

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM PROBIÓTICO NO CORTISOL  
SÉRICO E NO GANHO DE PESO EM BOVINOS**

**LUCIANA ALVARES CALVO PENHA**

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM PROBIÓTICO NO CORTISOL  
SÉRICO E NO GANHO DE PESO EM BOVINOS**

**LUCIANA ALVARES CALVO PENHA**

Dissertação apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal - Área de Concentração: Fisiopatologia Animal.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Eduardo Pardo

636.291  
P399e

Penha, Luciana Alvares Calvo.

Efeito da suplementação com probiótico no cortisol sérico e no ganho de peso em bovinos / Luciana Alvares Calvo Penha – Presidente Prudente, 2009.

48 : il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE: Presidente Prudente – SP, 2009.

Bibliografia

1. Bovinos. 2. Cortisol. 3. Probiótico. 4. Stress. 5. Ganho de Peso. I. Título.

**LUCIANA ALVARES CALVO PENHA**

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM PROBIÓTICO NO CORTISOL  
SÉRICO E NO GANHO DE PESO EM BOVINOS**

Dissertação apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Presidente Prudente, 23 de Setembro 2009.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Paulo Eduardo Pardo  
Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE  
Presidente Prudente - SP

---

Prof. Dr. Luis Carlos Vianna  
Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE  
Presidente Prudente - SP

---

Prof. Dr. Vander Bruno dos Santos  
Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios - APTA  
São Paulo - SP

## DEDICATÓRIA

*A Deus, que permite tão grandes feitos em minha vida.*

*Aos meus pais, Irineu e Cândia, que são exemplos de dignidade, determinação, amor e valores que sempre me guiarão.*

*As minhas filhas, Juliana e Mariana, que com muita paciência e amor, incentivaram e colaboraram para que este trabalho fosse completado.*

## AGRADECIMENTOS

*A todos que compartilharam, auxiliaram, incentivaram e acreditaram neste trabalho, principalmente:*

*Aos professores do Curso de Mestrado em Ciência Animal da Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, principalmente ao Prof. Dr. Sérgio do Nascimento Kronka, Prof. Dr. Izidoro Francisco Sartor, Profa. Dra. Renata Navarro Cassu, Profa. Dra. Rosa Barilli Nogueira, Profa. Dra. Silvia Franco Andrade, Prof. Dr. Vamilton Álvares Santarém, Profa. Dra. Cecília Laposy Santarém, Profa. Dra. Alessandra Melchert, que por meio de seus ensinamentos engrandeceram meus conhecimentos científicos.*

*À Unoeste (Universidade do Oeste Paulista), em especial a reitora Profa. Ana Maia de Oliveira Lima, pela oportunidade, apoio e incentivo recebido.*

*Ao Dr. Luis Sousa Lima de Souza Reis pela incansável solidariedade e contribuições prestadas a este trabalho.*

*Ao Prof. Dr. Hermann Bremer Neto, pela inestimável dedicação e colaboração na realização deste trabalho.*

*À Profa. Dra. Eunice Oba docente titular do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia da Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho - UNESP – Botucatu, pela atenção dedicada aos ensinamentos para a dosagem sérica de cortisol dos bovinos por meio da técnica de radioimunoensaio de fase sólida.*

*Ao Laboratório de Raiva do Instituto Butantã, em especial, à Doutora Neuza Maria Frazatti Gallina.*

*Aos amigos de trabalho Oranice Bega, Waldely Sebastião de Oliveira Negrão e Sérgio Eduardo L. Fazoni, meu muito obrigada pela atenção, ajuda e compreensão recebidas de vocês em todas as ocasiões que necessitei.*

*À funcionária da Biblioteca da Unoeste, Mara Lúcia Magalhães, pela atenção e disponibilidade no levantamento bibliográfico e formatação do texto.*

*Aos meus irmãos Emanuel e Cláudia, que acreditaram e apoiaram minha luta, não deixando desanimar.*

*Ao meu namorado Ederaldo Aparecido Foltran, que me ensinou com amor, compreensão e paciência, a ter tranquilidade no desenvolvimento deste trabalho.*

*Ao Edson do Departamento de Audiovisual da Unoeste pela montagem do datashow para as apresentações dos meus seminários, qualificação e defesa desta dissertação.*

*À secretária Raquel da pós-graduação em Ciência Animal, meu muito obrigada, pela ajuda incansável.*

*Ao Nilton Benedito Balthazar, chefe do setor de cópias e suas funcionárias, pela atenção e disponibilidade.*

*Aos colegas do mestrado, que souberam suavizar horas de dedicação, com trocas de conhecimentos e experiência profissional.*

## **AGRADECIMENTO ESPECIAL**

*Ao Prof. Dr. Paulo Eduardo Pardo, a quem devo não só a credibilidade do meu trabalho, mas também a orientação, ensinando sempre a necessidade do caminhar no conhecimento.*



*“[...] muitas coisas não ousamos empreender por parecerem difíceis; entretanto, são difíceis porque não ousamos empreendê-las [...]”*

Sêneca

## RESUMO

### **Efeito da suplementação com probiótico no cortisol sérico e no ganho de peso em bovinos**

Este estudo avaliou o efeito da suplementação com probiótico no cortisol sérico e no ganho de peso em bovinos. Quarenta bezerros Nelore com cerca de 18 meses de idade foram distribuídos aleatoriamente para um dos dois grupos (N = 20 bezerros cada) que receberam apenas mistura mineral (GC) ou mistura mineral suplementado com 4,0g de probiótico Proenzime<sup>®</sup> (GP) por animal por dia. Os bovinos foram submetidos ao estresse pela prática da manipulação habitual de pesagem no curral, bem como amostragem sangue nos dias 0, 75 e 150. O ganho de peso vivo aumentou no GP (8,20 kg; 17,07%) do dia 0 aos 75 ( $P < 0,05$ ) e no ganho de peso não foram detectadas diferenças a partir do dia 76 a 150 ( $P > 0,05$ ). A concentração do cortisol aumentou nos bovinos do GC no dia 150 ( $P < 0,05$ ) e nos bovinos do GP o cortisol sérico foi constante ao longo do experimento ( $P > 0,05$ ). No dia 150 as concentrações de cortisol foram maiores no GC em comparação com o GP. Não foram detectadas correlações entre ganho de peso vivo e cortisol sérico nos dias 75 ( $r = -0.005^{ns}$ ) e 150 ( $r = -0.007^{ns}$ ). Estes resultados indicam que a administração de probiótico aumentou o peso nos bovinos nos primeiros 75 dias, e no dia 150 a suplementação diminuiu a concentração sérica de cortisol do qual se encontram freqüentemente submetidos a movimentação e a prática da pesagem no curral.

**Palavras-Chave:** Bovino. Cortisol. Probiótico. Estresse. Ganho de Peso.

## ABSTRACT

### Effects of probiotic supplementation on serum cortisol concentration and weight gain in cattle

This study evaluated the effect of probiotic supplementation on both weight gain and serum cortisol concentration in cattle. Forty Nelore calves around 18 months old were randomly assigned to one of two groups (N=20 calves each) which received only mineral mixture (GC) or mineral mixture supplemented with 4.0 g probiotic Proenzime<sup>®</sup> per animal per day (GP). The cattle were subjected to handling stress by the usual weighing practices in the corral as well as blood sampling on days 0, 75 and 150. Live weight gain increased in GP (8.20 Kg; 17.07%) from day 0 to 75 ( $P < 0.05$ ); no weight differences were detected from day 76 to 150 ( $P > 0.05$ ). Cortisol concentration increased in GC cattle on day 150 ( $P < 0.05$ ). In GP cattle serum cortisol was constant over the experiment ( $P > 0.05$ ). On day 150, cortisol concentration were higher in GC as compared to GP. No correlations were detected between live weight gain and serum cortisol on days 75 ( $r = -0.005^{ns}$ ) and 150 ( $r = -0.007^{ns}$ ). These results indicate that: probiotic administration enhances weight gain in cattle for 75 days but not longer; and day 150 probiotic supplementation can lower cortisol concentration in cattle that are frequently stressed by handling and weighing practices in the corral.

**Key-Words:** Cattle. Cortisol. Probiotic. Stress. Weight Gain.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	12
2 OBJETIVO .....	15
3 REVISÃO DE LITERATURA .....	16
3.1 Aplicações e Mecanismos de Ação dos Probióticos .....	18
3.2 Ganho de Peso x Probiótico.....	22
3.3 Efeito do Estresse no Metabolismo e o Papel do Probiótico.....	23
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	24
4 EXPERIMENTO: EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM PROBIÓTICO NO CORTISOL SÉRICO E NO GANHO DE PESO DE BOVINOS.....	32

## 1 INTRODUÇÃO

Os probióticos são usados em medicina humana na prevenção e tratamento de doenças, na regulação da microbiota intestinal, em distúrbios do metabolismo gastrointestinal, como imunomoduladores, e na inibição da carcinogênese. Em medicina veterinária, além dessas aplicações, podem também ser usados como promotores de crescimento, constituindo-se em uma alternativa aos antibióticos, cujo uso indiscriminado pode selecionar cepas resistentes.

Os probióticos são preparações de cultura de microrganismos vivos, extratos e enzimas, não são tóxicos para os animais e nem deixam resíduos tóxicos na carcaça dos animais que são destinadas para o consumo dos seres humanos (OYETAYO; OYETAYO, 2005). Estes compostos trazem vários efeitos benéficos na produção de bovinos, como: promotor do crescimento e engorda (RASTEIRO et al., 2007), imunoestimulante, melhora a eficiência e a conversão alimentar e minimiza o estresse. Além disso, vem substituindo a utilização de antibióticos adicionados às rações como promotor de crescimento e controle de doenças (MEURER et al., 2007).

O termo probiótico deriva do grego e significa “pró-vida”, sendo o antônimo de antibiótico, que significa “contra a vida”. Ao longo do tempo, esta denominação teve diferentes acepções. Lilly e Stillwel (1965) a usaram para denominar substâncias secretadas por um protozoário que estimularam o crescimento de outros, e Parker (1974), para denominar suplementos alimentares destinados a animais, incluindo microrganismos e substâncias que afetam o equilíbrio da microbiota intestinal. Fuller (1989) considerou que os probióticos são suplementos alimentares que contêm bactérias vivas que produzem efeitos benéficos no hospedeiro, favorecendo o equilíbrio de sua microbiota intestinal, entanto Havenaar e Huis In’t Veld (1992) consideraram que são culturas únicas ou mistas de microrganismos que, administrados a animais ou humanos, produzem efeitos benéficos no hospedeiro por incremento das propriedades da microbiota nativa.

Esses autores restringiram o uso desse termo a produtos que contenham microrganismos viáveis que promovem a saúde de humanos ou animais, e que exercem seus efeitos no aparelho digestivo, no trato respiratório superior ou

no trato urogenital (HAVENAAR et al., 1992). Schrezenmeir e De Vrese (2001) propuseram que o termo probiótico deveria ser usado para designar preparações ou produtos que contêm microrganismos viáveis definidos e em quantidade adequada, que alteram a microbiota própria das mucosas por implantação ou colonização de um sistema do hospedeiro, e que produzem efeitos benéficos em sua saúde.

Segundo Pardo e Reis (2008), outro conceito de probiótico seria uma preparação microbiana que contém bactérias vivas ou mortas, incluindo seus componentes e produtos, a qual, administrada por via oral ou por outra superfície (mucosa), melhora o equilíbrio microbiano ou enzimático nessas superfícies ou estimula mecanismos imunes específicos ou não.

Com os recentes avanços na engenharia genética, a tecnologia vem se desenvolvendo, principalmente no sentido de manipular a microbiota do animal hospedeiro, com influência positiva no seu desempenho e na sua saúde (FULLER, 1989).

Microorganismos vivos e outras espécies de células bacterianas têm sido usadas com o intuito de melhorar o desempenho do animal, por meio de uma melhor fermentação ruminal (VAN SOEST, 1994).

Na pecuária moderna os bovinos são constantemente expostos aos agentes estressores físicos, psicológicos e metabólicos, como o manejo freqüente no curral (ANDRADE et al., 2001; HICKEY et al., 2003) para a realizar as vacinações (NOCKELS et al., 1996), marcação dos animais (RUSHEN, 1999; ANDRADE et al., 2001), castração (ANDRADE et al., 2001), contenção dos animais (PALMA et al., 2000; HALE et al., 2003), presença de pessoas estranhas (LENSINK et al., 2000; HICKEY et al., 2003), inseminação artificial, pesagem dos animais, confinamento (NDIBUALONJI et al., 1995), dentre outros.

Assim, estes animais sofrem ação de vários agentes estressores que ativam o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) conseqüentemente estimulando as glândulas adrenais a produzirem e secretar seus hormônios: o cortisol, a adrenalina e a noradrenalina (CHARMANDARI et al., 2005; GUPTA et al., 2007; CURLEY Jr. et al., 2008) que alteram a homeostase do organismo dos bovinos trazendo sérios prejuízos para a saúde e seu bem-estar, além de prejuízos econômicos.

Esses prejuízos são advindos da diminuição, redução do apetite e conseqüente queda na ingestão de nutrientes resultando em diminuição do crescimento, redução e/ou perda no ganho de peso e na produção de leite

(RUSHEN et al., 1999; MATTERI et al., 2000; WEST, 2003). Além disso, a elevada concentração de cortisol na corrente sanguínea tem efeito imunossupressor (HICKEY et al., 2003; STANGER et al., 2005; GUPTA et al., 2007), o que deixa os bovinos mais suscetíveis a doenças infecciosas (STANGER et al., 2005).

Os probióticos são preparações de cultura de microrganismos vivos, extratos e enzimas, não são tóxicos para os animais e nem deixam resíduos tóxicos na carcaça dos animais que são destinadas para o consumo dos seres humanos (OYETAYO; OYETAYO, 2005). Estes compostos trazem vários efeitos benéficos na produção de bovinos, como: promotor do crescimento e engorda (RASTEIRO et al., 2007), imunoestimulante, melhora a eficiência e a conversão alimentar e minimiza o estresse. Além disso, vem substituindo a utilização de antibióticos adicionados às rações como promotor de crescimento e controle de doenças (MEURER et al., 2007).

## **2 OBJETIVO**

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito do probiótico, Proenzime<sup>®</sup>, adicionado à mistura mineral, no ganho de peso vivo e na concentração sérica de cortisol em bovinos.



### 3 REVISÃO DE LITERATURA

Há um século, Elie Metchnikoff (cientista russo, prêmio Nobel, e professor do Instituto Pasteur em Paris) postulou que as bactérias ácido-lácticas (BAL) ofereciam benefícios à saúde que levavam à longevidade. Sugeriu que a “auto-intoxicação intestinal” e o envelhecimento resultante poderiam ser suprimidos modificando a microbiota intestinal e utilizando micróbios úteis para substituir os micróbios proteolíticos como *Clostridium* — produtores de substâncias tóxicas que surgem da digestão de proteínas, entre as quais se encontram fenóis, indóis, e amônia. Desenvolveu então uma dieta com leite fermentado com a bactéria, à qual denominou “bacilo búlgaro”

Em 1917, antes de Alexander Fleming descobrir a penicilina, o professor alemão Alfred Nissle isolou uma cepa não patogênica de *Escherichia coli* das fezes de um soldado da Primeira Guerra Mundial que não tinha desenvolvido enterocolite durante um surto grave de shigelose. Os transtornos do trato intestinal eram tratados freqüentemente com bactérias não patogênicas viáveis para mudar ou substituir a microflora intestinal. A cepa de *Escherichia coli* de Nissle 1917 é um dos poucos exemplos de um probiótico não BAL.

Henry Tissier (do Instituto Pasteur) isolou pela primeira vez uma *Bifidobacteria* de um lactente alimentado no peito, à qual denominou *Bacillus bifidus communis*. Tissier postulava que as bifidobactérias deslocariam às bactérias proteolíticas que provocavam a diarreia e recomendou administração de bifidobactéria a lactentes que padeciam deste sintoma.

O termo probiótico é de origem grega e significa “pró-vida”, sendo também conhecido como *Direct - Fed Microbial* (DFM). Esses compostos são preparações de cultura de microorganismos, extratos e enzimas classificados como substâncias livres de perigo segundo a Food and Drug Administration (FDA). Os probióticos são microrganismos vivos classificados como suplementos alimentares. Quando administrados em quantidade adequada, favorecem o desenvolvimento da flora microbiana do trato gastrointestinal, com efeitos benéficos para a saúde do homem e dos animais. Esses efeitos, no entanto, restringem-se ao favorecimento da saúde, não necessariamente à cura de doenças (PARDO; REIS, 2008).

Probiótico significa “pró-vida”, sendo antônimo de antibiótico, que significa “contra a vida”. Ao longo do tempo, esta denominação teve diferentes acepções. Lilly e Stillwel (1965) a usaram para denominar substâncias secretadas por um protozoário que estimularam o crescimento de outros e Parker (1974) para denominar suplementos alimentares destinados a animais, incluindo microrganismos e substâncias que afetam o equilíbrio da microbiota intestinal. Fuller (1989) considerou que os probióticos são suplementos alimentares que contêm bactérias vivas que produzem efeitos benéficos no hospedeiro, favorecendo o equilíbrio de sua microbiota intestinal, entanto Havenaar e Huis In't Veld (1992) consideraram que são culturas únicas ou mistas de microrganismos que, administrados a animais ou humanos, produzem efeitos benéficos no hospedeiro por incremento das propriedades da microbiota nativa.

Esses autores restringiram o uso desse termo a produtos que contenham microrganismos viáveis que promovem a saúde de humanos ou animais, e que exercem seus efeitos no aparelho digestivo, no trato respiratório superior ou no trato urogenital (HAVENAAR et al., 1992). Schrezenmeir e De Vrese (2001) propuseram que o termo probiótico deveria ser usado para designar preparações ou produtos que contêm microrganismos viáveis definidos e em quantidade adequada, que alteram a microbiota própria das mucosas por implantação ou colonização de um sistema do hospedeiro, e que produzem efeitos benéficos em sua saúde.

Outro conceito de probiótico seria uma preparação microbiana que contém bactérias vivas ou mortas, incluindo seus componentes e produtos, a qual, administrada por via oral ou por outra superfície (mucosa), melhora o equilíbrio microbiano ou enzimático nessas superfícies ou estimula mecanismos imunes específicos ou não (PARDO; REIS, 2008).

Vários microrganismos são usados como probióticos, entre eles bactérias ácido-lácticas, bactérias não ácido-lácticas e leveduras (Tabela 1). Além das propriedades mencionadas, os probióticos devem ser inócuos, manter-se viáveis por longo tempo durante a estocagem e transporte, tolerar o baixo pH do suco gástrico e resistir à ação da bile e das secreções pancreática e intestinal, não transportar genes transmissores de resistência a antibióticos e possuir propriedades anti-mutagênicas e anticarcinogênicas, assim como resistir a fagos e ao oxigênio (HAVENAAR et al., 1992; SALMINEN et al., 1998; OUWEHAND et al., 1999; SAARELA et al., 2000; HOLZAPFEL; SCHILLINGER, 2002).

**TABELA 1** - Microrganismos com propriedades de probióticos

<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	Outras bactérias ácido lácticas	Bactérias não ácido lácticas
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Bacillus cereus</i> var. toyoi
<i>L. amylovorus</i>	<i>B. animalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Escherichia coli</i> cepa nissle
<i>L. casei</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Propionibacterium freudenreichii</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>B. breve</i>	<i>Leuconstoc mesenteroides</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>L. delbrueckii</i> subsp <i>bulgaricus</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>L. gallinarum</i>	<i>B. lactis</i>	<i>Sporolactobacillus inulinus</i>	
<i>L. gasseri</i>	<i>B. longum</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	
<i>L. johnssonii</i>			
<i>L. paracasei</i>			
<i>L. plantarum</i>			
<i>L. reuteri</i>			
<i>L. rhamnosus</i>			

Adaptado de Holzapfel et al. (2002).

Os lactobacilos, são considerados bactérias anaeróbias facultativas podem utilizar a maioria dos carboidratos como fonte de energia, sendo o principal produto de fermentação o ácido láctico (WU, 1997).

As culturas de *Saccharomyces cerevisiae* destacam-se por reunirem as características mais favoráveis para o seu emprego na alimentação animal e principalmente à sua riqueza em proteínas de alta qualidade (45 a 55%), carboidratos, lipídeos e vitaminas do complexo B (YOUSRI, 1982).

### 3.1 Aplicações e Mecanismos de Ação dos Probióticos

Os probióticos são preparações de cultura de microrganismos vivos, extratos e enzimas, não são tóxicos para os animais e nem deixam resíduos tóxicos na carcaça dos animais que são destinadas para o consumo dos seres humanos (OYETAYO; OYETAYO, 2005). Estes compostos trazem vários efeitos benéficos na produção de bovinos, como: promotor do crescimento e engorda (RASTEIRO et al.,

2007), imunoestimulante, melhora a eficiência e a conversão alimentar e minimiza o estresse. Além disso, vem substituindo a utilização de antibióticos adicionados às rações como promotor de crescimento e controle de doenças (MEURER et al., 2007).

O uso de técnicas que melhorem o desempenho de cordeiros tem despertado o interesse dos criadores, no intuito de diminuir o déficit de carne ovina frente ao crescimento do mercado. A nutrição é utilizada como estratégia para aumentar os índices de produção e os promotores de crescimento podem contribuir para melhorar o desempenho de ruminantes em crescimento. O uso de antibióticos e hormônios em dietas é uma prática que vem sendo abolida, pois sua utilização pode deixar resíduos nos produtos de origem animal. Os probióticos vêm sendo utilizados como produtos alternativos, atuando na manutenção do equilíbrio da flora intestinal, em harmonia com a função digestiva e a saúde do animal (ALVES et al., 2004).

As culturas microbianas vivas e seus extratos, especialmente o de *Saccharomyces cerevisiae*, têm sido utilizado como suplementos alimentares, existindo indicações de que o mesmo pode melhorar a produção de ruminantes em cerca de 7% a 8% (MARTIN; NISBET, 1992; WALLACE, 1994).

O modo de ação dos probióticos não foi ainda completamente esclarecido, embora tenham sido sugeridos vários processos que podem atuar independentemente ou associados. Um deles é a exclusão competitiva, em que o probiótico competiria com os patógenos por sítios de fixação e nutrientes, impedindo sua ação transitoriamente (HAVENAAR et al., 1992; OUWEHAND et al., 1999; CROSS, 2002). A exclusão competitiva explicaria a necessidade da administração continuada e a elevadas doses dos probióticos, para manifestar seus efeitos. Os probióticos podem também afetar patógenos através da síntese de bacteriocinas (VILLANI et al., 1995; RODRIGUEZ, 1996; NAIDU et al., 1999), de ácidos orgânicos voláteis (AUDISIO et al., 2000; JIN et al. 2000; OGAWA et al., 2001) e de peróxido de hidrogênio (HAVENAAR et al., 1992; NAIDU et al., 1999), ou atuar sobre o metabolismo celular, reduzindo a concentração de amônia no organismo (KOZASA, 1986), e liberando enzimas como a lactase (DE VRESE et al., 2001).

Seus efeitos anticarcinogênicos podem ser atribuídos à inibição de enzimas pró-carcinogênicas ou a estimulação do sistema imunitário do hospedeiro.

À administração de *Lactobacillus casei* foi relacionada com a indução de uma resposta antitumoral mediada por células T e a ativação de macrófagos (KATO et al., 1988), assim como a supressão da formação de tumores de cólon em camundongos (KATO et al., 1994) e a inibição de metástases pulmonares (MATSUZAKI; YOKOKURA, 1987; MATSUZAKI et al., 1990).

Desde 1990, o Centro de Biotecnologia da Universidade Federal de Pelotas desenvolve pesquisas sobre a utilização de probióticos elaborados com *Bacillus cereus* var. *toyoi* destinados a animais. A principal vantagem de *Bacillus* sobre as bactérias ácido lácticas, na elaboração de probióticos, reside em sua capacidade de esporular, o que lhes confere maior sobrevivência durante o trânsito estomacal (HOA et al., 2000), e durante a elaboração, transporte e armazenamento das rações (GIL TURNES et al., 1999). Estes probióticos promovem o ganho de peso e o controle de diarreias e reduzem a mortalidade perinatal em suínos (ZANI et al., 1998) e em frangos (RICHTER et al., 1999). Cuevas et al. (2000) comprovaram aumento do ganho de peso e diminuição significativa da mortalidade pela síndrome de ascite em frangos (LÖHNERT et al., 1999) e observaram um aumento no ganho de peso de 10% em terneiros machos suplementados com este probiótico.

Outras cepas de *Bacillus* foram também utilizadas com resultados satisfatórios como probióticos. *B. cereus* CIP 5832 produziu efeitos benéficos em porcas durante o fim da prenhez e a lactação, assim como em leitões em crescimento (ALEXOPOULOS et al., 2001).

A eficácia dos probióticos depende da concentração bacteriana na ração e segundo Roth e Kirchgessner (1988a) comunicaram que o ganho de peso total e a conversão alimentar de leitões melhoraram quando o probiótico foi fornecido nas concentrações de  $5 \times 10^8$  ou  $1 \times 10^9$  esporos viáveis por Kg de ração, mas não em concentrações menores. Eidelsburger et al. (1992) utilizaram o mesmo probiótico na concentração de  $2,5 \times 10^8$  esporos por kg de ração, e o ganho de peso e o consumo de ração caíram 8,1% e 9,0%, respectivamente, enquanto a conversão alimentar aumentou em 5,6%. Kyriakis et al. (1999) relataram que *B. licheniformes* foi mais efetivo no controle de *Escherichia coli* enterotoxigênica em leitões na concentração de  $1 \times 10^7$  esporos por grama de ração que a uma concentração dez vezes menor. Em terneiros, constatou-se também uma relação entre concentração e eficácia, já que o ganho de peso e a eficiência alimentar aumentaram 3,9% e 3,2%, respectivamente, quando a concentração de *B. cereus* var. *toyoi* foi de  $1 \times 10^9$

esporos viáveis por kg, enquanto a concentrações menores o probiótico não teve efeito (ROTH; KIRCHGESSNER, 1988b).

Além dos efeitos mencionados, bactérias do gênero *Bacillus* podem estimular a resposta imune e serem utilizadas como imunomoduladores. *B. firmus* aumentou a resistência contra a infecção experimental por *Listeria monocytogenes* em camundongos (MÁRA et al., 1994). Beliavskaia et al. (2001) demonstraram que *B. subtilis* recombinante evitou a imunossupressão causada pelas vacinas replicantes contra Parvovirus e Cinomose, acelerando a formação de clones de memória e aumentando a resposta imune específica devido à ação do interferon  $\alpha 2$  secretado pela bactéria no interior do lúmen intestinal. Conceição et al. (2002) demonstraram que o probiótico CenBiot estimulou a resposta imune humoral a uma bactéria de *Escherichia coli* em camundongos, e Coppola et al. (2004) comprovaram que este probiótico aumentou significativamente a resposta imune de camundongos a uma vacina replicante de Parvovirus canino.

*Saccharomyces boulardii* é uma levedura não patogênica utilizada na prevenção e tratamento de diversas doenças gastrintestinais (LOURENS-HATTINGH; VILJOEN, 2001), que mantêm suas propriedades probióticas ainda quando administrada junto com antimicrobianos (ROLFE, 2000). Probióticos preparados com essa levedura protegeram camundongos das toxinas de *Clostridium difficile* (CORTHER et al., 1992), e camundongos convencionais e gnotobióticos contra infecções por *Salmonella typhimurium* e *Shigella flexneri* (RODRIGUES et al., 1996). Sua administração aumentou significativamente as concentrações de IgA intestinal em ratos (BUTS et al., 1990), assim como de antitoxina A de *C. difficile* na IgA intestinal (QAMAR et al., 2001). Uma protease extraída da levedura inibiu os efeitos das toxinas A e B de *C. difficile* na mucosa do cólon de humanos (CASTAGLIUOLO et al., 1999).

A administração de probiótico elaborado com a levedura favoreceu a resposta imune celular tipos 1 e 2 estimulando a produção de IFN- $\gamma$  e IL-4 em camundongos gnotobióticos (RODRIGUES et al., 2000). Coppola et al. (2004) comprovaram que *S. boulardii* aumentou a resposta imune humoral de camundongos a uma bactéria de *E. coli*.

### 3.2 Ganho de Peso x Probiótico

O probiótico é constituído de microrganismos vivos capazes de beneficiar o hospedeiro através do equilíbrio da microbiota intestinal. Esses microrganismos devem ser capazes de exercer efeitos benéficos no animal hospedeiro, aumentando seu crescimento ou a sua resistência às doenças. Esses microrganismos devem estar presentes como células viáveis, capazes de sobreviver e metabolizar-se no ambiente intestinal, resistentes ao baixo pH do estômago e ácidos orgânicos, serem estáveis e capazes de permanecer viável por longos períodos sob condições de armazenamento a campo e finalmente não devem ser patógenos ou tóxicos (FULLER, 1989).

Dawson (2000), em trabalho de revisão, descreve que a melhora no ganho de peso em bovinos pela utilização da *Saccharomyces cerevisiae* ocorre em decorrência dos seguintes fatores:

- aumento da taxa inicial da digestão da matéria seca ruminal nas primeiras 24 horas de incubação, estimulada por uma mais rápida atividade ruminal;
- estabilização do pH ruminal pela habilidade da levedura em prevenir acúmulo de ácido láctico no rúmen;
- alteração do metabolismo do nitrogênio ruminal refletindo em menor concentração de amônia ruminal e aumento de concentrações de bactérias ruminais seguido de maior fluxo de nitrogênio bacteriano para o intestino delgado;
- mudança na população microbiana ruminal, com aumento das bactérias anaeróbicas, celulolíticas, proteolíticas e as que utilizam ácido láctico.

### 3.3 Efeito do Estresse no Metabolismo e o Papel do Probiótico

Os bovinos sofrem ação de vários agentes estressores que ativam o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) conseqüentemente estimulando as glândulas adrenais a produzirem e secretar seus hormônios: o cortisol, a adrenalina e a noradrenalina (CHARMANDARI et al., 2005; GUPTA et al., 2007; CURLEY Jr. et al., 2008) que alteram a homeostase do organismo dos bovinos trazendo sérios prejuízos para a saúde e seu bem-estar, além de prejuízos econômicos.

Esses prejuízos são advindos da diminuição redução do apetite e conseqüente queda na ingestão de nutrientes resultando em diminuição do crescimento, redução e/ou perda no ganho de peso e na produção de leite (RUSHEN et al., 1999; MATTERI et al., 2000; WEST, 2003). Além disso, a elevada concentração de cortisol na corrente sanguínea tem efeito imunossupressor (HICKEY et al., 2003; STANGER et al., 2005; GUPTA et al., 2007), o que deixa os bovinos mais suscetíveis a doenças infecciosas (STANGER et al., 2005).

O estado do estresse altera o metabolismo das proteínas. Aumenta a concentração plasmática de glicina e de aminoácidos essenciais com a histidina, leucina, lisina e valina. Além disso, diminui outros aminoácidos não essenciais. Essas alterações no perfil de aminoácidos essenciais e não-essenciais sugerem um aumento na mobilização das proteínas corporais e conseqüente catabolismo de proteínas musculares (NDIBUALONJI et al., 1995).

O cortisol eleva a glicemia durante o estado de estresse. Para tal, desencadeia alterações fisiológicas. Provoca redução da utilização periférica de glicose e aumento da utilização dos ácidos graxos livres e corpos cetônicos (NDIBUALONJI et al., 1995).



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXOPOULOS, C. et al. Field evaluation of a bioregulator containing live *Bacillus cereus* spores on health status and performance of sows and their litters. **Journal of Veterinary Medicine**, Berlin, v. 48, n. 3, p. 137-145, 2001.

ALVES, J. B.; ISEPON, O. J.; BERGAMASHINE, A. F. Efeitos de aditivos alimentares enzimáticos contendo probiótico no desempenho de bovinos Guserá em confinamento. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2004. 1 CD-ROM.

ANDRADE, O. et al. Some effects of repeated handling and the use of a mask on stress responses in Zebu cattle during restraint. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 71, p. 175-181, 2001.

AUDISIO, M. C.; OLIVER, G.; APELLA, M. C. Protective effect of *Enterococcus faecium* J96, a potential probiótico strain, on chicks infected with *Salmonella pullorum*. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 63, n. 10, p. 1333-1337, 2000.

BELIAVSKAIA, V. A. et al. Adjuvant properties of subalin, a recombinant interferon-producing probiotic. **Zhurnal Mikrobiologii Epidemiologii i Immunobiologii**, Moskva, v. 78, n. 6, p. 77-82, 2001.

BUTS, J. P. et al. Stimulation of secretory IgA and secretory component of immunoglobulins in small intestine of rats treated with *Saccharomyces boulardii*. **Digestive Diseases and Sciences**, New York, v. 35, n. 2, p. 251-256, 1990.

CASTAGLIUOLO, I. et al. *Saccharomyces boulardii* protease inhibits *Clostridium difficile* toxin A and B effects in human colonic mucosa. **Infection and Immunity**, Washington, v. 67, n.1, p. 302-307, 1999.

CHARMANDARI, E.; TSIGOS, C.; CHROUSOS, G. Endocrinology of the stress response. **Annual Review of Physiology**, v. 67, p. 259-284, 2005.

CONCEIÇÃO, F. R.; ZANI, J. L.; GIL-TURNES, C. Effect of probiotic CenBiot on the humoral response to an *Escherichia coli* bacterin. **Food and Agricultural Immunology**, Basingstoke, v. 14, n. 2, p. 135-140, 2002.

COPPOLA, M. M.; CONCEIÇÃO, F. R.; GIL-TURNES, C. Effect of *Saccharomyces boulardii* and *Bacillus cereus* var. *toyoi* on the humoral and cellular response of mice to vaccines. **Food and Agricultural Immunology**, Basingstoke, v. 16, 2004. (no prelo).

CORTHIER, G. et al. Effect of oral *Saccharomyces boulardii* treatment on the activity of *Clostridium difficile* toxins in mouse digestive tract. **Toxicon**, Oxford, v. 30, n. 12, p. 1583-1589, 1992.

CROSS, M. L. Microbes versus microbes: immune signals generated by probiotic lactobacilli and their role in protection against microbial pathogens. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, Amsterdam, v. 34, n. 4, p. 245-253, 2002.

CUEVAS, A. C. et al. El efecto del *Bacillus toyoi* sobre el comportamiento productivo en pollos de engorda. **Veterinaria México**, México, v. 31, n. 4, p. 301-308, 2000.

CURLEY JR., K. O. et al. Functional characteristics of the bovine hypothalamic–pituitary–adrenal axis vary with temperament. **Hormones and Behavior**, v. 53, p. 20-27, 2008.

DAWSON, K. A. Some milestones in our understanding of yeast culture supplementation in ruminants and their implications in animal production systems. In: LYONS, T. P.; JACQUES, K. A. (Eds.). PROCEEDINGS OF ALLTECH'S ANNUAL SYMPOSIUM, 16., Nottingham, U.K. **Proceedings...** Nottingham, U.K.: Nottingham University, 2000. p. 473-486.

DE VRESE, M. et al. Probiotics-compensation for lactase insufficiency. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 73, n. 2, p. 421S-429S, 2001.

EIDELSBURGER, U.; KIRCHGESSNER, M.; ROTH, F.X. Zum einfluss von fumarsaure, salzsaure, natriumformiat, Tylosin und Toyocerin auf tagliche zunahmen, futteraufnahme, futterverwertung und verdaulichkeit. 11. Untersuchungen zur nutritive wirksamkeit von organischen sauren in der ferkelaufzucht. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 68, n. 4-5, p. 82-92, 1992.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 66, n. 5, p. 365-378, 1989.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota. Introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 125, n. 6, p. 1401–1412, 1995.

GIL-TURNES, C. et al. Properties of the *Bacillus cereus* strain used in probiotic CenBiot. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 30, n. 1, p. 11-14, 1999.

GUPTA, S.; EARLEY, B.; CROWE, M. A. Pituitary, adrenal, immune and performance responses of mature Holstein x Friesian bulls housed on slatted floors at various space allowances. **Veterinary Journal**, v. 173, p. 594-604, 2007.

HALE, K. D. et al. Cytokine and hormone profiles in mice subjected to handling combined with rectal temperature measurement stress and handling only stress. **Life Sciences**, v. 72, p. 1495-1508, 2003.

HAVENAAR, R.; BRINK, B. T.; HUIS INT'VELD, J. H. J. Selection of strains for probiotic use. In: FULLER, R. **Probiotics: the scientific basis**. London: Chapman e Hall, 1992. p. 209-224.

HAVENAAR, R.; HUIS IN'T VELD, M. J. H. Probiotics: a general view. In: WOOD, B. J. B. **Lactic acid bacteria in health and disease 1**. Amsterdam: Elsevier Applied Science, 1992. p. 151-170.

HICKEY, M. C.; DRENNAN, M.; EARLEY, B. The effect of abrupt weaning of suckler calves on the plasma concentrations of cortisol, catecholamines, leukocytes, acute-phase proteins and in vitro interferon-gamma production. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 2847-2855, 2003.

HOA, N. T. et al. Characterization of *Bacillus* species used for oral bacteriotherapy and bacterioprophyllaxis of gastrointestinal disorders. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, n. 12, p. 5241-5247, 2000.

HOLZAPFEL, W. H.; SCHILLINGER, U. Introduction to pre and probiotics. **Food Research International**, Amsterdam, v. 35, n. 2-3, p. 109-116, 2002.

JIN, L. Z.; MARQUARDT, R. R.; BAIDOO, S. K. Inhibition of enterotoxigenic *Escherichia coli* K88, K99 and 987P by the *Lactobacillus* isolates from porcine intestine. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Sussex, v. 80, n. 5, p. 619-624, 2000.

KATO, I.; ENDO, K.; YOKOKURA, T. Effects of oral administration of *Lactobacillus casei* on antitumor responses induced by tumor resection in mice. **International Journal of Immunopharmacology**, Oxford, v. 16, n. 1, p. 29-36, 1994.

KATO, I.; YOKOKURA, T.; MUTAI, M. Correlation between increase in Ia-bearing macrophages and induction of T cell dependent antitumor activity by *Lactobacillus casei* in mice. **Cancer Immunology Immunotherapy**, New York, v. 26, n. 3, p. 215-221, 1988.

KOZASA, M. Toyocerin (*Bacillus toyoi*) as growth promotor for animal feeding. **Microbiology Aliments Nutrition**, n. 4, p. 121-135, 1986.

KYRIAKIS, S. C. et al. The effect of probiotic LSP 122 on the control of post-weaning diarrhoea syndrome of piglets. **Research in Veterinary Science**, Oxford, v. 67, n. 3, p. 223-228, 1999.

LENSINK, B. J. et al. The impact of gentle contacts on case of handling, welfare, and growth of calves and on quality of veal meat. **Journal of Animal Science**, v. 78, p. 1219-1226, 2000.

LILLY, D. M.; STILLWEL, R. H. Probiotics. Growth promoting factors produced by micro-organisms. **Science**, Washington, v. 147, n. 3659, p. 747-748, 1965.

LÖHNERT, H. J.; OCHRIMENKO, W. I.; BARGHOLZ, J. Influence of the feed additive "Toyocerin" on the rearing result of calves. In: SYMPOSIUM VITAMINS AND ADDITIVES IN NUTRITION OF MAN AND ANIMAL, 7., 1999, Jena. **Abstracts...** Jena, Thuringia: Institut für Ernährungswissenschaften- Universität Jena, 1999. p. 52.

LOURENS-HATTINGH, A.; VILJOEN, B. C. Growth and survival of a probiotic yeast in dairy products. **Food Research International**, Amsterdam, v. 34, n. 9, p. 791-796, 2001.

MÁRA, M. et al. Resistance to infection and activation of monocyte-macrophage system caused by *Bacillus firmus* and its fractions. **Folia Microbiologica**, Praga, v. 39, n. 2, p. 147-151, 1994.

MARTIN, A. S.; NISBET, D. J. Effect of direct-feed microbial on rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, n. 6, p. 1736-1744, June 1992.

MATSUZAKI, T.; SHIMIZU, Y.; YOKOKURA, T. Augmentation of antimetastatic effect on Lewis lung carcinoma (3LL) in C57BL/ 6 mice by priming with *Lactobacillus casei*. **Medical Microbiology and Immunology**, New York, v. 179, n. 3, p. 161-168, 1990.

MATSUZAKI, T.; YOKOKURA, T. Inhibition of tumor metastasis of Lewis lung carcinoma in C57BL/6 mice by intrapleural administration of *Lactobacillus casei*. **Cancer Immunology Immunotherapy**, New York, v. 25, n. 2, p. 100-104, 1987.

MATTERI, R. L.; CARROLL, J. A.; DYER, C. J. Neuroendocrine responses to stress. In: MORBERG, G. P.; MENCH, J. A. **The biology of animals stress: basic principles and implications for animal welfare**. New York: CABI Publishing, 2000. p. 43-76.

MEURER, F. et al. *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico para alevinos de tilápia-do-nilo submetidos a desafio sanitário. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 1219-1224, 2007.

NAIDU, A. S.; BIDLACK, W. R.; CLEMENS, R. A. Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 38, n. 1, p. 13-126, 1999.

NDIBUALONJI, B. B. et al. Response of milk yield, plasma cortisol, amino acids, urea and glucosa to a single low-dose administration of adrenocorticotrophic hormona in lactating cows. **Veterinary Research**, v. 26, p. 32-42, 1995.

NOCKELS, C. F., ODDE, K. G.; CRAIG, A. M. Vitamin E supplementation and stress affect tissue  $\alpha$ -tocopheral content of beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 74, p. 672-677, 1996.

OGAWA, M. et al. Inhibition of in vitro growth of Shiga toxinproducing *Escherichia coli* O157:H7 by probiotic *Lactobacillus* strains due to production of lactic acid. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 68, n. 1-2, p. 135-140, 2001.

OUWEHAND, A. C. et al. Probiotics: mechanisms and established effects. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v. 9, n. 1, p. 43- 52, 1999.

OYETAYO, V. O.; OYETAYO, F. L. Potencial of probiotics as biotherapeutic agents targeting the innate immune system. **African Journal of Biotechnology**, v. 4, p. 123-127, 2005.

PALMA, B. D., SUCHECKI, D.; TUFIK, S. Differential effects of acute cold and footshock on the sleep of rats. **Brain Research**, v. 861, p. 97-104, 2000.

PARDO, P. E., REIS, L. S. L. S. Nutrientes e nutraceuticos. In: ANDRADE, S. F. (Org.). **Terapêutica Veterinária**. 3.ed. São Paulo: Editora Roca, 2008. p. 802-823,

PARKER, R. B. Probiotics, the other half of the antibiotic story. **Animal Nutrition Health**, n. 29, p. 4-8, 1974.

QAMAR, A. et al. *Saccharomyces boulardii* stimulates intestinal immunoglobulin A immune response to *Clostridium difficile* toxin A in mice. **Infection and Immunity**, Washington, v. 69, n. 4, p. 3762-2765, 2001.

RASTEIRO, V. S. et al. Adição de probiótico na mistura mineral eleva o ganho de peso de bovinos no período da seca. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v. 15, p. 83-87, 2007.

RICHTER, G.; KÜHNE, I.; KÖHLER, H. Test of Toyocerin in broiler fattening. In: SYMPOSIUM VITAMINS AND ADDITIVES IN NUTRITION OF MAN AND ANIMAL, 7., 1999, Jena. **Abstracts...** Jena, Thuringia: Institut für Ernährungswissenschaften - Universität Jena, 1999. p. 52-53.

RODRIGUES, A. C. et al. Effect of *Saccharomyces boulardii* against experimental oral infection with *Salmonella typhimurium* and *Shigella flexneri* in conventional and gnotobiotic mice. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 81, n. 3, p. 251-256, 1996.

RODRIGUES, A. C. P. et al. Q. *Saccharomyces boulardii* induces the production of type 1 and type 2 cytokines in gnotobiotic mice. In : THE PROSPECTS OF PROBIOTICS AND THERAPY OF DISEASES OF YOUNG, 2000, High Tatras. **Proceedings...** High Tatras, Slovak Republic: Department of Gnotobiology and

RODRIGUEZ, J. M. Antimicrobial spectrum, structure, properties and mode of action of nisin, a bacteriocin produced by *Lactococcus lactis*. **Food Science and Technology International**, New York, v. 2, n. 2, p. 61-68, 1996.

ROLFE, R. D. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 130, n. 2, p. 396S-402S, 2000.

ROTH, F. X.; KIRCHGESSNER, M. Nutritive wirksamkeit von toyocerin. 1 Ferkelaufzucht. **Landwirtschaftliche-Forschung**, Frankfurt, v. 41, n. 1-2, p. 58-62, 1988a.

ROTH, F. X.; KIRCHGESSNER, M. Nutritive wirksamkeit von toyocerin. 1 Ferkelaufzucht. **Landwirtschaftliche-Forschung**, Frankfurt, v. 41, n. 1-2, p. 58-62, 1988a.

ROTH, F. X.; KIRCHGESSNER, M. Nutritive wirksamkeit von toyocerin. 2 Kalbermast. **Landwirtschaftliche-Forschung**, Frankfurt, v. 41, n. 1-2, p. 63-70, 1988b.

RUSHEN, J. et al. Opiod peptides and behavioral and physiological responses of dairy cows to social isolation in unfamiliar surroundings. **Journal of Animal Science**, v. 77, p. 2918-2924, 1999.

SAARELA, M. et al. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v. 84, n. 3, p. 197-215, 2000.

SALMINEN, S.; OUWEHAND, A. C.; ISOLAURI, E. Clinical applications of probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v. 8, n. 5-6, p. 563-572, 1998.

SCHREZENMEIR, J.; DE VRESE, M. Probiotics, prebiotics and symbiotics-approaching a definition. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 73, n. 2, p. 361S-364S, 2001.

STANGER, K. J. et al. The effect os transportation on the immune status of *Bos indicus* steers. **Journal of Animal Science**, v. 83, p. 2632-2636, 2005.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. New York: Elsever, 1994.

VILLANI, F. et al. Antilisterial activity of thermophilin 347, a bacteriocin produced by *Streptococcus thermophilus*. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 25, n. 2, p. 179-190, 1995.

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

WEST, J. W. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. **Journal of Dairy Cattle**, v. 86, p. 2131-2144, 2003.

WU, J. S. The microbiologist's function in developing action-specific microorganisms. In: LYONS, T. P. (Ed.). **Biotechnology in the feed industry**. Nicholasville: Alltech Technical publications, 1997. p. 181-198.

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

ZANI, J. L. et al. Effect of probiotic CenBiot on the control of diarrhoea and feed efficiency in pigs. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 84, n. 1, p. 68-71, 1998.



#### **4 EXPERIMENTO: EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM PROBIÓTICO NO CORTISOL SÉRICO E NO GANHO DE PESO DE BOVINOS**

**Artigo a ser enviado para publicação na revista:**

**The Veterinary Record – The British Veterinary Association, UK**

L.A.C. PENHA, P.E. PARDO, S.N. KRONKA, E. OBA, H. BREMER NETO, L.S.L.S.

REIS

L.A.C. Penha, Mestranda do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal - UNOESTE/Presidente Prudente.

P.E. Pardo, Msc, PhD, Department of Veterinary Clinic, Universidade do Oeste Paulista, UNOESTE, Presidente Prudente-SP, Brazil, CEP 19067-175.

S.N. Kronka, Msc, PhD, Department of Veterinary Clinic, Universidade do Oeste Paulista, UNOESTE, Presidente Prudente-SP, Brazil, CEP 19067-175.

E. Oba, Msc, DVM, PhD, Department of Animal Reproduction and Veterinary Radiology, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Botucatu-SP, Brazil, CEP 18618-000.

H. Bremer Neto, Msc, PhD, Department of Biophysics, Universidade do Oeste Paulista, UNOESTE, Presidente Prudente-SP, Brazil, CEP 19067-175.

L.S.L.S Reis, Msc, PhD, Department of Veterinary Clinic, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Botucatu-SP, Brazil, CEP 18608-000.

Autor correspondente: L.A.C. Penha, E-mail: [e-mail: luciana@unoeste.br](mailto:luciana@unoeste.br)

## SUMMARY

This study evaluated the effect of probiotic supplementation on both weight gain and serum cortisol concentration in cattle. Forty Nelore calves around 18 months old were randomly assigned to one of two groups (N=20 calves each) which received only mineral mixture (GC) or mineral mixture supplemented with 4.0 g probiotic Proenzime® per animal per day (GP). The cattle were subjected to handling stress by the usual weighing practices in the corral as well as blood sampling on days 0, 75 and 150. Live weight gain increased in GP (8.20 Kg; 17.07%) from day 0 to 75 ( $P<0.05$ ); no weight differences were detected from day 76 to 150 ( $P>0.05$ ). Cortisol concentration increased in GC cattle on day 150 ( $P<0.05$ ). In GP cattle serum cortisol was constant over the experiment ( $P>0.05$ ). On day 150, cortisol concentration were higher in GC as compared to GP. No correlations were detected between live weight gain and serum cortisol on days 75 ( $r = -0.005^{ns}$ ) and 150 ( $r = -0.007^{ns}$ ). These results indicate that: probiotic administration enhances weight gain in cattle for 75 days but not longer; and day 150 probiotic supplementation can lower cortisol concentration in cattle that are frequently stressed by handling and weighing practices in the corral.

**Keywords:** cattle, cortisol, probiotic, stress, weight gain.

## INTRODUÇÃO

Na pecuária moderna os bovinos são constantemente expostos aos agentes estressores físicos, psicológicos e metabólicos, como o manejo freqüente no curral (ANDRADE et al., 2001; HICKEY et al., 2003) para realizar vacinações (NOCKELS et al., 1996), marcação dos animais (RUSHEN et al., 1999; ANDRADE et al., 2001), castração (ANDRADE et al., 2001), contenção (PALMA et al., 2000; HALE et al., 2003), presença de pessoas estranhas (LENSINK et al., 2000; HICKEY et al., 2003), inseminação artificial, pesagem, confinamento (NDIBUALONJI et al., 1995), dentre outros.

Assim, estes animais sofrem ação de vários agentes estressores que ativam o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) conseqüentemente estimulando as glândulas adrenais a produzirem e secretar seus hormônios: o cortisol, a adrenalina e a noradrenalina (CHARMANDARI et al., 2005; GUPTA et al., 2007; CURLEY Jr. et al., 2008) que alteram a homeostase do organismo dos bovinos, trazendo sérios prejuízos para a saúde e seu bem-estar, além de prejuízos econômicos. Estes prejuízos são advindos da diminuição e redução do apetite e conseqüente queda na ingestão de nutrientes, resultando em diminuição do crescimento, redução e/ou perda no ganho de peso e na produção de leite (RUSHEN et al., 1999; MATTERI et al., 2000; WEST, 2003). Além disso, a elevada concentração de cortisol na corrente sanguínea tem efeito imunossupressor (HICKEY et al., 2003; STANGER et al., 2005; GUPTA et al., 2007), o que deixa os bovinos mais susceptíveis a doenças infecciosas (STANGER et al., 2005).

O cortisol é um hormônio produzido no córtex adrenal, e sua função está na regulação do catabolismo de carboidratos e proteínas (KOOPMANS et al., 2005), e sua quantificação no soro sanguíneo tem sido bastante utilizado para verificar o nível de estresse que o animal foi submetido durante o seu sistema de criação ou em situações que antecedem o abate dos mesmos (MARIA et al., 2004). Devido as suas características lipossolúveis, o cortisol difundiu-se por todo o corpo e pode ser mensurado a partir de amostras de sangue, saliva e fezes. Os métodos mais empregados para mensuração são radioimunoensaio (RIA) (BERNE et al., 2000) e o ensaio imunoenzimático (EIA) (CHACÓN PÉREZ et al., 2004).

Os probióticos são preparações de cultura de microrganismos vivos, extratos e enzimas, que não são tóxicos e não deixam resíduos tóxicos na carcaça que são destinadas para o consumo dos seres humanos (OYETAYO; OYETAYO, 2005). Estes compostos trazem vários efeitos benéficos na produção de bovinos, como: promovem o crescimento e a engorda (RASTEIRO et al., 2007; FERREIRA et al., 2009), atuam como imunostimulantes, melhoram a eficiência e a conversão alimentar e minimizam o estresse. Além disso, os probióticos vem substituindo a utilização de antibióticos e ionóforos, que são adicionados às rações visando e promovendo o crescimento e controle de doenças (MEURER et al., 2007).

Na União Européia , desde janeiro de 2006 está proibida a utilização de antibióticos como promotores de crescimento em animais de produção (MISSOTTEN et al., 2007), os estudos sobre utilização de bactérias se intensificaram revelando que sua administração aos suínos constitui uma forma ecológica de se obter resultados semelhantes aos produzidos pela administração de antibióticos (DAVIS et al., 2007). Portanto, objetivou-se a avaliar o efeito do probiótico Proenzime<sup>®</sup> adicionado à mistura mineral no ganho de peso vivo e na concentração sérica de cortisol em bovinos.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Localização e Período Experimental

O experimento foi desenvolvido durante os meses de fevereiro a junho de 2007 no município de Presidente Prudente, localizada a sudoeste do Estado de São Paulo, Brasil (latitude 22°, 07' 04" e longitude 51°, 22' 57") com precipitação anual média de aproximadamente de 1.244 mm, umidade relativa do ar de aproximadamente 65,5% (chuvas em todas as estações do ano), temperatura média de 23,1°C, massas de ar tropicais e polares e apresenta uma estação de inverno fria e seca com altitude de 472 metros.

Utilizaram-se 40 machos inteiros da raça Nelore, com aproximadamente 18 meses de idade e foram alimentados com *Brachiaria brizantha* em sistema de pastejo extensivo. Estes bovinos foram distribuídos randomicamente em dois grupos experimentais (20 animais/grupo): o grupo controle (GC) recebeu mistura mineral sem probiótico Proenzime<sup>®</sup> e o outro grupo denominado GP recebeu mistura mineral contendo probiótico Proenzime<sup>®</sup> (consumo diário de probiótico foi de 4,0 g/animal/dia) em 80g de mistura mineral, segundo Arenas et al. (2009). Nos primeiros 30 dias os bovinos permaneceram em condições não estressantes para a adaptação ao novo suplemento mineral adicionado com probiótico e à nova pastagem.

O período experimental foi de 150 dias e os animais foram pesados em balança digital, nos dias zero, 75 e 150 no período da manhã, sem jejum prévio e antes de beberem água. Houve rotação de piquetes a cada 30 dias. Os animais foram avaliados por médico veterinário e desvermifugados com Ripercol 6mg/kg/animal.

## Probiótico

O probiótico utilizado foi o Proenzime<sup>®</sup> produzido por EMBRAUPEC- Empresa Brasileira de Aumento de Produtividade Pecuária, Paranaíba, PR, Brasil. Este probiótico é composto por *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus faecium*, *Bifidobacterium thermophilum*, *Bifidobacterium longum*, amilase, celulase, protease, lipase, pectinase e zinco.

## Mistura mineral

A mistura mineral utilizada foi o Fosbov 20<sup>®</sup> produzida por Tortuga Companhia Zootécnica Agrária composta por (para kg de mistura mineral): 120 g de cálcio, 75 mg de iodo, 88 g de fósforo, 1.300 mg de manganês, 126 g de sódio, 15 mg de selênio, 12 g de enxofre, 3.630 mg de zinco, 55.5 mg de cobalto, 880 mg de flúor (máx.), 1.530 mg de cobre, 1.800 mg de ferro.

Ambas as misturas minerais foram fornecidos de forma *ad libitum* aos bovinos em cocho de madeira coberto (13cm lineares por animal) e localizados aproximadamente à 50 metros do bebedouro.

## Piquetes

Os dois piquetes utilizados pelos grupos de bovinos eram semelhantes na topografia e na composição botânica, sendo formados por *Brachiaria brizantha*. No dia 0, colheram-se amostras das forrageiras dos piquetes cortadas à altura de pastejo, conservadas sob refrigeração a -5°C para posterior análise bromatológica, realizada no laboratório de análise de solos da Unoeste/SP.

## **Os agentes estressores impostos aos bovinos**

Os agentes estressores impostos aos bovinos foram os que estão presentes durante o manejo dos animais: a condução do pasto para o curral, o manejo no curral, a pesagem, a presença e os gritos das pessoas.

## **Colheita de sangue**

As amostras de sangue dos bovinos foram colhidas nos dias zero, 75 e 150, no período da manhã no curral e sob contenção no tronco. O volume de 10 ml de sangue de cada animal foram colhidos por meio da punção da veia jugular em tubos à vácuo sem anticoagulante. As amostras de sangue foram centrifugadas a 2.500 rpm por 10 minutos. O soro foi acondicionado em tubos de plásticos (1,5 ml) e armazenado em freezer a -20°C para posterior determinação da concentração sérica de cortisol por meio de kit comercial de radioimuniensaio em fase sólida (DPC-Diagnostic Products Corporation, USA) e analisada em contador Auto-Gamma Count Cobra II (Packard Bio Sciences Company, USA), na Unesp de Botucatu/SP.

## **Análise estatística**

No estudo estatístico do ganho de peso vivo utilizou-se a análise de covariância em função do peso vivo inicial. Na concentração sérica de cortisol empregou-se à análise de variância pelo teste F e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. Foi determinado o coeficiente de correlação (r) entre as concentrações séricas de cortisol e ganho de peso vivo dos dados nos diferentes

grupos e dias de colheita de sangue. Em todas as análises estatísticas foram estabelecidas a significância dos dados a 5%.

## RESULTADOS

Houve aumento significativo ( $P < 0,05$ ) no ganho de peso vivo dos animais pertencentes ao grupo GP no período de 0 a 75 dias. No período de 76 a 150 dias o ganho de peso vivo não diferiu significativamente ( $P > 0,05$ ) entre os grupos experimentais (Tabela 1).

A concentração sérica de cortisol do grupo GP foi menor ( $P < 0,05$ ) em relação ao grupo GC no dia 150 (Fig.1). Ainda, o cortisol sérico do grupo GP não diferiu significativamente ao longo do período experimental ( $P > 0,05$ ), enquanto que no grupo GC o cortisol sérico elevou significativamente ( $P < 0,05$ ) no dia 150 (Fig.2).

Não houve correlação significativa ( $P > 0,05$ ) entre ganho de peso vivo e o cortisol sérico nos dias de observação 75 ( $r = -0,005^{ns}$ ) e 150 ( $r = -0,007^{ns}$ ).

Os resultados obtidos das análises bromatológicas das amostras das forrageiras colhidas dos pastos no dia zero foram semelhantes nos dois pastos.

## DISCUSSÃO

A rotação de piquetes a cada 30 dias garantiu que os animais de todos os grupos tivessem as mesmas condições de pastejo durante o experimento. A igualdade da qualidade de pastejo ficou comprovada pela semelhança dos resultados já apresentados das análises bromatológicas da *Brachiaria brizantha* colhidas dos piquetes no dia zero. Ainda mais, a igualdade entre o peso vivo médio dos bovinos no dia zero de ambos os grupos (Tabela 1), além disso, as concentrações séricas de cortisol dos bovinos no dia zero não diferiram e estavam dentro da normalidade (Fig. 1). De fato, Aragón et al. (2001), Vasquez e Herrera



(2003) citaram que o valor médio basal da concentração sérica de cortisol é de 3,29 µg/dl para bovinos de raça zebuína. Reis et al. (2006) relataram que a concentração sérica basal média de cortisol em bovinos da raça Nelore foi de 3,68 µg/dL. Assim, garantem que os resultados obtidos foram exclusivamente em função dos tratamentos.

Os animais do grupo que receberam o probiótico (Pronzime<sup>®</sup>) apresentaram aumento significativo ( $P < 0,05$ ) no ganho de peso vivo (8,20 Kg; 17,07%) no período de zero a 75 dias de suplementação em relação aos do grupo GC que não receberam o probiótico (Tabela 1). Estes resultados corroboram com Rasteiro et al. (2007) os quais observaram aumento no ganho de peso vivo dos bovinos na ordem de 19,45%.

No segundo período de avaliação do ganho de peso vivo, de 76 a 150 dias, não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre os grupos tratados (GP) ou não com probiótico (GC) (Tabela 1). Este fato ocorreu provavelmente devido a estabilização observada no ganho de peso vivo em ambos os grupos experimentais neste período. Estes resultados corroboram com Ávila et al. (2000) que estudando um outro probiótico também observaram que a administração de probiótico foi mais eficiente para o ganho de peso de bezerros por um período de até 30 dias. Estes resultados experimentais indicam que a administração de probióticos aos bovinos devem ser intercalados (ZAMPIERI et al., 2009).

A Fig. 1 mostra que o probiótico (Proenzime<sup>®</sup>) reduziu o estresse dos bovinos no dia 150, após a exposição aos agentes estressores, repetidos manejos no curral e pesagem. Nota-se nesta figura que a concentração sérica de cortisol dos animais que receberam o probiótico, grupo GP, é significativamente menor ( $P < 0,05$ ), em 22,8%, do que na concentração do grupo controle (GC), após a exposição aos agentes estressores. Ocorreu aumento significativo de cortisol sérico no dia 150, nos animais do GC, devido ao quadro de diarreia apresentado em 50% desses animais, conforme Pardo e Reis (2008), Wadt et al. (2009) e De Cesare et al. (2009).

Entre os dias 0 e 75, após os bovinos terem sido manejados no curral e pesados por duas vezes consecutivas, a concentração sérica de cortisol não se elevou significativamente, independente da administração ou não de probiótico ( $P < 0,05$ ; Fig. 2). Durante esse período os animais não estavam estressados, visto que a concentração sérica de cortisol de ambos os grupos experimentais estavam dentro dos valores basais conforme descrito por Aragón et al. (2001) e Vasquez e

Herrera (2003). Portanto, o manejo dos bovinos no curral e pesagem por duas vezes consecutivas não interfere no seu bem-estar. Reis et al. (2006) também relataram que a vacinação por uma vez e o manejo no curral por duas vezes, entre os dias 0 e 15, também não estressou os bovinos suplementados ou não com selênio.

No período compreendido entre 76 a 150, no grupo GC, o cortisol sérico aumentou ao longo do período experimental ( $P < 0,05$ ; Fig.2). Desta forma, o manejo freqüente dos bovinos no curral e a pesagem atuou como agente estressor para os animais. Estes resultados são semelhantes aos de Cook et al. (2000), Lensink et al. (2000), Andrade et al. (2001), Reis et al. (2006) que também consideraram o manejo no curral como agente estressor para os bovinos. Enquanto que no grupo GP este fato não ocorreu, pois a concentração sérica de cortisol se manteve estável (Fig.2) devido a administração do probiótico, confirmando assim, que o probiótico reduziu o estresse dos bovinos, no dia 150.

No entanto, neste experimento, o estresse gerado nos animais não interferiu no ganho de peso vivo, pois este e a concentração sérica de cortisol não se correlacionaram nos dias 75 ( $r = -0,005^{ns}$ ) e 150 ( $r = -0,007^{ns}$ ). Assim, o estresse gerado nos animais devido ao manejo dos bovinos no curral e pesagem não influenciaram o bem-estar dos mesmos. Esta resposta neuro-endócrina com a elevação da concentração sérica de cortisol que ocorreu frente aos agentes estressores que foram impostos aos bovinos foi uma resposta fisiológica a esta nova condição.

## **CONCLUSÃO**

Os resultados obtidos permitiram concluir que a suplementação com probiótico elevou o ganho de peso por 75 dias, que durante todo o período experimental a dosagem sérica de cortisol manteve-se próxima da concentração basal no GP (grupo probiótico) e que no dia 150, o GC (grupo controle), apresentou aumento significativo do cortisol sérico.

## REFERÊNCIAS

- ANDRADE, O., ORIHUELA, A., SOLANO, J., GALINA, C.S. (2001). Some effects of repeated handling and the use of a mask on stress responses in Zebu cattle during restraint. *Applied Animal Behaviour Science* 71, 175-181.
- ARAGÓN, V.E.F., GRAÇA, D.S., NORTE, A.L., SANTIAGO, G.S. & PAULA, O.J. (2001). Suplementação com cromo e desempenho reprodutivo de vacas primíparas mantidas a pasto. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 53, 624-628.
- ARENAS, S.E., REIS, L.S.L.S., FRAZATTI-GALLINA, N.M., FUJIMURA, S.H., BREMER-NETO, H. & PARDO, P.E. (2009) Probiotic increase the antirabies humoral immune response in bovine. *Arch. Zootec.* 58, 1-4.
- ÁVILA, F.A., PAULILLO, A.C., SCHOCKEN-ITURRINO, R.P., LUCAS, F.A., ORGAZ, A. & QUINTANA, J.L. (2000). Avaliação da eficiência de um probiótico no controle de diarreia e no ganho de peso de bezerros. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 52.
- BERNE, R.M., LEVY, M.N., KOEPPEN, B.M., STANTON, B.A. (2000) Fisiologia. In: BERNE, R.M., LEVY, M.N., KOEPPEN, B.M., STANTON, B.A. (Eds.) *Hipotálamo e hipófise*. USA, 2000. p.822.
- CHACÓN PÉREZ, G., GARCÍA-BELENGUER LAITA, S., ILLERA DEL PORTAL, J.C., PALACIO LIESA, J. (2004) Validation of an EIA technique for the determination of salivary cortisol in cattle. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2 (1), 45-51.
- CHARMANDARI, E., TSIGOS, C. & CHROUSOS, G. (2005). Endocrinology of the stress response. *Annual Review of Physiology* 67, 259-284.
- COOK, C.J. MELLOR, D.J., HARRIS, P.J., INGRAM, J.R & MATTHEWS, L.R. Hands-on and hands-off measurement of stress. In: MORBERG, G.P. & MENCH, J.A. *The biology of animals stress: basic principles and implications for animal welfare*. New York: CABI Publishing, 2000. p.123-146.
- CURLEY JR., K.O., NEUENDORFF, D.A., LEWIS, A.W., CLEERE, J.J., WELSH JR., T.H., & RANDEL, R.D. (2008). Functional characteristics of the bovine hypothalamic–pituitary–adrenal axis vary with temperament. *Hormones and Behavior* 53, 20-27.
- DAVIS, M.E. , BROWN, D.C., BAKER, A., BOS, K., DIRAIN, M.S., HALBROOK, E., JOHNSON, Z.B., MAXWELL, C. & REHBERGER, T. (2007). Effect of direct-fed microbial and antibiotic supplementation on gastrointestinal microflora, mucin histochemical characterization, and immune populations of weanling pigs. *Livestock Science*, v.108, n.1-3, p. 249-253.

- DE CESARE, A., SANCHES, O.C., GASPARIN, G.H. (2009) O efeito do uso de probiótico no controle da diarreia em bezerros neonatos, bem como sua influência no ganho de peso. *Colloquium Agrariae*, v.5, n. Especial, p.214.
- FERREIRA, A.L., PARDO, P.E., FRAZATTI-GALLINA., FUCHES, R.M.M., VENTINI, D.C., KRONKA, S.N., ARENAS, S.E., REIS, L.S.L., (2009). Evaluation of at-rabies vaccination and supplementation with probiotic in the humoral immune response in cattle. *SEMINA: Ciências Agrárias*, Londrina, v.30, n.3, p.655-660, julho/set.
- GUPTA, S., EARLEY, B. & CROWE, M. A. (2007). Pituitary, adrenal, immune and performance responses of mature Holstein x Friesian bulls housed on slatted floors at various space allowances. *Veterinary Journal*, v.173, p.594-604.
- HALE, K.D., WEIGENT, D.A., GAUTHIER, D.K., HIRAMOTO, R.N. & GHANTA, V.K. (2003). Cytokine and hormone profiles in mice subjected to handling combined with rectal temperature measurement stress and handling only stress. *Life Sciences* 72, 1495-1508.
- HICKEY, M.C., DRENNAN, M. & EARLEY, B. (2003). The effect of abrupt weaning of suckler calves on the plasma concentrations of cortisol, catecholamines, leukocytes, acute-phase proteins and in vitro interferon-gamma production. *Journal of Animal Science* 81, 2847-2855.
- KOOPMANS, S.J., VAN DER MEULEN J., DEKKER, R. CORBIJN H., MROZ, Z. (2005) Diurnal rhythms in plasma cortisol, insulin, glucose, lactate and urea in pigs fed identical, meals at 12-hourly intervals. *Physiol. Behav.*, 84: 497-503.
- LENSINK, B.J., FERNANDEZ, X., BOIVIN, X., PRADEL, P., NEINDRE, P.L., VEISSIER, I. (2000). The impact of gentle contacts on case of handling, welfare, and growth of calves and on quality of veal meat. *Journal of Animal Science* 78, 1219-1226.
- MARIA, G.A., VILLARROEL, M., CHACON, G., GEBRESENBET, G. (2004) Scoring system for evaluating the stress to cattle of commercial loading and unloading. *Vet. Rec.*, 26, 818-821.
- MATTERI, R.L.; CARROLL, J.A. & DYER, C.J. Neuroendocrine responses to stress. In: MORBERG, G.P. & MENCH, J.A. *The biology of animals stress: basic principles and implications for animal welfare*. New York: CABI Publishing, 2000. p.43-76.
- MEURER, F., HAYASHI, C., COSTA, M. M., FRECCIA, A. & MAUERWERK, T. (2007). *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico para alevinos de tilápia-do-nylo submetidos a desafio sanitário. *Revista Brasileira de Zootecnia* 36, 1219-1224.
- MISSOTTEN, J. A. M., MICHIELS, J., GORIS, J., HERMAN, L., HEYNDRIKX, M., DE SMET, S. & DIERICK, N.A. (2007). Screening of two probiotic products for use in fermented liquid feed. *Livestock Science*, v. 108, n.1-3, p. 232-235.
- NDIBUALONJI, B.B., DEHARENG, D., VAN EENAEME, C. & GODEAU, J.M. (1995). Response of milk yield, plasma cortisol, amino acids, urea and glucosa to a single

- low-dose administration of adrenocorticotrophic hormona in lactating cows. *Veterinary Research* 26, 32-42.
- NOCKELS, C.F., ODDE, K.G. & CRAIG, A.M. (1996). Vitamin E supplementation and stress affect tissue  $\alpha$ -tocopherol content of beef heifers. *Journal of Animal Science* 74, 672-677.
- OYETAYO, V.O. & OYETAYO, F.L. (2005). Potencial of probiotics as biotherapeutic agents targeting the innate immune system. *African Journal of Biotechnology* 4, 123-127.
- PALMA, B.D., SUCHECKI, D. & TUFIK, S. (2000). Differential effects of acute cold and footshock on the sleep of rats. *Brain Research* 861, 97-104.
- PARDO, P.E., REIS, L.S.L.S. (2008). Nutrientes e nutracêuticos. In: Silvia Franco Andrade. (Org.). *Terapêutica Veterinária*. 3ed. São Paulo: Editora Roca, v., p. 802-823.
- RASTEIRO, V.S., BREMER-NETO, H., ARENAS, S.E., REIS, L.S.L.S., FRAZATTI-GALLINA, N.M., OBA, E. & PARDO P.E. (2007). Adição de probiótico na mistura mineral eleva o ganho de peso de bovinos no período da seca. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal* 15, 83-87.
- REIS, L.S.L.S., PARDO, P.E., OBA, E., KRONKA, S.N. & FRAZATTI-GALLINA, N.M. (2006). *Matricaria chamomilla* CH12 decreases handling stress in nelore calves. *Journal of Veterinary Science* 7, 189-192.
- RUSHEN, J., BOISSY, A., TERLOUW, E.M. & DE PASSILLÉ, A.M. (1999). Opioid peptides and behavioral and physiological responses of dairy cows to social isolation in unfamiliar surroundings. *Journal of Animal Science* 77, 2918-2924.
- STANGER, K.J., KETHEESAN, N., PARKER, A.J., COLEMAN, C.J., LAZZARONI, S.M. & FITZPATRICK, L.A. (2005). The effect of transportation on the immune status of *Bos indicus* steers. *Journal of Animal Science* 83, 2632-2636.
- VÁSQUEZ, E.F.A. & HERRERA, A.P.N. (2003). Concentração plasmática de cortisol, uréia, cálcio e fósforo em vacas de corte mantidas a pasto suplementadas com levedura de cromo durante a estação de monta. *Ciência Rural* 33, 743-747.
- WADT, G., PEREIRA, J.R.A., SANTOS, T.T., SUIDA, D., RIEPING, W. (2009). Avaliação do uso de levedura viva (*Saccharomyces cerevisiae*) na ocorrência de diarreia e pneumonia em bezerras da raça holandesa. In: I CONGRESSO INTERNACIONAL SOBRE USO DA LEVEDURA NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 2009, Campinas. Anais... Campinas: CBNA, 2009. p.187-188.
- WEST, J.W. (2003). Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *Journal of Dairy Cattle* 86, 2131-2144.
- ZAMPIERI, R.A.C., IBRAHIM, D.B., PARDO, P.E., GIUFRIDA, R., MACEDO, S.R.C., PAIVA, L.O., OLIVEIRA, L.A., REIS, L.S.C.S. (2009). Efeito do probiótico Proenzime<sup>®</sup> sobre o ganho de peso em bovinos da raça Nelore. *Colloquium Agrarie*, v.5, n. especial. p.200.

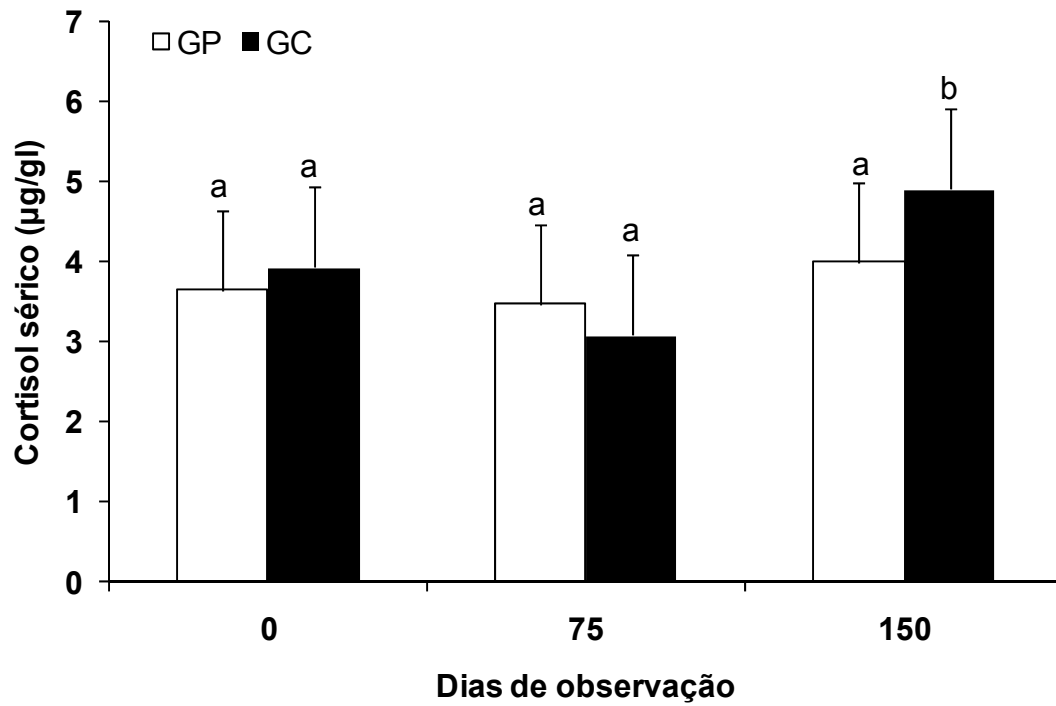


FIG. 1- Efeito da suplementação com 0 (GC) e 4,0 g de probiótico Proenzime/bovino/dia(GP) na concentração sérica de cortisol (+ desvio padrão) de bovinos da raça Nelore. Em um mesmo dia de observação, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

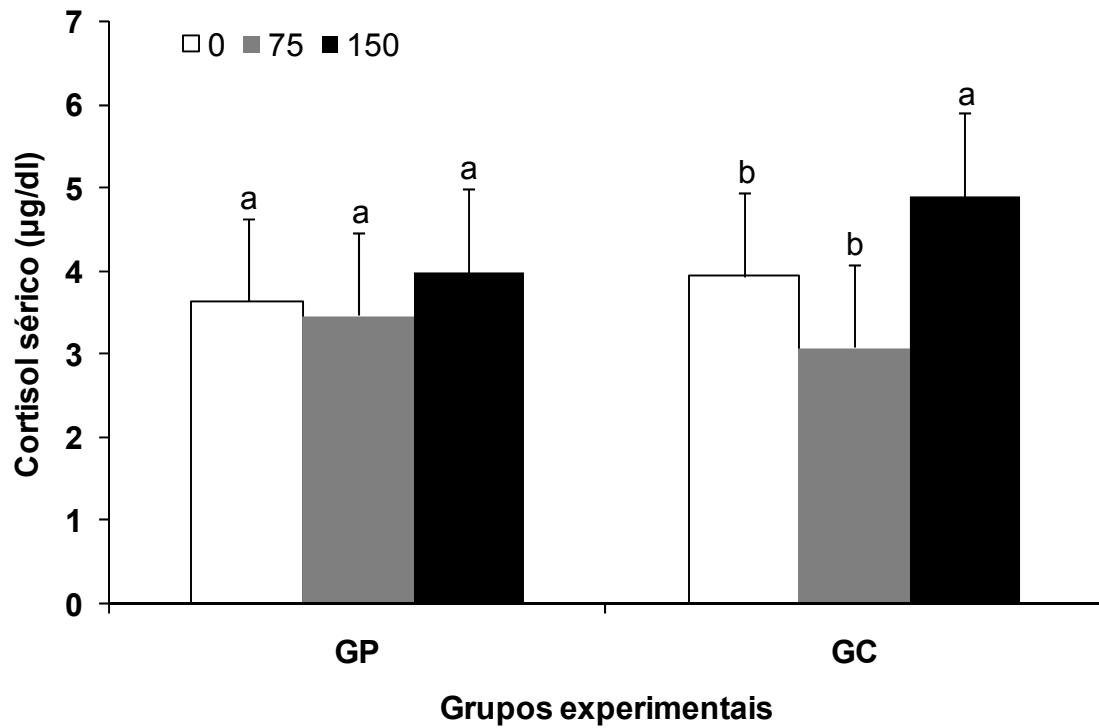


FIG. 2- Efeito do tempo de exposição aos agentes estressores na concentração sérica de cortisol (+ desvio padrão) dos bovinos suplementados com 0 (GC) e, 4,0 g de probiótico Proenzime/bovino/dia (GP). Em um mesmo grupo, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ ).



Tabela 1- Médias dos grupos Controle (GC) e Probiótico (GP), teste F para análise de variância (ou covariância), desvio padrão e coeficiente de variação para os dados de peso vivo e ganho de peso e dosagem de cortisol.

Grupos experimentais	Peso vivo no dia zero (kg)	Ganho de peso vivo (kg)		Dosagem de cortisol ( $\mu\text{g/dl}$ )		
		Dia 0 a 75	Dia 76 a 150	Dia zero	Dia 75	Dia 150
GC	382,87 <sup>a</sup>	48,10 <sup>b</sup>	19,50 <sup>a</sup>	3,94 <sup>aB</sup>	3,08 <sup>aB</sup>	5,11 <sup>aA</sup>
GP	375,67 <sup>a</sup>	56,30 <sup>a</sup>	11,67 <sup>a</sup>	3,64 <sup>aA</sup>	3,47 <sup>aA</sup>	4,00 <sup>bA</sup>
Teste F	0,65 <sup>NS</sup>	5,96 <sup>* (1)</sup>	2,18 <sup>NS (1)</sup>	0,23 <sup>NS</sup>	0,76 <sup>NS</sup>	4,50 <sup>*</sup>
C.V. (%)	6,45	17,41	93,00	44,06	36,89	29,99

<sup>(1)</sup> – análise de covariância em função do peso no início do período considerado.

<sup>NS</sup> – não significativo ( $P > 0,05$ )

<sup>\*</sup> – significativo ( $P < 0,05$ )

<sup>a,b</sup> – em cada coluna, médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem ( $P > 0,05$ ), segundo o teste F

<sup>A,B</sup> – para cada grupo, média de mesma letra maiúscula não diferem ( $P > 0,05$ ), segundo o teste Tukey.