteína total (g/dL)					0.50	0.46
d 1	5.93	6.18	6.35	0.40		
d 7	6.55	6.66	6.83	0.40		
d 35	8.46	8.76	9.57	0.40		
d 63	7.80	8.90	7.74	0.44		
d 92	6.31	5.90	6.10	0.40		
Média ²	7.21	7.57	7.64	0.26		
Glicose (mg/dL)					0.51	0.33
d 1	58.1	57.7	60.9	7.14		
d 14	80.1	92.9	99.3	7.14		
d 35	74.6	71.3	91.8	7.14		
d 63	73.4	71.9	67.2	7.76		
d 92	104	88.5	94.8	7.14		
Media ²						
Triglicérideo (mg/dL)					0.40	0.74
d 1	31.2	34.8	35.7	6.68		
d 14	55.7	61.0	42.8	6.68		
d 35	42.9	42.8	34.2	6.68		
d 63	33.1	28.8	33.8	7.25		
d 92	25.4	32.8	19.2	6.68		
Média ²	38.5	41.7	32.9	4.90		
Colesterol (mg/dL)					0.30	0.85
d 1	59.3	59.9	57.9	13.1		

d 14	92.3	98.2	102	13.1		
d 35	94.7	117	139	13.1		
d 63	70.8	66.9	83.3	14.4		
d 92	105	103	113	13.1		
Média ²						
Ureia (mg/dL)					0.05	0.03
d 1	32.1	35.1	34.4	2.50		
d 14	44.7	39.3	39.2	2.50		
d 35	33.7 ^b	41.9 ^a	28.9 ^b	2.50		
d 63	35.5	38.1	33.3	2.70		
d 92	35.9 ^a	31.1 ^{ab}	28.8 ^b	2.50		
Média ²	36.9 ^a	38.1 ^a	32.8 ^b	1.84		

¹Tratamentos foram: Prebiótico: mananas e glucanas, Probiótico: *Saccharomyces cerevise*, Prebiótico + Probiótico: mananas, glucanas e *Saccharomyces cerevise*

² Os resultados do dia 1 foram removidos do conjunto de dados para gerar a média por tratamento na análise estatística.

^{a-b} Dentro de uma linha, diferem ($P \leq 0,05$) ou tendem a diferir ($P \leq 0,10$) entre os grupos. EP = erro padrão

Fonte: Autores.

3.4 Proteinograma

Para IgA foi observado maior concentração para os animais do grupo PREB em relação aos demais no dia 14, enquanto no dia 35 o grupo PROB apresentou valores inferiores a ambos os tratamentos (Tabela 5). No dia 92 PREB+PROB foi superior ao PROB para IgA ($P=0,03$). Conseqüentemente a isso, na média dos tratamentos o grupo PREB+PROB foi superior ao PROB ($p=0,03$) ao passo que PREB foi igual a ambos. Enquanto para IGG-cadeia pesada, o animais do tratamento PROB apresentaram concentrações mais elevadas ($P=0,04$). Sendo que nos dias 63 e 92 está diferença foi ainda maior ($P=0,01$). Para hepatoglobina foi observado diferença na interação tratamento x dia, no dia 63, quando PREB foi inferior aos demais, porém como resultado, observou-se apenas tendência para os animais do grupo PROB serem maior que os do PREB ($P=0,10$). Para ceruplasmina, o grupo PROB foi maior que o PREB no dia 92 ($p=0,05$). Para transferina no dia 35 PREB+PROB foi superior apenas a PROB, enquanto no dia 92 interação foi entre PREB e PROB ($p=0,08$). Também no dia 92 foi observado diferença entre os tratamentos PREB e PREB+PROB, PREB superior ($p=0,03$). Para os demais parâmetros avaliados não foi observado diferença estatística na média das variáveis.

Tabela 5. Proteinograma de bezerros alimentados com prébiótico, probiótico e a combinação de ambos.

Itens	Tratamento ¹			EP	P – valor	
	Prebiótico	Probiótico	Pre- + probiótico		Trat	Trat x Dia
IgA (g/dL)					0.03	0.01
d 1	0.68	0.71	0.78	0.02		
d 14	0.95 ^a	0.76 ^b	0.79 ^b	0.02		
d 35	1.00 ^a	0.84 ^b	1.09 ^a	0.03		
d 63	0.79	0.80	0.83	0.01		
d 92	0.58 ^{ab}	0.52 ^b	0.73 ^a	0.02		
Média ²	0.83 ^{ab}	0.73 ^b	0.86 ^a	0.02		
Ceruplasmina (g/dL)					0.45	0.05
d 1	0.35	0.42	0.52	0.03		
d 14	0.40	0.38	0.53	0.04		
d 35	0.49	0.64	0.49	0.03		
d 63	0.51	0.42	0.38	0.02		
d 92	0.44 ^b	0.63 ^a	0.49 ^{ab}	0.02		
Média ²	0.46	0.52	0.47	0.02		
Transferina (g/dL)					0.74	0.08
d 1	0.60	0.46	0.58	0.03		
d 7	0.61	0.63	0.56	0.02		
d 35	0.72 ^{ab}	0.70 ^b	0.80 ^a	0.02		

d 63	0.63	0.62	0.62	0.03		
d 92	0.66 ^a	0.64 ^{ab}	0.54 ^b	0.02		
Média ²	0.65	0.65	0.63	0.03		
IGG-cadeia pesada (g/dL)					0.04	0.01
d 1	0.72	0.69	0.69	0.04		
d 14	0.65	0.59	0.67	0.02		
d 35	0.81	0.88	0.85	0.01		
d 63	0.70 ^b	0.97 ^a	0.62 ^b	0.02		
d 92	0.76 ^{ab}	0.80 ^a	0.65 ^b	0.02		
Média ²	0.73 ^{ab}	0.81 ^a	0.70 ^b	0.02		
Hapatoglobina (g/dL)					0.10	0.02
d 1	0.49	0.43	0.56	0.02		
d 14	0.57	0.63	0.55	0.01		
d 35	0.71	0.75	0.66	0.02		
d 63	0.55 ^b	0.88 ^a	0.74 ^a	0.02		
d 92	0.62	0.61	0.65	0.01		
Média ²	0.61 ^b	0.72 ^a	0.65 ^{ab}	0.02		
Glicoproteína acida (g/dL)					0.69	0.03
d 1	0.52	0.45	0.56	0.03		
d 14	0.48	0.60	0.57	0.03		
d 35	0.60	0.62	0.61	0.01		
d 63	0.59	0.52	0.53	0.03		
d 92	0.59 ^a	0.56 ^{ab}	0.46 ^b	0.02		
Média ²	0.57	0.57	0.54	0.02		
IGG-cadeia leve (g/dL)					0.56	0.26
d 1	0.37	0.35	0.40	0.01		
d 14	0.41	0.41	0.44	0.01		
d 35	0.48	0.53	0.50	0.02		
d 63	0.43	0.36	0.43	0.01		
d 92	0.33	0.42	0.37	0.02		
Média ²	0.42	0.43	0.44	0.01		

¹Tratamentos foram: Prebiótico: mananas e glucanas, Probiótico: *Saccharomyces cerevise*, Prebiótico + Probiótico: mananas, glucanas e *Saccharomyces cerevise*

² Os resultados do dia 1 foram removidos do conjunto de dados para gerar a média por tratamento na análise estatística.

^{a-b} Dentro de uma linha, diferem ($P \leq 0,05$) ou tendem a diferir ($P \leq 0,10$) entre os grupos. EP = erro padrão

Fonte: Autores.

3.5 Resposta oxidativa

Para o estresse oxidante dos animais presente na Tabela 6, a enzima Glutathione S-Transferase apresentou forte interação tratamento x dia ($p=0,02$), demonstrando maior concentração no tratamento PREB em relação ao PROB e PREB+PROB no dia 14. Já no dia 35 PREB foi maior que PREB+PROB enquanto PROB apresentou-se igual a ambos. Em contrassenso nos dias 63 e 92 os bezerros do grupo PREB+PROB apresentaram maior atividade da enzima que o PREB, enquanto PROB se manteve igual a ambos. Em consequência disso foi observado forte tendência nos valores de TBARS para os animais do grupo PREB ao PROB e PREB+PROB no dia 35, enquanto nos dias 63 e 92 PREB foi superior apenas ou bezerros PREB+PROB ($P=0,06$). Já para os níveis de espécies reativas ao oxigênio (ROS), observou-se apenas tendência a diferença no dia 14, onde PREB foi superior somente ao PREB+PROB ($P=0,07$). Já em relação à enzima superóxido dismutase (SOD), os animais do grupo PREB+PROB foram superiores aos PROB em todo o período experimental, enquanto o PREB se igual a PREB+PROB apenas no dia 92, sendo inferior no restante ($p=0,01$). Em valores médios PREB+PROB também foi superior ao PREB e PROB ($p=0,01$).

Tabela 6. Status oxidative de bezerros que consumiram prébiotico, probiótico e a combinação de ambos.

Itens	Tratamento ¹			EP	P – valor	
	Prebiotico	Probiotico	Pre- + probiotico		Trat	Trat × Dia
TBARS (nmol MDA/mL)					0.11	0.06
d 1	18.2	20.2	19.1	1.62		
d 14	17.8	18.2	18.0	1.62		
d 35	24.3 ^a	18.7 ^b	14.4 ^b	1.61		
d 63	22.8 ^a	19.4 ^{ab}	16.9 ^b	1.62		
d 92	18.1 ^a	17.2 ^{ab}	14.2 ^b	1.12		
Média ²	20.7	18.6	15.8	0.99		
GST (µmolCDNB/min/ mg proteína)					0.67	0.02
d 1	259	263	270	15.6		
d 14	369 ^a	325 ^b	304 ^b	15.6		
d 35	278 ^a	249 ^{ab}	228 ^b	15.6		
d 63	234 ^b	243 ^{ab}	274 ^a	15.6		
d 92	240 ^b	248 ^{ab}	279 ^a	15.6		
Média ²	279	266	273	11.5		
Tiois proteico (nmol SH/mg proteína)					0.63	0.54
d 1	79.2	82.1	81.6	7.52		
d 14	104	104	100	7.52		
d 35	70.4	78.9	76.0	10.3		
d 63	77.3	68.7	69.9	7.52		
d 92	78.8	98.5	77.2	7.52		
Média ²	82.1	87.6	80.9	5.66		
EROs (U DCFH/mg proteína)					0.80	0.07
d 1	28.2	25.5	27.9	2.05		
d 14	29.4	30.8	30.9	2.05		
d 35	10.4 ^a	8.95 ^{ab}	3.87 ^b	2.05		
d 63	13.2	13.8	13.1	2.05		
d 92	11.7	15.6	14.3	2.05		
Média ²	13.9	14.4	13.2	1.27		
SOD (U/mg proteína)					0.01	0.01
d 1	1.06	1.67	1.68	0.23		
d 14	0.85 ^b	0.90 ^b	1.57 ^a	0.18		
d 35	1.41 ^b	1.52 ^b	2.89 ^a	0.18		
d 63	2.07 ^b	1.73 ^b	3.23 ^a	0.21		
d 92	3.44 ^{ab}	2.97 ^b	4.39 ^a	0.17		
Média ²	1.94 ^b	1.78 ^b	3.03 ^a	0.12		

¹Tratamentos foram: Prebiotico: mananas e glucanas, Probiotico: *Saccharomyces cerevisae*, Prebiotico + Probiotico: mananas, glucanas e *Saccharomyces cerevisae*

² Os resultados do dia 1 foram removidos do conjunto de dados para gerar a média por tratamento na análise estatística.

^{a-b} Dentro de uma linha, diferem ($P \leq 0,05$) ou tendem a diferir ($P \leq 0,10$) entre os grupos. EP = erro padrão.

Fonte: Autores.

3.6 Digestibilidade

A digestibilidade presente na Tabela 7, demonstra melhora na digestibilidade da matéria orgânica quando usado o PREB comparado ao PROB ($P > 0,01$), PREB+PROB ficou não diferiu de nenhum tratamento. Para fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) e proteína bruta não foi observado diferença na digestibilidade entre os tratamentos.

Tabela 7 – Coeficiente de digestibilidade aparente de nutrientes da alimentação de bezerros que consumiram prébiotico, probiótico e a combinação de ambos.

Itens	Tratamento ¹			EP	P – valor Trat
	Prebiotico	Probiotico	Pre- + probiotico		
Materia seca	70.4	67.6	69.2	1.99	0.23
Proteína bruta	74.8	76.2	73.3	1.76	0.15
Matéria orgânica	55.9 ^a	36.1 ^b	44.1 ^{ab}	3.32	<0.01
FDN	59.5	54.4	56.4	0.85	0.19

¹Tratamentos foram: Prebiotico: mananas e glucanas, Probiotico: *Saccharomyces cerevisiae*, Prebiotico + Probiotico: mananas, glucanas e *Saccharomyces cerevisiae*

² Os resultados do dia 1 foram removidos do conjunto de dados para gerar a média por tratamento na análise estatística.

^{a-b} Dentro de uma linha, diferem ($P \leq 0,05$) ou tendem a diferir ($P \leq 0,10$) entre os grupos.

Fonte: Autores.

4. Discussão

A ingestão de frações de levedura *Saccharomyces cerevisiae*, mananoligossacarídeos e β -glucanos (1,3 e 1,6) (PREB) e a própria levedura viva *Saccharomyces cerevisiae* (PROB) ocorreu de forma isolada e associada (PREB + PROB). Então, a inclusão do prébiotico promoveu maior ganho de peso em relação ao probiótico, além deste ter promovido maior digestibilidade da matéria orgânica. Da mesma forma ocorreu quando pesquisadores forneceram β -glucanos e mananoligossacarídeos na dieta de suínos reduz a incidência de diarreia e é capaz de melhorar desempenho zootécnico (Tuoi et al. 2016). Já Oliveira (2020), substituindo virginamicina por *Saccharomyces cerevisiae*, não observou diferença na digestibilidade de nenhum nutriente em dietas de bovinos. Visto que a maioria dos ruminantes obtém a maior parte da energia através da digestão da FDN, a melhora no aproveitamento deste nutriente tem impacto direto no desenvolvimento destes animais. A combinação de prébioticos + probiótico não teve efeito sinérgico, não sendo capaz de potencializar o crescimento de forma superior ao uso apenas de prebiotico. Portanto, o uso de apenas probiótico é recomendado, pois esse sim comportou-se com um aditivo capaz de promover produtividade.

O desequilíbrio dos compostos oxidantes e antioxidantes, causam situações de estresse oxidativo que podem prejudicar a saúde e o desempenho produtivo dos animais (Yuan et al., 2007). Neste estudo, destaca-se a relação contrária entre GST e TBARS nos dias 63 e 92, isto é, os animais do grupo PREB+PROB tiveram maior atividade enzimática antioxidante, porém menor peroxidação lipídica quando comparado ao grupo PREB. Tal efeito pode ser devido a maior produção do ácido láctico, no fornecimento da *Saccharomyces cerevisiae*, uma vez que este ácido estimula a produção de anticorpos e a atividade fagocítica (Geron et al., 2013), ação que pode reduzir a carga submetida ao fígado. Da mesma forma, nesse estudo foi observado maior contagem de monócitos no dia 92, assim como tendência de maior contagem de eosinófilos quando os bezerros consumiram probiótico.

A atividade das enzimas antioxidantes como superóxido dismutase e glutathione S-transferase foram maiores no sangue dos bezerros que consumiram a combinação de pré e probiótico nos dias 63 e 92, período em que a peroxidação lipídica sérica foi menor quando comparado a bezerros que consumiram somente prebiotico. A ausência de um grupo controle negativo dificulta a interpretação dos resultados, mas o que percebemos é que a combinação dos dois aditivos teve efeitos positivos sobre o status oxidativo. Isto porque é sabido que a estimulação da atividade de enzimas como a SOD leva a maior dismutação dos superóxidos de oxigênio, em moléculas de oxigênio e peróxido de hidrogênio, moléculas capazes de oxidar o aminoácido essencial cisteína (Halliwell & Gutteridge, 2007).

Como resposta a lesões e a reações imunológicas o organismo animal possui diferentes formas de resposta, entre elas a denominada “resposta de fase aguda”. As quais tem função de eliminar o agente infeccioso e auxiliar no reparo celular, porém todas elas têm o mesmo fator, dano ou morte celular. Neste sentido, o organismo libera um conjunto de proteínas plasmáticas,

conhecidas como proteínas de fase aguda (APPs), as quais podem ser tanto negativas (albumina, globulina e transferrina), quanto positivas (heptoglobina, glicoproteína ácida, ceruloplasmina etc). A diferença entre elas é o aumento na concentração das positivas e consequentemente a diminuição das negativas frente ao estímulo do organismo (Basarab et al., 2020). Em nosso estudo, houve diversas variações nos níveis séricos das APPs, flutuações durante o experimento, mas cabe ressaltar que a maior concentração de IgA nos bezerros que consumiram a combinação pré e probiótico, uma imunoglobulina de proteção mucosas, importantíssima a nível intestinal.

Neste cenário, aos APPs positivas (hepatoglobina e ceruloplasmina) possuem função de transporte de antioxidantes, protegendo o hospedeiro dos metabólitos do oxigênio. Função está que ficou evidente no presente estudo, onde observa-se forte relação entre estas APPs e o status oxidativo, o que já era esperado, visto que a resposta inflamatória é uma das causas do desequilíbrio oxidativo. As concentrações mais elevadas de hepatoglobina e ceruloplasmina nos dias 63 e 92 para o tratamento PREB+PROB, momento que houve menor peroxidação lipídica quando comparados ao grupo de bezerros que consumiu apenas o prébiótico. Além disso, a hepatoglobina é considerada entre as principais APPs positivas em ruminantes e sua principal função está na homeostase do ferro, ligando-se a hemoglobina e controlando a excreção deste mineral (Basarab et al., 2020) e é capaz de ser um indicador de infecções em bovinos (Basarab et al., 2020). Por outro lado, a ceruloplasmina está diretamente relacionada com a homeostase do cobre plasmático, transportando cerca de 90% deste mineral, sendo capaz de ligar-se com até 8 átomos de cobre. A adição de prebióticos e probióticos na dieta de bezerros influencia claramente na resposta imune/inflamatória e oxidativa, porém os mecanismos envolvidos e as consequências dessas alterações precisam de outros estudos, que permita avançar nas discussões, evitando a especulação.

A ureia consiste em um dos principais produtos sintetizados pelo fígado por meio do nitrogênio, é a principal forma de excreção deste elemento (Schuba et al., 2017)). Sua concentração plasmática e urinária está diretamente ligada com os níveis de proteína dietética, ou com a digestão e absorção deste composto pelos animais (Wittwer, 2000; Gonzáles e Scheffer, 2002). A maior concentração de ureia no sangue, leva maior disponibilidade de nitrogênio passível de ser utilizada pelos animais, o que ocorreu nos animais que consumiram de forma isolada o prébiótico e o probiótico; no entanto, o consumo desses aditivos não mudou a digestibilidade aparente de proteína bruta. Uma informação coerente com ganho de peso corporal foi a maior digestibilidade da matéria orgânica nos grupos de animais que consumiram o prébiótico (isolado ou combinado), animais esses que tiveram maior peso corporal ao final da pesquisa.

5. Considerações Final

Os dados permitem concluir que os animais que consumiram à associação da levedura *Saccharomyces cerevisiae* viva com frações de mananoligossacarídeos e β -glucanos (1,3 e 1,6) tiveram desempenho de crescimento e digestibilidade similar aos grupos de animais que consumiu apenas o prébiótico. Por outro lado, a combinação dos aditivos minimizou o estresse oxidativo fisiológico dos bezerros e estimulou a produção de proteínas de fase aguda envolvidas em proteção (IgA) e carreamento (ceruloplasmina e hepatoglobina). Portanto, a inclusão de prébiótico pode ser alternativa interessante na alimentação destes bezerros após o desaleitamento.

Agradecimento

Agradecemos a UDESC, FAPESC, CAPES e CNPq pelo suporte técnico e financeiro, assim como a empresa Natural.

Referências

Ali, S. F., LeBel, C. P. & Bondy, S. C. 1992. Reactive oxygen species formation as a biomarker of methylmercury and trimethyltin neurotoxicity. *Neurotoxicology*. 13, 637-648.

- Basarab, T., Stefanyk, V., Ivakhiv, M. & Nišanski, W. 2020. Concentration of C-reactive protein and haptoglobin in cows with subclinical endometritis. *Naukovij Visnik Veterinarної Medicini*, [S.L.], n. 2160, p. 7-13.
- Chaucheyras-Durand, F., Walker, D. N. & Bach, A. 2008. Effects of active dry yeasts on the rumen microbial ecosystem: Past, presente and future. *Animal Feed Science and Technology*, 145:(5). 125-29.
- Dawson, K. A. & Pîrvulescu, M. 1999. *Mananoligosacarídeos derivados de leveduras como moduladores da resposta imunológica e alternativas aos promotores de crescimento antimicrobianos*. 9th Ronda Latino Americanada Alltech; Curitiba, Paraná. Brasil. p.33-41.
- Diaz, T. G., Branco, A. F., Jacovaci, F. A., Jobim, C. C., Daniel, J. L. P., Bueno, A. V. I. & Ribeiro, M. G. 2018. Use of live yeast and mannan-oligosaccharides in grain-based diets for cattle: ruminal parameters, nutrient digestibility, and inflammatory response. *Plos One* 13: 207127-207136.
- Fagliari, J. J., Santana, A. E., Lucas, F. A., Campos, E. & Curi, P. R. (1998). Constituintes sanguíneos de bovinos recém-nascidos das raças Nelore (Bos indicus) e holandesa (Bos taurus) e de bubalinos (Bubalis bubalus) raça Murrah. *Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecia* 50, 253-262.
- Feldman, B.F., Zinkl, J.G. & Jain, N.C. 2000. *Schalm's veterinary hematology*. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 1344p.
- Geron, L. J. V., Silva, H. F., Machado, R. J. T., Garcia, J., Mexia, A. A., Moura, D. C., Ribeiro, M. G. & Oliveira, E. B. 2013. Aditivos promotores de crescimento (antibióticos, ionóforos, probióticos e própolis) utilizados na alimentação animal. *PubVet*, (7), 237.
- Halliwell, B. & Gutteridge, J. M. C. 2007. *Free radicals in biology and medicine*. Oxford: Clarendon Press, 543p.
- Jana, U. K., Suryawanshi, R. K., Prajapati, B. P. & Kango. 2021. Naveen. Prebiotic mannanoligosaccharides: synthesis, characterization and bioactive properties. *Food Chemistry*, 342: 128328.
- Jentzsch A.M., Bachmann H., Furst, P. & Biesalski H. 1996. Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. *Free Radical Biology Medicine* 20: 251-256.
- Komarek, A. R. 1993. A filter bag procedure for improved efficiency of fiber analysis. *International Journal of Dairy Science* 76: 250-259.
- McCord, J. M. & Fridovich, I. 1969. Superoxide dismutase: an enzymatic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *Journal Biology Chemistry* 244:6049-6055.
- Neto, M. D. F., Fernandes, J. J. R., Restle, J., Pádua, T. J., Rezende, P. L. P., Mitto, F. R. C. & Moreira, K. K. G. 2014. Desempenho de bovinos machos de origem leiteira submetidos a diferentes estratégias alimentares na recria e terminação. *Semina: Ciências Agrárias*, 34: 2117-2128.
- Nelson, D.P. & Kiesow, L.A. 1972. Enthalpy of Decomposition of Hydrogen Peroxide by Catalase at 25°C (with Molar Coefficient of Hydrogen Peroxide Solution in the UV). *Analytical Biochemistry*, 49, 474-478.
- Newman, K. 1994. *Mannanologosaccharides: Natural polymers with significant impact on the gastrointestinal microflora and the immune system*. In: Biotecnology in the feed industry. Proceedings of 10TH Annual Symposium, 1994. Nottingham University Press. London, 1994, p. 155-166.
- Oliveira, D. S. 2020. *Substituição da Virginiamicina por Produtos À Base de Levedura (Saccharomyces Cerevisiae) em Dietas de Bovinos*. 48 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
- Pereira A. S., Shitsuka, D.M., Pereira, F.J., Shitsuka, R. 2018. Metodologia da pesquisa científica. [free e-book]. Santa Maria/RS. Ed. UAB/NTE/UFSM.
- Restle, J. 1997. Aspectos quantitativos da carcaça de machos hereford, inteiros e castrados, abatidos aos quatorze meses. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 32: 1091-1095
- Roger, V., Fonty, G., Bony, S. K. & Gouet, P. 1990. Effects of physiochemical factors on the adhesion to cellulose Avicel of the rumen bacteria Ruminococcus flavetaciens and Fibrobacter succinogenes. *Applied and Environmental Microbiology*, 56:3081.
- Schuba, J., Südekum, K. H., Pfeffer, E. & Jayanegara, A. 2017. Excretion of faecal, urinary urea and urinary non-urea nitrogen by four ruminant species as influenced by dietary nitrogen intake: a meta-analysis. *Livestock Science*. 198: 82-88.
- Senger, C. C., Kozloski, G. V., Sanchez, L. M. B., Mesquita, F. R., Alves, T. P. & Castagnino, D. S. 2008. Evaluation of autoclave procedures for fibre analysis in forage and concentrate feedstuffs. *Animal Feed Science* 146: 169-174.
- Spring, P., Wenk, C., Dawson, A. & Newman, K. E. 2000. The effects of dietary mannanoligosaccharides on cecal parameters and concentrations of enteric bacteria in the ceca of salmonella-challenged broiler chicks. *Poultry Science*, 79: 205-211.
- Tuoi, P.T., Assavacheep, P., Angkanaporn, K. & Assavacheep, A. 2016. Effects of β -glucan and mannan-oligosaccharide supplementation on growth performance, fecal bacterial population, and immune responses of weaned pigs. *Thai Journal Veterinary Medicine* 46(4): 589-599.
- Wittwer, F. 2000. *Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos*. In: González, F. H. D., Barcellos, J., Patino, H. O. & Ribeiro, L. A. Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Yuan, S. B., Chen, D. W., Zhang, K. Y. & Yu, B. 2007. Effects of oxidative stress on growth performance, nutrient digestibilities and activities of antioxidative enzymes of weanling pigs. *Asian-Australian Journal Animal Science* 20: 1600-1605.
- Zapata, O., Cervantes, A., Barreras, A., Monge-Navarro, F., González-Vizcarra, V.M., Estrada-Angulo, A., Urías-Estrada, J. D., Corona, L., Zinn, R. A., Martínez-Alvarez, I. G., & Plascencia, A. 2021. Effects of single or combined supplementation of probiotics and prebiotics on ruminal fermentation, ruminal bacteria and total tract digestion in lambs. *Small Ruminant Research* 204: 1-6.
- Zeoula, L. M., Beleze, J. R. F., Geron, L. J. V., Maeda, E. M., Prado, I. N. & Paula, M. C. 2008. Digestibilidade parcial e total de rações com a inclusão de ionóforo ou probiótico para bubalinos e bovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia* 37: 563-571.