

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO**

**PROBIÓTICOS E IONÓFORO COMO ADITIVOS PARA
NOVILHOS DE CORTE**

Camila da Silva Zornitta

CAMPO GRANDE, MS

2022

ZORNITTA, C. S.	PROBIÓTICOS E IONÓFORO COMO ADITIVOS PARA NOVILHOS DE CORTE	2022
-----------------	--	------

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO**

**PROBIÓTICOS E IONÓFORO COMO ADITIVOS PARA
NOVILHOS DE CORTE**

Probiotics and ionophore as feed additives for beef steers

Camila da Silva Zornitta

Orientador: Prof. Dr. Luís Carlos Vinhas Ítavo

Tese apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de Doutora em Ciência Animal. Área de concentração: Produção Animal.

CAMPO GRANDE, MS 2022



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



Certificado de aprovação

Camila da Silva Zornitta

Probióticos e ionóforo como aditivos para novilhos de corte
Probiotics and ionophore as feed additives for beef steers

Tese apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito para obtenção do título de Doutora em Ciência Animal.

Área de concentração: Produção Animal.

Aprovado em: 07-03-2022

BANCA EXAMINADORA:

Dr. Luis Carlos Vinhas Itavo
(UFMS) – (Presidente)

Dr. Alexandre Menezes Dias
(UFMS)

Dr. Fabiano Ferreira da Silva
(UESB)

Dr. Gumercindo Loriano Franco
(UFMS)

Dr. Luciano da Silva Cabral
(UFMT)



Documento assinado eletronicamente por **Luis Carlos Vinhas Itavo, Professor do Magisterio Superior**, em 07/03/2022, às 17:18, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



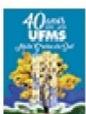
Documento assinado eletronicamente por **Gumercindo Lorian Franco, Professor do Magisterio Superior**, em 07/03/2022, às 17:23, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fabiano Ferreira da Silva, Usuário Externo**, em 08/03/2022, às 10:28, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Alexandre Menezes Dias, Professor do Magisterio Superior**, em 14/03/2022, às 15:27, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luciano da Silva Cabral, Usuário Externo**, em 28/09/2022, às 16:16, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufms.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3126678** e o código CRC **8A7054C1**.

COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

Av Costa e Silva, s/nº - Cidade Universitária

Fone:

CEP 79070-900 - Campo Grande - MS

Dedicatória

*Dedico esta tese ao meu “eu” passado.
Conseguimos!*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que é meu refúgio e fortaleza, socorro bem presente nas provas e tribulações.

Aos meus pais Jose de Jesus Pereira e Maria Cleide da Silva Pereira, meus exemplos de pessoas simples, mas que desde cedo me mostraram o que é ser uma pessoa íntegra e firme de palavra.

Ao meu amado esposo, Fabio Willian Zornitta, por me apoiar, incentivar e me ensinar uma das maiores lições de vida “se vai fazer algo, faça bem no capricho!”.

Ao meu orientador Prof. Dr. Luis Carlos Vinhas Ítavo, a quem devo muito por toda a paciência e acolhimento que recebi desde o momento em que me aceitou como orientada, meu muitíssimo obrigada.

A todos os colegas do grupo de estudos NPR-UFMS (nutrição e produção de ruminantes da UFMS) e do Laboratório de nutrição aplicada – UFMS, que foram essenciais para a realização deste projeto.

À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e todos os professores, servidores e técnicos da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ) e da Fazenda Escola da UFMS que de alguma forma participaram na realização do projeto de pesquisa ou que contribuíram de alguma forma ao longo do curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de estudos, que possibilitou a dedicação exclusiva ao curso de doutorado.

A todos os não mencionados diretamente nessa seção, mas que fizeram parte dessa etapa da minha caminhada, muito obrigado.

*“Quando a gente acha que tem todas as respostas,
vem a vida e muda todas as perguntas.”*

(Luis Fernando Verissimo.)

Resumo

ZORNITTA, C. S. Probióticos e ionóforo como aditivos para novilhos de corte. 2022. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2022.

O propósito da revisão de literatura foi discorrer sobre alguns aditivos alimentares para uso em bovinos, sendo abordado duas classes, os probióticos e os antibióticos, seus mecanismos de ação e efeitos quando adicionados na dieta de bovinos. No artigo 1, foram testados diferentes modelos de ajustes da produção de gás *in vitro* da silagem de milho e o efeito do uso da combinação de três aditivos na dieta de novilhos de corte. Com isso, o objetivo deste trabalho foi examinar os efeitos do inóculo ruminal de novilhos recebendo diferentes combinações de ionóforo e probióticos em suas dietas sobre a produção de gás *in vitro* de silagem de milho. Foram utilizados o líquido ruminal de quatro novilhos mestiços com cânula ruminal e designados ao quadrado latino 4×4 nos seguintes tratamentos: (1) Monensina; (2) Monensina + *Bacillus toyonensis*; (3) Monensina + *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*; e (4) *Bacillus toyonensis* + *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*. Os dados de produção de gás foram ajustados nos modelos de Gompertz, Groot, Ørskov, Brody, Richards e Logístico Bicompartimental. A adição dos tratamentos provocou alterações no líquido ruminal extraído dos animais, a ponto de alterar a cinética da produção de gás *in vitro*, sendo que os tratamentos Monensina e *B. toyonensis* + *S. boulardii* apresentaram melhor cinética de degradação da silagem de milho. Já os modelos Groot e Richards tiveram o melhor ajuste para estimativas dos dados que os demais avaliados. No artigo 2, o objetivo foi avaliar os efeitos da combinação de *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*, *Bacillus toyonensis* e monensina sobre o consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes, variáveis ruminais e sanguíneas de novilhos recebendo dieta 70% de concentrado. Foram utilizados quatro novilhos mestiços *Bos taurus* × *B. indicus* com cânula ruminal e alojados individualmente, em um delineamento quadrado latino 4×4 . Os animais receberam ração totalmente misturada contendo relação volumoso concentrado de 30:70, respectivamente silagem de milho e concentrado, com os seguintes tratamentos misturados em sua alimentação diária: Monensina apenas (MO), Monensina + *Bacillus toyonensis* (MBT), Monensina + *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* (MSB) e *Bacillus toyonensis* + *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* (BTSB). Observou-se que o tratamento BTSB, quando fornecido aos animais aumentou o consumo de ração e resultou em

concentrações semelhantes ao tratamento MO nas variáveis sanguíneas, urinárias, pH ruminal, nitrogênio amoniacal ruminal, ácidos graxos totais e balanço de nitrogênio. Porém quando associados os probióticos à monensina sódica não foi observado efeito benéfico nas variáveis avaliadas. Com base nas observações promissoras da associação de *Bacillus toyonensis* com *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* obtidos nesta tese, são sugeridos mais estudos com esta associação de probióticos sobre os aspectos produtivos para que seja recomendado como melhorador de desempenho alternativo para os bovinos.

Palavras-chave: aditivos naturais; ensaio metabólico; modelagem; produção de gás *in vitro*; ruminantes

Abstract

ZORNITTA, C.S. Probiotics, and ionophore as feed additives for beef steers. 2022. Thesis (Doctorate) - Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2022.

The purpose of the literature review was to discuss some feed additives for use in cattle, addressing two classes, probiotics, and antibiotics, their mechanisms of action, and their effects when added to the diet of cattle. In article 1, different models for adjusting the *in vitro* gas production of corn silage and the effect of using the combination of three additives in the diet of beef steers were tested. Therefore, the objective of this work was to examine the effects of ruminal inoculum of steers receiving different combinations of ionophore and probiotics in their diets on the *in vitro* gas production of corn silage. Ruminal fluid from four crossbred steers with rumen cannula and assigned to a 4 × 4 Latin square were used in the following treatments: (1) Monensin; (2) Monensin + *Bacillus toyonensis*; (3) Monensin + *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*; and (4) *Bacillus toyonensis* + *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*. The gas production data were fitted to the models Gompertz, Groot, Ørskov, Brody, Richards, and Dual Pool Logistic. The addition of treatments caused changes in the rumen fluid extracted from the animals to the point of altering the kinetics of gas production *in vitro*, and the treatments Monensina and *B. toyonensis* + *S. boulardii* showed better kinetics of corn silage degradation. The Groot and Richards models had the best fit for data estimates than the others evaluated. In article 2, the objective was to evaluate the effects of the combination of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*, *Bacillus toyonensis*, and monensin on the intake and apparent digestibility of nutrients, ruminal and blood variables of steers receiving a 70% concentrate diet. Four crossbred *Bos taurus* × *B. indicus* steers with a ruminal cannula and housed individually in a 4 x 4 Latin square design were used. The following treatments were mixed in their daily diet: Monensin only (MO), Monensin + *Bacillus toyonensis* (MBT), Monensin + *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* (MSB), and *Bacillus toyonensis* + *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* (BTSB). It was observed that the BTSB treatment, when provided to the animals, increased feed intake, and resulted in similar concentrations values to the OM treatment in blood, urinary, ruminal pH, ruminal ammoniacal nitrogen, total fatty acids, and nitrogen balance. However, when probiotics were associated with sodium monensin, no beneficial effect was observed in the evaluated variables. Based on the promising observations of the association of *Bacillus toyonensis* with *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* obtained

in this thesis, further studies are suggested with this association of probiotics on the productive aspects so that it is recommended as an alternative performance enhancer for cattle.

Keywords: *in vitro* gas production; natural additives; metabolic assay; modeling; ruminants

Lista de ilustrações

Revisão de literatura

Figura 1 - Esquema dos efeitos dos probióticos na população microbiana e trato gastrointestinal.....	19
Figura 2 - Principais marcos no desenvolvimento da taxonomia de <i>Lactobacillus</i> e os efeitos resultantes na colocação taxonômica de <i>Lactobacillus acidophilus</i>	25
Figura 3 - Árvore filogênica das 170 espécies de <i>Lactobacillus</i> agrupadas com base na sequência do gene piruvato quinase.....	26
Figura 4 - Uso de antibióticos na pecuária em miligramas de uso total por quilograma de produção de carne em 2010.....	31
Figura 5 - Modo de ação da monensina em bactérias Gram-positivas.....	34

Artigo 1

Figura 1 - Curvas da produção de gás <i>in vitro</i> cumulativa da silagem de milho com combinação de probióticos e ionóforo ajustadas em diferentes modelos.....	65
Figura 2 - Potencial máximo da produção de gás <i>in vitro</i> (V_F) da silagem de milho realizada com inoculo de novilhos recebendo diferentes aditivos nutricionais estimados pelo modelo logístico bicompartimentado.....	68

Artigo 2

Figura 1 - Valores médios de pH ruminal e nitrogênio amoniacal (NH_3-N) em diferentes horários de coleta de novilhos recebendo dieta com a associação de probióticos e ionóforo.....	104
--	-----

Lista de tabelas

Revisão de literatura

Tabela 1 - Resumo de algumas diferenças e semelhanças entre <i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. <i>boulardii</i> e <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	21
---	----

Artigo 1

Tabela 1 - Composição da dieta experimental oferecida aos novilhos sem os aditivos nutricionais.....	59
Tabela 2 - Modelos não lineares considerados neste estudo para descrever a produção de gás <i>in vitro</i> da silagem de milho combinada com diferentes aditivos.....	61
Tabela 3 - Avaliação do ajuste dos modelos para estimar a produção de gás <i>in vitro</i> da silagem de milho combinada com diferentes aditivos.....	63
Tabela 4 - Estimativa dos parâmetros da produção de gás <i>in vitro</i> da silagem de milho com diferentes combinações de aditivos obtidos pelo modelo de Groot.....	66
Tabela 5 - Estimativa dos parâmetros da produção de gás <i>in vitro</i> de silagem de milho com diferentes aditivos obtidos pelo modelo logístico bicompartimentado.....	67

Artigo 2

Tabela 1 – Participação dos ingredientes e química da dieta experimental oferecida aos novilhos sem os aditivos.....	99
Tabela 2 - Consumo de nutrientes e digestibilidade aparente de novilhos recebendo dieta com a associação de probióticos e ionóforo.....	100
Tabela 3 - Variáveis ruminais de novilhos recebendo dieta com a associação de probióticos e ionóforo.....	101
Tabela 4 - Variáveis sanguíneas de novilhos recebendo dieta com a associação de probióticos e ionóforo.....	102
Tabela 5 - Variáveis urinárias e balanço de nitrogênio de novilhos recebendo dieta com a associação de probióticos e ionóforo.....	103

SUMÁRIO

1. Introdução.....	17
2. Revisão Bibliográfica.....	18
2.1. Probióticos.....	18
2.1.1. <i>Saccharomyces</i> spp.....	20
2.1.1.1. Uso de <i>Saccharomyces</i> em dietas para bovinos.....	22
2.1.2. <i>Bacillus</i> spp.	23
2.1.2.1. Uso de <i>Bacillus</i> em dietas para bovinos.....	24
2.1.3. <i>Lactobacillus</i> spp.....	24
2.1.3.1. Uso de <i>Lactobacillus</i> em dietas para bovinos.....	26
2.1.4. <i>Megasphaera elsdenii</i>	25
2.1.4.1. Uso de <i>Megasphaera elsdenii</i> em dietas para bovinos.....	28
2.1.5. Tipos de apresentação dos probióticos.....	29
2.1.5.1. Leveduras vivas.....	29
2.1.5.2. Cultura de levedura.....	29
2.1.5.3. Esporos.....	29
2.1.5.4. Resíduos de bioprodutos.....	30
2.2. Antibióticos promotores de crescimento.....	30
2.2.1. Ionóforos.....	32
2.2.1.1. Uso de monensina em dietas para bovinos.....	34
2.2.1.2. Uso de salinomicina em dietas para bovinos.....	35
2.2.1.3. Uso de lasalocida em dietas para bovinos.....	36
2.2.2. Não ionóforos.....	36
2.2.2.1. Uso de virginamicina em dietas para bovinos.....	37
2.2.2.2. Uso de flavomicina em dietas para bovinos.....	37
3. Referências Bibliográficas.....	38
ARTIGO 1 - Cinética da produção de gás <i>in vitro</i> e ajuste de modelos matemáticos da silagem de milho.....	54
Resumo.....	55
Introdução.....	57
Material e Métodos.....	58
Resultados.....	62

Discussão.....	68
Conclusão.....	72
Referências.....	73
ARTIGO 2 – Associação de probióticos com a monensina sódica sobre a ingestão, digestibilidade aparente, variáveis ruminais e urinárias, bioquímica sanguínea e balanço de nitrogênio em novilhos de corte.....	
	79
Resumo.....	80
Introdução.....	82
Material e Métodos.....	83
Resultados.....	87
Discussão.....	89
Referências.....	95
Materiais suplementares.....	105
4. Implicações e considerações finais.....	112
5. Anexos.....	113
Anexo I – Artigo publicado (Capítulo 1) no periódico científico <i>Fermentation</i> (ISSN: 2311-5637). DOI: https://doi.org/10.3390/fermentation7040298	113

1. INTRODUÇÃO

A demanda crescente por carne bovina, assim como carne de demais espécies de animais de produção, pressionam constantemente a pecuária para atender tal demanda, em 2010 a produção mundial de carne bovina e bubalina foi de 66,55 milhões de toneladas, já em 2018 contabilizou 71,61 milhões de toneladas, ao qual deste montante 12,22 milhões de toneladas foram produzidos pelos Estados Unidos da América, ocupando o primeiro lugar, e em segundo lugar com a produção de 9,90 milhões de toneladas sendo produzidos pelo Brasil (FAO, 2020).

Apesar do grande volume da demanda por carne bovina, a qualidade deste produto também é requerida pelo mercado consumidor, para atender tais demandas os bovinos abatidos devem atender a uma série de requerimentos, como sanidade, peso da carcaça, acabamento de gordura e idade do animal. No Brasil a idade de abate dos animais é em média 30 meses, ao longo dos anos os animais abatidos com mais de 36 meses vêm sendo reduzido, em 1997 era 52,18% já em 2015 foi de 6,94% (ABIEC, 2020). Para alcançar a conformidade nos lotes, atender as exigências do mercado e ter sustentabilidade econômica são necessários aplicar diversas tecnologias na criação dos bovinos, como o uso de aditivos na alimentação dos bovinos (VIANA *et al.*, 2021).

O uso de aditivos na alimentação dos bovinos se dá pela melhora na eficiência alimentar, modulação da fermentação ruminal e aumento no desempenho (DUFFIELD; MERRILL; BAGG, 2012; ITAVO *et al.*, 2020). As principais categorias de aditivos utilizado na bovinocultura são: antibióticos ionóforos, antibióticos não-ionóforos, probióticos, tamponantes e extrato de plantas (MARINO; MEDEIROS, 2015). Apesar da grande variedade de aditivos alimentares disponíveis para os bovinos, destaca-se os antibióticos promotores de crescimento, com efeitos bem estabelecidos na literatura e usado em larga escala global, contudo proibições recentes de alguns países e programas de controle e redução na utilização desenfreada dos antibióticos vem desafiando pesquisadores a encontrar novas formas de melhorar o desempenho dos animais por meio de aditivos com menor risco de causar resistência bacteriana (CHATTOPADHYAY, 2014; GETABALEW; ALEMNEH; ZEWDIE, 2020; NRC, 2000).

Apesar da generalização dos antibióticos usados como aditivos alimentares serem conotados negativamente, alguns deles têm se mostrado ferramentas valiosas que tornam possível a utilização de dietas com alto teor de concentrado ou mesmo sem a utilização de volume nos bovinos, melhorando o desempenho dos animais e reduzirem o risco de acidose ruminal nos animais submetidos a estas dietas (GONZÁLEZ *et al.*, 2012). Encontrar novos aditivos ou combinações que promovam não apenas melhores desempenhos dos animais visando atender

35 ao mercado consumidor, mas que também sejam capazes de promover a saúde e bem-estar dos
36 mesmos são os desafios atuais.

37 Desta forma, o objetivo desta revisão de literatura foi discorrer sobre alguns aditivos
38 alimentares que são permitidos pela legislação vigente no país para uso em bovinos, sendo
39 abordado duas classes, os probióticos e os antibióticos.

40

41 **2. REVISÃO DE LITERATURA**

42

43 **2.1. Probióticos**

44 O termo probióticos é derivado de *pro* do Latim “a favor” e *biótico* adjetivo Grego de *bios*
45 “vida”, utilizado primeiramente por Werner Kollath 1953 (PARK, 2009), ainda definindo que
46 probióticos são “substâncias ativas essenciais para um desenvolvimento saudável da vida”.
47 Contudo muito antes da definição dessas substâncias, Ilya Ilyich Metchnikov, também escrito
48 como Elie Metchnikoff, pelo convite de Louis Pasteur, iniciou estudos em Paris no Instituto
49 Pasteur em 1888, desenvolvendo a teoria de que o envelhecimento é causado por bactérias
50 tóxicas no intestino e que o ácido láctico poderia prolongar a vida, popularizando assim o
51 consumo de iogurte na Europa (MACKOWIAK, 2013).

52 Atualmente assume-se a definição proposta pela FAO/WHO (2001), em que probióticos
53 são “Organismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas confere
54 benefícios na saúde do hospedeiro”. Ao longo dos anos o uso de probióticos na alimentação
55 humana se popularizou, na atualidade é encontrando facilmente produtos farmacêuticos a base
56 de probióticos para tratar alguns casos, como cepas que auxiliam no reestabelecimento da flora
57 intestinal após episódios de diarreia. Naturalmente este uso foi expandido para os animais de
58 produção, com o intuito de melhorar a saúde e também melhorar outros parâmetros, tanto em
59 animais jovens como em adultos (SONG; IBRAHIM; HAYEK, 2012).

60 Apesar da grande variedade de microrganismos os principais gêneros usados como
61 probióticos são *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Saccharomyces*, *Enterococcus*, *Streptococcus*,
62 *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Bacillus*, *Escherichia coli* (UYENO; SHIGEMORI; SHIMOSATO,
63 2015). Destacando-se entre as cepas mais utilizadas como probióticos para bezerros estão
64 *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus* spp., *Enterococcus* spp. e *Bacillus* spp., já para
65 bovinos adultos estão *Lactobacillus* spp., *Streptococcus* spp., *Propionobacterium* spp.,
66 *Megasphaera elsdenii* e *Saccharomyces cerevisiae* (HRISTOV *et al.*, 2013; UYENO;
67 SHIGEMORI; SHIMOSATO, 2015).

68 Assim como esquematizado na Figura 1, vários são os efeitos positivos do fornecimento de
 69 probióticos aos bovinos, que desempenham ação tanto ruminal quanto intestinal. Algumas
 70 cepas utilizadas como probióticos melhoram o ambiente ruminal para outros microrganismos,
 71 como com a retirada do oxigênio do meio, que acaba resultando em aumento da viabilidade
 72 bacteriana, aumento da estabilidade do pH e aumenta a quantidade e função bacteriana
 73 (GHAZANFAR *et al.*, 2017; UYENO; SHIGEMORI; SHIMOSATO, 2015). Já a função
 74 intestinal dos probióticos se deve pela produção de compostos de ação bactericida específica,
 75 que ao melhorar o perfil da flora bacteriana melhora indiretamente a saúde intestinal e
 76 consequentemente a saúde do animal (GHAZANFAR *et al.*, 2017).



77

78 Figura 1. Esquema dos efeitos dos probióticos na população microbiana e trato
 79 gastrointestinal (Adaptado de Ghazanfar *et al.*, 2017).

80

81 2.1.1. *Saccharomyces spp.*

82 Henri Boulard na busca por alimentos bons para a saúde, ao visitar a Indochina em 1920
 83 durante o surto de cólera em que milhares de pessoas morreram, observou algumas pessoas
 84 mascando casca de lichia e mangostim ou preparando chás, e que estas pessoas não

85 desenvolviam os sintomas da cólera ou mesmo melhoravam da diarreia, de volta à França, Henri
86 Boulard foi capaz de isolar a cepa de uma levedura, nomeando-a de *Saccharomyces boulardii*
87 (LIU *et al.*, 2016; ŁUKASZEWICZ, 2012).

88 O grupo *Saccharomyces sensu stricto* é composto por oito espécies de cepas distintas,
89 pertencentes ao reino dos fungos, ao qual todas são fermentativas, sendo *S. cerevisiae*, *S.*
90 *paradoxus*, *S. cariocanus*, *S. uvarum*, *S. mikatae*, *S. kudriavzevii*, *S. arborícola* e *S. eubayanus*
91 (NASEEB *et al.*, 2017). As leveduras do gênero *Saccharomyces* continuam sendo as mais
92 estudadas e usadas como microrganismos fornecidos diretamente através do alimento (do inglês
93 “direct-feed microbials”) para animais, devido a sua efetividade em promover ou restaurar a
94 saúde em humanos mesmo após um século de sua descoberta (GARCIA-MAZCORRO *et al.*,
95 2019). Como apresentado por Łukaszewicz (2012), uma grande expansão no número de
96 pesquisas envolvendo apenas cepas de *Saccharomyces boulardii* pode ser percebido ao longo
97 dos anos, em que em 1987 havia apenas 7 publicações e já em 2011 passou para 822 publicações
98 no ano.

99 Na descoberta de Henry Boulard a levedura foi classificada taxonomicamente como
100 *Saccharomyces boulardii*, como considerada uma nova espécie da família *Saccharomyces*,
101 contudo, após a utilização de novas técnicas de genotipagem e caracterizações físicas, foi
102 identificado que apesar de algumas diferenças, *S. boulardii* seria uma cepa pertencente à espécie
103 *S. cerevisiae*, levando ao nome taxonômico de *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*
104 (CROWCH, 2017; EDWARDS-INGRAM *et al.*, 2007). Dentre as diferenças entre *S. cerevisiae*
105 var. *boulardii* de *S. cerevisiae* estão uma maior temperatura ótima de crescimento, maior
106 resistência a pH ácido, não utilização de galactose, entre outras diferenças genotípicas (Tabela
107 1).
108

109 Tabela 1. Resumo de algumas diferenças e semelhanças entre *Saccharomyces cerevisiae* var.
 110 *boulardii* e *Saccharomyces cerevisiae* (Adaptado de Łukaszewicz, 2012)

<i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. <i>boulardii</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Temperatura de crescimento ótima ~37 °C	Temperatura de crescimento ótima ~30 °C
Maior resistência a pH baixo	Menor resistência a pH baixo
Os cariótipos de <i>Sb</i> são muito similares dos que estão no <i>S. cerevisiae</i>	Tipagem RFLPs ou PCR-(ex. 5.8S rDNA) falharam de distinguir o <i>Sb</i> do <i>S. cerevisiae</i>
Não usa galactose	Usa galactose
Asporogênica em contraste do <i>S. cerevisiae</i> , mas pode produzir híbridos férteis com cepas de <i>S. cerevisiae</i>	Esporogênico
Perdeu todos os elementos Ty1/2 intactos	Contém vários elementos Ty1/2
Tipagem de microssatélites mostra diferenças genotípicas	
Trissômico para o cromossomo IX	Existem cepas estáveis com várias ploidias

111

112 Um dos modos de ação do *Saccharomyces cerevisiae* se dá no rúmen, parcialmente, por sua
 113 atividade respiratória em retirar o oxigênio dissolvido no meio, favorecendo as bactérias
 114 anaeróbicas, resultando no aumento de bactérias totais no ambiente ruminal (NEWBOLD;
 115 WALLACE; MCINTOSH, 1996). Scott *et al.* (1983), aferindo a concentração de O₂ no líquido
 116 ruminal, foram capazes de contabilizar 1,630 nmol/l O₂ dissolvido. Ainda, considerando que a
 117 entrada de oxigênio é constante pelo animal, ao ingerir água e alimento, a presença do O₂ pode
 118 se tornar prejudicial ao desenvolvimento de alguns microrganismos anaeróbicos, como parte
 119 do ecossistema ruminal, os microrganismos metanogênicos utilizam o H₂ na formação do
 120 metano, mas são altamente sensíveis ao O₂ presente no meio (MARINO; MEDEIROS, 2015;
 121 NEWBOLD; WALLACE; MCINTOSH, 1996).

122 Outro método de ação do *S. cerevisiae* é que esta cultura provê fatores de crescimento
 123 solúveis aos microrganismos digestores de celulose, com ácidos orgânicos, vitamina B e
 124 aminoácidos (CALLAWAY; MARTIN, 1997; MARINO; MEDEIROS, 2015). Assim como *S.*
 125 *cerevisiae*, a *S. cerevisiae* var. *boulardii* tem tido seu modo de ação relacionado com aumento
 126 na diversidade microbiana, contudo ainda não está totalmente esclarecido seu modo de ação no
 127 trato gastrointestinal dos bovinos (BROUSSEAU *et al.*, 2015; KEYSER *et al.*, 2007; VILLOT
 128 *et al.*, 2019).

129

130 2.1.1.1. *Uso de Saccharomyces em dietas para bovinos*

131 O efeito da utilização de *Saccharomyces cerevisiae* em vacas não lactantes, alimentadas
132 com 63 % silagem de milho e 37% concentrado, monitoradas continuamente através de um
133 dispositivo wireless no rúmen, apontou maior pH ruminal de animais que receberam o aditivo
134 quando comparadas aos que não receberam (controle), também em menor redox potencial no
135 rúmen (KŘÍŽOVÁ *et al.*, 2011). Também, Diaz *et al.* (2018) observaram um aumento no pH
136 ruminal de novilhos recebendo dieta com 5% de bagaço de cana e 95% concentrado bovinos de
137 corte, ao serem suplementados com *S. cerevisiae*. Já quando o uso de *S. cerevisiae* foi
138 combinado com ionóforos (virginiamicina e salinomicina) e uma fonte de nitrogênio não
139 proteico em bovinos machos não castrados, terminados no sistema de pastejo intensivo, ao qual
140 recebiam 17,5 g de concentrado/kg de peso corporal, foi observado estímulo no crescimento de
141 bactérias fibrolíticas, que conseqüentemente podem contribuir com a redução de distúrbios
142 digestivos e metabólicos que dietas de alto concentrado podem causar (MOMBACH *et al.*,
143 2021).

144 Com relação à produtividade, vacas de leite em meio de lactação obtiveram resultados
145 positivos ao serem suplementadas com *S. cerevisiae* durante a estação de calor, onde foi
146 observado aumento na digestibilidade da parede celular e uma melhora na porcentagem de
147 gordura do leite (DEHGHAN-BANADAKY *et al.*, 2013). Já Magrin *et al.* (2018) apesar de não
148 observarem diferenças no ganho de peso de touros terminados em confinamento que receberam
149 suplementação com *S. cerevisiae*, os animais que receberam tiveram uma melhora na transição
150 para a dieta de terminação, que continha 29,7 % de silagem de milho e 70,3% ingredientes
151 concentrados, melhor score de conformação de carcaça e foi observado que a suplementação
152 com o probiótico agiu na preservação das papilas ruminais contra a hiper queratinização, que é
153 diretamente relacionado com a ocorrência de acidose ruminal.

154 Com relação aos efeitos da *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* no desempenho de
155 novilhos de leite, foi observado que com a adição de probiótico no sucedâneo de leite os animais
156 tiveram melhora no crescimento e saúde (VILLOT *et al.*, 2018). Similar ao encontrado por
157 Renaut *et al.* (2019) ao avaliar a suplementação *S. cerevisiae* var. *boulardii* antes da desmama
158 de bezerros, apesar de não encontrarem diferença entre os grupos na mortalidade, escore fecal
159 e desenvolvimento da doença respiratória bovina, observaram que a suplementação com 10
160 gramas/dia do probiótico melhorou o ganho de peso diário dos 42 aos 56 dias após a chegada,
161 comparado com os animais não tratados.

162 Resultados similares também foram obtidos quando suplementado um rebanho de novilhas
163 com alto risco de desenvolver a acidose ruminal devido à dieta de confinamento com *S.*
164 *cerevisiae* var *boulevardii*. Foi observado que nos primeiros 45 dias houve uma redução do
165 número de animais com doença respiratória e uma melhoria no ganho de peso diário, relação
166 consumo:ganho, custo por peso ganho, porcentagem de carcaças avaliadas na categoria
167 “Choice” (USDA quality grade) e redução de abscessos no fígado (THEURER *et al.*, 2019).

168 Da mesma forma, Kayser *et al.* (2019) obtiveram resultados indicativos de que a
169 suplementação com *S. cerevisiae* var. *boulevardii* alterou a concentração de leucócitos no sangue
170 em resposta a administração intranasal do vírus herpes bovina-1, sugerindo um aumento na
171 resposta imunológica de novilhas de corte que recebiam a suplementação com o probiótico.

172

173 **2.1.2. *Bacillus* spp.**

174 O gênero *Bacillus* foi proposto por Ferdinand Cohn em 1872, após a descoberta e
175 classificação do *Bacillus subtilis*, com características de bacilo quimioheterotrófico, aeróbico e
176 formador de esporo (MANDIC-MULEC; STEFANIC; VAN ELSAS, 2015). Há
177 aproximadamente 370 espécies de bactérias no gênero *Bacillus*, onde a maioria são Gram-
178 positivas, aeróbicas ou aeróbicas facultativas, de morfologia de bastões retos ou curvados, são
179 organismos que apresentam motilidade por flagelos, peritríquios ou sem meios de mobilidade
180 (OREM, 2018).

181 As cepas do gênero *Bacillus* em que se tem conhecimento como possíveis probióticos para
182 animais são: *B. coagulans*, *B. subtilis* e *B. cereus* (FIJAN, 2014). Há uma crescente tendência
183 no uso de probióticos dessa bactéria em animais devido ao seu efeito estar associado com a
184 redução de algumas doenças e melhoria na performance animal, além da capacidade de seus
185 esporos serem resistentes tanto a altas como baixas temperaturas (MINGMONGKOLCHAI;
186 PANBANGRED, 2018; SOUZA *et al.*, 2017).

187 Para selecionar possíveis espécies e cepas deste gênero e futuramente utilizá-las como
188 probióticos, são realizados estudos das espécies de bactérias que já se encontram naturalmente
189 no trato gastrointestinal dos animais para que posteriormente sejam avaliadas em diferentes
190 condições de cultura. A partir destes estudos já foram possíveis apontar novos potenciais
191 probióticos para bovinos, sendo eles o *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus tequilensis* e *Bacillus*
192 *amyloliquefaciens* (DU *et al.*, 2018; KWEON *et al.*, 2012; NAEEM *et al.*, 2018).

193 Com relação a cepa BCT-7112, ela foi isolada em 1966 no Japão, primeiramente sendo
194 identificada como *Bacillus cereus* var. *toyoi*, e desde 1975 vem sendo utilizado na formulação
195 do produto Toyocerin®, que desde então tem sido fornecido a uma grande variedade de animais

196 de produção como probiótico, contudo, estudos genéticos mais recentes apontaram que esta
197 bactéria se trata de uma nova espécie de *Bacillus*, sendo renomeada de *Bacillus toyonensis*
198 (JIMÉNEZ *et al.*, 2013a, 2013b). Seu uso em animais foi liberado pela Autoridade Europeia
199 para a Segurança dos Alimentos desde 2012 e reavaliado em 2014, reafirmando a não patogenicia
200 da cepa e efeito probiótico quando testados em diferentes espécies animais (EFSA, 2014).

201

202 **2.1.2.1. Uso de *Bacillus* em dietas para bovinos**

203 O uso de probióticos a base de *Bacillus* em ruminantes tem se mostrado promissor, tanto
204 para bovinos jovens como em adultos. Nos animais jovens, como bezerros separados de suas
205 mães precocemente nas criações intensivas de leite, ou mesmo bezerros em fase de desmama,
206 a não colonização correta da flora microbiana nos intestinos destes animais ou eventos
207 estressantes os tornam susceptíveis aos casos de diarreia e subsequentes morbidade e até mesmo
208 mortalidade (MINGMONGKOLCHAI; PANBANGRED, 2018). Resultados benéficos e
209 similares foram encontrados com o fornecimento de *B. amyloliquefaciens* e *B. subtilis* no
210 crescimento e melhoria no desenvolvimento intestinal e ruminal de bezerros com crescimento
211 retardado (DU *et al.*, 2018). Efeito positivo também foi encontrado quando bezerros pré-
212 ruminantes receberam probióticos contendo *Lactobacillus* e dois tipos de *Bacillus* juntamente
213 com sucedâneo de leite, eles apresentaram melhor crescimento sem afetar o consumo de
214 alimento (BOWMAN *et al.*, 2021).

215 Também, ao suplementar bezerros lactentes com *B. megaterium*, houve efeito benéfico no
216 crescimento, função imunológica e status oxidativo intestinal (YAO *et al.*, 2020). Contudo
217 ainda é contraditório os benefícios, pois como observado por Torrezan *et al.* (2016), o uso de
218 probiótico a base de *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis* não proporcionou melhoras no
219 crescimento, no metabolismo e nem na redução de ocorrência de diarreia em bezerros
220 alimentados com sucedâneo de leite.

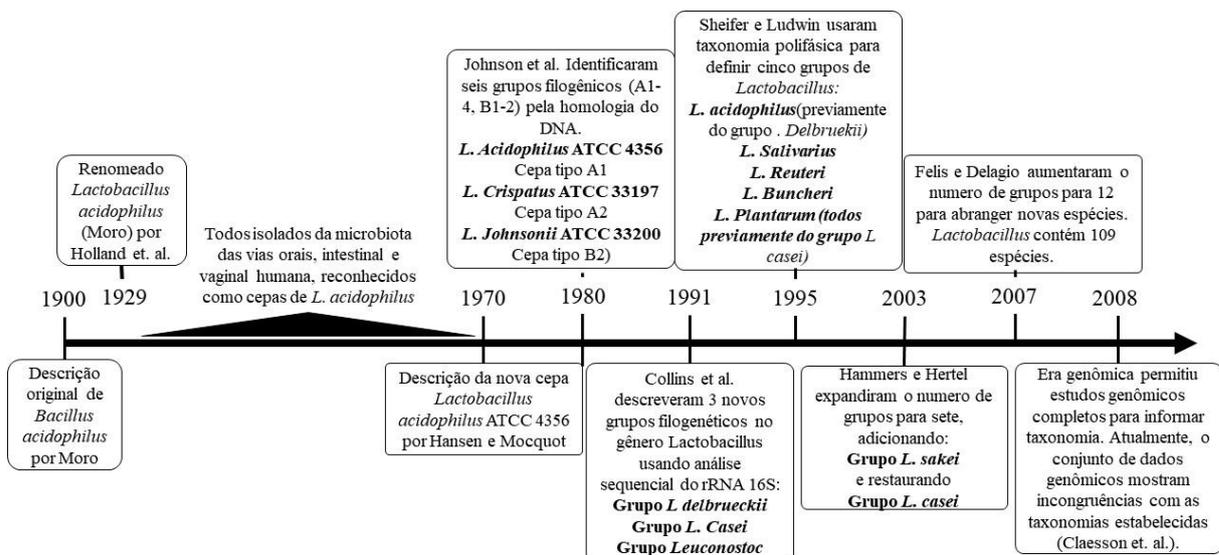
221 Já em ruminantes adultos, probióticos a base de *Bacillus* têm sido selecionados com o
222 objetivo de melhorar a digestão da fibra no rúmen, visto que a maior parte dos alimentos
223 ingeridos pelo animal é fermentada e degradada nesta porção do trato gastrointestinal e
224 pressupõe-se que a flora intestinal já tenha sido estabelecida nestes animais
225 (MINGMONGKOLCHAI; PANBANGRED, 2018). Em estudo realizado com a utilização de
226 esporos de *Bacillus subtilis* em vacas de leite, foi observado efeito positivo na produção, nos
227 teores de proteína e sólidos totais do leite (SOUZA *et al.*, 2017).

228

229 **2.1.3. *Lactobacillus* spp.**

230 Bactérias do gênero *Lactobacillus* pertencem a família *Lactobacillaceae*, em sua maioria
 231 são Gram-positivas, psicrófilas, anaeróbicas facultativas, não esporuladoras, sem meios de
 232 motilidade e em forma de bastões (FEINER, 2006). A descrição da primeira bactéria deste
 233 gênero foi o *Lactobacillus acidófilos*, primeiramente classificada como *Bacillus acidophilus*
 234 em 1900 por Moro, sendo propriamente renomeada em 1929 (BULL *et al.*, 2013). Com a
 235 criação do gênero *Lactobacillus* ocorrendo somente em 1901 por Beijerinck, possibilitando
 236 então a reclassificação do *Lactobacillus acidófilos*, já em 2007 a quantidade de espécies de
 237 *Lactobacillus* já classificadas eram de 109 (Figura 2) e atualmente são mais de 200 cepas
 238 pertencentes somente ao grupo *L. acidophilus* (BEIJERINCK, 1901; DUAR *et al.*, 2017).

239



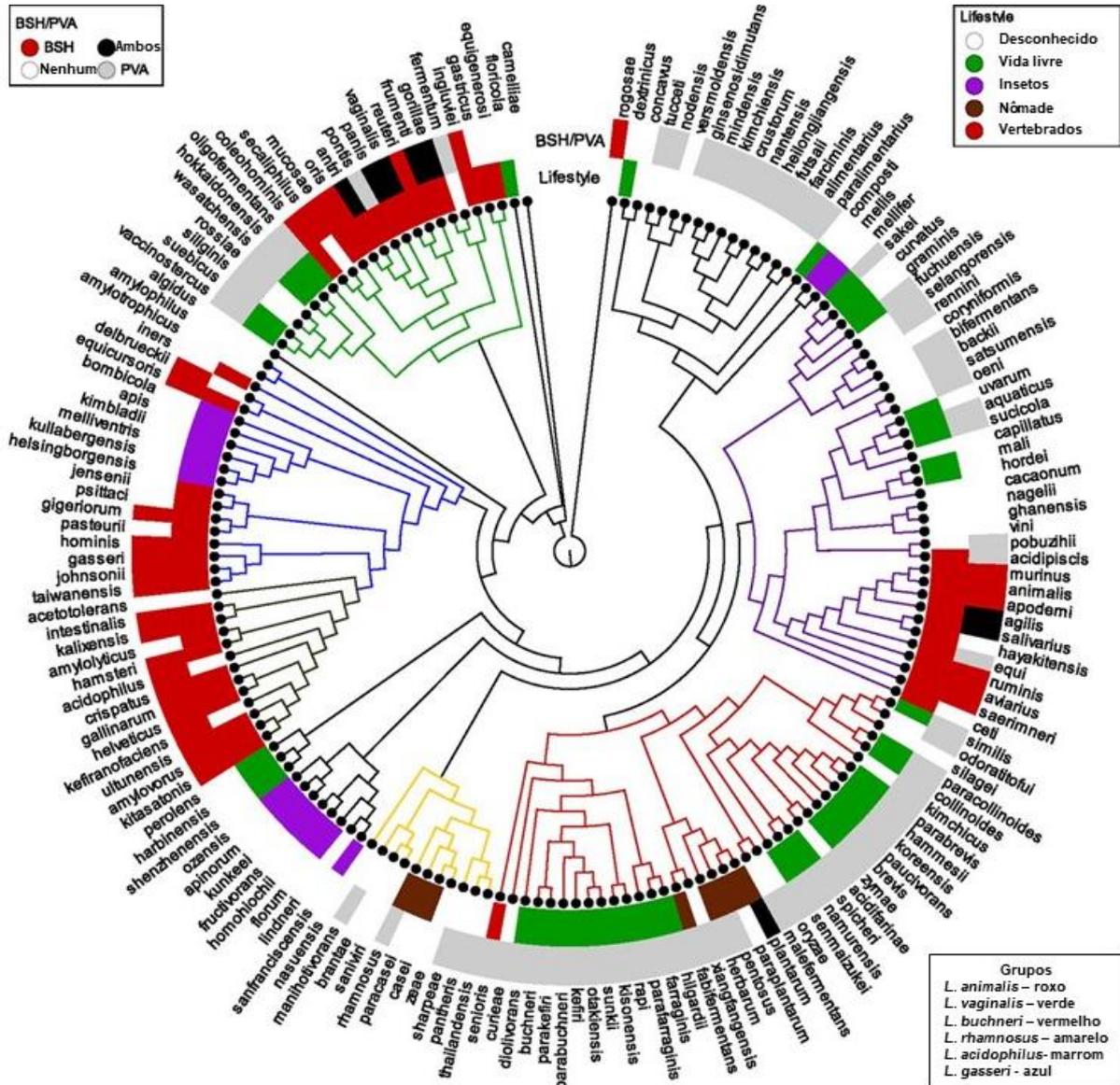
240

241 Figura 2. Principais marcos no desenvolvimento da taxonomia de *Lactobacillus* e os efeitos
 242 resultantes na colocação taxonômica de *Lactobacillus acidophilus* (adaptado de Bull *et al.*,
 243 2013).

244

245 Com relação ao grupamento, outro método proposto por Duar *et al.* (2017), foi segundo o
 246 método do sequenciamento genético do gene Piruvato-quinase (Figura 3). Contudo a definição
 247 de grupos e subgrupos ainda vem sendo constantemente alterada e o modo em que os
 248 *Lactobacillus* são agrupados diferem, sendo dependentes de qual avaliação as espécies são
 249 submetidas, os mais utilizados são por características fenotípicas tradicionais, padrão
 250 fermentativo de açúcares e análise da sequência genética (BULL *et al.*, 2013). Todavia,

251 independente dos variados agrupamentos das espécies, as cepas que demonstram potencial
 252 efeito probiótico deste gênero são: *L. rhamnosus*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei*, *L.*
 253 *delbrueckii subsp. bulgaricus*, *L. johnsonii*, *L. fermentum*, *L. reuteri* e *L. infantis* (FIJAN, 2014).
 254



255
 256 Figura 3. Árvore filogenética das 170 espécies de *Lactobacillus* agrupadas com base na
 257 sequência do gene Piruvato-quinase (Adaptado de O’Flaherty *et al.*, 2018)
 258

259 **2.1.3.1. Uso de *Lactobacillus* em dietas para bovinos**

260 Greene *et al.* (1991) estudando o efeito da combinação de dois *Lactobacillus*, o
 261 *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus casei*, em infusão intramamária em vacas de leite
 262 com alta contagem de células somáticas provocadas por mastite subclínica, não obtiveram
 263 resultados positivos com a aplicação destes probióticos nas vacas, não indicando este uso para

264 este probiótico. Contudo, Alawneh *et al.* (2020), utilizando um produto comercial contendo a
265 mistura de *L. paracasei*, *L. buchneri* e *L. casei* em forma de spray nos tetos de vacas de leite
266 como tratamento pós ordenha, obtiveram resultados sugestivos de melhoria nos tetos, esfínter
267 dos tetos e saúde do úbere.

268 Ainda, Xu *et al.* (2017) suplementando vacas de leite com *Lactobacillus casei* Zhang e
269 *Lactobacillus plantarum*, observaram que vacas que receberam os probióticos apresentaram
270 aumento na produção de leite, na concentração de imunoglobulina G, lactoferrina, lisossomos
271 e lactoperoxidase, e redução na quantidade de células somáticas no leite, além de reduzir
272 algumas bactérias intestinais patógenas.

273 Já ao avaliar o efeito do fornecimento do *Lactobacillus acidophilus* cepa NP51 em bovinos
274 de corte, Peterson *et al.* (2007) foram capazes de observar a redução presença de *Escherichia*
275 *coli* O157:H7 nas fezes dos novilhos. Também, resultados positivos em bezerros desmamados,
276 em crescimento e bezerros amamentados por vacas foram encontrados por Kelsey e Colpoys
277 (2018), havendo melhoria na performance destes animais quando receberam suplementação
278 com produto comercial contendo uma mistura de *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus*
279 *acidophilus*, *Lactobacillus casei* e *Lactobacillus plantarum*.

280 Todavia, quando o *Lactobacillus acidophilus* foi submetido a avaliação *in vitro* em quatro
281 concentrações (0; $0,25 \times 10^7$; $0,50 \times 10^7$; e $0,75 \times 10^7$ UFC/ml), usando líquido ruminal bovino
282 e testado com dois substratos, a palha de arroz e a palha de milho, foi obtido maiores
283 concentrações de NH₃-N e produção de gás *in vitro* com o maior nível de suplementação do
284 probiótico (CHEN *et al.*, 2017).

285 Potenciais cepas são constantemente descobertas, caracterizadas e testadas como possíveis
286 probióticos para o uso em animais, especialmente em bovinos, algumas destas bactérias que
287 foram sugeridas são o *L. helveticus*, *L. fermentum*, *L. salivarius*, *L. plantarum* e *L.*
288 *mucosae* (DAMODHARAN *et al.*, 2016; JOBBY *et al.*, 2020; MALDONADO *et al.*, 2018).

289

290 **2.1.4. *Megasphaera elsdenii***

291 *Megasphaera elsdenii* é uma bactéria do filo *Firmicutes* pertencem a família
292 *Veillonellaceae* e ao gênero *Megasphaera* (MARCHANDIN; JUMAS-BILAK, 2014;
293 ROGOSA, 1971). Como principal característica são bactérias Gram-negativas, anaeróbicas em
294 formato de *coccus*, nos ruminantes estão presentes no rúmen e nos intestinos, onde fermentam
295 carboidratos e ácidos orgânicos, sendo considerado um dos principais organismos envolvidos
296 no catabolismo do ácido láctico e desaminação de aminoácidos (MAROUNEK; FLIEGROVA;
297 BARTOS, 1989).

298 Os primeiros a isolar a cepa de *Megasphaera elsdenii* foram Elsden e Lewis (ELSDEN;
299 LEWIS, 1953), que a descreveram como uma grande bactéria, estritamente anaeróbica, Gram-
300 negativa, produtora de ácidos graxos voláteis, em forma de coccus e sem motilidade isolada no
301 rúmen de ovinos. Contudo, as características descritivas desta cepa não se enquadravam nas
302 demais já conhecidas passando a ser chamada como bactéria “LC” por Elsden et al. (1956). Já
303 em 1959, Gutierrez et al. (1959) encontraram um organismo similar à bactéria “LC” no rúmen
304 de bovinos, concluindo ser do gênero *Peptostreptococcus* e propuseram a criação de uma nova
305 espécie, a *P. elsdenii*, contudo Rogosa (1971) demonstrou que *P. elsdenii* isolada por Gutierrez
306 et al. (1959) não era Gram-negativa, não podendo assim pertencer ao gênero
307 *Peptostreptococcus*, propondo a transferência de *P. elsdenii* para um novo gênero, o
308 *Megasphaera* e classificou o isolado “LC” de Elsden et al. (1956) como sendo um cepa do *M.*
309 *elsdenii*.

310

311 **2.1.4.1. Uso de *Megasphaera elsdenii* em dietas para bovinos**

312 Estudando o efeito da infusão ruminal via sonda (drench) com *Megasphaera elsdenii* no pH
313 reticular, e dinâmicas na lactação de vacas de leite em acidose ruminal subaguda, Mazon *et al.*
314 (2020), observaram efeito potencialmente benéfico da utilização do probiótico fornecido via
315 sonda na dinâmica do pH, resiliência á acidose e possivelmente na produção de leite e consumo
316 de alimento, contudo o horário da administração pareceu influenciar o estabelecimento do *M.*
317 *elsdenii* e na eficácia da suplementação.

318 Já Lopes *et al.* (2021), avaliando touros que receberam uma única administração de *M.*
319 *elsdenii* antes do início da dieta de adaptação de confinamento, ao qual a dieta final era
320 composta por 91,5% de concentrado e 8,5% de volumoso, não encontraram desempenhos
321 diferentes entre animais que receberam ou não o probiótico. Todavia, esta estratégia de fornecer
322 *Megasphaera elsdenii* como probiótico em dose única no início da adaptação à dieta de
323 confinamento, se mostrou útil, ao se observar que os animais que o receberam tiveram uma
324 adaptação mais rápida ao concentrado (dieta com 7% feno de alfafa e 93% concentrado), e
325 nenhum sinal de acidose foi observada neles no estudo de Veloso *et al.* (2021). Concordando
326 com os achados de DeClerck *et al.* (2020), onde a utilização *M. elsdenii*, também em dose única,
327 para vacas submetidas a dieta de confinamento com 10% de resíduo de algodão e 90%
328 concentrado, sem adaptação previa, resultou em maior área de superfície absorptiva e maior
329 razão entre área de papila e área de superfície absorptiva que as demais, sugerindo que o
330 fornecimento de *M. elsdenii* atuou favoravelmente à ecologia do rúmen e possivelmente
331 também na mitigação da acidificação do pH ruminal.

332

333 **2.1.5. Tipos de apresentação dos probióticos**

334

335 **2.1.5.1. *Leveduras vivas***

336 Um dos métodos disponíveis para a suplementação com probióticos são através de
337 leveduras vivas ou como também são chamadas “direct-feed microbials (DFM)”, em que cepas
338 específicas são submetidas a câmaras fermentativas para crescimento e multiplicação, após
339 atingido o volume desejado são separadas do meio de cultura e secas em baixa temperatura (~
340 -54 °C) ou liofilizadas (FLYNN; ADAMS, 1981; LALLEMAND, 2022). Este tipo de
341 processamento garante a viabilidade das leveduras, mantendo sua capacidade em formar novas
342 colônias, permitindo assim o seu uso como probiótico (SHURSON, 2018). As leveduras vivas
343 puras têm uma composição de 15-25 bilhões de células viáveis por grama de produto (15-25 x
344 10⁹ UFC/g), alguns produtos à base de leveduras vivas também podem levar em sua composição
345 outros ingredientes, muitos destes produtos a concentração de células viáveis são de 5 x 10⁹
346 UFC/g (STONE, 2006).

347

348 **2.1.5.2. *Cultura de leveduras***

349 As culturas de leveduras geralmente são compostas pelo meio de cultura, leveduras e seus
350 metabólitos produzidos durante o processo de fermentação, apesar de conterem células viáveis
351 do fungo não são devidamente considerados como fonte de biomassa da levedura, por conter
352 um número reduzido de células viáveis devido à sua diluição ao meio (SHURSON, 2018). Este
353 tipo de probiótico é utilizado por proporcionar benefícios nutricionais e efeito na saúde dos
354 animais por conter diversos metabolitos oriundos da fermentação das leveduras, como
355 peptídeos, ésteres, álcoois e ácidos orgânicos (SHURSON, 2018).

356

357 **2.1.5.3. *Esporos***

358 Os esporos de certas bactérias são utilizados principalmente quando há essa possibilidade,
359 visto que são células em estado vegetativo, capazes de sobreviver em condições adversas de
360 temperatura e desidratação, e quando em contato com o trato gastrointestinal dos animais são
361 capazes de germinar, proliferar e esporular novamente, quando os recursos (nutrientes) são
362 exauridos do meio (HONG; LE; CUTTING, 2005). Esta habilidade de alguns microrganismos
363 em formar esporos permite tanto o armazenamento por maior tempo, quanto a uma maior
364 viabilidade quando comparado a outros métodos utilizados em probióticos não esporulados,
365 como é o caso do processo de liofilização ou secagem em câmaras frias, em que naturalmente

366 reduzem a viabilidade de algumas unidades de microrganismos (MINGMONGKOLCHAI;
367 PANBANGRED, 2018).

368

369 **2.1.5.4. Resíduos de bioprodutos**

370 No mundo é produzido uma grande quantidade de subprodutos ou resíduos formados nos
371 processos de produção de etanol e bebidas alcoólicas, obtidas pela fermentação de grãos de
372 cereais e outros ingredientes. Estes subprodutos ou resíduos de destilarias são secos, dando
373 origem ao DDG (distillers dried grains) onde não apenas contém os grãos e ingrediente
374 utilizados para a formação do produto principal (etanol ou bebidas alcoólicas) mas também as
375 leveduras utilizadas (SHURSON, 2018). Apesar dos diferentes processos de fabricação,
376 viabilidade das leveduras e composições químicas, alguns destes subprodutos têm se mostrado
377 benéficos à saúde dos animais e são utilizados como ingredientes na formulação da dieta para
378 animais (WAMBUI; ABDULRAZAK, 2010).

379

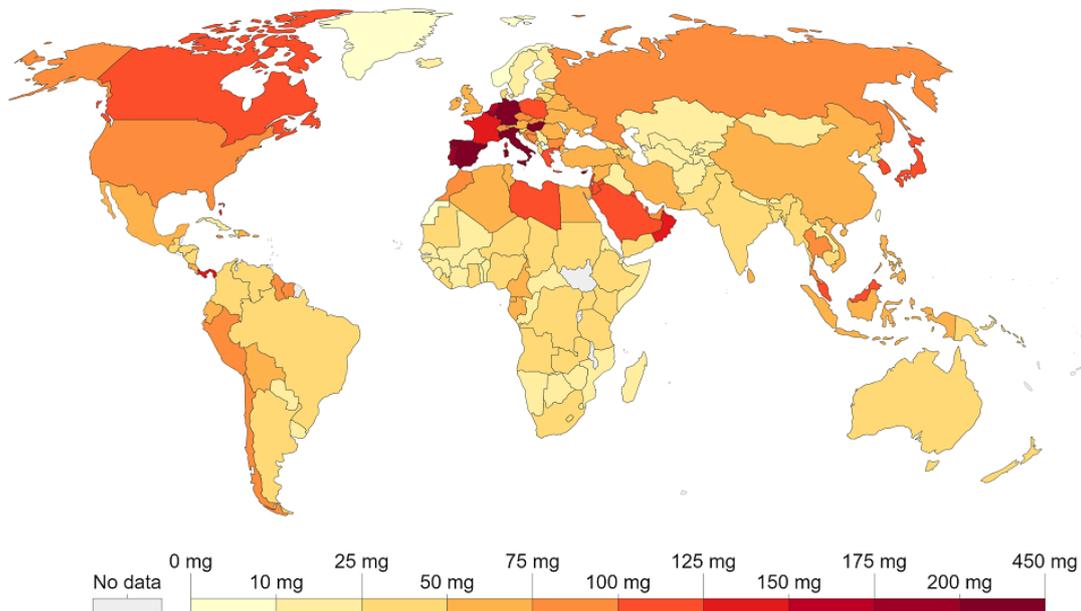
380 **2.2. Antibióticos promotores de crescimento**

381 A descoberta do efeito promotor de crescimento de alguns antibióticos foi em meados de
382 1940 (CASTANON, 2007). Já as publicações mais antigas apontando os efeitos benéficos são
383 de Moore e Everson (1946), que estudaram o uso de sulfasuxidina, estreptotricina e
384 estreptomicina em aves e de Jukes *et al.* (1950) que estudaram o uso de aureomicina em suínos.
385 A aprovação pela agência de Administração de Alimentos e Medicamentos dos Estados Unidos
386 (US-FDA) do uso de antibióticos nos animais sem prescrição médica foi realizada em 1951,
387 enquanto que na Europa entre 1950 e 1960, cada país aprovou e regulou individualmente o uso
388 dos antibióticos para utilização na alimentação dos animais de produção (CASTANON, 2007;
389 JONES; RICKE, 2003).

390 A popularização do uso de antibióticos como aditivos alimentares se deu pela grande
391 influência no trato gastrointestinal dos animais, suprimindo a competição de microrganismos
392 indesejáveis que utilizam nutrientes e produzem substâncias indesejáveis ou tóxicas e
393 melhorando o desempenho animal (GETABALEW; ALEMNEH; ZEWDIE, 2020). Assim, o
394 uso de antibióticos utilizados de maneira não terapêutica, ou seja, com a função de promotor de
395 crescimento tornou-se numa prática globalmente praticada (CHATTOPADHYAY, 2014).
396 Desde então grande parte da produção de carne no mundo tem utilizado antibióticos promotores
397 de crescimento, como observado na Figura 4, em 2010 a Espanha utilizou cerca de 259,5 mg
398 de antibióticos por kg de carne produzida (corrigido por número e tipo de animal, PCU),

399 enquanto a Itália utilizou 421,1 mg/PCU, Estados Unidos da América utilizou 84,5 mg/PCU e
 400 Brasil 44,5 mg/PCU.

401



402

403 Figura 4. Uso de antibióticos na pecuária em miligramas de uso total por quilograma de
 404 produção de carne em 2010. (Adaptado de Broadfoot *et al.*, 2017; EMA, 2017; Van Boeckel *et*
 405 *al.*, 2015)

406

407 Como consequência do uso desenfreado de antibióticos na alimentação dos animais de
 408 produção (principalmente bovinos, aves e suínos) foi notado aumento em casos hospitalares de
 409 pessoas que tinham infecções bacterianas resistente à alguns antibióticos usados pela medicina
 410 humana, ocorrendo em primeiro momento a proibição do uso de antibióticos utilizados em
 411 humanos como aditivos nos alimentos dos animais por alguns países (CHATTOPADHYAY,
 412 2014). Porém, a Suécia foi um dos primeiros países a banir o uso de antibióticos como
 413 promotores de crescimento, em 1986, seguido pela Dinamarca em 1998 e na sequência pela
 414 união europeia em 2006, todos pelo mesmo motivo: “a precaução do desenvolvimento de
 415 resistência bacteriana” (CASTANON, 2007). Porém o uso de monensina sódica foi reavaliado
 416 em 2007 e autorizado para ser utilizado como coccidiostático em aves (EMA, 2017).

417

418 Russell e Houlihan (2003), notaram que não foram identificados genes responsáveis por
 419 resistências das bactérias ruminais aos ionóforos, e que o uso desses na alimentação animais é
 420 pouquíssimo provável em transferir a resistência bacteriana aos humanos. Neumann *et al.*
 (2018), avaliaram resíduo de monensina sódica em tecidos e órgãos pós abate e concluíram que

421 o uso deste ionóforo em bovinos confinados além de melhorar a produtividade e performance
422 econômica, não deixa resíduos nos tecidos consumíveis.

423 Atualmente, na união europeia é permitido o uso de monensina em vacas de leite na forma
424 de dispositivo intraruminal de liberação contínua (Kexxtone®, Elanco GmbH, Cuxhaven,
425 Alemanha) como forma de prevenir cetose nos animais (EMEA; VETERINARY MEDICINES
426 AND INSPECTIONS, 2013).

427 De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), no Brasil
428 é proibido o uso das seguintes substâncias na alimentação animal: Organoclorados (Portarias
429 nº 329/1985 e 191/1986); Avoparcina (Of. Circ. DFPA nº 047/1998); Arsenicais e antimoniais
430 (Portaria nº 31, 29/01/2002); Cloranfenicol e nitrofuranos (IN nº 09, 27/06/2003); Substâncias
431 com efeito tireostático, androgênico, estrogênico, gestagênico e β -agonista em aves (IN nº 17,
432 18/06/2004); Olaquinox (IN nº 11, 24/11/2004); Carbadox (IN nº 35, 14/11/2005); Violeta de
433 Genciana (IN nº 34, 13/09/2007); Anfenicois, tetraciclina, β -lactâmicos (penicilinas e
434 cefalosporinas), quinolonas e sulfonamidas sistêmicas (IN nº 26, 9/07/2009 (Portaria nº
435 193/1998)); Substâncias, naturais ou artificiais, com atividade anabolizante hormonal em
436 bovinos de abate (IN nº 55, 01/12/2011); Espiramicina e eritromicina (IN nº 14, 17/05/2012);
437 β -agonista em bovinos (Ato nº 01, 01/11/2012); Colistina (como aditivo melhorador de
438 desempenho) (IN nº 45, 22/11/2016); Tilosina, lincomicina e tiamulina (como aditivo
439 melhorador de desempenho)(IN nº 01, de 13/01/2020).

440 Os aditivos antimicrobianos permitidos e mais utilizados como promotores de crescimento
441 para bovinos no Brasil são: bacitracina, flavomicina, lasalocida, monensina, narasina,
442 salinomicina e virginiamicina (BRESSLAU, 2017). No Canadá, é aprovado o uso dos seguintes
443 medicamentos para bovinos: amprolim, cloridrato de clortetraciclina, decoquinato,
444 fenbendazol, lasalocida sódica, lubabergon, acetato de melengestrol, monensina sódica,
445 tartarato de morantel, cloridrato de oxitetraciclina, poloxaleno, cloridrato de ractopamina,
446 salinomicina sódica, tilmicosina, fosfato de tilosina, virginiamicina e cloridrato de zilpaterol
447 (CFIA, 2018). Já nos EUA a lista de medicamentos liberados inclui os principais antibióticos
448 promotores de crescimento como propionato de salinomicina, lasalocida, maduramicina,
449 monensina sódica e narasina (NOVILLA, 2011; SHIELDS, 2009).

450

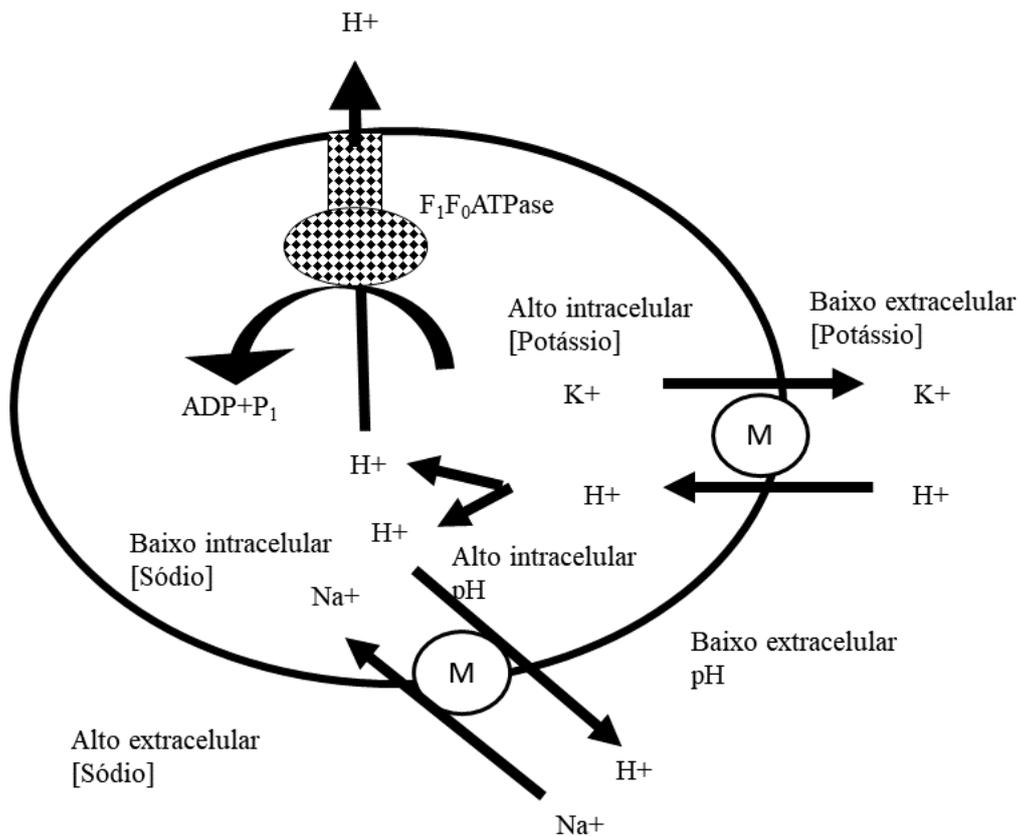
451 **2.2.1. Ionóforos**

452 Ionóforos são uma classe de antibióticos de origem bacteriana (*Streptomyces*), caracterizados
453 principalmente por facilitarem o movimento de íons inorgânicos monovalentes e divalentes
454 através de membranas biológicas. São compostos de baixa massa molecular, solúveis em

455 lipídeos, onde cada ionóforo atua em íons específicos (K^+ , Na^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+}) carregando-o
456 através da membrana, e são divididos em duas classes, os carreadores iônicos móveis e os
457 carreadores formadores de canal (DEVLIN, 2004; MARCUCCI *et al.*, 2014). Os carreadores
458 iônicos móveis difundem facilmente na membrana e passam a transportar os íons de um lado
459 para o outro, como exemplo se tem a monensina, com ação “antiporte” e eletroneutro e a
460 valinomicina, com ação “uniporte” e eletrogênico, já os formadores de canal formam um canal
461 que atravessa a membrana e através dessa estrutura que conseguem difundir os íons, como
462 exemplo a gramicidina e nistatina (DEVLIN, 2004).

463 Os principais ionóforos utilizados como aditivos na alimentação de bovinos são
464 salinomicina, monensina e lasalocida (NOGUEIRA; FRANÇA; PEIXOTO, 2009). A
465 monensina sódica possui maior preferência pelo Na^+ e apenas afinidade por íons monovalente,
466 a salinomicina possui maior afinidade por íons K^+ e pouca afinidade por íons bivalentes, e a
467 lasalocida têm afinidade tanto por cátions bivalentes como por monovalentes (Na^+ e K^+)
468 (MARCUCCI *et al.*, 2014; SALMAN; PAZIANI; SOARES, 2006).

469 Nos ruminantes o mecanismo de ação dos ionóforos no rúmen é realizado com a ligação do
470 mesmo aos cátions de preferência, e os transportam pela membrana celular das bactérias, com
471 a entrada destes cátions no interior das células, a bactéria tenta manter sua osmolaridade
472 acionando seus mecanismos de bomba iônica, contudo utiliza suas reservas de energia, sendo
473 levada à exaustão pelo contínuo fluxo de íons carregados pelos ionóforos, afetando
474 principalmente bactérias Gram-positivas, favorecendo o crescimento das Gram-negativas por
475 serem mais resistentes à ação dos ionóforos, que acabam por dominar o meio, já que é reduzida
476 a competição por substratos no rúmen (Figura 5) (AZZAZ; MURAD; MORSY, 2015;
477 MARCUCCI *et al.*, 2014).



478

479 Figura 5. Modo de ação da monensina em bactérias Gram-positivas (Adaptado de Azzaz *et al.*,
480 2015).

481

482 2.2.1.1. Uso de monensina em dietas para bovinos

483 A monensina sódica desde a sua descoberta como promotor de crescimento para bovinos se
484 tornou um dos aditivos mais utilizados em todo o mundo, sua ação direta na população
485 microbiana ruminal seleciona determinados grupos de bactérias. Isto ocasiona em mudanças na
486 quantidade e perfil de ácidos orgânicos produzidos pelos microrganismos, com aumento na
487 produção de propionato, redução na produção de acetato e melhoria na eficiência alimentar
488 (GONZÁLEZ *et al.*, 2012; HRISTOV *et al.*, 2013; WEISS *et al.*, 2020).

489 Parte da sua popularização como aditivo alimentar se deve pela utilidade nos rebanhos em
490 confinamento, que recebem uma dieta com alta concentração energética proveniente de grãos
491 amiláceos, que podem causar distúrbios metabólicos como a acidose ruminal nesses animais
492 (VIANA *et al.*, 2021). Sua recomendação para as dietas desses rebanhos ocorre por dois
493 mecanismos distintos de ação dos ionóforos, o primeiro é pela capacidade deles em reduzir a
494 população de bactérias formadoras de ácido lático como a *Streptococcus bovis* e o segundo
495 mecanismo é pela alteração no consumo de alimento, com modificações no comportamento
496 ingestivo dos animais, tanto reduzindo a velocidade de entrada de carboidratos rapidamente

497 fermentáveis no rúmen quanto reduzindo o consumo total de alimento, e como consequência
498 da combinação destes dois mecanismos é melhorada a eficiência de utilização do alimento
499 (ALMEIDA *et al.*, 2019; AZZAZ; MURAD; MORSY, 2015; SILVA *et al.*, 2021). Outro efeito
500 importante é na redução da produção de metano, pois a monensina atua na redução da
501 disponibilidade de hidrogênio e formato, elementos fundamentais para as bactérias
502 metanogênicas (AZZAZ; MURAD; MORSY, 2015; THOMPSON *et al.*, 2019). Como
503 apresentado na metanálise de Appuhamy *et al.* (2013), ao qual foi observado efeito consistente
504 da monensina sódica em reduzir a produção de metano em ruminantes. Além disso, na
505 metanálise de Duffield *et al.* (2012), são relatados efeito linear na melhoria da eficiência
506 alimentar, redução consumo de matéria seca e maior ganho de peso médio dos animais com a
507 utilização da monensina sódica.

508

509 **2.2.1.2. Uso de salinomicina em dietas para bovinos**

510 A preferência de utilização da salinomicina se dá para bovinos manejados em pastos
511 (BAGLEY *et al.*, 1988; ITAVO *et al.*, 2020; MEDEIROS; GOMES; BUNGENSTAB, 2015;
512 MOMBACH *et al.*, 2021), principalmente por este ionóforo afetar menos o consumo de
513 alimento em comparação com a monensina sódica, pois devido a menor densidade energética
514 da dieta consumida, a redução no consumo poderia resultar em menor desempenho dos animais.

515 Estudando o efeito da salinomicina em vacas de leite, Matloup *et al.* (2017) observaram
516 aumento na ingestão de alimento, digestibilidade dos nutrientes, produção de leite e eficiência
517 na produção de leite. Ainda, Neumann *et al.* (2016) avaliando o desempenho produtivo e
518 inocuidade da carne de bovinos terminados em confinamento que receberam salinomicina,
519 observaram que o aditivo não alterou o consumo de alimento em comparação com animais que
520 não receberam o aditivo, também melhor ganho de peso e conversão alimentar foram obtidos
521 nos animais que receberam salinomicina. Com relação a inocuidade da carne, Neumann *et al.*
522 (2016) relataram que o jejum pré-abate de 16 horas foi suficiente para que tecidos consumíveis
523 não apresentassem resíduo significantes do ionóforo.

524 Todavia, quando a salinomicina foi avaliada na dieta de bovinos de corte a pasto não causou
525 efeito significativo no pH ruminal, nitrogênio amoniacal, nem na degradabilidade da matéria
526 seca e da fibra em detergente ácido (FERREIRA *et al.*, 2019). Também, no estudo de Limede
527 *et al.* (2021) não foi observado melhor ganho de peso, peso vivo final (corrigido para peso
528 vazio), consumo de alimento e nem eficiência de utilização do alimento em novilhos com dieta
529 a base de forragem e suplementados com salinomicina.

530

531 2.2.1.3. Uso de lasalocida em dietas para bovinos

532 A utilização da lasalocida, assim como da monensina sódica se deve pela melhoria no
533 desempenho dos animais, por meio da seleção de microrganismos ruminais resultando no
534 aumento da produção de propionato (BERGER; RICKE; FAHEY, 1981; GOLDER; LEAN,
535 2016). Contudo, o efeito na redução do consumo e palatabilidade da salinomocina é menor que
536 o da monensina sódica (BARRERAS *et al.*, 2013; ERICKSON *et al.*, 2004).

537 Quando avaliada a suplementação com lasalocida em novilhas de corte sob estresse por
538 calor em dieta de terminação, foi observado aumento no ganho de peso, eficiência alimentar
539 sem afetar o consumo de alimento esperado (BARRERAS *et al.*, 2013). Similar ao descrito na
540 metanálise de Golder e Lean (2016), ao analisar a lasalocida em função da dose administrada e
541 duração da administração, foi obtido efeito linear do ganho de peso diário, eficiência do ganho
542 e eficiência alimentar conforme aumento da dose, porém foi observado redução linear no
543 consumo de alimento de acordo com aumento da dose. Todavia, quando avaliado em bovinos
544 criados a pasto, a suplementação com lasalocida não se mostrou efetiva em melhor o ganho de
545 peso (PICKETT; GUNTER, 2019; PICKETT *et al.*, 2020).

546

547 2.2.2. Não-ionóforos

548 Os antibióticos não-ionóforos utilizados para bovinos e autorizados pelo Ministério da
549 Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil são a virginiamicina e a flavomicina
550 (BRESSLAU, 2017). A virginiamicina é um antibiótico, produzido pelo microrganismo
551 *Streptomyces virginiae*, formado por dois componentes químicos (fator M e fator S) que inibem
552 a formação de ligações peptídicas, ao entrarem em contato com bactérias Gram-positivas
553 bloqueiam a síntese de proteínas no interior da célula, ocasionando no impedimento do
554 crescimento delas (MARINO; MEDEIROS, 2015). O efeito apenas em bactérias do tipo Gram-
555 positivas se deve a impermeabilidade da parede celular das bactérias Gram-negativas, as
556 tornando mais resistente à virginiamicina (VIANA *et al.*, 2021).

557 Já a flavomicina (em inglês *Bambermycin*) é um complexo recuperado a partir do
558 *Streptomyces bambergiensis* que contém principalmente *Moenomycin A* e *C*, é um inibidor da
559 síntese da camada peptidoglicana, que atua primariamente contra bactérias Gram-positivas e
560 apresentam parede externa formada por peptidoglicanos, permeável a esse aditivo (HUBER;
561 NESEMANN, 1968; NCBI, 2022).

562

563

564 **2.2.2.1. Uso de virginiamicina em dietas para bovinos**

565 Ítavo *et al.* (2020) observaram melhor desempenho e maior rentabilidade econômica em
566 novilhos de corte em regime de pastagem que foi fornecido suplemento concentrado com
567 virginiamicina, do que os animais que receberam salinomicina ou sem aditivo. Já quando a
568 virginiamicina foi comparada a suplementação com monensina em estudo de metanálise, ambos
569 os aditivos resultaram em melhores ganho de peso diário comparado ao controle (sem aditivo),
570 porém não diferindo entre si, mas quando ajustado para a mesma dose, animais que receberam
571 a virginiamicina apresentaram melhor ganho de peso em comparação aos que receberam
572 monensin, sem que causassem redução no consumo de alimento (GOROCICA; TEDESCHI,
573 2017).

574 Quando a virginiamicina foi combinada com a salinomicina na dieta de terminação de
575 novilhos de corte, foi possível observar redução no consumo de alimento, mas manutenção do
576 ganho médio diário e melhoria na estimativa de consumo de energia líquida de manutenção e
577 energia líquida de ganho em comparação a animais que receberam apenas a salinomicina
578 (NUÑEZ *et al.*, 2013).

579

580 **2.2.2.2. Uso de flavomicina em dietas para bovinos**

581 Ao avaliar o uso de flavomicina em novinhos na fase de terminação, Smith *et al.* (2020)
582 obtiveram resultados de maior consumo de alimento, marmoreio e carcaças classificadas como
583 “Choice” (USDA quality grade) nos animais que receberam flavomicina comparado aos que
584 receberam monensina + tilosina. Porém, em outro estudo avaliando a inclusão de flavomicina
585 e salinomicina em bovinos a pasto, não foi observado melhor eficiência alimentar, nem no
586 consumo de matéria seca, nutrientes ou digestibilidade dos nutrientes com a utilização destes
587 aditivos (LIMEDE *et al.*, 2021).

588 Quando combinado flavomicina ou virginiamicina com monensina na dieta de novilhos em
589 terminação com dieta sem volumoso, Lemos *et al.* (2016) não obtiveram diferenças
590 significativas entre os tratamentos para os índices produtivos de ganho de peso, nem para
591 digestibilidade, pH ruminal, N-NH₃, AGV e número de protozoários.

592

593

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

594

595

596 ABIEC, A. B. D. I. E. D. C. Perfil da pecuária no Brasil. **BeefREPORT**, p. 49, 2020. Disponível em:
597 <http://www.abiec.com.br/controle/uploads/arquivos/sumario2019portugues.pdf>. Acesso em: 3 fev.
598 2022.

599

600 ALAWNEH, J. I.; JAMES, A. S.; PHILLIPS, N.; FRASER, B.; JURY, K.; SOUST, M.; OLCHOWY,
601 T. W. J. Efficacy of a Lactobacillus-Based Teat Spray on Udder Health in Lactating Dairy Cows.
602 **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, p. 584436, 2020. Disponível em:
603 <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.584436>

604

605 ALMEIDA, M. T. C.; PASCHOALOTO, J. R.; PEREZ, H. L.; CARVALHO, V. B.; HOMEM JUNIOR,
606 A. C.; FAVARO, V. R.; BLAIR, H. T.; EZEQUIEL, J. M. B. Effect of adding crude glycerine to diets
607 with feed additives on the feed intake, ruminal degradability, volatile fatty acid concentrations and in
608 vitro gas production of feedlot Nellore cattle. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**,
609 v. 103, n. 4, p. 988–996, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jpn.13105>

610

611 APPUHAMY, J. R. N. A. D.; STRATHE, A. B.; JAYASUNDARA, S.; WAGNER-RIDDLE, C.;
612 DIJKSTRA, J.; FRANCE, J.; KEBREAB, E. Anti-methanogenic effects of monensin in dairy and beef
613 cattle: A meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 8, p. 5161–5173, 2013. Disponível em:
614 <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5923>

615

616 AZZAZ, H. H.; MURAD, H. A.; MORSY, T. A. Utility of ionophores for ruminant animals: A review.
617 **Asian Journal of Animal Sciences**, v. 9, n. 6, p. 254–265, 2015. Disponível em:
618 <https://doi.org/10.3923/ajas.2015.254.265>

619

620 BAGLEY, C. P.; FEAZEL, J. I.; MORRISON, D. G.; LUCAS, D. M. Effects of Salinomycin on
621 Ruminal Characteristics and Performance of Grazing Beef Steers. **Journal of Animal Science**, v. 66, n.
622 3, p. 792, 1988. Disponível em: <https://doi.org/10.2527/jas1988.663792x>

623

624 BARRERAS, A.; CASTRO-PÉREZ, B. I.; LÓPEZ-SOTO, M. A.; TORRENTERA, N. G.;
625 MONTAÑO, M. F.; ESTRADA-ANGULO, A.; RÍOS, F. G.; DÁVILA-RAMOS, H.; PLASCENCIA,
626 A.; ZINN, R. A. Influence of ionophore supplementation on growth performance, dietary energetics and
627 carcass characteristics in finishing cattle during period of heat stress. **Asian-Australasian Journal of**
628 **Animal Sciences**, v. 26, n. 11, p. 1553–1561, 2013. Disponível em:
629 <https://doi.org/10.5713/ajas.2013.13216>

630

- 631 BEIJERINCK, M. Anhaufungsversuche mit Ureumbakterien. **Centralblatt f. Bakteriologie**, n. 7, p.
632 33–61, 1901. Disponível em: <https://ci.nii.ac.jp/naid/10010576539/>. Acesso em: 14 jan. 2022.
633
- 634 BERGER, L. L.; RICKE, S. C.; FAHEY, G. C. Comparison of two forms and two levels of lasalocid
635 with monensin on feedlot cattle performance. **Journal of Animal Science**, v. 53, n. 6, p. 1440–1445,
636 1981. Disponível em: <https://doi.org/10.2527/jas1982.5361440x>
637
- 638 BOWMAN, S. M.; QUANTZ, S. T.; REHBERGER, T.; HABIB, K.; SMITH, K.; BOOMER, W.;
639 TARPOFF, A. J.; BRADFORD, B. J.; GRAGG, S. E.; JONES, C. K. 47 Effects of Lactobacillus and
640 Bacillus Probiotics on Pre-ruminating Calf Growth Performance and Efficiency. **Journal of Animal**
641 **Science**, v. 99, n. Supplement_1, p. 149–150, 2021. Disponível em:
642 <https://doi.org/10.1093/jas/skab054.255>
643
- 644 BRESSLAU, S. **Seminário CBPA/DEPROS/SMC e ENAGRO sobre boas práticas na suinocultura**
645 **- Plano de Ação Nacional para Prevenção e Controle da Resistência aos Antimicrobianos**. Brasília:
646 [s. n.], 2017. Disponível em: [https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sustentabilidade/bem-estar-](https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sustentabilidade/bem-estar-animal/eventos/arquivos/SUZANA.MAPACPRASeminrioSMCBPAsuinoculturamaro2017.pdf)
647 [animal/eventos/arquivos/SUZANA.MAPACPRASeminrioSMCBPAsuinoculturamaro2017.pdf](https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sustentabilidade/bem-estar-animal/eventos/arquivos/SUZANA.MAPACPRASeminrioSMCBPAsuinoculturamaro2017.pdf).
648 Acesso em: 27 jan. 2022.
649
- 650 BROADFOOT, F.; HEALEY, K.; BROWN, S.; VIDAL, A. **UK-VARSS 2016 UK-Veterinary**
651 **Antibiotic Resistance and Sales Surveillance Report**. [S. l.: s. n.]. Disponível em:
652 [www.nationalarchives.gov.uk/doc/open-government-](http://www.nationalarchives.gov.uk/doc/open-government-licence/version/3/oremailPSI@nationalarchives.gsi.gov.uk)
653 [licence/version/3/oremailPSI@nationalarchives.gsi.gov.uk](http://www.nationalarchives.gov.uk/doc/open-government-licence/version/3/oremailPSI@nationalarchives.gsi.gov.uk). Acesso em: 27 jan. 2022.
654
- 655 BROUSSEAU, J. P.; TALBOT, G.; BEAUDOIN, F.; LAUZON, K.; ROY, D.; LESSARD, M. Effects
656 of probiotics *Pediococcus acidilactici* strain MA18/5M and *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *boulardii*
657 strain SB-CNCM I-1079 on fecal and intestinal microbiota of nursing and weanling piglets. **Journal of**
658 **Animal Science**, v. 93, n. 11, p. 5313–5326, 2015. Disponível em: [https://doi.org/10.2527/jas.2015-](https://doi.org/10.2527/jas.2015-9190)
659 9190
660
- 661 BULL, M.; PLUMMER, S.; MARCHESI, J.; MAHENTHIRALINGAM, E. **The life history of**
662 **Lactobacillus acidophilus as a probiotic: A tale of revisionary taxonomy, misidentification and**
663 **commercial success**. [S. l.]: Oxford Academic, 2013. Disponível em: [https://doi.org/10.1111/1574-](https://doi.org/10.1111/1574-6968.12293)
664 6968.12293
665
- 666 CALLAWAY, E. S.; MARTIN, S. A. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* Culture on Ruminant
667 Bacteria that Utilize Lactate and Digest Cellulose. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 9, p. 2035–2044,

- 668 1997. Disponível em: [https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302\(97\)76148-4](https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302(97)76148-4)
- 669
- 670 CASTANON, J. I. R. History of the Use of Antibiotic as Growth Promoters in European Poultry Feeds.
- 671 **Poultry Science**, v. 86, n. 11, p. 2466–2471, 2007. Disponível em: [https://doi.org/10.3382/PS.2007-](https://doi.org/10.3382/PS.2007-00249)
- 672 00249
- 673
- 674 CFIA. Medication sequencing guideline for management of drug carryover - Canadian Food Inspection
- 675 Agency. **Canadian Food Inspection Agency**, p. 1, 2018. Disponível em:
- 676 [http://www.inspection.gc.ca/animals/feeds/inspection-program/medication-](http://www.inspection.gc.ca/animals/feeds/inspection-program/medication-sequencing/eng/1389362488069/1389362490053)
- 677 [sequencing/eng/1389362488069/1389362490053](http://www.inspection.gc.ca/animals/feeds/inspection-program/medication-sequencing/eng/1389362488069/1389362490053)
- 678
- 679 CHATTOPADHYAY, M. K. Use of antibiotics as feed additives: A burning question. **Frontiers in**
- 680 **Microbiology**, v. 5, n. JULY, p. 334, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/FMICB.2014.00334>
- 681
- 682 CHEN, L.; REN, A.; ZHOU, C.; TAN, Z. Effects of *Lactobacillus acidophilus* supplementation for
- 683 improving in vitro rumen fermentation characteristics of cereal straws. **Italian Journal of Animal**
- 684 **Science**, v. 16, n. 1, p. 52–60, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/1828051X.2016.1262753>
- 685
- 686 CROWCH, M. **Classification of *Saccharomyces boulardii* | Professionals**. [s. l.], 2017. Disponível
- 687 em: [https://www.optibacprobiotics.com/professionals/latest-research/general-health/classification-of-](https://www.optibacprobiotics.com/professionals/latest-research/general-health/classification-of-saccharomyces-boulardii)
- 688 [saccharomyces-boulardii](https://www.optibacprobiotics.com/professionals/latest-research/general-health/classification-of-saccharomyces-boulardii). Acesso em: 11 jan. 2022.
- 689
- 690 DAMODHARAN, K.; PALANIYANDI, S. A.; YANG, S. H.; SUH, J. W. Functional probiotic
- 691 characterization and in vivo cholesterol-lowering activity of *Lactobacillus helveticus* isolated from
- 692 fermented cow milk. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 26, n. 10, p. 1675–1686, 2016.
- 693 Disponível em: <https://doi.org/10.4014/jmb.1603.03005>
- 694
- 695 DECLERCK, J. C.; REEVES, N. R.; MILLER, M. F.; JOHNSON, B. J.; DUCHARME, G. A.;
- 696 RATHMANN, R. J. The influence of *Megasphaera elsdenii* on rumen morphometrics of cull cows
- 697 immediately stepped up to a high-energy finishing diet. **Translational Animal Science**, v. 4, n. 1, p.
- 698 194–205, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/TAS/TXZ185>
- 699
- 700 DEHGHAN-BANADAKY, M.; EBRAHIMI, M.; MOTAMENY, R.; HEIDARI, S. R. Effects of live
- 701 yeast supplementation on mid-lactation dairy cows performances, milk composition, rumen digestion
- 702 and plasma metabolites during hot season. **Journal of Applied Animal Research**, v. 41, n. 2, p. 137–
- 703 142, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/09712119.2012.739085>
- 704

- 705 DEVLIN, T. M. **BIOQUIMICA: LIBRO DE TEXTO CON APLICACIONES CLINICAS (VOL.**
706 **2) (4ª ED.)** -. 4. ed. Barcelona: Reverté, 2004.
707
- 708 DIAZ, T. G.; BRANCO, A. F.; JACOVACI, F. A.; JOBIM, C. C.; BOLSON, D. C.; DANIEL, J. L. P.
709 Inclusion of live yeast and mannan-oligosaccharides in high grain-based diets for sheep: Ruminal
710 parameters, inflammatory response and rumen morphology. **PLoS ONE**, v. 13, n. 2, 2018. Disponível
711 em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193313>
712
- 713 DU, R.; JIAO, S.; DAI, Y.; AN, J.; LV, J.; YAN, X.; WANG, J.; HAN, B. Probiotic *Bacillus*
714 *amyloliquefaciens* C-1 improves growth performance, stimulates GH/IGF-1, and regulates the gut
715 microbiota of growth-retarded beef calves. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. AUG, p. 2006, 2018.
716 Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02006>
717
- 718 DUAR, R. M.; LIN, X. B.; ZHENG, J.; MARTINO, M. E.; GRENIER, T.; PÉREZ-MUÑOZ, M. E.;
719 LEULIER, F.; GÄNZLE, M.; WALTER, J. **Lifestyles in transition: evolution and natural history of**
720 **the genus *Lactobacillus***. [S. l.]: Oxford Academic, 2017. Disponível em:
721 <https://doi.org/10.1093/femsre/fux030>
722
- 723 DUFFIELD, T. F.; MERRILL, J. K.; BAGG, R. N. Meta-analysis of the effects of monensin in beef
724 cattle on feed efficiency, body weight gain, and dry matter intake. **Journal of Animal Science**, v. 90,
725 n. 12, p. 4583–4592, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.2527/jas.2011-5018>
726
- 727 EDWARDS-INGRAM, L.; GITSHAM, P.; BURTON, N.; WARHURST, G.; CLARKE, I.; HOYLE,
728 D.; OLIVER, S. G.; STATEVA, L. Genotypic and physiological characterization of *Saccharomyces*
729 *boulardii*, the probiotic strain of *Saccharomyces cerevisiae*. **Applied and Environmental**
730 **Microbiology**, v. 73, n. 8, p. 2458–2467, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AEM.02201-06>
731
- 732 EFSA (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY). Scientific Opinion on the safety and efficacy of
733 Toyocerin® (*Bacillus toyonensis*) as a feed additive for chickens for fattening, weaned piglets, pigs for
734 fattening, sows for reproduction, cattle for fattening and calves for rearing and for rabbits for fat. **EFSA**
735 **Journal**, v. 12, n. 7, p. 17, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3766>
736
- 737 ELSDEN, S. R.; LEWIS, D. The production of fatty acids by a gram-negative coccus. **Biochemical**
738 **Journal**, v. 55, n. 1, p. 183–189, 1953. Disponível em: <https://doi.org/10.1042/bj0550183>
739
- 740 ELSDEN, S. R.; VOLCANI, B. E.; GILCHRIST, F. M. C.; LEWIS, D. Properties of a fatty acid forming
741 organism isolated from the rumen of sheep. **Journal of Bacteriology**, v. 72, n. 5, p. 681–689, 1956.

- 742 Disponível em: <https://doi.org/10.1128/jb.72.5.681-689.1956>
743
- 744 EMA (EUROPEAN MEDICINE AGENCY). **Sales of veterinary antimicrobial agents in 30**
745 **European countries in 2015. (EMA/184855/2017)Seventh ESVAC report.** London.
746
- 747 EMEA. **COMMITTEE FOR MEDICINAL PRODUCTS FOR VETERINARY USE MONENSIN**
748 **(Cattle, including dairy cows). EMEA/CVMP/185123/2007-Fina.** London: [s. n.], 2007. Disponível
749 em: <http://www.emea.europa.eu>. Acesso em: 1 fev. 2022.
750
- 751 ERICKSON, P. S.; DAVIS, M. L.; MURDOCK, C. S.; PASTIR, K. E.; MURPHY, M. R.; SCHWAB,
752 C. G.; MARDEN, J. I. Ionophore taste preferences of dairy heifers. **Journal of Animal Science**, v. 82,
753 n. 11, p. 3314–3320, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.2527/2004.82113314x>
754
- 755 FAO. **World Food and Agriculture - Statistical Yearbook 2020.** Rome: FAO, 2020. *E-book*.
756 Disponível em: <https://doi.org/10.4060/cb1329en>
757
- 758 FEINER, G. The microbiology of specific bacteria. *In: Meat Products Handbook.* [S. l.]: Woodhead
759 Publishing, 2006. p. 595–615. Disponível em: <https://doi.org/10.1533/9781845691721.3.595>
760
- 761 FERREIRA, S. F.; DE RESENDE FERNANDES, J. J.; PADUA, J. T.; BILEGO, U. O.; DE FREITAS
762 NETO, M. D.; FURTADO, R. G. Use of virginiamycin and salinomycin in the diet of beef cattle reared
763 under grazing during the rainy season: Performance and ruminal metabolism. **Ciencia Animal**
764 **Brasileira**, v. 20, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1809-6891v20e-26867>
765
- 766 FIJAN, S. **Microorganisms with claimed probiotic properties: An overview of recent literature.** [S.
767 l.]: Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), 2014. Disponível em:
768 <https://doi.org/10.3390/ijerph110504745>
769
- 770 FLYNN, G.; ADAMS, M. R. **An industrial profile of yeast production.** London: Tropical Products
771 Institute, 1981.
772
- 773 GARCIA-MAZCORRO, J. F.; ISHAQ, S. L.; RODRIGUEZ-HERRERA, M. V; GARCIA-
774 HERNANDEZ, C. A.; KAWAS, J. R.; NAGARAJA, T. G. Review: Are there indigenous
775 *Saccharomyces* in the digestive tract of livestock animal species? Implications for health, nutrition and
776 productivity traits. **Animal**, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S1751731119001599>
777
- 778 GETABALEW, M.; ALEMNEH, T.; ZEWDIE, D. Types and Uses of Growth Promoters in Beef Cattle.

- 779 **Journal of Veterinary Medicine and Animal Sciences**, v. 3, n. 1, p. 1–5, 2020.
780
- 781 GHAZANFAR, S.; KHALID, N.; AHMED, I.; IMRAN, M. Probiotic Yeast: Mode of Action and Its
782 Effects on Ruminant Nutrition. *In: Yeast - Industrial Applications*. [S. l.]: IntechOpen, 2017. *E-book*.
783 Disponível em: <https://doi.org/10.5772/intechopen.70778>. Acesso em: 7 jan. 2022.
784
- 785 GOLDER, H. M.; LEAN, I. J. A meta-analysis of lasalocid effects on rumen measures, beef and dairy
786 performance, and carcass traits in cattle. **Journal of Animal Science**, v. 94, n. 1, p. 306–326, 2016.
787 Disponível em: <https://doi.org/10.2527/jas.2015-9694>
788
- 789 GONZÁLEZ, L. A.; MANTECA, X.; CALSAMIGLIA, S.; SCHWARTZKOPF-GENSWEIN, K. S.;
790 FERRET, A. Ruminal acidosis in feedlot cattle: Interplay between feed ingredients, rumen function and
791 feeding behavior (a review). **Animal Feed Science and Technology**, v. 172, n. 1–2, p. 66–79, 2012.
792 Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2011.12.009>
793
- 794 GOROCICA, M. A.; TEDESCHI, L. O. 145 A meta-analytical approach to evaluate the performance of
795 cattle fed virginiamycin or monensin under feedlot conditions from seven European countries. **Journal**
796 **of Animal Science**, v. 95, n. suppl_4, p. 71–71, 2017. Disponível em:
797 <https://doi.org/10.2527/asasann.2017.145>
798
- 799 GREENE, W. A.; GANO, A. M.; SMITH, K. L.; HOGAN, J. S.; TODHUNTER, D. A. Comparison of
800 Probiotic and Antibiotic Intramammary Therapy of Cattle with Elevated Somatic Cell Counts. **Journal**
801 **of Dairy Science**, v. 74, n. 9, p. 2976–2981, 1991. Disponível em: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78483-X)
802 [0302\(91\)78483-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78483-X)
803
- 804 GUTIERREZ, J.; DAVIS, R. E.; LINDAHL, I. L.; WARWICK, E. J. Bacterial Changes in the Rumen
805 During the Onset of Feed-lot Bloat of Cattle and Characteristics of *Peptostreptococcus elsdenii* n. sp.
806 **Applied Microbiology**, v. 7, n. 1, p. 16–22, 1959. Disponível em: [https://doi.org/10.1128/am.7.1.16-](https://doi.org/10.1128/am.7.1.16-22.1959)
807 [22.1959](https://doi.org/10.1128/am.7.1.16-22.1959)
808
- 809 HONG, H. A.; LE, H. D.; CUTTING, S. M. The use of bacterial spore formers as probiotics. **FEMS**
810 **Microbiology Reviews**, v. 29, n. 4, p. 813–835, 2005. Disponível em:
811 <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2004.12.001>
812
- 813 HRISTOV, A. N.; OH, J.; FIRKINS, J. L.; DIJKSTRA, J.; KEBREAB, E.; WAGHORN, G.;
814 MAKKAR, H. P. S.; ADESOGAN, A. T.; YANG, W.; LEE, C.; GERBER, P. J.; HENDERSON, B.;
815 TRICARICO, J. M. SPECIAL TOPICS — Mitigation of methane and nitrous oxide emissions from

- 816 animal operations: I. A review of enteric methane mitigation options1. **Journal of Animal Science**, v.
817 91, n. 11, p. 5045–5069, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.2527/jas.2013-6583>
818
- 819 HUBER, G.; NESEMANN, G. Moenomycin, an inhibitor of cell wall synthesis. **Biochemical and**
820 **Biophysical Research Communications**, v. 30, n. 1, p. 7–13, 1968. Disponível em:
821 [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(68\)90704-3](https://doi.org/10.1016/0006-291X(68)90704-3)
822
- 823 ÍTAVO, L. C. V.; ÍTAVO, C. C. B. F.; DIAS, A. M.; FRANCO, G. L.; MORAIS, M. D. G.; SOUZA,
824 A. R. D. L.; PEREIRA, C. da S.; INACIO, A. G.; MATEUS, R. G.; PEREIRA, L. C. The Effect of
825 Nutritional Additives and Nitrogen Supplements Used for Nellore Steers During Growth Phase Fed on
826 Deferred Pasture. **Journal of Agricultural Studies**, v. 8, n. 2, p. 820, 2020. Disponível em:
827 <https://doi.org/10.5296/jas.v8i2.17226>
828
- 829 JIMÉNEZ, G.; URDIAIN, M.; CIFUENTES, A.; LÓPEZ-LÓPEZ, A.; BLANCH, A. R.; TAMAMES,
830 J.; KÄMPFER, P.; KOLSTØ, A. B.; RAMÓN, D.; MARTÍNEZ, J. F.; CODOÑER, F. M.; ROSSELLÓ-
831 MÓRA, R. Description of *Bacillus toyonensis* sp. nov., a novel species of the *Bacillus cereus* group,
832 and pairwise genome comparisons of the species of the group by means of ANI calculations. **Systematic**
833 **and Applied Microbiology**, v. 36, n. 6, p. 383–391, 2013 a. Disponível em:
834 <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2013.04.008>
835
- 836 JIMÉNEZ, G.; BLANCH, A. R.; TAMAMES, J.; ROSSELLÓ-MORA, R. Complete genome sequence
837 of *Bacillus toyonensis* BCT-7112T, the active ingredient of the feed additive preparation Toyocerin.
838 **Genome Announcements**, v. 1, n. 6, p. 1080–1093, 2013 b. Disponível em:
839 <https://doi.org/10.1128/genomeA.01080-13>
840
- 841 JOBBY, R.; FLORA, Y.; BORA, A.; JHA, P.; KAWALKAR, H.; DESAI, N. Exploring Probiotic
842 Activity of *Lactobacillus* sp. Isolated from Indigenous Breeds of Cattle Milk and Fecal Samples in
843 Bhatan Village, MH., IN. **Current Microbiology**, v. 77, n. 7, p. 1184–1190, 2020. Disponível em:
844 <https://doi.org/10.1007/s00284-020-01910-x>
845
- 846 JONES, F. T.; RICKE, S. C. Observations on the history of the development of antimicrobials and their
847 use in poultry feeds. In: 2003, **Poultry Science**. [S. l.: s. n.] p. 613–617. Disponível em:
848 <https://doi.org/10.1093/ps/82.4.613>
849
- 850 JUKES, T. H.; STOKSTAD, E. L. R.; TAYLOE, R. R.; CUNHA, T. J.; EDWARDS, H. M.;
851 MEADOWS, G. B. Growth-promoting effect of aureomycin on pigs. **Archives of biochemistry**, v. 26,
852 n. 2, p. 324–325, 1950.

853

854 KAYSER, W. C.; CARSTENS, G. E.; WASHBURN, K. E.; WELSH, T. H.; LAWHON, S. D.;
855 REDDY, S. M.; PINCHAK, W. E.; CHEVAUX, E.; SKIDMORE, A. L. Effects of combined viral-
856 bacterial challenge with or without supplementation of *Saccharomyces cerevisiae* boulardii strain
857 CNCM I-1079 on immune upregulation and DMI in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 97, n.
858 3, p. 1171–1184, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jas/sky483>

859

860 KELSEY, A. J.; COLPOYS, J. D. Effects of dietary probiotics on beef cattle performance and stress.
861 **Journal of Veterinary Behavior**, v. 27, p. 8–14, 2018. Disponível em:
862 <https://doi.org/10.1016/j.jveb.2018.05.010>

863

864 KEYSER, S. A.; MCMENIMAN, J. P.; SMITH, D. R.; MACDONALD, J. C.; GALYEAN, M. L.
865 Effects of *Saccharomyces cerevisiae* subspecies boulardii CNCM I-1079 on feed intake by healthy beef
866 cattle treated with florfenicol and on health and performance of newly received beef heifers. **Journal of**
867 **Animal Science**, v. 85, n. 5, p. 1264–1273, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.2527/jas.2006-751>

868

869 KRÍŽOVÁ, L.; RICHTER, M.; TRÍNÁCTÝ, J.; ŘÍHA, J.; KUMPRECHTOVÁ, D. The effect of
870 feeding live yeast cultures on ruminal pH and redox potential in dry cows as continuously measured by
871 a new wireless device. **Czech Journal of Animal Science**, v. 56, n. 1, p. 37–45, 2011. Disponível em:
872 <https://doi.org/10.17221/39/2010-cjas>

873

874 KWEON, C. H.; CHOI, S. Y.; KWON, H. Y.; KIM, E. H.; KANG, H. M.; MOON, J. S.; JANG, G. C.;
875 LEE, H. S.; KANG, S. W.; KIM, J. M.; PYO, S.; RHEE, D. K. Isolation, characterization, and evaluation
876 of *Bacillus thuringiensis* isolated from cow milk. **Korean Journal of Veterinary Research**, v. 52, n. 3,
877 p. 169–176, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.14405/kjvr.2012.52.3.169>

878

879 LALLEMAND. **Leveduras e Bactérias: nossas Unidades de Produção | Lallemand Animal**
880 **Nutrition**. [s. l.], 2022. Disponível em: <https://lallemandanimalnutrition.com/pt-br/brazil/sobrenos/unidades-de-producao/>. Acesso em: 11 jan. 2022.

882

883 LEMOS, B. J. M.; CASTRO, F. G. F.; SANTOS, L. S.; MENDONÇA, B. P. C.; COUTO, V. R. M.;
884 FERNANDES, J. J. R. Monensin, virginiamycin, and flavomycin in a no-roughage finishing diet fed to
885 zebu cattle. **Journal of Animal Science**, v. 94, n. 10, p. 4307–4314, 2016. Disponível em:
886 <https://doi.org/10.2527/jas.2016-0504>

887

888 LIMEDE, A. C.; MARQUES, R. S.; POLIZEL, D. M.; CAPPELLOZZA, B. I.; MISZURA, A. A.;
889 BARROSO, J. P. R.; STORTI MARTINS, A.; SARDINHA, L. A.; BAGGIO, M.; PIRES, A. V. Effects

- 890 of supplementation with narasin, salinomycin, or flavomycin on performance and ruminal fermentation
891 characteristics of *Bos indicus* Nellore cattle fed with forage-based diets. **Journal of Animal Science**, v.
892 99, n. 4, p. 1–11, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jas/skab005>
893
- 894 LIU, J. J.; KONG, I. I.; ZHANG, G. C.; JAYAKODY, L. N.; KIM, H.; XIA, P. F.; KWAK, S.; SUNG,
895 B. H.; SOHN, J. H.; WALUKIEWICZ, H. E.; RAO, C. V.; JIN, Y. S. Metabolic engineering of probiotic
896 *Saccharomyces boulardii*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 82, n. 8, p. 2280–2287, 2016.
897 Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AEM.00057-16>
898
- 899 LOPES, A. L.; SANTOS, F. A. P.; MESCHIATTI, M.; DE OLIVEIRA, M. O.; FERNANDES, J. J. R.;
900 DROUILLARD, J. S.; CAPPELLOZZA, B. I. Effects of *Megasphaera elsdenii* administration on
901 performance and carcass traits of finishing *Bos indicus* feedlot cattle. **Translational Animal Science**,
902 v. 5, n. 3, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/tas/txab091>
903
- 904 ŁUKASZEWICZ, M. *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* – Probiotic Yeast. In: **Probiotics**. [S. l.]:
905 InTech, 2012. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.5772/50105>. Acesso em: 4 mar. 2021.
906
- 907 MACKOWIAK, P. A. Recycling Metchnikoff: Probiotics, the intestinal microbiome and the quest for
908 long life. **Frontiers in Public Health**, v. 1, n. NOV, 2013. Disponível em:
909 <https://doi.org/10.3389/fpubh.2013.00052>
910
- 911 MAGRIN, L.; GOTTARDO, F.; FIORE, E.; GIANESELLA, M.; MARTIN, B.; CHEVAUX, E.;
912 COZZI, G. Use of a live yeast strain of *Saccharomyces cerevisiae* in a high-concentrate diet fed to
913 finishing Charolais bulls: effects on growth, slaughter performance, behavior, and rumen environment.
914 **Animal Feed Science and Technology**, v. 241, p. 84–93, 2018. Disponível em:
915 <https://doi.org/10.1016/J.ANIFEEDSCI.2018.04.021>
916
- 917 MALDONADO, N. C.; FICOSECO, C. A.; MANSILLA, F. I.; MELIÁN, C.; HÉBERT, E. M.;
918 VIGNOLO, G. M.; NADER-MACÍAS, M. E. F. Identification, characterization and selection of
919 autochthonous lactic acid bacteria as probiotic for feedlot cattle. **Livestock Science**, v. 212, p. 99–110,
920 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.04.003>
921
- 922 MANDIC-MULEC, I.; STEFANIC, P.; VAN ELSAS, J. D. Ecology of Bacillaceae. **Microbiology**
923 **Spectrum**, v. 3, n. 2, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.tbs-0017-2013>
924
- 925 MARCHANDIN, H.; JUMAS-BILAK, E. The Family Veillonellaceae. In: **The Prokaryotes**. Berlin,
926 Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2014. v. 9783642301p. 433–453. *E-book*. Disponível em:

- 927 https://doi.org/10.1007/978-3-642-30120-9_361
928
- 929 MARCUCCI, M. T.; TOMA, H. S.; SANTOS, M. D. dos; ROMERO, J. V.; MONTEIRO TOMA, C.
930 D.; CARVALHO, A. de M.; CAMARGO, L. M. de. Efeito Do Aditivo Monensina Sódica No
931 Metabolismo Ruminal De Bovinos De Corte. **Revista Científica de Medicina Veterinária**, v. 22, p.
932 21, 2014. Disponível em:
933 [http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/ZfyhETS1hGfeowy_2014-2-8-9-35-](http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/ZfyhETS1hGfeowy_2014-2-8-9-35-10.pdf)
934 10.pdf. Acesso em: 27 jan. 2022.
935
- 936 MARINO, C. T.; MEDEIROS, S. R. Aditivos alimentares na nutrição de bovinos de corte. **Embrapa**
937 **Gado de Corte**, p. 95–106, 2015. Disponível em:
938 <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1011225/1/NutricaoAnimalCAPITULO07.pdf>.
939 Acesso em: 21 jan. 2022.
940
- 941 MAROUNEK, M.; FLIEGROVA, K.; BARTOS, S. Metabolism and some characteristics of ruminal
942 strains of *Megasphaera elsdenii*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 55, n. 6, p. 1570–1573,
943 1989. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/aem.55.6.1570-1573.1989>.
944
- 945 MATLOUP, O. H.; ABD EL TAWAB, A. M.; HASSAN, A. A.; HADHOUD, F. I.; KHATTAB, M. S.
946 A.; KHALEL, M. S.; SALLAM, S. M. A.; KHOLIF, A. E. Performance of lactating Friesian cows fed
947 a diet supplemented with coriander oil: Feed intake, nutrient digestibility, ruminal fermentation, blood
948 chemistry, and milk production. **Animal Feed Science and Technology**, v. 226, p. 88–97, 2017.
949 Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.02.012>
950
- 951 MAZON, G.; CAMPLER, M. R.; HOLCOMB, C.; BEWLEY, J. M.; COSTA, J. H. C. Effects of a
952 *Megasphaera elsdenii* oral drench on reticulorumen pH dynamics in lactating dairy cows under subacute
953 ruminal acidosis challenge. **Animal Feed Science and Technology**, v. 261, p. 114404, 2020. Disponível
954 em: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114404>
955
- 956 MEDEIROS, S. R.; GOMES, R. C.; BUNGENSTAB, D. J. **Nutrição de bovinos de corte:**
957 **fundamentos e aplicações**. Brasília: Embrapa, Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte, 2015.
958 Acesso em: 18 jan. 2022.
959
- 960 MINGMONGKOLCHAI, S.; PANBANGRED, W. Bacillus probiotics: an alternative to antibiotics for
961 livestock production. **Journal of Applied Microbiology**, v. 124, n. 6, p. 1334–1346, 2018. Disponível
962 em: <https://doi.org/10.1111/jam.13690>
963

- 964 MOMBACH, M. A.; DA SILVA CABRAL, L.; LIMA, L. R.; FERREIRA, D. C.; PEDREIRA, B. C.;
965 PEREIRA, D. H. Association of ionophores, yeast, and bacterial probiotics alters the abundance of
966 ruminal microbial species of pasture intensively finished beef cattle. **Tropical Animal Health and**
967 **Production**, v. 53, n. 1, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02617-2>
968
- 969 MOORE, P. R.; EVENSON, A. Use of sulfasuxidine, streptothricin, and streptomycin in nutritional
970 studies with the chick. **The Journal of biological chemistry**, v. 165, n. 2, p. 437–441, 1946. Disponível
971 em: [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(17\)41154-9](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(17)41154-9)
972
- 973 NAEEM, M.; AHMED, I.; AHMED, S.; AHMED, Z.; RIAZ, M. N.; GHAZANFAR, S. Screening of
974 cattle gut associated Bacillus strains for their potential use as animal probiotic. **Indian Journal of**
975 **Animal Research**, n. of, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.18805/ijar.b-948>
976
- 977 NASEEB, S.; JAMES, S. A.; ALSAMMAR, H.; MICHAELS, C. J.; GINI, B.; NUENO-PALOP, C.;
978 BOND, C. J.; MCGHIE, H.; ROBERTS, I. N.; DELNERI, D. Saccharomyces jurei sp. Nov., isolation
979 and genetic identification of a novel yeast species from Quercus robur. **International Journal of**
980 **Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 67, n. 6, p. 2046–2052, 2017. Disponível em:
981 <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002013>
982
- 983 NCBI. **PubChem Compound Summary for CID 6433554, Bambermycins**. [s. l.], 2022. Disponível
984 em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Bambermycins>. Acesso em: 2 fev. 2022.
985
- 986 NEUMANN, M.; UENO, R. K.; HEKER, J. C.; ASKEL, E. J.; DE SOUZA, A. M.; VIGNE, G. L. D.;
987 POCZYNEK, M.; COELHO, M. G.; ETO, A. K. Growth performance and safety of meat from cattle
988 feedlot finished with monensin in the ration. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 39, n. 2, p. 697–709, 2018.
989 Disponível em: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n2p697>
990
- 991 NEUMANN, M.; UENO, R. K.; HORST, E. H.; KOWALSKI, L. H.; ETO, A. K.; BARCELLOS, J. O.
992 J.; MIZUBUTI, I. Y. Production performance and safety of meat from beef cattle finished in feedlots
993 using salinomycin in the diet. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 6, p. 4221–4234, 2016. Disponível
994 em: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2016v37n6p4221>
995
- 996 NEWBOLD, C. J.; WALLACE, R. J.; MCINTOSH, F. M. Mode of action of the yeast Saccharomyces
997 cerevisiae as a feed additive for ruminants. **British Journal of Nutrition**, v. 76, n. 2, p. 249–261, 1996.
998 Disponível em: <https://doi.org/10.1079/bjn19960029>
999
- 1000 NOGUEIRA, V. A.; FRANÇA, T. N.; PEIXOTO, P. V. **Intoxicação por antibióticos ionóforos em**

- 1001 **animais**. [S. l.]: Colégio Brasileiro de Patologia Animal - CBPA, 2009. Disponível em:
1002 <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2009000300001>
1003
- 1004 NOVILLA, M. N. Ionophores. In: **Reproductive and Developmental Toxicology**. [S. l.]: Elsevier,
1005 2011. p. 373–384. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382032-7.10029-3>
1006
- 1007 **NRC. Nutrient Requirements of Beef Cattle: Seventh Revised Edition**. Washington, D.C.: National
1008 Academies Press, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.17226/9791>
1009
- 1010 NUÑEZ, A. J. C.; CAETANO, M.; BERNDT, A.; DEMARCHI, J. J. A. de A.; LEME, P. R.; LANNA,
1011 D. P. D. Combined use of ionophore and virginiamycin for finishing Nellore steers fed high concentrate
1012 diets. **Scientia Agricola**, v. 70, n. 4, p. 229–236, 2013. Disponível em: [https://doi.org/10.1590/S0103-](https://doi.org/10.1590/S0103-90162013000400002)
1013 [90162013000400002](https://doi.org/10.1590/S0103-90162013000400002)
1014
- 1015 O'FLAHERTY, S.; BRINER CRAWLEY, A.; THERIOT, C. M.; BARRANGOU, R. The Lactobacillus
1016 Bile Salt Hydrolase Repertoire Reveals Niche-Specific Adaptation. **mSphere**, v. 3, n. 3, 2018.
1017 Disponível em: <https://doi.org/10.1128/msphere.00140-18>
1018
- 1019 OREM, J. C. de. **Diversidades funcional e filogenética de Bactérias aeróbias formadoras de**
1020 **endósporos isoladas de solo**. 2018. - Universidade de Brasília, [s. l.], 2018. Disponível em:
1021 <https://repositorio.unb.br/handle/10482/35948>. Acesso em: 18 jan. 2022.
1022
- 1023 PARK, Y. W. Overview of Bioactive Components in Milk and Dairy Products. In: **Bioactive**
1024 **Components in Milk and Dairy Products**. Oxford, UK: Wiley-Blackwell, 2009. p. 1–12. *E-book*.
1025 Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9780813821504.ch1>
1026
- 1027 PETERSON, R. E.; KLOPFENSTEIN, T. J.; ERICKSON, G. E.; FOLMER, J.; HINKLEY, S.;
1028 MOXLEY, R. A.; SMITH, D. R. Effect of Lactobacillus acidophilus strain NP51 on Escherichia coli
1029 O157:H7 fecal shedding and finishing performance in beef feedlot cattle. **Journal of Food Protection**,
1030 v. 70, n. 2, p. 287–291, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.4315/0362-028X-70.2.287>
1031
- 1032 PICKETT, A.; GUNTER, S. 172 Effect of energy and lasalocid supplementation on stocker cattle
1033 performance grazing winter-wheat pasture. **Journal of Animal Science**, v. 97, n. Supplement_1, p. 59–
1034 60, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jas/skz053.134>
1035
- 1036 PICKETT, A. T.; KEGLEY, E.; BECK, P. A.; GUNTER, S. A. 163 The effects of energy and lasalocid
1037 supplementation on forage intake and energetics of cattle grazing wheat pasture. **Journal of Animal**

- 1038 **Science**, v. 98, n. Supplement_2, p. 11–12, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jas/skz397.026>
1039
- 1040 RENAUD, D. L.; SHOCK, D. A.; ROCHE, S. M.; STEELE, M. A.; CHEVAUX, E.; SKIDMORE, A.
1041 L. Evaluation of *Saccharomyces cerevisiae* boulardii CNCM I-1079 fed before weaning on health and
1042 growth of male dairy calves. **Applied Animal Science**, v. 35, n. 6, p. 570–576, 2019. Disponível em:
1043 <https://doi.org/10.15232/aas.2019-01889>
1044
- 1045 ROGOSA, M. Transfer of *Peptostreptococcus elsdenii* Gutierrez et al. to a New Genus, *Megasphaera*
1046 [*M. elsdenii* (Gutierrez et al.) comb. nov.]. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 21,
1047 n. 2, p. 187–189, 1971. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/00207713-21-2-187>
1048
- 1049 RUSSELL, J. B.; HOULIHAN, A. J. Ionophore resistance of ruminal bacteria and its potential impact
1050 on human health. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 27, n. 1, p. 65–74, 2003. Disponível em:
1051 [https://doi.org/10.1016/S0168-6445\(03\)00019-6](https://doi.org/10.1016/S0168-6445(03)00019-6)
1052
- 1053 SALMAN, A. K. D.; PAZIANI, S. F.; SOARES, J. P. G. Utilização de ionóforos para bovinos de corte.
1054 **Embrapa - Documentos 101**, p. 24, 2006. Disponível em:
1055 <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPAF-RO-2010/14287/1/doc101-ionoforos.pdf>.
1056 Acesso em: 18 jan. 2022.
1057
- 1058 SCOTT, R. I.; YARLETT, N.; HILLMAN, K.; WILLIAMS, A. G.; LLOYD, D.; WILLIAMS, T. N.
1059 The presence of oxygen in rumen liquor and its effects on methanogenesis. **Journal of Applied**
1060 **Bacteriology**, v. 55, n. 1, p. 143–149, 1983. Disponível em: [https://doi.org/10.1111/j.1365-](https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1983.tb02658.x)
1061 [2672.1983.tb02658.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1983.tb02658.x)
1062
- 1063 SHIELDS, T. Animal Drugs @ FDA. **Journal of the Medical Library Association : JMLA**, v. 97, n.
1064 2, p. 158–158, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.3163/1536-5050.97.2.021>
1065
- 1066 SHURSON, G. C. Yeast and yeast derivatives in feed additives and ingredients: Sources, characteristics,
1067 animal responses, and quantification methods. **Animal Feed Science and Technology**, v. 235, p. 60–
1068 76, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.11.010>
1069
- 1070 SILVA, S. N. S.; CHABRILLAT, T.; KERROS, S.; GUILLAUME, S.; GANDRA, J. R.; CARVALHO,
1071 G. G. P.; SILVA, F. F.; MESQUITA, L. G.; GORDIANO, L. A.; CAMARGO, G. M. F.; RIBEIRO, C.
1072 V. DI M.; ARAÚJO, M. L. G. M. L.; ALBA, H. D. R.; SILVA, R. D. G.; FREITAS JUNIOR., J. E.
1073 Effects of plant extract supplementations or monensin on nutrient intake, digestibility, ruminal
1074 fermentation and metabolism in dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 275, p. 114886,

- 1075 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.114886>
1076
- 1077 SMITH, Z. K.; CRAWFORD, G. I.; LOE, E. R. Effect of bambarmycin and dietary distillers grains
1078 concentration on growth performance and carcass characteristics of finishing steers1. **Translational**
1079 **Animal Science**, v. 4, n. 1, p. 95–101, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/tas/txz166>
1080
- 1081 SONG, D.; IBRAHIM, S.; HAYEK, S. Recent Application of Probiotics in Food and Agricultural
1082 Science. *In: Probiotics. [S. l.]: InTech, 2012. E-book.* Disponível em: <https://doi.org/10.5772/50121>
1083
- 1084 SOUZA, V. L.; LOPES, N. M.; ZACARONI, O. F.; SILVEIRA, V. A.; PEREIRA, R. A. N.; FREITAS,
1085 J. A.; ALMEIDA, R.; SALVATI, G. G. S.; PEREIRA, M. N. Lactation performance and diet
1086 digestibility of dairy cows in response to the supplementation of *Bacillus subtilis* spores. **Livestock**
1087 **Science**, v. 200, p. 35–39, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2017.03.023>
1088
- 1089 STONE, C. W. **Yeast Products in the Feed Industry: A Practical Guide for Feed Professionals.** [*s.*
1090 *l.*], 2006. Disponível em: [https://en.engormix.com/feed-machinery/articles/yeast-products-in-feed-](https://en.engormix.com/feed-machinery/articles/yeast-products-in-feed-industry-t33489.htm)
1091 [industry-t33489.htm](https://en.engormix.com/feed-machinery/articles/yeast-products-in-feed-industry-t33489.htm). Acesso em: 24 mar. 2022.
1092
- 1093 THEURER, M. E.; FOX, J. T.; AGUILAR, A.; NIELSEN, H.; SIMPSON, J.; LAWRENCE, T. E. Effect
1094 of live yeast (*Saccharomyces cerevisiae* boulandii CNCM I-1079) feed additive on health and growth
1095 parameters of high-risk heifers in a commercial feedlot. **Bovine Practitioner**, v. 53, n. 2, p. 117–127,
1096 2019. Disponível em: <https://doi.org/https://doi.org/10.21423/bovine-vol53no2p117-127>
1097
- 1098 THOMPSON, L. R.; BECK, M. R.; GUNTER, S. A.; WILLIAMS, G. D.; PLACE, S. E.; REUTER, R.
1099 R. An energy and monensin supplement reduces methane emission intensity of stocker cattle grazing
1100 winter wheat. **Applied Animal Science**, v. 35, n. 4, p. 433–440, 2019. Disponível em:
1101 <https://doi.org/10.15232/aas.2018-01841>
1102
- 1103 TORREZAN, T. M.; SILVA, J. T. da; MIQUEO, E.; ROCHA, N. B.; SILVA, F. L. M.; BALDASSIN,
1104 S.; BITTAR, C. M. M. Desempenho de bezerros leiteiros recebendo probiótico contendo *Bacillus*
1105 *subtilis* e *Bacillus licheniformis*. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 17, n. 3, p. 508–
1106 519, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1519-99402016000300016>
1107
- 1108 UYENO, Y.; SHIGEMORI, S.; SHIMOSATO, T. Effect of Probiotics/Prebiotics on Cattle Health and
1109 Productivity. **Microbes and environments**, v. 30, n. 2, p. 126–132, 2015. Disponível em:
1110 <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME14176>
1111

- 1112 VAN BOECKEL, T. P.; BROWER, C.; GILBERT, M.; GRENFELL, B. T.; LEVIN, S. A.;
1113 ROBINSON, T. P.; TEILLANT, A.; LAXMINARAYAN, R. Global trends in antimicrobial use in food
1114 animals. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, n. 18, p. 5649–5654, 2015.
1115 Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.1503141112>
1116
- 1117 VELOSO, V. de A.; VAN BIBBER-KRUEGER, C. L.; HORTON, L. M.; KARGES, K. K.;
1118 DROUILLARD, J. S. Effects of ruminally-protected lysine and *Megasphaera elsdenii* on performance
1119 and carcass characteristics of finishing cattle. **Animal Feed Science and Technology**, v. 275, p. 114837,
1120 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.114837>
1121
- 1122 VIANA, C. H. R.; VALENTIM, J. K.; DE RESENDE, G. A.; DE CASTILHO, V. A. R.; PANTOJA, J.
1123 de C.; PIETRAMALE, R. T. R.; PRZYBULINSKI, B. B.; ZIEMNICZAK, H. M. Utilização de Aditivos
1124 para Bovinos de Corte em Confinamento. **Ensaios e Ciência**, v. 24, n. 5- esp., p. 536–543, 2021.
1125 Disponível em: <https://doi.org/10.17921/1415-6938.2020v24n5-esp.p536-543>
1126
- 1127 VILLOT, C.; MA, T.; RENAUD, D. L.; GHAFARI, M. H.; GIBSON, D. J.; SKIDMORE, A.;
1128 CHEVAUX, E.; GUAN, L. L.; STEELE, M. A. *Saccharomyces cerevisiae* boulardii CNCM I-1079
1129 affects health, growth, and fecal microbiota in milk-fed veal calves. **Journal of Dairy Science**, v. 102,
1130 n. 8, p. 7011–7025, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2018-16149>
1131
- 1132 VILLOT, C.; RENAUD, D.; SKIDMORE, A.; AGUILAR, A.; CHEVAUX, E.; STEELE, M. 239 Effect
1133 of *Saccharomyces cerevisiae* boulardii supplementation on the health and performance of male Holstein
1134 calves. **Journal of Animal Science**, v. 96, n. suppl_3, p. 22–23, 2018. Disponível em:
1135 <https://doi.org/10.1093/jas/sky404.052>
1136
- 1137 WAMBUI, C.; ABDULRAZAK, S. Effect of yeast supplementation on in vitro ruminal degradability
1138 of selected browse species from Kenya. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v. 8, n. 2, p.
1139 553–557, 2010. Disponível em: <https://doi.org/https://doi.org/10.1234/4.2010.1754>
1140
- 1141 WEISS, C. P.; BECK, P. A.; GADBERRY, M. S.; RICHESON, J. T.; WILSON, B. K.; ROBINSON,
1142 C. A.; ZHAO, J.; HESS, T.; HUBBELL, D. Effects of intake of monensin during the stocker phase and
1143 subsequent finishing phase on performance and carcass characteristics of finishing beef steers. **Applied**
1144 **Animal Science**, v. 36, n. 5, p. 668–676, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.15232/aas.2020-02031>
1145
- 1146 WORLD HEALTH ORGANISATION (WHO) AND FOOD AND AGRICULTURE
1147 ORGANISATION (FAO). Health and Nutrition Properties of Probiotics in Food including Powder Milk
1148 with Live Lactic Acid Bacteria. **Probiotics in food**, p. 2, 2001.

1149

1150 XU, H.; HUANG, W.; HOU, Q.; KWOK, L. yu; SUN, Z.; MA, H.; ZHAO, F.; LEE, Y. K.; ZHANG,
1151 H. The effects of probiotics administration on the milk production, milk components and fecal bacteria
1152 microbiota of dairy cows. **Science Bulletin**, v. 62, n. 11, p. 767–774, 2017. Disponível em:
1153 <https://doi.org/10.1016/j.scib.2017.04.019>

1154

1155 YAO, J.; WANG, L.; ZHANG, W.; LIU, M.; NIU, J. Effects of *Bacillus megaterium* on growth
1156 performance, serum biochemical parameters, antioxidant capacity, and immune function in suckling
1157 calves. **Open Life Sciences**, v. 15, n. 1, p. 1033–1041, 2020. Disponível em:
1158 <https://doi.org/10.1515/biol-2020-0106>

1159

1160

1161 **ARTIGO 1**1162 **Cinética da produção de gás *in vitro* e ajuste de modelos matemáticos da silagem de**
1163 **milho**1164 *Kinetics of in vitro gas production and fitting mathematical models of corn silage*

1165

1166

1167 **Camila da Silva Zornitta ¹, Luis Carlos Vinhas Ítavo ^{2*}, Camila Celeste Brandão**
1168 **Ferreira Ítavo ², Geraldo Tadeu dos Santos ², Alexandre Menezes Dias ², Gelson dos**
1169 **Santos Difante ² e Antonio Leandro Chaves Gurgel ¹**

1170

1171

1172 ¹ Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia,
1173 Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande—MS 79070-900, Brasil; camikasilva@gmail.com
1174 (C.d.S.Z.); antioleandro09@gmail.com (A.L.C.G.)1175 ² Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo
1176 Grande—MS 79070-900, Brasil; camila.itavo@ufms.br (C.C.B.F.Í.); geraldo.tadeu@ufms.br (G.T.d.S.); alexan-
1177 dre.menezes@ufms.br (A.M.D.); gelson.difante@ufms.br (G.d.S.D.)

1178 * Correspondente: luis.itavo@ufms.br; Tel.: +55-67-3345-3572; Fax: +55-67-3345-3600

1179

1180

1181 Redigido conforme normas da revista Fermentation, com exceção do idioma

1182 Artigo publicado no periódico científico Fermentation (ISSN: 2311-5637).

1183 DOI: <https://doi.org/10.3390/fermentation7040298>

1184

1185 **Resumo**

1186 O objetivo deste trabalho foi examinar os efeitos do inóculo ruminal de novilhos
1187 recebendo diferentes combinações de ionóforo e probióticos em suas dietas sobre a produção
1188 de gases *in vitro* de silagem de milho. O ajuste da produção de gás foi realizado com cinco
1189 modelos matemáticos e sua cinética foi avaliada. Quatro novilhos mestiços ($403,0 \pm 75,5$ kg de
1190 peso corporal) com cânula ruminal foram designados para um desenho em quadrado latino $4 \times$
1191 4. Os aditivos utilizados foram Monensina sódica (Rumensin[®] 100, 3 g / dia), *Bacillus*
1192 *toyonensis* (Micro-Cell Platinum[®] 10⁹, 1 g / dia) e *Saccharomyces cerevisiae boulardii*
1193 (ProTernative[®]20, 0,5 g / dia). Os aditivos foram combinados nos seguintes tratamentos,
1194 fornecidos diariamente na ração totalmente misturada: (1) Monensina; (2) Monensina + *B.*
1195 *toyonensis*; (3) Monensina + *S. boulardii*; e (4) *B. toyonensis* + *S. boulardii*. Os dados de
1196 produção de gás foram ajustados nos modelos de Gompertz, Groot, Ørskov, Brody, Richards e
1197 Logístico Bicompartimentado. Nos modelos de Groot e Richards, observou-se perfeita
1198 concordância entre os valores observados e previstos nas curvas de produção de gases *in vitro*
1199 acumulada com maior coeficiente de determinação ($R^2 = 0,770$ e $0,771$, respectivamente),
1200 coeficiente de correlação e concordância (CCC = $0,871$ e $0,870$, respectivamente), e a raiz
1201 quadrada do quadrado médio do erro da predição (RQMEP = $1,14$ e $1,15$, respectivamente).
1202 Avaliando os aditivos ao longo do modelo Groot, o tratamento *B. toyonensis* + *S. boulardii*
1203 apresentou maior V_F ($12,08$ ml / 100 mg de MS; $p = 0,0022$) do que Monensina e Monensina +
1204 *S. boulardii* ($9,16$ e $9,22$ ml / 100 mg de MS, respectivamente). Além disso, a taxa específica
1205 de produção de gases (k) foi maior ($p = 0,0193$) em *B. toyonensis* + *S. boulardii* do que em
1206 Monensina, não apresentando diferença estatística ($p > 0,05$) dos outros dois tratamentos. Além
1207 disso, no tempo para iniciar a produção de gás, a fase de latência (λ), foi maior ($p < 0,001$) com
1208 Monensina e Monensina + *B. toyonensis* do que com Monensina + *S. boulardii* e *B. toyonensis* +
1209 *S. boulardii*. Os tratamentos Monensina e probióticos (*B. toyonensis* + *S. boulardii*) resultaram
1210 em melhor cinética de degradação da silagem de milho, sendo que os modelos de Groot e
1211 Richards tiveram o melhor ajuste para estimativas dos dados de produção de gás *in vitro* da
1212 silagem de milho testada com diferentes combinações de aditivos para rações.

1213

1214 Palavras-chave: aditivos naturais, ionóforo, modelos matemáticos, ruminantes, técnica da
1215 produção de gás

1216

1217 **Abstract**

1218 This study aimed at examining the effects of rumen inoculum of steers receiving
1219 different combinations of ionophore and probiotics in their diets on *in vitro* gas production of
1220 corn silage. The fitting of gas production was performed with five mathematical models and its
1221 kinetics was evaluated. Four crossbred steers (403.0 ± 75.5 kg body weight) with ruminal
1222 cannula were assigned to a 4×4 Latin square design. The additives used were Monensin sodium
1223 (Rumensin[®] 100, 3 g/day), *Bacillus toyonensis* (Micro-Cell Platinum[®] 10⁹, 1 g/day) and
1224 *Saccharomyces cerevisiae boulardii* (ProTer-native[®]20, 0.5 g/day). Additives were arranged
1225 into the following treatments, supplied daily into total mixed diet: (1) Monensin; (2) Monensin
1226 + *B. toyonensis*; (3) Monensin + *S. boulardii*; and (4) *B. toyonensis* + *S. boulardii*. The gas
1227 production data were fitted into the models of Gompertz, Groot, Ørskov, Brody, Richards, and
1228 Dual-pool Logistic. A perfect agreement between observed and predicted values in curves of
1229 accumulated *in vitro* gas production was observed in the Groot and Richards models, with
1230 higher coefficient of determination ($R^2 = 0.770$ and 0.771 , respectively), o correlation
1231 concordance coefficient (CCC = 0.871 and 0.870 , respectively), and root mean square error of
1232 prediction (RMSEP = 1.14 and 1.15 , respectively). Evaluating the feed additives throughout
1233 the Groot model, the *B. toyonensis* + *S. boulardii* treatment presented higher V_F (12.08 mL/100
1234 mg of DM; $p = 0.0022$) than Monensin and Monensin + *S. boulardii* (9.16 and 9.22 mL/100 mg
1235 of DM, respectively). In addition, the fractional rate of gas production (k) was higher ($p =$
1236 0.0193) in *B. toyonensis* + *S. boulardii* than in Monensin, not presenting a statistical difference
1237 ($p > 0.05$) from the other two treatments. Additionally, with the time of beginning to gas
1238 production, the lag time (λ), was greater ($p < 0.001$) with Monensin and Monensin + *B.*
1239 *toyonensis* than with Monensin + *S. boulardii* and *B. toyonensis* + *S. boulardii*. The
1240 combination of Monensin and probiotics (*B. toyonensis* + *S. boulardii*) resulted in better
1241 kinetics of degradation of corn silage, being that the Groot and Richards models had the best fit
1242 for estimates of the *in vitro* gas production data of corn silage tested with different feed additive
1243 combinations.

1244

1245 **Keywords:** gas production technique, ionophore, mathematical models, natural feed additive,
1246 ruminants

1247

1248

1249 **Introdução**

1250 Ao longo dos anos, vários modelos matemáticos foram desenvolvidos para descrever
1251 fenômenos biológicos. Por exemplo, Brody [1] propôs um modelo para descrever o crescimento
1252 após um ponto de inflexão ou ação inibidora do crescimento, comumente relacionado ao
1253 crescimento humano após o nascimento. No entanto, para estudar o crescimento em plantas, foi
1254 necessária uma adaptação de um modelo existente usado para o crescimento animal [2],
1255 resultando no modelo de Richard [3]. Apesar de antigo, o modelo desenvolvido por Benjamin
1256 Gompertz em 1825, para estudar as leis da mortalidade e natalidade em humanos [4], foi
1257 considerado um dos modelos mais utilizados para descrever o crescimento de animais,
1258 embriões, plantas, tumores e populações de organismos [5].

1259 A partir desses modelos propostos, foi necessário expandir e elucidar novas técnicas de
1260 análise, por meio do desenvolvimento de novos modelos específicos, como os modelos que
1261 explicam a cinética da produção de gases *in vitro* em pesquisas com ruminantes [6–8]. Esta
1262 variedade de modelos matemáticos ainda é utilizada para ajustar a produção de gás *in vitro* de
1263 rações, aditivos ou condições diversas devido a que a complexidade dos fatores biológicos se
1264 enquadra perfeitamente em um único modelo para posterior análise estatística dos tratamentos
1265 estudados. No entanto, o modelo Logístico Bicompartimentado [8] tem sido amplamente
1266 utilizado para ajustar a produção de gás *in vitro* de alimentos e dietas para ruminantes [9–13].
1267 Porém, deve-se notar que um único modelo não deve ser usado para todos os tipos de alimentos;
1268 em vez disso, é essencial que diferentes modelos sejam ajustados para cada situação nutricional
1269 [14].

1270 Uma linha de pesquisa comum para bovinos são os aditivos alimentares. A monensina
1271 sódica, ou apenas monensina, é um ionóforo amplamente utilizado como aditivo nutricional
1272 para melhorar a eficiência alimentar, desempenho, modulação ruminal e redução da emissão de
1273 metano [15-17]. No entanto, em 2006, a União Europeia proibiu seu uso como aditivo alimentar
1274 para bovinos, instigando os pesquisadores a testar aditivos alternativos para rações, a fim de
1275 sustentar uma alta demanda de produção animal [18].

1276 Probióticos são aditivos nutricionais naturais, relacionados à melhoria da saúde,
1277 aumento da ingestão de alimentos e digestibilidade dos nutrientes [19-22]. *Saccharomyces*
1278 *cerevisiae boulardii*, é membro do reino dos fungos, e tem sido relacionado ao aumento da
1279 degradabilidade ruminal *in vitro* de forragens e associado à capacidade da levedura de estimular
1280 o crescimento e a atividade das bactérias de degradação da fibra [23,24]. Além disso, a inclusão
1281 de *S. cerevisiae* em dieta rica em concentrado ou rica em fibras e diferentes processamentos do

1282 probiótico (extrato de levedura inativada ou célula de levedura viva) apresentaram efeito das
1283 leveduras codependente da dieta, sendo mais evidente no substrato rico em fibras [25].

1284 *Bacillus toyonensis*, um membro do reino bacteriano, não foi muito estudado em
1285 ruminantes, especialmente em bovinos, embora tenha sido liberado pela Autoridade Europeia
1286 para a Segurança dos Alimentos desde 2012 e reavaliado em 2014 [26]. Ovelhas que receberam
1287 a vacina contra o herpes vírus bovino tipo 5 e foram suplementadas com *B. toyonensis* tiveram
1288 uma melhora na resposta imune à vacina [27].

1289 Devido aos probióticos estarem relacionados a melhorias em dietas ricas em fibras, e a
1290 silagem de milho ser considerada o alimento mais comum usado como volumoso por vacas
1291 leiteiras e gado de confinamento [23,28,29], estudamos os efeitos de diferentes combinações
1292 de ionóforo e probióticos em dietas para novilhos na cinética de produção de gases *in vitro* de
1293 silagem de milho. Este trabalho teve como objetivo avaliar a cinética da produção de gases *in*
1294 *vitro* e ajustar modelos matemáticos de silagem de milho, utilizando líquido ruminal de novilhos
1295 alimentados com diferentes combinações de ionóforo e probióticos.

1296

1297 **Material e Métodos**

1298 O estudo foi realizado na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
1299 Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brasil (20 ° 26'50 ' ' S, 54
1300 ° 50'21 ' ' W, altitude 417 m). Neste estudo, todos os procedimentos envolvendo os animais
1301 seguiram as diretrizes do Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal [30] do
1302 Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (protocolo
1303 1186/2021).

1304

1305 *Animais, delineamento experimental e tratamentos*

1306 O inóculo ruminal foi obtido de quatro novilhos mestiços (*Bos taurus indicus* x *Bos*
1307 *taurus taurus*) com peso corporal médio inicial de 403 ± 75,5 kg, munidos de cânula ruminal e
1308 alojados individualmente em baias cobertas (3 m × 4,5 m) com piso de concreto, cocho de
1309 concreto e bebedouro *ad libitum*. Eles foram atribuídos a um design de quadrado latino 4 x 4,
1310 consistindo em quatro períodos de vinte e um dias e quatro tratamentos.

1311 Uma vez ao dia às 09h 00 min, os novilhos recebiam uma ração totalmente misturada
1312 contendo 300 g/kg de silagem de milho e 700 g/kg de concentrado (Tabela 1) mais os aditivos,
1313 permitindo 10% de sobras. Os aditivos alimentares utilizados foram Monensina sódica
1314 (Rumensin® 100, Eli Lilly do Brasil Ltda, São Paulo, SP, Brasil; 3 g / dia), *Bacillus toyonensis*
1315 (Micro-Cell Platinum® 10⁹, Lallemand Brasil; 1 g / dia) e *Saccharomyces cerevisiae boulardii*

1316 (ProTernative[®]20, Lallemand Brasil; 0,5 g / dia). Os aditivos foram organizados nos seguintes
 1317 tratamentos, fornecidos diariamente na ração totalmente misturada: (1) Monensina; (2)
 1318 Monensina + *B. toyonensis*; (3) Monensin + *S. boulardii*; e (4) *B. toyonensis* + *S. boulardii*
 1319 fornecidos na dieta mista total.

1320

1321 **Tabela 1.** Composição da dieta experimental oferecida aos novilhos sem os aditivos
 1322 nutricionais.

Item	Dieta
Ingrediente (% MS da dieta)	
Silagem de milho	30
Concentrado ^a	70
Milho moído	45,500
Farelo de soja	8,517
Casca de soja	14,000
Amireia [®] 180S	0,817
Sal	0,233
Lithonutri [®]	0,849
Premix	0,042
Vitaminas ADE	0,042
Composição química da dieta (g/kg MS da dieta)	
Matéria seca	604.938
Matéria orgânica	953.388
Proteína bruta	152.441
Extrato etéreo	22.919
Fibra em detergente neutro	381.568
Fibra em detergente ácido	208.071

1323 ^aNíveis de garantia do concentrado: Umidade (máx.) 120,00g/kg; Proteína bruta (min.) 150,00g/kg; Extrato etéreo
 1324 (min.) 31,00 g/kg; Fibra bruta (máx.) 110,00 g/kg; Matéria mineral (máx.) 39,00 g/kg; Calcio 5,00 a 7,00 g/kg;
 1325 Fósforo (min.) 2600,00 mg/kg; NDT (nutrientes digestíveis totais; min.) 740,00 g/kg; FDN (fibra em detergente
 1326 neutro) 140,00 g/kg; Cobalto (min.) 0.62 mg/kg; Cobre (min.)15,30 mg/kg; Enxofre (min.) 195,00 mg/kg; Iodo
 1327 (min.) 0,80 mg/kg; Magnésio (min.) 78,40 mg/kg; Manganês (min.) 12,48 mg/kg; Selênio (min.) 0,20 mg/kg;
 1328 Sódio (min.) 1230,00 mg/kg; Zinco (min.) 51,00 mg/kg; Vitamina A (min.) 3300,00 UI/kg; Vitamina D (min.)
 1329 412,50 UI/kg; Vitamina E (min.) 15,00 UI/kg.

1330

1331 Os novilhos foram distribuídos aleatoriamente nos tratamentos a cada período, de forma
1332 que todos os animais recebessem todos os tratamentos ao final do ensaio. Os tratamentos foram:
1333 (1) Monensina; (2) Monensina + *B. toyonensis*; (3) Monensina + *S. boulardii*; e (4) *B. toyonensis*
1334 + *S. boulardii*.

1335

1336 2.2. Análise química da silagem

1337 Amostra da silagem de milho foi seca em estufa de ar forçado a 55 ° C por 72 h, e moída
1338 em moinho Wiley com peneira de 1 mm e armazenada em sacos plásticos. A amostra foi
1339 analisada para MS (método 930.15), Cinzas (método 942.05) e PB (método 955.04) de acordo
1340 com as metodologias da AOAC [31]; EE foi analisado com o extrator ANKOM^{XT15} (ANKOM
1341 Technology, Macedon, NY, EUA) de acordo com as instruções do fabricante; enquanto FDNa
1342 e FDA foram analisados com analisador de fibra Tecnal TE-149 (Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil)
1343 de acordo com a metodologia de Van Soest *et al.* [32] usando α -amilase termoestável. O
1344 carboidrato não fibroso (CNF) foi calculado de acordo com Sniffen *et al.* [33]: CNF = 1000 -
1345 (PB + EE + Cinza + FDN)

1346

1347 2.3. Dados de produção de gás *in vitro*

1348 Em cada período, aproximadamente 500 ml de líquido ruminal foram obtidos dos
1349 novilhos coletados através da cânula ruminal, filtrados por camadas de gaze e colocados em
1350 garrafas térmicas individuais pré-aquecidas para manter a 39 °C. O líquido ruminal de cada
1351 animal em cada período foi utilizado como inóculo nas análises de produção de gases *in vitro*.

1352 O Sistema de Produção de Gás ANKOM RF (ANKOM Technology, Macedon, NY,
1353 EUA) contendo 12 módulos foi usado para medir a produção de gás *in vitro*. Para cada líquido
1354 ruminal obtido dos quatro novilhos, em cada período foram preparados 2 frascos com amostras
1355 de silagem e 1 branco, apenas com tampão e inóculo. Amostra de silagem de milho foi seca a
1356 55 ° C por 48 h e triturada em moinho Wiley com peneira de 1 mm. As amostras (500 mg)
1357 foram cuidadosamente pesadas em frasco de 250 ml e aquecidas com 100 ml de tampão de
1358 bicarbonato de fosfato [34] e, em seguida, 25 ml de líquido ruminal foram adicionados como
1359 inóculo; após o preparo, foram colocados em uma incubadora (modelo MA093 Dubnoff de
1360 banho metabólico com agitação, Marconi Ltda, Piracicaba, SP, Brasil) e conectados ao sistema
1361 totalmente automático ANKOM RF Gas Production System, sendo os dados registrados a cada
1362 5 min por 48 h. Os dados de pressão em termos de volume foram convertidos para a produção
1363 cumulativa de gás e corrigidos para brancos.

1364

1365 2.4. Modelos e ajuste de curvas

1366 Os dados de gases *in vitro* foram ajustados em cinco modelos matemáticos (Tabela 2).
 1367 Os modelos sigmóides de Gompertz e a equação logístico bicompartimentado são descritos por
 1368 Schofield *et al.* [8]. Groot *et al.* [6] e Richards [3] descrevem as equações do modelo sigmoidal.
 1369 Os modelos exponenciais Ørskov, Brody e Richards são descritos por Ørskov e McDonald [7]
 1370 e Brody [1], respectivamente.

1371

1372 Tabela 2. Modelos não lineares considerados neste estudo para descrever a produção de gás *in*
 1373 *vitro* da silagem de milho combinada com diferentes aditivos.

Modelos	Equação	Nº de parâmetros
Gompertz	$V(t) = V_F e^{[-be^{(-kt)}]} + \varepsilon$	3
Groot	$V(t) = V_F / (1 + (\frac{b^k}{t^k}))$	3
Ørskov	$V(t) = V_F + b(1 - e^{-kt})$	3
Brody	$V(t) = V_F(1 - be^{-kt}) + \varepsilon$	3
Richards	$V(t) = V_F(1 - be^{-kt})^m + \varepsilon$	4
Logístico Bicompartimentado	$V(t) = V_{1F} \{1 - e(-k_1(t - \lambda_1))\} + V_{2F} \{1 - e(-k_2(t - \lambda_2))\} + \varepsilon$	5

1374 Onde $V(t)$ é a produção cumulativa de gás (ml / 100 mg de MS) no tempo t , V_F é o potencial máximo de
 1375 produção de gás (ml / 100 mg de MS), V_{1F} é o volume final de gases derivados da degradação da fração solúvel
 1376 de rápida digestão (frações A + B1 do sistema Cornell) quando $T \rightarrow \infty$, V_{2F} é o volume final de gases derivados
 1377 da degradação da fração insolúvel de lenta digestão (fração B2 do sistema Cornell) quando $T \rightarrow \infty$, k representa
 1378 a taxa da produção de gás (% / h), kI é a taxa de produção de gás específica devido à degradação da fração
 1379 solúvel (% / h), $k2$ é a taxa de produção de gás específica devido à degradação da fração insolúvel (% / h), t é o
 1380 tempo de incubação (h), λ é o tempo de latência (h), b representa a constante de interação, m é um parâmetro de
 1381 forma, e é exponencial e ε é o erro experimental associado a cada observação.

1382

1383 2.5. Análise Estatística

1384 Os parâmetros dos modelos Gompertz, Groot, Ørskov, Brody e Logístico
 1385 Bicompartimentado foram estimados pelo método de Gauss Newton modificado pelo
 1386 procedimento NLIN do SAS (SAS University Edition, Sas Institute Inc. Cary, CA, EUA). O
 1387 número máximo de interações utilizadas foi de 100 (cem). Devido à dificuldade de ajuste dos
 1388 modelos de Richards pelo Gauss Newton, devido à não convergência do processo iterativo,
 1389 foi utilizado o algoritmo de Levenberg–Marquardt na interação de ajuste, sendo utilizadas 300
 1390 (trezentas) interações como máximo número.

1391 Sobre os valores previstos foram utilizados o coeficiente de determinação (R^2) e o teste
 1392 F para identidade dos parâmetros ($\beta_0 = 0$ e $\beta_1 = 1$) de regressão dos dados observados; o
 1393 coeficiente de correlação e concordância (CCC); a raiz quadrada do quadrado médio do erro da
 1394 predição (RQMEP); e a decomposição do quadrado médio do erro da predição (QMEP) em erro
 1395 médio (EM), viés sistemático (VS) e erro aleatório (ER) foram utilizados como critérios para
 1396 avaliação dos modelos. A comparação entre os modelos quanto à sua acurácia foi realizada pela
 1397 análise da decomposição do quadrado médio do erro da predição (QMEP) e a precisão utilizou
 1398 o delta do critério de informação de Akaike (AIC) [35].

1399 Os cálculos estatísticos de avaliação e comparação dos modelos foram feitos por meio
 1400 do programa Model Evaluation System versão 3.2.2. Uma vez escolhido o modelo que melhor
 1401 descreve a curva média de produção de gases *in vitro* dos tratamentos, os parâmetros do modelo
 1402 selecionado foram submetidos à análise de variância pelo procedimento PROC GLM e as
 1403 médias comparadas pelo teste de Tukey no programa SAS (SAS University Edition, Sas
 1404 Institute Inc., Cary, CA, EUA). Foi adotado nível de significância de 5% em todas as análises
 1405 estatísticas.

1406 Os parâmetros de produção de gás *in vitro* foram analisados na ANOVA unilateral
 1407 usando o procedimento GLM (General Linear Models) do pacote estatístico SAS (SAS
 1408 University Edition, Sas Institute Inc., Cary, CA, EUA) em design de quadrado latino. As médias
 1409 entre os tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a probabilidade de $\alpha = 0,05$
 1410 utilizando o seguinte modelo estatístico:

$$1411 \quad Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + T_k + e_{ijk}$$

1412 Onde: μ = média geral; A_i = efeito animal i , com i variando de 1 a 4; P_j = efeito de período j ,
 1413 com j variando de 1 a 4; T_k = efeito do tratamento k , com k variando de 1 a 4; e_{ijk} = erro
 1414 aleatório associado a cada observação.

1415

1416 **Resultados**

1417 A composição química da silagem de milho incubada na produção de gás *in vitro*
 1418 apresentou: Matéria seca (MS) 310,27 g kg⁻¹ na matéria natural; Cinza 62,39 g kg⁻¹ na MS;
 1419 Proteína bruta 97,70 g kg⁻¹ na MS; Extrato etéreo 12,56 g kg⁻¹ na MS; fibra em detergente
 1420 neutro analisada com α -amilase 606,75 g kg⁻¹ na MS; fibra em detergente ácido 428,19 g kg
 1421 ⁻¹ em MS; carboidrato não fibroso 220,60 g kg⁻¹ na MS.

1422 A avaliação dos modelos que se enquadram nos critérios apresentou médias próximas
 1423 aos dados observados (Tabela 3), embora os desvios-padrão sejam menores quando ajustados
 1424 aos modelos. Os modelos de Groot e Richards apresentaram o maior coeficiente de

1425 determinação (R^2), indicando melhor ajuste dessas equações aos dados *in vitro*. Além disso, o
 1426 coeficiente de correlação e concordância (CCC) apresentou o mesmo padrão de R^2 , com os
 1427 modelos de Groot e Richards mais próximos do coeficiente ideal do que outros modelos,
 1428 refletindo precisão e exatidão.

1429

1430 Tabela 3. Avaliação do ajuste dos modelos para estimar a produção de gás *in vitro* da silagem
 1431 de milho combinada com diferentes aditivos.

Modelo	Média	EP	R^2	P-value	CCC	RQMEP	Decomposição do		
							QMEP (%)		
							EM	VS	EA
Gompertz	7,88	2,02	0,736	0,664	0,845	1,23	0,007	0,100	99,893
Groot	7,87	2,10	0,770	0,999	0,871	1,14	0,000	0,000	100,000
Ørskov	7,87	2,08	0,751	0,999	0,858	1,19	0,000	0,000	100,000
Brody	7,87	2,08	0,751	0,999	0,858	1,19	0,000	0,000	100,000
Richards	7,87	2,10	0,771	0,998	0,870	1,15	0,000	0,000	100,000
Logístico									
Bicompartmentado	7,88	2,05	0,700	0,569	0,865	1,16	0,009	0,140	99,85
Dados observados	7,87	2,40	-	-	-	-	-	-	-

1432 EP, erro padrão; R^2 , coeficiente de determinação; P-value, valor da probabilidade associada com a simultaneidade
 1433 do teste F para a identidade dos parâmetros ($\beta_0 = 0$ e $\beta_1 = 1$) da regressão dos dados observados dos valores
 1434 preditos; CCC, coeficiente de correlação e concordância; RQMEP, raiz quadrada do quadrado médio do erro da
 1435 predição; QMEP, decomposição do quadrado médio do erro da predição; EM, erro médio; VS, viés sistemático;
 1436 EA, erro aleatório.

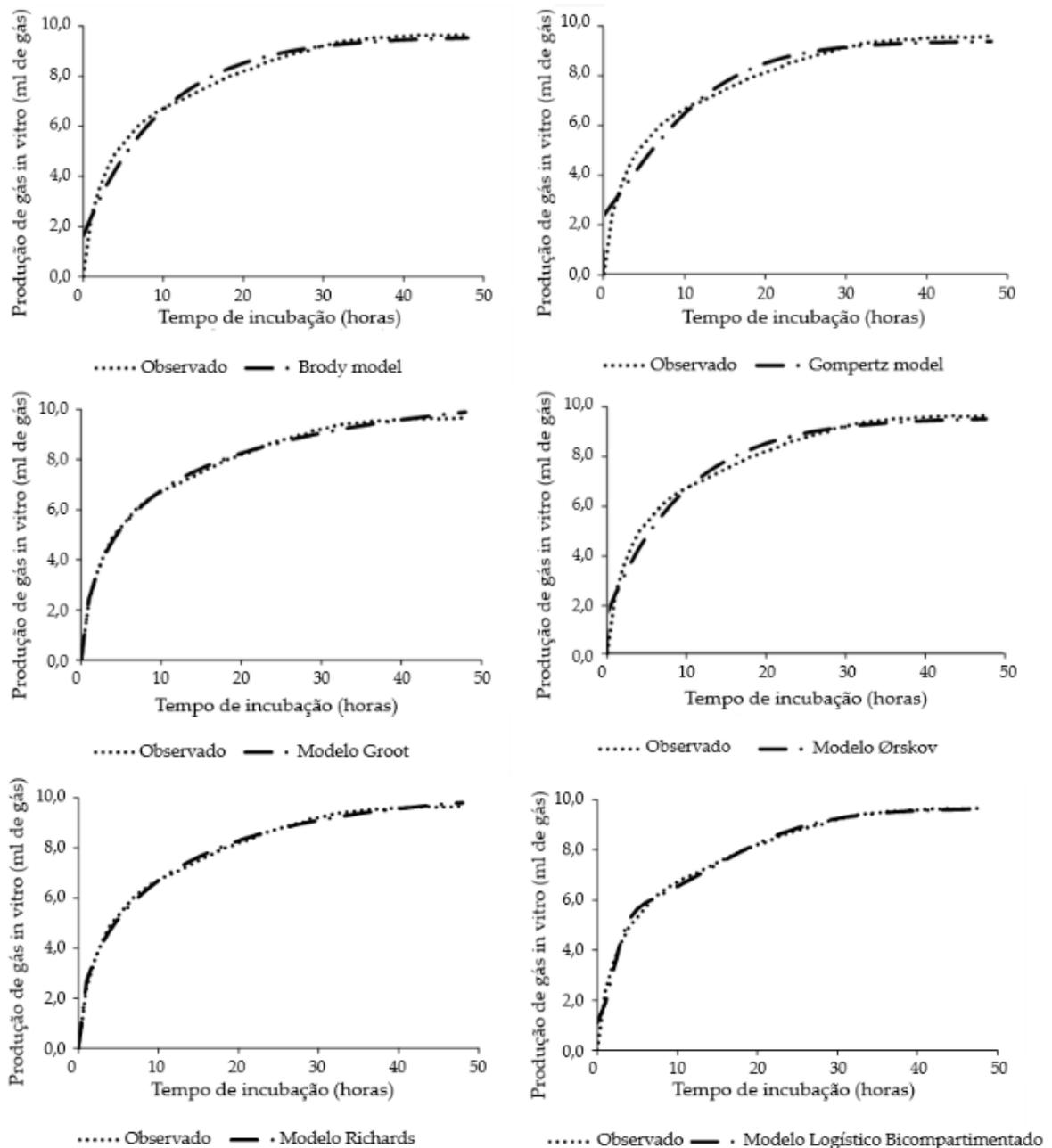
1437

1438 Quando observado a a raiz quadrada do quadrado médio do erro da predição (RQMEP),
 1439 a medida absoluta para ajuste dos modelos, o menor valor foi apresentado pelo modelo Groot,
 1440 seguido pelos modelos Richards e Logístico bicompartmentado (Tabela 3). Após a
 1441 decomposição do quadrado médio do erro da predição (QMEP), foi possível inferir o erro de
 1442 predição, sendo que os modelos Groot, Ørskov, Brody e Richards apresentaram cem por cento
 1443 (100%) de erro aleatório (ER), enquanto os modelos Gompertz e Logístico Bicompartmentado,
 1444 além da ER, também apresentaram erro médio (EM) e viés sistemático (BS).

1445 A comparação entre os modelos, para acurácia e precisão, mostrou que os modelos de
1446 Groot e Richards não diferiram entre si e foram mais precisos ($p < 0,05$) e acurados ($p < 0,05$)
1447 que os demais modelos.

1448 A concordância perfeita entre as curvas observadas e previstas de produção de gás
1449 acumulada *in vitro* foi observada nos modelos de Groot e Richards (Figura 1). As previsões dos
1450 modelos Brody, Gompertz e Ørskov previram uma produção de gás começando em torno de 2
1451 ml de gás / 100 mg de MS, incompatibilizando a interceptação e a forma da curva com os dados
1452 observados (Figura 1). O modelo Logístico Bicompartimentado quase se ajusta aos dados,
1453 embora a interceptação também tenha sido superestimada e um leve ponto de inflexão previsto,
1454 mas não observado (Figura 1).

1455



1456

1457 Figura 1. Curvas da produção de gás *in vitro* cumulativa da silagem de milho com combinação
 1458 de probióticos e ionóforo ajustadas em diferentes modelos

1459

1460 Explorando os dados de produção de gás *in vitro* ao longo do modelo Groot para
 1461 avaliação de aditivos alimentares, os parâmetros estimados apresentaram diferenças estatísticas
 1462 entre os tratamentos, conforme apresentado na Tabela 4. O tratamento *B. toyonensis* + *S.*
 1463 *boulardii* apresentou maior V_F (12,08 ml / 100 mg de MS; $p = 0,0022$) do que Monensin e
 1464 Monensin + *S. boulardii* (9,16 e 9,22 ml / 100 mg de MS, respectivamente). Além disso, a taxa
 1465 fracionária de produção de gás (k) foi maior ($p = 0,0193$) em *B. toyonensis* + *S. boulardii* do
 1466 que em Monensin, não apresentando diferença estatística ($p > 0,05$) dos outros dois tratamentos.

1467 Além disso, o tempo entre o início da produção de gás e o tempo de latência (λ) foi maior ($p <$
 1468 0,001) com Monensin e Monensin + *B. toyonensis* do que com Monensin + *S. boulardii* e *B.*
 1469 *toyonensis* + *S. boulardii*.

1470

1471 Tabela 4. Estimativa dos parâmetros da produção de gás *in vitro* da silagem de milho com
 1472 diferentes combinações de aditivos obtidos pelo modelo de Groot

Parâmetros	Tratamentos				P value	EPM
	Monensina	Monensina + <i>B. toyonensis</i>	Monensina + <i>S. boulardii</i>	<i>B. toyonensis</i> + <i>S. boulardii</i>		
V_F	9,16 ^b	11,11 ^{ab}	9,22 ^b	12,08 ^a	0,0022	0,433
k	3,15 ^b	5,24 ^a	4,01 ^{ab}	4,40 ^a	0,0193	0,452
λ	1,07 ^a	1,11 ^a	0,66 ^b	0,81 ^b	<0,001	0,038

1473 V_F , potencial máximo da produção de gás (ml/100mg de MS); k , taxa fracional da produção de gás (%/h); λ , tempo
 1474 de latência (h); EPM, erro padrão da média. Médias com letras subscritas diferem pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

1475

1476 Ao explorar os dados por meio do modelo Logístico Bicompartimentado, o mais
 1477 utilizado para este tipo de avaliação (Tabela 5), todos os coeficientes de determinação ajustados
 1478 por graus de liberdade, (R^2), apresentaram valores superiores a 0,95, evidenciando que o os
 1479 dados obtidos da produção de gás foram ajustados corretamente na equação Logístico
 1480 Bicompartimentado. Ao comparar o parâmetro de produção de gás dos tratamentos, o volume
 1481 de gás derivado da fração de degradação rápida (V_{IF}) e o tempo de defasagem (λ) dos
 1482 microrganismos ruminais iniciando a degradação da matéria incubada apresentaram valores
 1483 maiores ($p = 0,024$) em *B. toyonensis* + *S. boulardii* do que o tratamento com Monensin (Tabela
 1484 5). No entanto, a taxa de degradação dos parâmetros (k_1 e k_2) e V_{2F} não apresentaram diferença
 1485 estatística entre os tratamentos. Apesar de o potencial máximo de produção de gás (V_F) não
 1486 diferir entre os tratamentos ($p = 0,76$), demonstrado na Tabela 5 e na Figura 2, numericamente
 1487 o tratamento Monensin + *B. toyonensis* apresentou maior produção de gás (12,29 ml) e
 1488 Monensina + *S. boulardii* teve a menor produção de gás (11,15 ml).

1489

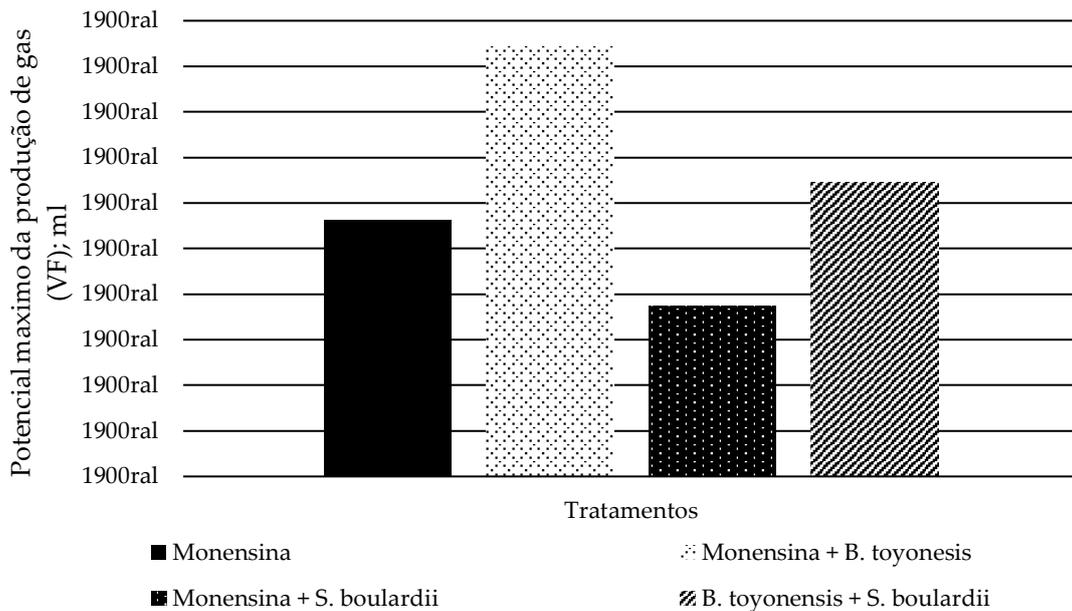
1490 Tabela 5. Estimativa dos parâmetros da produção de gás *in vitro* de silagem de milho com
 1491 diferentes aditivos obtidos pelo modelo logístico bicompartimentado.

Parâmetros	Tratamentos				P-value	EPM
	Monensina	Monensina + <i>B. toyonensis</i>	Monensina + <i>S. boulardii</i>	<i>B. toyonensis</i> + <i>S. boulardii</i>		
V_{IF}	3,966 ^b	4,767 ^{ab}	4,364 ^{ab}	4,829 ^a	0,024	0,114
k_I	0,513	0,506	0,535	0,482	0,921	0,026
λ	0,279 ^b	0,440 ^{ab}	0,345 ^{ab}	0,569 ^a	0,045	0,039
V_{2F}	7,559	7,519	6,782	6,860	0,758	0,329
k_2	0,040	0,038	0,034	0,034	0,731	0,002
V_F	11,525	12,286	11,146	11,689	0,762	0,378
R^2	0,958	0,980	0,972	0,981	-	-

1492 V_{IF} , volume final dos gases derivados da degradação da fração solúvel rapidamente digestível (ml/100mg de MS);
 1493 k_I , taxa específica da produção de gás devido a degradação da fração solúvel (%/h); λ , tempo de latência (h); V_{2F} ,
 1494 volume final dos gases derivados da degradação da fração insolúvel de lenta digestão (ml/100mg de MS); k_2 , taxa
 1495 específica da produção de gás devido a degradação da fração insolúvel (%/h); V_F , potencial máximo da produção
 1496 de gás (ml/100mg de MS); R^2 , coeficiente de determinação ajustado para os graus de liberdade; EPM, erro padrão
 1497 da média. Médias com letras subscritas diferem pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

1498

1499



1500

1501 Figura 2. Potencial máximo da produção de gás *in vitro* (V_F) da silagem de milho realizada
 1502 com inoculo de novilhos recebendo diferentes aditivos nutricionais estimados pelo modelo
 1503 logístico bicompartimentado

1504

1505 **Discussão**

1506 Segundo o NRCS [36], para ser classificado como volumoso o alimento deve ter
 1507 proteína bruta inferior a 18%, portanto a silagem de milho é considerada volumoso. O NRC
 1508 [37] traz uma classificação um pouco diferente, onde a silagem é uma classe de alimento
 1509 separado das forragens e volumoso devido ao processo de ensilagem.

1510 A composição química da silagem de milho pode ser afetada por diversos elementos,
 1511 como a fertilidade do solo, as condições climáticas e a genética das sementes, que podem
 1512 interferir na composição final da ração. A MS (310,27 g kg⁻¹ na MS), MO (937,61 g kg⁻¹ na
 1513 MS) e EE (12,56 g kg⁻¹ na MS) obtidos neste trabalho foram inferiores aos apresentados em
 1514 uma metanálise de silagem de milho cultivado no Brasil (MS 325,20 g kg⁻¹ na MS; OM 949,80
 1515 g kg⁻¹ na MS; EE 28,40 g kg⁻¹ na MS), embora a quantidade de PB (97,70 g kg⁻¹ na MS),
 1516 FDN (606,75 g kg⁻¹ na MS) e FDA (428,19 g kg⁻¹ na MS) foram ligeiramente maiores do que
 1517 a metanálise (PB 75,60 g kg⁻¹ na MS; FDN 548,2 g kg⁻¹ na MS; FDA 299,30 g kg⁻¹ na MS)
 1518 [29]. Esse padrão também foi observado no NRC (2021) e no banco de dados de silagem de
 1519 milho típico da América do Norte, onde a MS foi ligeiramente inferior, mas as cinzas, PB, FDN
 1520 e FDA estavam acima dos valores médios (MS 354 g kg⁻¹ na MN; cinzas 38 g kg⁻¹ na MS;
 1521 PB 77 g kg⁻¹ na MS; FDN 409 g kg⁻¹ na MS; FDA 243 g kg⁻¹ na MS).

1522 A PB tendo valores superiores à média (NRC, 2021; Zardin *et al.*, 2017) pode ser devido
1523 ao nível de fertilização com nitrogênio aplicado na lavoura, assim como esclarecido por
1524 Nematpour *et al.* [38] quando estudando diferentes regimes de irrigação e níveis de fertilizante
1525 nitrogenado em diferentes culturas de silagem, descobriram que doses mais altas de fertilizante
1526 nitrogenado resultam em maior proteína bruta nas silagens.

1527 Outro fator que altera a composição de uma planta é sua maturidade. A interferência da
1528 maturidade na composição química da silagem de milho pode ser o motivo da ligeira diferença
1529 da amostra analisada em relação ao descrito na literatura. Foi demonstrado que ao comparar a
1530 silagem de milho imatura com os dados de silagem de milho maduro, é possível observar que
1531 a silagem imatura apresenta alta umidade, resultando em baixa MS e maior PB, FDN, FDA e
1532 Cinza [37,39,40]. O estágio de maturação na colheita juntamente com o nível de fertilização
1533 com nitrogênio utilizado na cultura pode ser o motivo que leva a diferenças na composição
1534 química da silagem de milho utilizada neste estudo.

1535 Em relação aos modelos matemáticos, as formas não sigmoidais assumem que as taxas
1536 de produção de gás diminuem continuamente, enquanto as formas sigmoidais trabalham
1537 primeiro com uma taxa de produção de gás aumentada, atingindo uma taxa máxima e depois
1538 diminuindo [41], e diferenças são esperadas entre suas estimativas devido de como os dados
1539 são interpretados. Devido à grande variedade de elementos submetidos a um teste de produção
1540 de gás *in vitro*, e às condições feitas nos testes, sua cinética e produção de gás não são iguais.
1541 Mjoun [42] avaliou o ajuste de vários alimentos para ruminantes usando oito modelos
1542 (Exponencial, Logístico, Logístico Bicompartimentado, France, Gompertz, Gompertz
1543 Bicompartimentado, Groot, e McDonalds-Ørskov) e obteve o melhor ajuste de milho silagem
1544 com o modelo Logístico Bicompartimentado. Em comparação com Mjoun [42], os modelos
1545 escolhidos para serem avaliados neste estudo incluíram apenas o Logístico Bicompartimentado
1546 e o Gompertz, que não foram os que melhor se ajustaram aos nossos dados. Os critérios
1547 avaliados pelo modelo Logístico Bicompartimentado foram bons ($R^2 = 0,700$; CCC = 0,865;
1548 RQMEP = 1,16), mas o modelo de Groot e Richards foram melhores ($R^2 = 0,770$ e $0,771$, CCC
1549 = 0,871 e 0,870, RQMEP = 1,14 e 1,15, respectivamente). Mello *et al.* [43] também
1550 encontraram um melhor ajuste da produção de gás *in vitro* de silagem de milho com o modelo
1551 Logístico Bicompartimentado após a comparação com os modelos de Brody, Von Bertalanffy,
1552 Gompertz, France, Logístico e Logístico Modificado.

1553 Porém, apesar do bom ajuste, o modelo de Richards apresentou problemas de
1554 convergência no processo iterativo, exigindo o uso do algoritmo de Marquardt e um aumento
1555 no número de iterações, possivelmente porque este modelo necessita estimar um parâmetro

1556 adicional. De acordo com Gurgel *et al.* [14], alguns pesquisadores também relataram
1557 dificuldades de convergência usando o modelo de Richards. Além disso, um modelo com três
1558 parâmetros, como é o caso do modelo Groot, apresentará mais graus de liberdade nas
1559 estimativas, o que pode ser importante quando uma curva apresenta menor quantidade de
1560 informações ou dados [14]. Também é importante que todos os parâmetros tenham significado
1561 biológico. Nesse sentido, os modelos Groot e Logístico Bicompartimentado apresentam
1562 vantagens sobre as demais funções por não assumirem uma taxa fracionária de fermentação
1563 constante [6].

1564 Assim como demonstrado por Mjoun [42], cada tipo de alimento possuía uma cinética
1565 de produção de gás, combinando com diferentes modelos, sendo possível que a Monensina e
1566 os dois probióticos (*S. boulandii* e *B. toyonensis*) diluídos no líquido ruminal utilizado como o
1567 inóculo neste estudo pode ter interferido na cinética e na produção de gás da silagem de milho.
1568 Essa interferência por aditivos alimentares na produção de gás *in vitro* foi observada por
1569 Elghandour *et al.* [44] avaliando três culturas de *Saccharomyces cerevisiae*, quando a adição de
1570 duas das culturas foi responsável por um aumento no parâmetro de V_F (controle = 359,5 ml g⁻¹
1571 1 na MS vs. *S. cerevisiae* = 409,6 e 428,8 ml g⁻¹ na MS).

1572 Na comparação da produção de gás *in vitro*, é necessária grande atenção aos detalhes,
1573 devido à diversidade natural da silagem de milho, fluido ruminal e à interferência dos
1574 tratamentos submetidos ao teste *in vitro*. Macome *et al.* [45] avaliaram a influência da
1575 maturidade da silagem de milho na produção de gás com o inóculo de vacas Holandesas
1576 adaptadas a uma relação volumoso: concentrado de 80:20 e encontraram uma MS de silagem
1577 de milho = 318 g kg⁻¹ na MN e V_F = 101,38 ml g⁻¹ na MS estimado pelo modelo Groot [6],
1578 com a colheita de milho com 32% de MS, semelhante aos achados deste estudo, onde MS =
1579 310,27 g kg⁻¹ na MS e V_F estimado por Groot o modelo foi de 91,6 a 120,8 ml g⁻¹ na MS.
1580 No entanto, Zhang *et al.* [46], usando inóculo de vacas leiteiras recebendo uma proporção da
1581 dieta em torno de 55:45 de volumoso: concentrado, obteve um alto V_F (V_F = 137,6 ml g⁻¹ de
1582 MS), estimado pelo modelo de France [47], quando em comparação com nosso estudo.

1583 Faria *et al.* [48], usando silagem de milho tratada ou não com Monensina sódica antes
1584 da ensilagem, observou que Monensina reduziu a produção de gás acumulada em 48 h de
1585 incubação de 56,59 ml g⁻¹ de MS (apenas silagem de milho) para 52,99 ml g⁻¹ de MS
1586 (silagem de milho com Monensin). Além disso, a V_F de 96 h de incubação estimada pelo modelo
1587 da France passou de 62,72 ml g⁻¹ de MS (apenas silagem de milho) para 56,58 ml g⁻¹ de
1588 MS (silagem de milho com Monensin). Isso também foi apoiado por Shen *et al.* [49], que
1589 encontraram uma menor produção de gás com a adição de Monensin (181,9 vs. 131,0 ml de

1590 gás, controle vs. Monensina) em uma mistura de ração total com uma proporção de 50:50
1591 (volumoso: concentrado) usada como substrato na produção *in vitro*. Este efeito do Monensin
1592 foi semelhante aos dados obtidos neste estudo ajustados pelo modelo de Groot. Os tratamentos
1593 com monensina apresentaram menor V_F do que o tratamento apenas com probióticos (*B.*
1594 *toyonensis* + *S. boulardii*), mas quando ajustados ao modelo Logístico Bicompartimentado,
1595 nenhuma diferença significativa foi observada no parâmetro V_F ($p = 0,762$). Este resultado
1596 destaca explicitamente a necessidade de usar modelos que se ajustem tão perfeitamente quanto
1597 possível aos dados de produção de gás *in vitro*, caso contrário, as diferenças de tratamento
1598 podem estar ausentes.

1599 O fornecimento de probióticos e monensina via dieta e subsequente amostragem do
1600 líquido ruminal para uso como inóculo no teste *in vitro* resultou com sucesso em diferenças na
1601 produção de gás de uma ração rica em fibras, a silagem de milho. Após a submissão dos dados
1602 de produção de gás aos modelos, *B. toyonensis* + *S. boulardii* apresentou maior V_F do que o
1603 tratamento com Monensin pelo modelo Groot, e maior V_{FI} pelo modelo Logístico
1604 Bicompartimentado. A adição de *S. cerevisiae* em alimentos ricos em fibras (palha de milho,
1605 palha de aveia, bagaço de cana e palha de sorgo) também foram responsáveis por uma alta V_F
1606 em comparação com o controle (0 mg de *S. cerevisiae*) [23]. Corroborando esses resultados,
1607 um aumento da V_F pela adição de células vivas de levedura *S. cerevisiae* ou extrato de células
1608 também foi observado por Rodriguez *et al.* [50], quando comparado ao tratamento controle (0
1609 mg de *S. cerevisiae*) usando uma ração total misturada (50:50, relação volumoso: concentrado).

1610 Devido ao pequeno número de estudos com *Bacillus toyonensis*, principalmente com o
1611 uso como aditivo em rações para bovinos, a comparação dos resultados é difícil. No entanto,
1612 em relação ao efeito do *B. toyonensis* observado neste estudo ao comparar os tratamentos
1613 Monensin + *B. toyonensis* vs. Monensin + *S. boulardii*, a diferença entre eles só foi observada
1614 em λ estimado pelo modelo de Groot, com um maior tempo latência de Monensin + *B.*
1615 *toyonensis* (1,11 h) do que Monensin + *S. boulardii* (0,66 h).

1616 Pode-se inferir que a avaliação *in vitro* de rações para ruminantes é extremamente
1617 importante para a nutrição animal, uma vez que a ração influencia diretamente no desempenho
1618 produtivo dos animais, e isso terá impacto direto no desempenho econômico da atividade
1619 pecuária. Assim, neste estudo, o ajuste dos melhores modelos para a avaliação de silagem
1620 (modelos Groot e Logístico Bicompartimentado) significa que houve um entendimento de
1621 como a cinética da degradação *in vitro* ocorre. Esse conhecimento elucidou os mecanismos pelos
1622 quais os ruminantes transformam esse volumoso em produto de origem animal. Além disso, foi
1623 feita uma comparação de aditivos para novilhos, e o estudo mostrou que a combinação de

1624 Monensin com probióticos é a melhor forma de incluir esses aditivos para obter melhores
1625 resultados no uso de forrageiras incluídas na dieta de novilhos confinados.

1626

1627 **Conclusão**

1628 A combinação de Monensina e probióticos (*B. toyonensis* + *S. boulardii*) pode melhorar
1629 a cinética de degradação da silagem de milho, sendo que os modelos de Groot e Richards
1630 tiveram o melhor ajuste para os dados de produção de gás *in vitro* da silagem de milho testada
1631 com diferentes combinações de aditivos.

1632 Pesquisas adicionais usando concentrados com a combinação de Monensin e probióticos
1633 fornecerão uma visão melhor sobre a cinética de degradação na nutrição de ruminantes. Além
1634 disso, a validação em animais *in vivo* será interessante para validar esses resultados. A
1635 compreensão dessas relações pode contribuir para o desenvolvimento de novas estratégias
1636 nutricionais com base nas modificações da proporção concentrado: volumoso na dieta de
1637 ruminantes. Futuras indicações para melhorar a pesquisa são incluir diferentes alimentos e
1638 dietas na avaliação da cinética de degradação *in vitro* usando Monensin e combinações de
1639 probióticos para gado de corte e leite.

1640

1641 **Contribuições dos autores:** C.d.S.Z. realizou o experimento, análise laboratorial, coleta de
1642 amostras e redação do manuscrito. L.C.V.Í. e C.C.B.F.Í. concebeu e elaborou a pesquisa, e
1643 redigiu o manuscrito. A.L.C.G. e G.d.S.D. conduziu análises estatísticas. G.T.d.S. e A.M.D.
1644 concebeu e elaborou a pesquisa; todos os autores leram e aprovaram o manuscrito.

1645

1646 **Financiamento:** Esta pesquisa não recebeu financiamento externo.

1647

1648 **Declaração do Conselho de Revisão Institucional:** Não aplicável.

1649

1650 **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido:** Não aplicável.

1651

1652 **Declaração de disponibilidade de dados:** Não aplicável.

1653

1654 **Conflitos de interesse:** Os autores declaram não haver conflito de interesses

1655

1656 **Referências**

1657

- 1658 1. Brody, S. *Bioenergetics and Growth; with Special Reference to the Efficiency Complex in*
1659 *Domestic Animals*; Reinhold: Oxford, UK, 1945.
- 1660 2. Von Bertalanffy, L. Quantitative Laws in Metabolism and Growth. *Q. Rev. Biol.* **1957**, *32*,
1661 217–231. <https://doi.org/10.1086/401873>.
- 1662 3. Richards, F.J. A flexible growth function for empirical use. *J. Exp. Bot.* **1959**, *10*, 290–301.
1663 <https://doi.org/10.1093/jxb/10.2.290>.
- 1664 4. Laird, A.K. Dynamics of relative growth. *Growth* **1965**, *29*, 249–263.
- 1665 5. Savageau, M.A. Growth equations: A general equation and a survey of special cases. *Math.*
1666 *Biosci.* **1980**, *48*, 267–278. [https://doi.org/10.1016/0025-5564\(80\)90061-9](https://doi.org/10.1016/0025-5564(80)90061-9).
- 1667 6. Groot, J.C.J.; Cone, J.W.; Williams, B.A.; Debersaques, F.M.A.; Lantinga, E.A. Multiphasic
1668 analysis of gas production kinetics for in vitro fermentation of ruminant feeds. *Anim. Feed*
1669 *Sci. Technol.* **1996**, *64*, 77–89. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(96\)01012-7](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(96)01012-7).
- 1670 7. Orskov, E.R.; Mcdonald, I. The estimation of protein degradability in the rumen from
1671 incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci.* **1979**, *92*,
1672 499–503. <https://doi.org/10.1017/S0021859600063048>.
- 1673 8. Schofield, P.; Pitt, R.E.; Pell, A.N. Kinetics of fiber digestion from in vitro gas production.
1674 *J. Anim. Sci.* **1994**, *72*, 2980–2991. <https://doi.org/10.2527/1994.72112980x>.
- 1675 9. Olivo, P.M.; Santos, G.T.; Ítavo, L.C.V.; Silva Junior, R.C.; Leal, E.S.; Prado, R.M.
1676 Assessing the nutritional value of agroindustrial co-products and feed through chemical
1677 composition, in vitro digestibility, and gas production technique. *Acta Sci. Anim. Sci.* **2017**,
1678 *39*, 289–295. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v39i3.34024>.
- 1679 10. Diaz, T.G.; Branco, A.F.; Ítavo, L.C.V.; Santos, G.T.; Carvalho, S.T.; Teodoro, A.L.;
1680 Oliveira, R.L. In vitro gas production kinetics and digestibility in ruminant diets with
1681 diferente levels of cashew nutshell liquid. *Semin. Cienc. Agrar.* **2018**, *39*, 1669–1682.
1682 <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n4p1669>.
- 1683 11. Souza, A.D.V.; Ítavo, L.C.V.; Favaro, S.P.; Ítavo, C.C.B.F.; Petit, H.V.; Dias, A.M.;
1684 Morais, M.G.; Reis, F.A.; Roscoe, R. Thermal decomposition, chemical composition, in
1685 vitro digestibility and gas production and in situ degradability of oilseed residues from the
1686 biofuel industry. *Anim. Sci. J.* **2018**, *89*, 79–87. <https://doi.org/10.1111/asj.12889>.
- 1687 12. Leal, E.S.; Ítavo, L.C.V.; Valle, C.B.; Ítavo, C.C.B.F.; Dias, A.M.; Difante, G.S.; Barbosa-
1688 Ferreira, M.; Nonato, L.M.; Melo, G.K.A.; Gurgel, A.L.C. AInfluence of protodioscin

- 1689 content on digestibility and in vitro degradation kinetics in *Urochloa brizantha* cul-tivars.
 1690 *Crop Pasture Sci.* **2020**, *71*, 278–284. <https://doi.org/10.1071/CP18357>.
- 1691 13. Santana, J.C.S.; Morais, J.A.S.; Difante, G.S.; Ítavo, L.C.V.; Gurgel, A.L.C.; Oliveira, V.S.;
 1692 Rodrigues, M.J.S.T. In vitro digestion characteristics of various combinations of elephant
 1693 grass hay, *Gliricidia* hay or silage, soybean meal and corn meal in rations for sheep. *Trop.*
 1694 *Grassl.* **2020**, *8*, 147–152. [https://doi.org/10.17138/TGFT\(8\)147-152](https://doi.org/10.17138/TGFT(8)147-152).
- 1695 14. Gurgel, A.L.C.; Morais, J.A.S.; Santana, J.C.S.; Difante, G.S.; Emerenciano Neto, J.V.;
 1696 Ítavo, L.C.V.; Ítavo, C.C.B.F.; Oliveira, V.S.; Rodrigues, M.J.S.T. Mathematical models to
 1697 adjust the parameters of in vitro cumulative gas production of diets containing preserved
 1698 *Gliricidia*. *Ciência Rural* **2021**, *51*, e20200993. [https://doi.org/10.1590/0103-](https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20200993)
 1699 [8478cr20200993](https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20200993).
- 1700 15. Weiss, C.P.; Beck, P.A.; Gadberry, M.S.; Richeson, J.T.; Wilson, B.K.; Robinson, C.A.;
 1701 Zhao, J.; Hess, T.; Hubbell, D. Effects of intake of monensin during the stocker phase and
 1702 subsequent finishing phase on performance and carcass characteristics of finishing beef
 1703 steers. *Appl. Anim. Sci.* **2020**, *36*, 668–676. <https://doi.org/10.15232/aas.2020-02031>.
- 1704 16. Tseu, R.J.; Perna Junior, F.; Carvalho, R.F.; Sene, G.A.; Tropaldi, C.B.; Peres, A.H.;
 1705 Rodrigues, P.H.M. Effect of tannins and monensin on feeding behaviour, feed intake,
 1706 digestive parameters and microbial efficiency of nellore cows. *Ital. J. Anim. Sci.* **2020**, *19*,
 1707 262–273. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2020.1729667>.
- 1708 17. Thompson, L.R.; Beck, M.R.; Gunter, S.A.; Williams, G.D.; Place, S.E.; Reuter, R.R. An
 1709 energy and monensin supplement reduces methane emission intensity of stocker cattle
 1710 grazing winter wheat. *Appl. Anim. Sci.* **2019**, *35*, 433–440.
 1711 <https://doi.org/10.15232/aas.2018-01841>.
- 1712 18. İnal, F.; Gürbüz, E.; Coşkun, B.; Alataş, M.S.; Çitil, Ö.B.; Polat, E.S.; Şeker, E.; Özcan, C.
 1713 The Effects of Live Yeast Culture (*Sac-charomyces cerevisiae*) on Rumen Fermentation and
 1714 Nutrient Degradability in Yearling Lambs. *Kafkas Üniversitesi Vet. Fakültesi Derg.* **2010**,
 1715 *16*, 799–804. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2010.1672>.
- 1716 19. Uyeno, Y.; Shigemori, S.; Shimosato, T. Effect of probiotics/prebiotics on cattle health and
 1717 productivity. *Microbes Environ.* **2015**, *30*, 126–132.
 1718 <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME14176>.
- 1719 20. Young, T.R.; Ribeiro, F.R.B.; Sanchez, N.C.B.; Carroll, J.A.; Jennings, M.A.; Cribbs, J.T.;
 1720 Rathmann, R.J.; Corley, J.R.; Johnson, B.J. Yeast cell wall supplementation alters the
 1721 performance and health of beef heifers during the receiving period. *Prof. Anim. Sci.* **2017**,
 1722 *33*, 166–175. <https://doi.org/10.15232/pas.2016-01511>.

- 1723 21. Diaz, T.G.; Branco, A.F.; Jacovaci, F.A.; Jobim, C.C.; Bolson, D.C.; Daniel, J.L.P.
1724 Inclusion of live yeast and mannan-oligosaccharides in high grain-based diets for sheep:
1725 Ruminant parameters, inflammatory response and rumen morphology. *PLoS ONE* **2018**, *13*,
1726 e0193313. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193313>.
- 1727 22. Diaz, T.G.; Branco, A.F.; Jacovaci, F.A.; Jobim, C.C.; Daniel, J.L.P.; Bueno, A.V.I.;
1728 Ribeiro, M.G. Use of live yeast and mannan-oligosaccharides in grain-based diets for cattle:
1729 Ruminant parameters, nutrient digestibility, and inflammatory response. *PLoS ONE* **2018**, *13*,
1730 e0207127. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207127>.
- 1731 23. Elghandour, M.M.Y.; Chagoyán, J.C.V.; Salem, A.Z.M.; Kholif, A.E.; Castañeda, J.S.M.;
1732 Camacho, L.M.; Cerrillo-Soto, M.A. Effects of *saccharomyces cerevisiae* at direct addition
1733 or pre-incubation on in vitro gas production kinetics and degradability of four fibrous feeds.
1734 *Ital. J. Anim. Sci.* **2014**, *13*, 295–301. <https://doi.org/10.4081/ijas.2014.3075>.
- 1735 24. Wambui, C.; Abdulrazak, S. Effect of yeast supplementation on in vitro ruminal
1736 degradability of selected browse species from Kenya. *J. Food Agric. Environ.* **2010**, *8*, 553–
1737 557.
- 1738 25. Opsi, F.; Fortina, R.; Tassone, S.; Bodas, R.; López, S. Effects of inactivated and live cells
1739 of *Saccharomyces cerevisiae* on in vitro ruminal fermentation of diets with different forage:
1740 Concentrate ratio. *J. Agric. Sci.* **2012**, *150*, 271–283.
1741 <https://doi.org/10.1017/S0021859611000578>.
- 1742 26. EFSA (European Food Safety Authority). Scientific Opinion on the safety and efficacy of
1743 Toyocerin® (*Bacillus toyonensis*) as a feed additive for chickens for fattening, weaned
1744 piglets, pigs for fattening, sows for reproduction, cattle for fattening and calves for rearing
1745 and for rabbits for fat. *EFSA J.* **2014**, *12*, 17. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3766>.
- 1746 27. Roos, T.B.; de Moraes, C.M.; Sturbelle, R.T.; Dummer, L.A.; Fischer, G.; Leite, F.P.L.
1747 Probiotics *Bacillus toyonensis* and *Saccharomyces boulardii* improve the vaccine immune
1748 response to Bovine herpesvirus type 5 in sheep. *Res. Vet. Sci.* **2018**, *117*, 260–265.
1749 <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.12.022>.
- 1750 28. Zardin, P.B.; Velho, J.P.; Jobim, C.C.; Alessio, D.R.M.; Haygert-Velho, I.M.P.; da
1751 Conceição, G.M.; Almeida, P.S.G. Chemical composition of corn silage produced by
1752 scientific studies in Brazil—A meta-analysis. *Semin. Ciências Agrárias* **2017**, *38*, 503–511.
1753 <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2017v38n1p503>.
- 1754 29. Hristov, A.N.; Oh, J.; Firkins, J.L.; Dijkstra, J.; Kebreab, E.; Waghorn, G.; Makkar, H.P.S.;
1755 Adesogan, A.T.; Yang, W.; Lee, C.; et al. Special Topics—Mitigation of methane and

- 1756 nitrous oxide emissions from animal operations: I. A review of enteric methane mitigation
1757 options 1. *J. Anim. Sci.* **2013**, *91*, 5045–5069. <https://doi.org/10.2527/jas2013-6583>.
- 1758 30. Silva, A.C.; Diaz, B.L.; Rivera, E.A.B.; Granjeiro, J.M.; Braga, L.M.G.M.; Frajblat, M;
1759 Stephano, M.A. *Guia Brasileiro de Produção, Manutenção ou Utilização de Animais em*
1760 *Atividades de Ensino ou Pesquisa: Fascículo 1: Introdução Geral*; Ministérios da Ciência,
1761 Tecnologia e Inovação, Ed.; Concelho Nacional de Controle de Experimentação Animal,
1762 Brasília, Brazil, 2016; ISBN 9788588063310.
- 1763 31. AOAC Official Methods of Analysis of AOAC International. *Official Methods of Analysis*
1764 *of Aoac*; AOAC International: Rockville, MD, USA, 2005; ISBN 0935584544.
- 1765 32. Van Soest, P.J.; Robertson, J.B.; Lewis, B.A. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent
1766 Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *J. Dairy Sci* **1991**,
1767 *10*, 3583-3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2).
- 1768 33. Sniffen, C.J.; O'Connor, J.D.; Van Soest, P.J.; Fox, D.G.; Russell, J.B. A net carbohydrate
1769 and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *J.*
1770 *Anim. Sci.* **1992**, *70*, 3562–3577. <https://doi.org/10.2527/1992.70113562x>.
- 1771 34. Marten, G.C.; Barnes, R.F. Prediction of energy digestibility of forages with in vitro rumen
1772 fermentation and fungal enzyme systems. *Stand. Anal. Methodol. Feed.* **1979**, *4*, 61–71.
- 1773 35. Tedeschi, L.O. Assessment of the adequacy of mathematical models. *Agric. Syst.* **2006**, *89*,
1774 225–247. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2005.11.004>.
- 1775 36. NRCS. *Animal Diets and Feed Management*; United States Department of Agriculture
1776 Natural Resources Conservation Service: Washington, DC, USA, 2012; pp. 1–14.
- 1777 37. National Research Council. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*; National Academies
1778 Press: Washington, DC, USA, 2001; ISBN 978-0-309-06997-7.
- 1779 38. Nematpour, A.; Eshghizadeh, H.R.; Zahedi, M. Comparing the Corn, Millet and Sorghum
1780 as Silage Crops Under Different Irrigation Regime and Nitrogen Fertilizer Levels. *Int. J.*
1781 *Plant Prod.* **2021**, *15*, 351–361. <https://doi.org/10.1007/s42106-021-00142-8>.
- 1782 39. Bryant, H.T.; Blaser, R.E.; Hammes, R.C.; Huber, J.T. Evaluation of Corn Silage Harvested
1783 at Two Stages of Maturity 1. *Agron. J.* **1966**, *58*, 253–255.
1784 <https://doi.org/10.2134/agronj1966.00021962005800030003x>.
- 1785 40. Colenbrander, V.F.; Martin, G. Relationships Between Stage of Maturity of the Corn Plant
1786 at Time of Harvest for Corn Silage and Chemical Composition^{1,2}. *J. Dairy Sci.* **1965**, *54*,
1787 533–536. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(71\)85881-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(71)85881-2).

- 1788 41. Wang, M.; Tang, S.X.; Tan, Z.L. Modeling in vitro gas production kinetics: Derivation of
1789 Logistic-Exponential (LE) equations and comparison of models. *Anim. Feed Sci. Technol.*
1790 **2011**, *165*, 137–150. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.09.016>.
- 1791 42. Mjoun, K. 72 Evaluation of Different Gas Production Models When Applied to Ruminants
1792 Feeds. *J. Anim. Sci.* **2018**, *96*, 37–38. <https://doi.org/10.1093/jas/sky073.070>.
- 1793 43. Mello, R.; Magalhães, A.L.R.; Breda, F.C.; Regazzi, A.J. Modelos para ajuste da produção
1794 de gases em silagens de girassol e milho. *Pesqui. Agropecuária Bras.* **2008**, *43*, 261–269.
1795 <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2008000200016>.
- 1796 44. Elghandour, M.M.Y.; Vázquez, J.C.; Salem, A.Z.M.; Kholif, A.E.; Cipriano, M.M.;
1797 Camacho, L.M.; Márquez, O. In vitro gas and methane production of two mixed rations
1798 influenced by three different cultures of *saccharomyces cerevisiae*. *J. Appl. Anim. Res.* **2017**,
1799 *45*, 389–395. <https://doi.org/10.1080/09712119.2016.1204304>.
- 1800 45. Macome, F.M.; Pellikaan, W.F.; Hendriks, W.H.; Dijkstra, J.; Hatew, B.; Schonewille, J.T.;
1801 Cone, J.W. In vitro gas and methane production of silages from whole-plant corn harvested
1802 at 4 different stages of maturity and a comparison with in vivo methane production. *J. Dairy*
1803 *Sci.* **2017**, *100*, 8895–8905. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12953>.
- 1804 46. Zhang, Q.; Zhao, M.; Wang, X.; Yu, Z.; Na, R. Ensiling alfalfa with whole crop corn
1805 improves the silage quality and in vitro digestibility of the silage mixtures. *Grassl. Sci.* **2017**,
1806 *63*, 211–217. <https://doi.org/10.1111/grs.12168>.
- 1807 47. France, J.; Dijkstra, J.; Dhanoa, M.S.; Lopez, S.; Bannink, A. Estimating the extent of
1808 degradation of ruminant feeds from a description of their gas production profiles observed
1809 in vitro: Derivation of models and other mathematical considerations. *Br. J. Nutr.* **2000**, *83*,
1810 143–150. <https://doi.org/10.1017/S0007114500000180>.
- 1811 48. Faria, B.N.; Reis, R.B.; Maurício, R.M.; Lana, A.M.Q.; Soares, S.R.V.; Saturnino, H.M.;
1812 Coelho, S.G. Efeitos da adição de propilenoglicol ou monensina à silagem de milho sobre a
1813 cinética de degradação dos carboidratos e produção cumulativa de gases in vitro. *Arq. Bras.*
1814 *De Med. Veterinária E Zootec.* **2008**, *60*, 896–903. [https://doi.org/10.1590/S0102-](https://doi.org/10.1590/S0102-09352008000400019)
1815 [09352008000400019](https://doi.org/10.1590/S0102-09352008000400019).
- 1816 49. Shen, J.; Liu, Z.; Yu, Z.; Zhu, W. Monensin and nisin affect rumen fermentation and
1817 microbiota differently in vitro. *Front. Microbiol.* **2017**, *8*, 1111.
1818 <https://doi.org/10.3389/FMICB.2017.01111>.
- 1819 50. Rodriguez, M.P.; Mariezcurrena, M.D.; Mariezcurrena, M.A.; Lagunas, B.C.; Elghandour,
1820 M.M.M.Y.; Kholif, A.M.; Kholif, A.E.; Almaraz, E.M.; Salem, A.Z.M. Influence of live

1821 cells or cells extract of *saccharomyces cerevisiae* on in vitro gas production of a total mixed
1822 ration. *Ital. J. Anim. Sci.* 2015, 14, 590–595. <https://doi.org/10.4081/ijas.2015.3713>.
1823

1824 **ARTIGO 2**

1825 **Associação de probióticos com a monensina sódica sobre a ingestão, digestibilidade**
1826 **aparente, variáveis ruminais e urinárias, bioquímica sanguínea e balanço de nitrogênio**
1827 **em novilhos de corte**

1828 *Association of probiotics with sodium monensin under feed intake, apparent digestibility,*
1829 *ruminal and urine variables, blood biochemic and nitrogen balance at beef cattle*
1830

1831 C. da S. Zornitta ^a, L. C. V. Ítavo ^a, C. C. B. F. Ítavo ^a, A. M. Dias ^a, G. L. Franco ^a, A. P. da
1832 Silva ^a

1833

1834 ^a*Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Mato Grosso*
1835 *do Sul (Av. Senador Filinto Müller nº 2443, 79074-460, Campo Grande, MS), Brasil*

1836

1837 Autor correspondente: Luis Ítavo. E-mail: luis.itavo@ufms.br

1838

1839

1840 Redigido conforme normas da revista Animal com exceção do idioma

1841

1842 **Resumo**

1843 A fim de melhorar a produção animal, diferentes aditivos nutricionais têm sido estudados para
1844 esta finalidade. Ao suplementar bovinos com probióticos, benefícios têm sido observados na
1845 saúde dos animais, digestibilidade dos alimentos, e modulação do pH ruminal. O objetivo com
1846 este estudo foi avaliar a associação dos aditivos *Bacillus toyonensis*, *Saccharomyces cerevisiae*
1847 *bouardii* e monensina sódica no consumo de alimento, digestibilidade aparente, variáveis
1848 ruminais e sanguíneas na dieta de novilhos. Foram utilizados quatro novilhos mestiços *Bos*
1849 *taurus* × *B. indicus*, com peso inicial de $403,0 \pm 75,5$ kg, canulados no rúmen e alojados
1850 individualmente. Os animais foram submetidos a um delineamento em quadrado latino 4 x 4,
1851 recebendo uma ração totalmente misturada contendo 300 g / kg de silagem de milho e 700 g /
1852 kg de concentrado na base da matéria seca, com os seguintes tratamentos misturados em sua
1853 alimentação diária: 300 mg de monensina sódica (**MO**); 300 mg de monensina sódica + $1,0 \times$
1854 10^9 ufc de *Bacillus toyonensis* (**MBT**); 300 mg de monensina sódica + $1,0 \times 10^{10}$ ufc de
1855 *Saccharomyces cerevisiae* var. *bouardii* (**MSB**); e $1,0 \times 10^9$ ufc de *Bacillus toyonensis* + $1,0 \times$
1856 10^{10} ufc de *Saccharomyces cerevisiae* var. *bouardii* (**BTSB**). A ingestão de nutrientes dos
1857 tratamentos com monensina sódica foi reduzida ($P < 0,05$), contudo digestibilidade aparente
1858 não apresentou diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos. Avaliando as variáveis ruminais, não
1859 foi observada diferença entre os tratamentos para o pH ruminal e nem para ácidos graxos
1860 voláteis (AGV) totais. Todos os tratamentos com monensina tiveram maior proporção de
1861 propionato do que apenas com probióticos (BTSB), resultando também em menor relação
1862 acetato:propionato. Nas variáveis sanguíneas e urinárias, as concentrações das variáveis se
1863 encontraram dentro da faixa fisiológica ou próximas do normal, e nenhuma diferença foi
1864 observada no balanço de nitrogênio. Em conclusão, a associação de *B. toyonensis* com *S.*
1865 *cerevisiae bouardii* apresentou um potencial para aditivo alimentar para bovinos, ao controlar
1866 o pH ruminal e concentrações semelhantes de $\text{NH}_3\text{-N}$, AGV total e balanço de nitrogênio que
1867 o tratamento apenas com monensina. quando combinados à monensina sódica, os probióticos
1868 estudados não tiveram efeito benéfico observado neste estudo.

1869

1870 **Palavras-chave:** bovinos de corte, ensaio metabólico, levedura viva, ácidos graxos voláteis

1871

1872 Abstract

1873 In order to improve animal production, different nutritional additives have been studied for this
1874 purpose. By supplementing cattle with probiotics, benefits have been observed in animal health,
1875 feed digestibility, and ruminal pH modulations. The aim of this study was to evaluate the
1876 association of the additives *Bacillus toyonensis*, *Saccharomyces cerevisiae boulardii*, and
1877 sodium monensin in feed intake, apparent digestibility, ruminal and blood variables in the diet
1878 of steers. Were used four crossbred *Bos taurus* × *B. indicus* steers, with an initial weight of
1879 403.0 ± 75.5 kg, cannulated in the rumen and housed individually. The animals were submitted
1880 to a 4 x 4 Latin square design, receiving a fully mixed ration containing 300 g/kg of corn silage
1881 and 700 g/kg of concentrate on a dry matter basis, with the following treatments mixed in their
1882 daily feed: 300 mg monensin sodium (**MO**); 300 mg monensin sodium + 1.0×10^9 ufc *Bacillus*
1883 *toyonensis* (**MBT**); 300 mg monensin sodium + 1.0×10^{10} ufc of *Saccharomyces cerevisiae*
1884 var. *boulardii* (**MSB**); and 1.0×10^9 ufc of *Bacillus toyonensis* + 1.0×10^{10} ufc of
1885 *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* (**BTSB**). The nutrient intake of the treatments with
1886 sodium monensin was reduced ($P < 0.05$), however, apparent digestibility did not show any
1887 difference ($P > 0.05$) between treatments. Evaluating the rumen variables, no difference was
1888 observed between treatments for ruminal pH or for total volatile fatty acids (VFA). All
1889 monensin treatments had a higher proportion of propionate than probiotics alone (BTSB), also
1890 resulting in a lower acetate:propionate ratio. In the blood and urinary variables, the
1891 concentrations of the variables were found within the physiological range or close to normal,
1892 and no difference was observed in the nitrogen balance. In conclusion, the association of *B.*
1893 *toyonensis* with *S. cerevisiae boulardii* showed potential as a feed additive for cattle, by
1894 controlling rumen pH and similar concentrations of $\text{NH}_3\text{-N}$, total VFA, and nitrogen balance
1895 than treatment with monensin alone. when combined with monensin sodium, the studied
1896 probiotics had no beneficial effect observed in this study.

1897

1898 **Keywords:** beef cattle, finishing diet, metabolic assay, live yeast, volatile fatty acids

1899

1900 Implicações

1901 Nossos resultados sugerem uma possível substituição de ionóforos como aditivos
1902 alimentares em bovinos em um futuro muito próximo, devido ao efeito promissor de *Bacillus*
1903 *toyonensis* combinado com *Saccharomyces cerevisiae boulardii* na modulação ruminal,

1904 digestibilidade de alimentos e nenhum sinal de desequilíbrio fisiológico foi observado por meio
1905 das análises das amostras de soro e urina. A associação de monensina sódica com os probióticos
1906 estudados não são aconselhadas devido à falta de benefícios observados neste estudo.

1907 **Introdução**

1908 Os aditivos alimentares são utilizados como estratégia tanto para evitar distúrbios
1909 metabólicos como para melhorar a eficiência alimentar e a produtividade animal (Perna Junior
1910 *et al.*, 2020; Weiss *et al.*, 2020). Uma classe de aditivos muito utilizadas mundialmente são os
1911 ionóforos, contudo, desde 2006 o uso de ionóforos, assim como os demais antibióticos
1912 promotores de crescimento têm sido proibidos na União Europeia (Ínal *et al.*, 2010). Esta
1913 proibição foi necessária devido ao uso desenfreado de antibióticos nos países que fazem parte
1914 da União europeia e ao aumento de casos hospitalares de pessoas apresentando resistência
1915 bacteriana (Chattopadhyay, 2014).

1916 Em trabalhos avaliando esta problemática, Russel e Houlihan (2003) notaram que os
1917 ionóforos utilizados na alimentação dos bovinos são pouquíssimos prováveis em transferir a
1918 resistência bactéria aos humanos. Também, Neumann *et al.* (2018) ao avaliarem resíduos de
1919 monensina sódica, um dos ionóforos mais utilizados na bovinocultura, em tecidos e órgãos de
1920 bovinos pós abate, observaram que os tecidos e órgãos não continham resíduos do ionóforo ao
1921 qual foi administrado aos animais via dieta.

1922 Atualmente, na União europeia é permitido o uso de um produto á base de monensina
1923 em vacas de leite, como forma de prevenir a cetose nestes animais (EMEA, 2013). Nos demais
1924 países produtores de carne bovina, o uso dos ionóforos como promotores de crescimento estão
1925 mantidos, contudo há uma tendencia mundial para a redução de antibióticos na nutrição animal,
1926 também maior controle na utilização e constantes revisões de produtos autorizados (Danieli e
1927 Schogor, 2020).

1928 Levando isso em consideração, uma classe de aditivo muito utilizadas em humanos tem
1929 sido estudada nos animais de criação, os probióticos. A levedura *Saccharomyces cerevisiae* var.
1930 *boulevardii* é amplamente utilizado em processos fermentativos de fabricação de cerveja e
1931 panificação (Garcia-Mazcorro *et al.*, 2020). Quando testado em ruminantes, foi observado que
1932 *S. cerevisiae boulevardii* afeta positivamente a saúde animal, aumentando a resposta do sistema
1933 imunológico inato às bactérias virais em novilhas de corte, e uma menor redução de alguns
1934 microrganismos ruminais de vacas leiteiras sob acidose ruminal subaguda, levando a uma
1935 estabilização no pH ruminal (Ishaq *et al.*, 2017; Kayser *et al.*, 2019).

1936 Já o *Bacillus toyonensis* é uma bactéria, por outro lado, não teve tantos estudos
1937 explorando seus benefícios como aditivo probiótico em bovinos, mas foi relacionado a uma
1938 melhora na resposta imunológica a vacinas de ovelhas suplementadas com *B. toyonensis* (Roos
1939 *et al.*, 2010).

1940 Tendo em mente os benefícios dos probióticos, é possível que a associação entre
1941 probióticos e ionóforo possa ocasionar na melhoria de algumas variáveis relacionadas a
1942 fermentação ruminal e digestibilidade da dieta. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar o
1943 efeito de *Bacillus toyonensis*, *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*, e monensina sódica
1944 combinados como aditivos alimentares sobre a ingestão de nutrientes, digestibilidade aparente,
1945 variáveis ruminais, sanguíneas e urinárias, e balanço de nitrogênio de novilhos.

1946 **Material e Métodos**

1947 O estudo foi realizado na Fazenda Escola da Faculdade de Medicina Veterinária e
1948 Zootecnia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Terenos, MS, Brasil (coordenadas
1949 geográficas 20°26'50" S e 54°50'21" W, altitude 417 m). O estudo foi conduzido de setembro
1950 a dezembro de 2019, a temperatura variou entre 39,8 °C e 14,7 °C, com mediana de 26,1 °C, e
1951 a umidade relativa do ar foi de 56%.

1952 ***Animais, delineamento experimental e tratamentos***

1953 As unidades experimentais foram quatro novilhos mestiços *Bos indicus* x *Bos taurus*
1954 com peso corporal médio de 403 ± 75,5 kg (média ± DP) com cânula ruminal, distribuídos em
1955 um delineamento em quadrado latino 4 x 4, consistindo em quatro períodos de 21 dias, sendo
1956 14 dias de adaptação e 7 dias de coleta. Os novilhos foram alocados individualmente em baias
1957 cobertas com piso de concreto (3 m × 4,5 m), cocho de concreto e bebedouro. Antes do ensaio
1958 experimental, os novilhos tiveram 15 dias de adaptação ao local, tratadores e dieta. A adaptação
1959 da dieta foi iniciada sem concentrado, apenas com silagem de milho, e a cada 3 dias o
1960 concentrado foi aumentado gradativamente até atingir 700 g / kg de dieta na base da matéria
1961 seca (MS).

1962 Os animais receberam uma dieta contendo 300 g / kg de silagem de milho e 700 g / kg
1963 de concentrado (Tabela 1). Os aditivos utilizados foram: monensina sódica (Rumensin® 100,
1964 Eli Lilly, São Paulo, SP, Brasil; 3g / dia; fornecendo 300 mg de monensina sódica), *Bacillus*
1965 *toyonensis* (Micro-Cell Platinum 10⁹, Lallemand Brasil; 1g / dia; fornecendo 1,0 x 10⁹ UFC de
1966 *Bacillus toyonensis* BCT-7112) e *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* (ProTernative®,

1967 Lallemand Brasil; 0,5g / dia; fornecendo $1,0 \times 10^{10}$ UFC de *Saccharomyces cerevisiae* var.
 1968 *bouardii* CNCM I-1079). Em todos os períodos, os novilhos foram distribuídos aleatoriamente
 1969 nos tratamentos, sendo eles: Monensina somente (**MO**); Monensina + *B. toyonensis* (**MBT**);
 1970 Monensina + *S. cerevisiae bouardii* (**MSB**); e *B. toyonensis* + *S. cerevisiae bouardii* (**BTSB**).
 1971 Os tratamentos eram pesados e colocados em tubos de plásticos identificados, para serem
 1972 adicionados à dieta posteriormente.

1973 Os tratamentos alocados nos tubos de plásticos, eram misturados primeiramente no
 1974 concentrado dos animais, de maneira manual, e posteriormente homogeneizados com a silagem,
 1975 esta ração totalmente misturada era oferecida aos animais uma vez ao dia, às 09h00, permitindo
 1976 10% de sobras.

1977 *Ingestão de nutrientes e digestibilidade aparente*

1978 Foi realizado diariamente durante todo o ensaio experimental o controle do consumo
 1979 ração e sobras. Do 14º ao 20º dia, de cada período, foram coletadas amostras de sobras e ração
 1980 (silagem e concentrado com aditivo), que foram armazenadas em sacos plásticos a -20 °C até
 1981 as análises laboratoriais. As amostras de fezes totais foram coletadas por 48 horas consecutivas,
 1982 do 19º ao 20º dia de cada período, após a defecação dos animais foram imediatamente pesadas
 1983 e uma alíquota de 10% coletada e armazenada em sacos plásticos identificados a -20 °C. Todos
 1984 os sacos de fezes de cada animal, em cada período, foram considerados uma única amostra.

1985 Amostras das rações (silagem de milho e concentrado), sobras e fezes de cada novilho
 1986 em cada período foram secas em estufa de ventilação forçada a 55 °C por 72h, a seguir moídas
 1987 em moinho tipo Wiley com peneira de 1mm de crivo. Essas amostras foram analisadas de
 1988 acordo com os métodos AOAC (2005) para: Matéria seca (MS; método 930.15), cinzas (método
 1989 942.05) e proteína bruta (PB; método 955.04). O extrato etéreo (EE) foi analisado no extrator
 1990 ANKOM^{XT15} (ANKOM Technology, Macedon, NY, EUA) de acordo com as instruções do
 1991 fabricante. Já a fibra em detergente neutro (FDN) e a fibra em detergente ácido (FDA) foram
 1992 analisadas no analisador de fibras Tecnal TE-149 (Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil) de acordo
 1993 com a metodologia de Van Soest *et al.* (1991) usando α -amilase termoestável. Os carboidratos
 1994 não fibrosos (NFC) foram calculados de acordo com Sniffen *et al.* (1992) pela equação $CNF =$
 1995 $1000 - (CP + EE + cinzas + FDN)$ e os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram calculados de
 1996 acordo com o NRC (2001) pela equação $NDT = PB \text{ digestível} + (2,25 \times EE \text{ digestível}) + FDN$
 1997 $\text{digestível} + CNF \text{ digestível}$.

1998 A ingestão de nutrientes (MS, MO, PB, EE, FDN, FDA, CNF e NDT) foi calculada com
 1999 base na MS pela seguinte equação: Ingestão de nutrientes = (g nutriente fornecido - g nutriente

2000 nas sobras). Os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes (MS, MO, PB, EE, FDN,
2001 FDA, CNF e NDT) foram calculados pela seguinte equação: Digestibilidade (g / kg) = ((g
2002 Ingestão de nutrientes - g Nutriente nas fezes) / (g Ingestão de nutrientes)) x 1000. E a produção
2003 de proteína bacteriana bruta (PBB) foi estimada de acordo com o NRC (2001) pela equação
2004 $BCP = 6,25 (- 31,86 + 26,12 \times NDT)$.

2005 *Variáveis ruminais*

2006 No 17º dia de cada período, os animais foram devidamente contidos e através da cânula
2007 ruminal, foram coletados aproximadamente 100 ml de líquido ruminal de cada animal, antes
2008 dos novilhos serem alimentados (0 hora), 2, 4, 6, 8, 10 e 12 horas após fornecido a dieta. Essas
2009 amostras de líquido ruminal eram filtradas através de camadas de gaze, o pH era imediatamente
2010 aferido com um medidor de pH digital (Sentron 10001, Sentron Europe BV, Roden, Holanda)
2011 e 50 ml colocados em tubos de plástico devidamente identificados, contendo 1 ml de H₂SO₄
2012 (1:1). Os tubos eram armazenados a -20 °C para análise do nitrogênio amoniacal ruminal (NH₃-
2013 N). Para a quantificação dos ácidos graxos voláteis (AGV), 10 ml da amostra de líquido ruminal
2014 antes da alimentação (0 hora) , foram coletadas via cânula ruminal e colocados em tubos
2015 plásticos identificados e imediatamente armazenados a -20 °C. O NH₃-N foi realizado conforme
2016 a metodologia de Fenner (1965) e a quantificação de AGV foi determinada por cromatografia
2017 gasosa (Shimadzu GC-2010, Kyoto, Japão) de acordo com a metodologia descrita por Erwin *et*
2018 *al.* (1961).

2019 *Variáveis sanguíneos*

2020 Em cada período, no 21º dia, o sangue foi coletado por punção da veia jugular e
2021 armazenados em tubos de coleta de sangue (BD Vacutainer® SST® II Advance®) contendo
2022 ativador de coágulo e gel separador. Os tubos foram centrifugados a 3.000 rpm por 15 min, o
2023 soro foi coletado e colocado em eppendorf de 2 ml, identificados e armazenados a -20 °C até a
2024 análise. As amostras de soro foram analisadas por equipamento Cobas® 111 (F. Hoffmann-La
2025 Roche Ltd, Basel, Suíça) usando kits de ensaio comerciais para avaliação de albumina (kit ref.
2026 04657357), aspartato aminotransferase (AST; kit ref.04657543), γ - glutamiltransferase (GGT;
2027 kit ref. 05401461), colesterol (kit ref. 04718917), creatinina (kit ref. 05401755), glucose (kit
2028 ref. 04657527), proteína total (kit ref. 04657586), triglicerídeos (kit ref. 04657594) e ureia (kit
2029 ref. 04657616) de acordo com as instruções do fabricante do kit (Roche Diagnostics GmbH,
2030 Alemanha).

2031 ***Variáveis urinários e balanço de nitrogênio***

2032 No 19º dia de cada período, foi realizada a coleta de urina por 24 horas, através da
 2033 colocação de bolsas coletoras confeccionadas em tecido impermeável, amarradas por tiras de
 2034 borracha aos novilhos, com uma mangueira transparente conectada a um galão plástico com
 2035 capacidade de 20 litros, procedido conforme descrito por Moraes *et al.* (2019). Dentro de cada
 2036 galão, de cada animal, foram adicionados 250 ml de ácido sulfúrico a 20%. A produção total
 2037 de urina de cada novilho foi medida e 50 ml de urina foram amostradas, colocados em tubos
 2038 plásticos, identificados e armazenados a -20 ° C para análise de nitrogênio pelo método Kjeldahl
 2039 (AOAC, 2005; método 976,05) para balanço de nitrogênio.

2040 Amostra de urina *spot* foi coletada após a retirada das bolsas coletoras de urina. Uma
 2041 quantidade de 10 ml da amostra de urina foi acidificada com 40 ml de H₂SO₄ (0,036 N),
 2042 identificada e armazenada a -20 ° C até a análise laboratorial. As amostras de urina acidificada
 2043 foram submetidas a analisador bioquímico semiautomático (Bio 200L®, Bioplus Product for
 2044 Laboratory Ltda, Barueri, SP, Brasil) utilizando kits comerciais de creatinina (kit ref. K067-
 2045 24.1), ureia (kit ref. K047) e ácido úrico (kit ref. K139-8.1) conforme instrução do fabricante
 2046 (Bioclin, Quibasa Química Básica Ltda, Belo Horizonte, MG, Brasil).

2047 O balanço de nitrogênio foi estimado através do nitrogênio retido (N-retido), obtido pelo
 2048 nitrogênio ingerido (N-consumo) subtraído pelo nitrogênio excretado nas fezes (N-fezes) e na
 2049 urina (N-urina).

2050 ***Análise estatística***

2051 Todas as análises estatísticas foram realizadas usando procedimentos GLM do software
 2052 SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA) e os códigos para os modelos estatísticos são
 2053 apresentados no Material Suplementar S1. A ingestão, digestibilidade aparente de nutrientes,
 2054 ganho de peso corporal, Variáveis sanguíneos, AGV, Variáveis urinários e Variáveis de balanço
 2055 de nitrogênio foram analisados em um delineamento em quadrado latino. As médias entre os
 2056 tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a $\alpha = 0,05$ de probabilidade. Usando o
 2057 seguinte modelo estatístico:

$$2058 \quad Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + T_k + e_{ijk}$$

2059 Onde: μ = média geral; A_i = efeito animal i , com i variando de 1 a 4; P_j = efeito de
 2060 período j , com j variando de 1 a 4; T_k = efeito do tratamento k , com k variando de 1 a 4; e_{ijk} =
 2061 erro aleatório associado a cada observação.

2062 O modelo para pH e NH₃-N ruminal onde o delineamento experimental foi o quadrado
 2063 latino com parcelas subdivididas para os dados das variáveis ruminais (pH ruminal e N-NH₃),
 2064 onde as parcelas foram os tratamentos e as subparcelas foram as amostras de líquido ruminal.
 2065 As médias entre os tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a $\alpha = 0,05$ de
 2066 probabilidade. O modelo estatístico usado foi:

$$2067 \quad Y_{ijkl} = \mu + T_i + H_j + A_k + P_l + (TH)_{ij} + e_{ijkl}$$

2068 Onde: Y_{ijkl} = observação do efeito do tratamento i por tempo de coleta j no animal k ; μ
 2069 = média geral; T_i = efeito do tratamento i , com i variando de 1 a 4; H_j = tempos de coleta j , com
 2070 j variando de 1 a 7; A_k = efeito animal k , com k variando de 1 a 4, P_l = efeito de período l , com
 2071 l variando de 1 a 4; TH_{ij} = interação entre o tratamento i e o tempo j ; e e_{ijkl} = erro aleatório
 2072 associado a cada observação.

2073

2074 **Resultados**

2075 *Ingestão de nutrientes e digestibilidade aparente*

2076 O consumo de nutrientes, digestibilidade aparente e ganho de peso corporal estão
 2077 apresentados na Tabela 2 e na Tabela Complementar S1, onde o tratamento BTSB apresentou
 2078 o maior consumo de MS ($P = 0,018$). O tratamento BTSB apresentou maior consumo ($P < 0,05$)
 2079 de MO, PB, EE e CNF em comparação com MSB. Além disso, os tratamentos MO e MBT
 2080 apresentaram menor ($P < 0,05$) consumo de EE em relação ao BTSB. Os tratamentos não
 2081 apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$) entre si para consumo de FDN e NDT. Além
 2082 disso, não foi observada diferença significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos para
 2083 digestibilidade aparente de MS, MO, PB, EE, FDN, FDA, CNF, NDT e PBB.

2084 *Variáveis ruminais*

2085 As variáveis ruminais estão apresentadas na Tabela 3 e na Tabela Suplementar S2. Na
 2086 análise de pH não houve diferença entre os tratamentos ($P = 0,0891$) nem interação tratamento
 2087 x tempo ($P = 0,9677$). O pH ruminal dos novilhos apresentou diferença significativa ($P <$
 2088 $0,0001$) para o tempo de coleta, com 10 horas após o fornecimento da dieta teve o menor valor
 2089 médio de pH, mas semelhante a 8 e 12 horas após o fornecimento da ração (Fig. 1).

2090 Para a concentração de NH₃-N, foi encontrada diferença significativa entre os
 2091 tratamentos ($P = 0,0032$), onde o tratamento BTSB apresentou alta concentração de NH₃-N em
 2092 relação ao MBT e MSB. Não foi obtido diferença significativa ($P = 0,6672$) para a interação

2093 para tratamento x tempo. Em relação ao efeito do tempo de coleta no nitrogênio amoniacal, a
2094 concentração média de NH₃-N de 2 horas após o consumo de ração apresentou a maior
2095 concentração média ($P < 0,0001$), seguida da concentração de 4 horas e o tempo restante de
2096 coleta apresentou as menores concentrações de NH₃-N (Fig. 1).

2097 Nas concentrações obtidas de AGV, não houve efeitos significativos ($P > 0,05$) para as
2098 diferentes combinações de ionóforo e probióticos sobre o AGV total, proporção molar de
2099 Acetato, nButirato, iButirato, iValerato e nCapróico. No entanto, a proporção molar de
2100 propionato foi menor no tratamento BTSB em comparação com outros tratamentos que contém
2101 monensina sódica ($P = 0,0001$), mas o tratamento BTSB apresentou alta proporção de nValerato
2102 do que MSB, embora semelhante aos tratamentos MO e MBT. Além disso, a proporção da
2103 relação acetato:propionato de BTSB foi maior do que outros ($P = 0,0003$).

2104 *Variáveis sanguíneas*

2105 Os valores de precisão dos kits ELISA usados para análise de soro são apresentados na
2106 Tabela Suplementar S3 e os resultados da análise de soro são apresentados na Tabela 4 e na
2107 Tabela Suplementar S4. Os tratamentos avaliados neste estudo não apresentaram diferença
2108 estatística entre si ($P > 0,05$) para as seguintes variáveis sanguíneas: glucose, creatinina,
2109 proteína total e colesterol. Já para a concentração de AST, o tratamento MBT apresentou
2110 concentração menor do que os tratamentos MO e BTSB ($P = 0,0001$). Nas concentrações de
2111 GGT, os tratamentos BTSB e MO apresentaram concentração superior ao MBT, mas
2112 semelhante ao MSB ($P = 0,0034$).

2113 As variáveis do metabolismo de proteínas séricas, albumina e ureia apresentaram
2114 diferença significativa entre os tratamentos ($P < 0,05$), onde MBT apresentou menor
2115 concentração de albumina comparada apenas com MO, embora na concentração de ureia sérica
2116 ambas as combinações de ionóforo mais probióticos (MBT e MSB) apresentaram os menores
2117 valores ($P = 0,0001$) do que apenas monensina ou apenas probióticos (MO ou BTSB). Os
2118 triglicerídeos séricos, um indicador do metabolismo lipídico, foram maiores no tratamento
2119 MBT do que nos outros tratamentos ($P < 0,05$).

2120 *Variáveis urinários e balanço de nitrogênio*

2121 Os valores de precisão dos kits ELISA usados para análise de urina são apresentados na
2122 Tabela Suplementar S5 e os resultados da análise de urina são apresentados na Tabela 5 e na
2123 Tabela Suplementar S6. Os tratamentos estudados fornecidos na dieta dos novilhos não

2124 apresentaram diferença estatística ($P > 0,05$) nas variáveis urinárias: volume urinário,
2125 creatinina, ureia, ácido úrico e nitrogênio urinário.

2126 Porém, ao avaliar o balanço de nitrogênio, o tratamento BTSB apresentou maior
2127 ingestão de nitrogênio ($P = 0,0135$), mas também maior excreção de nitrogênio na urina ($P =$
2128 $0,0135$) e nas fezes ($P = 0,0200$) do que o tratamento MSB. O tratamento MO apresentou menor
2129 excreção de nitrogênio nas fezes do que o BTSB, ainda semelhante aos demais tratamentos nos
2130 Variáveis remanescentes do balanço de nitrogênio. Porém, os tratamentos não apresentaram
2131 diferença significativa entre si no nitrogênio absorvido e retido ($P > 0,05$).

2132 **Discussão**

2133 *Ingestão de nutrientes e digestibilidade aparente*

2134 A inclusão da monensina sódica neste estudo resultou em menor consumo de MS, essa
2135 redução no consumo de ração também foi observada por Ítavo *et al.* (2011), onde a monensina
2136 sódica diminuiu o consumo de ração, porém melhorou a conversão alimentar e a eficiência
2137 alimentar. O efeito hipofágico, ou efeito de redução da ingestão de ração, pode estar relacionado
2138 ao aumento da produção de propionato no rúmen pela monensina sódica, o que causa uma maior
2139 oxidação de ácidos graxos no fígado, onde principalmente a β -oxidação do propionato causa
2140 um retardo na fome (Allen *et al.*, 2009).

2141 Em contraste, o tratamento BTSB fornecido na dieta do gado de corte neste estudo
2142 resultou em maior ingestão de MS. Essa alta ingestão de MS também foi observada quando
2143 leitões pós-desmame receberam *B. toyonensis* para suportar patógenos entéricos (Kantas *et al.*,
2144 2015). Embora quando Hossain *et al.* (2012) analisando a suplementação de *S. cerevisiae* em
2145 bezerros em crescimento não encontraram interferência no consumo de ração. Uma possível
2146 interação entre *S. cerevisiae boulardii* e *B. toyonensis* pode ser a razão pela qual juntas causam
2147 um maior consumo de matéria seca em novilhos neste estudo, enquanto combinadas com
2148 monensina sódica não foram capazes de diferir de si mesmas ou do tratamento MO.

2149 No entanto, a monensina sódica, bem como outros aditivos ionóforos, geralmente
2150 interferem no metabolismo das bactérias gram-positivas, levando à diminuição de sua
2151 população ruminal, e conforme apresentado por Luo *et al.* (2021), *B. toyonensis* é uma bactéria
2152 gram-positiva, embora os novilhos receberam diariamente os tratamentos, a monensina sódica
2153 pode ter inibido sua ação probiótica, levando a uma diferença não significativa na ingestão de
2154 MS, MO, PB, EE e CNF do tratamentos MBT em relação ao tratamento MO.

2155 A suplementação com monensina sódica, *S. cerevisiae boulardii* e *B. toyonensis*
2156 combinadas não interferiu na digestibilidade aparente dos nutrientes analisados neste estudo.
2157 Embora a monensina sódica possa melhorar a digestibilidade ruminal dos alimentos por
2158 modulação ruminal, conforme apresentado na metanálise de Duffield *et al.* (2012), por
2159 favorecer os microrganismos celulolíticos, mas neste estudo os tratamentos MO e BTBSB não
2160 foram significativamente diferentes.

2161 ***Variáveis ruminais***

2162 Neste estudo o pH ruminal não apresentou diferença significativa entre os tratamentos,
2163 semelhante ao encontrado por Fereli *et al.* (2010) que ao suplementar novilhos da raça Holandês
2164 com monensina sódica ou *S. cerevisiae boulardii*, não observaram diferença entre o pH ruminal
2165 dos tratamentos. O rebaixamento tardio do pH ocorrido apenas 10 horas após o fornecimento
2166 da ração pode ter ocorrido pela ação dos aditivos em manter o pH próximo ao ideal, conforme
2167 observado por Ishaq *et al.* (2017) que ao suplementar vacas leiteiras Holstein com *S. boulardii*
2168 observou uma mudança na microbiota do rúmen levando a uma rápida estabilização do pH a
2169 partir de uma acidose ruminal subaguda. Assim como Kumprechtová *et al.* (2019) avaliando a
2170 suplementação dietética com levedura viva de *S. cerevisiae* na fermentação ruminal em vacas
2171 leiteiras em lactação, descobriram que *S. cerevisiae* reduz o acúmulo de lactato no fluido
2172 ruminal, resultando em um aumento no pH ruminal.

2173 Em relação ao NH₃-N ruminal, Gomes *et al.* (2010) avaliando monensina sódica e *S.*
2174 *cerevisiae* em uma dieta com 21 % de bagaço de cana como volumoso, encontraram valores
2175 médios muito semelhantes de concentração de NH₃-N ruminal de novilhos, embora não
2176 estatisticamente diferente, onde o tratamento com monensina foi de 18,60 mg / dl e *S. cerevisiae*
2177 20,40 mg / dl, lembrando que nossos valores foram de 18,09 mg / dl para o tratamento com MO
2178 e 21,08 mg / dl para o tratamento com BTBSB.

2179 Quando analisado pelo tempo, 2 horas após a alimentação foi o pico da concentração de
2180 NH₃-N, atingindo uma média entre os tratamentos de 30,9 mg / dl. De acordo com Moallem *et*
2181 *al.* (2009) a concentração de NH₃-N no rúmen é afetada pela degradação da proteína, como
2182 reflexo da disponibilidade de produtos nitrogenados, e pela incorporação à proteína microbiana.
2183 Mesmo sendo normais, essas altas concentrações não são desejáveis, pois o excesso de amônia
2184 é absorvido pela parede ruminal para a corrente sanguínea e parte se perde na urina.

2185 Outra variável ruminal avaliada foi o AGV, em nosso estudo o AGV total não foi
2186 influenciado pelos aditivos na dieta ($P = 0,1442$) nem pela proporção de acetato, resultando em
2187 uma concentração média de 80,2 mmol / L de AGV e 64,12% de acetato. Ao contrário do que

2188 foi observado em nosso presente estudo, Kumprechtová *et al.* (2019) encontraram que os
2189 resultados de AGV e a proporção molar de acetato foram maiores no tratamento com *S.*
2190 *cerevisiae* (114,2 mmol / l; 25,0% de acetato) do que na dieta controle sem probióticos (106,5
2191 mmol / l; 24,7% de acetato).

2192 Além disso, Monnerat *et al.* (2013) avaliando monensina sódica, *S. cerevisiae* ou sem
2193 aditivo (controle) em novilhos, não encontraram diferença significativa na concentração de
2194 AGV entre os tratamentos monensina e *S. cerevisiae*, mas o tratamento controle apresentou a
2195 menor concentração de AGV, como eles hipotetizaram, o aumento de AGV ruminal pode ser
2196 devido a uma melhoria direta ou indireta no ambiente ruminal pelos aditivos, selecionando
2197 bactérias ruminais desejáveis e reduzindo ou eliminando populações indesejáveis de
2198 microrganismos. Embora Monnerat *et al.* (2013) não encontraram diferença estatística para a
2199 taxa de propionato nem acetato:propionato entre a monensina e o tratamento probiótico como
2200 encontramos, em nosso caso o efeito da monensina no aumento da produção de propionato,
2201 conforme revisado por Allen *et al.* (2009), foi proeminente e o os probióticos não foram capazes
2202 de interferir na taxa de propionato ou acetato:propionato quando combinados à monensina.

2203 ***Variáveis sanguíneas***

2204 A faixa das variáveis sanguíneas GGT, albumina e creatinina em todos os tratamentos
2205 e colesterol em dois tratamentos (MBT e MSB) estão de acordo com os valores descritos para
2206 a espécie segundo Kaneko *et al.* (2008). O colesterol dos tratamentos MO (123,75 mg / dl) e
2207 BTSB (128,00 mg / dl), embora não tenham sido estatisticamente diferentes ($P > 0,05$) dos
2208 demais, foram superiores ao normal para a espécie (80 a 120 mg / dl) conforme apresentado por
2209 Kaneko *et al.* (2008). Porém, o AST obtido (44,65 a 61,08 U / L), a proteína total (63,17 a 66,50
2210 g / L) e a ureia (30,85 a 37,28 mg / dl) dos tratamentos ficaram ligeiramente abaixo do
2211 recomendado (AST 78 a 132 U / L; Proteína total 67,4 a 74,6 g / L; Ureia 42,88 a 64,26 m / dl),
2212 por outro lado, glicose (75,44 a 81,96 m / dl) e triglicerídeos (14,07 a 17,95 mg / dl), estavam
2213 acima dos valores de referência (Glucose 45 a 75 mg / dl; Triglicerídeos 0 a 14 mg / dl) (Kaneko
2214 *et al.*, 2008).

2215 Ao contrário da diferença obtida em AST e GGT entre os tratamentos testados, Hafner
2216 *et al.* (2019) estudando a suplementação com *B. toyonensis* (anteriormente denominado *B.*
2217 *cereus* var. *Toyoi*) em coelhos, não encontraram alterações significativas nos níveis de AST e
2218 GGT com a adição do probiótico em suas dietas. Além disso, quando Aung *et al.* (2019)
2219 avaliando a inclusão de *S. cerevisiae* na dieta de vacas leiteiras, não encontrou diferença
2220 estatística nos níveis de AST ou GGT.

2221 AST é uma enzima que indica o estado do fígado, um aumento na AST sérica pode ser
2222 um forte indicador de acidose ruminal devido a um baixo pH rumina (Xu *et al.*, 2016). Maiores
2223 concentrações de AST e baixo pH ruminal, simultaneamente, foram observadas em ovinos
2224 recebendo *S. cerevisiae* em dieta de alta densidade energética por Tavares *et al.* (2021).
2225 Explorando essa possível relação entre AST sérica e pH ruminal, embora apenas
2226 numericamente ($P > 0,05$), o tratamento BTSB teve o menor pH ruminal foi de 5,9 (10 horas
2227 após a alimentação) e 6 (12 horas após a alimentação), que ainda são classificados como
2228 variação fisiológica normal para o pH ruminal, o AST neste tratamento apresenta o maior valor
2229 numericamente que todos os tratamentos, corroborando com a possível relação do AST e o pH
2230 ruminal.

2231 Mudanças nos indicadores do metabolismo de proteínas tornam-se mais proeminentes
2232 ao comparar diferentes idades ou estágios de desenvolvimento dos animais, devido às mudanças
2233 na taxa de deposição de músculos e outros tecidos, conforme observado por Neumann *et al*
2234 (2018) suplementando monensina para bovinos em confinamento, quando os níveis plasmáticos
2235 de proteína, ureia e creatinina apresentaram diferença significativa de acordo com o período
2236 avaliado, mas não entre os tratamentos (com ou sem monensina). Corroborando com nosso
2237 estudo, a creatinina e a proteína total não foram estatisticamente diferentes entre os tratamentos.

2238 A concentração de ureia sérica avaliada em nosso estudo foi menor de acordo com os
2239 valores de referência apresentados por Kaneko *et al* (2008), embora González e Silva (2017)
2240 consideraram normal uma concentração de ureia sérica entre 17-45 mg / dl. No entanto, a ureia
2241 sérica e a albumina foram maiores em MO e BTSB do que outros tratamentos podem estar
2242 diretamente relacionados à maior ingestão de nitrogênio, conforme observado nos resultados
2243 de balanço de nitrogênio.

2244 Em relação aos elevados níveis de concentração de glucose e triglicerídeos, pode ser
2245 devido ao fato de os novilhos terem recebido suplemento concentrado. Hossain *et al.* (2012)
2246 observaram um aumento no nível de glucose ao adicionar *S. cerevisiae* para vacas em lactação
2247 (50,40 mg / dl vs. 66,92 mg / dl, controle de *S. cerevisiae*, respectivamente), mas em nosso
2248 estudo a adição de *S. boulardii* nos tratamentos não causar um aumento nas concentrações
2249 séricas de glucose. Resumindo, todas as variáveis séricas estavam de acordo com a normalidade
2250 para a espécie ou ligeiramente divergentes, mas não indicativos de efeito tóxico de nenhum dos
2251 tratamentos testados.

2252 ***Variáveis urinários e balanço de nitrogênio***

2253 De acordo com os valores dos Variáveis urinários descritos por Kaneko *et al.* (2008), a
2254 concentração de creatinina (6,43 a 11,02 mg / kg por dia) foi menor que a de referência (15 a
2255 20 mg / kg por dia), assim como o ácido úrico obtido (0,29 a 0,92 mg / kg por dia) também foi
2256 menor do que o padrão (1 a 4 mg / kg por dia). Ainda de acordo com Kaneko *et al.* (2008), o
2257 nitrogênio uréico em todos os tratamentos (57,82 a 108,86 mg / kg por dia) foi superior à faixa
2258 normal (23 a 28 mg / kg por dia), embora o nitrogênio total na urina (207,75 a 269,17 mg / kg
2259 por dia) esteve dentro dos valores de referência (40 a 450 mg / kg por dia).

2260 A relação entre as concentrações de creatinina sérica no sangue e na urina é um dos
2261 melhores indicadores da função renal, pois a creatinina sanguínea é eliminada apenas pelos rins
2262 (Laven, 2016). A creatinina urinária baixa geralmente indica uma diminuição da capacidade
2263 dos rins de eliminar este metabólito, refletindo em uma concentração elevada no sangue,
2264 embora neste estudo isso possa não ser o caso, considerando que a concentração desse
2265 metabólito no soro dos novilhos estava dentro da faixa normal, algum fator pode ter diminuído
2266 a estabilidade da creatinina nas amostras de urina e resultado na redução da concentração.

2267 Em relação aos Variáveis de balanço de nitrogênio obtidos, a maior ingestão de
2268 nitrogênio no tratamento BTSS refletiu em maior excreção de nitrogênio, não apenas nas fezes,
2269 mas também na urina. Embora uma diferença não significativa entre os tratamentos em N-
2270 absorvido e N-retenção foi observada. Monnerat *et al.* (2013) também não observaram
2271 diferença estatística no balanço de nitrogênio ao suplementar bovinos de corte com monensina
2272 sódica ou *S. cerevisiae*.

2273 A combinação de *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* com *Bacillus toyonensis*
2274 apresentou se um potencial aditivo alimentar para bovinos, por apresentar concentrações
2275 semelhantes ao tratamento com monensina (MO) no pH ruminal, NH₃-N, AGV total e balanço
2276 de nitrogênio. Ainda assim, a monensina combinada com os probióticos estudados não pôde
2277 superar o tratamento MO ou o tratamento BTSS, não sendo aconselhado esta combinação,
2278 devido à falta de benefícios. Nenhum sinal de desbalanço fisiológico foram observados nas
2279 variáveis sanguíneas ou urinárias nos tratamentos testados.

2280 **Aprovação ética**

2281 Todos os procedimentos neste estudo, envolvendo cuidados com os animais, estavam
2282 de acordo com as diretrizes do Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal sob
2283 o caso do Comitê de Ética para Uso de Animais no: 1186/2021

2284 **Declaração de disponibilidade de dados e modelo**

2285 Nenhum dos dados foi depositado em um repositório oficial. O acesso aos dados pode
2286 ser disponibilizado mediante solicitação

2287 **ORCIDs dos autores**

2288 C. da S. Zornitta: <https://orcid.org/0000-0002-4877-0800>

2289 L. C. V. Ítavo: <https://orcid.org/0000-0001-6895-8483>

2290 C. C. B. F. Ítavo: <https://orcid.org/0000-0002-4790-8177>

2291 A. M. Dias: <https://orcid.org/0000-0003-4267-9421>

2292 G. L. Franco: <https://orcid.org/0000-0002-9868-0256>

2293 A. P. da Silva: <https://orcid.org/0000-0001-6392-3214>

2294 **Contribuições do autor**

2295 **Camila da Silva Zornitta:** Administração de projetos, Curadoria de dados, Análise
2296 formal, Investigação, Redação - Manuscrito original. **Luis Carlos Vinhas Ítavo:**
2297 Conceptualização, Metodologia, Redação - Revisão e Edição, Supervisão. **Camila Celeste**
2298 **Brandão Ferreira Ítavo:** Conceptualização, Metodologia, Recursos. Alexandre Menezes
2299 Dias: Software, Análise formal. **Gumercindo Loriano Franco:** Supervisão, Administração de
2300 projetos. Amarildo Pedro da Silva: Curadoria de Dados, Análise Formal

2301 **Declaração de interesse**

2302 Os autores declaram não haver conflito de interesses

2303 **Reconhecimentos**

2304 Os autores agradecem à Lallemand Brasil Ltda, Aparecida de Goiânia, GO, Brasil, pelo
2305 fornecimento dos probióticos ProTernative® e Micro-Cell Platinum®, e ao Conselho Nacional
2306 de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Coordenação de Aperfeiçoamento de
2307 Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos do primeiro autor, que foi
2308 fundamental para o desenvolvimento deste estudo.

2309 **Declaração de suporte financeiro**

2310 Os autores agradecem o apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento
2311 Científico e Tecnológico (CNPq) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível
2312 Superior (CAPES) (Código Financiador 001).

2313 **Referências**

- 2314 Allen, M.S., Bradford, B.J., Oba, M., 2009. Board-invited review: The hepatic oxidation theory
2315 of the control of feed intake and its application to ruminants. *Journal of Animal Science*
2316 87, 3317–3334. doi:10.2527/jas.2009-1779.
- 2317 Association of Official Analysis Chemists (AOAC), 2005. *Official method of Analysis*. 18th
2318 Edition, AOAC International, Washington, DC, USA.
- 2319 Aung, M., Ohtsuka, H., Izumi, K., 2019. Effect of yeast cell wall supplementation on production
2320 performances and blood biochemical indices of dairy cows in different lactation periods.
2321 *Veterinary World* 12, 796–801. doi:10.14202/vetworld.2019.796-801.
- 2322 Chattopadhyay, M.K., 2014. Use of antibiotics as feed additives: A burning question. *Frontiers*
2323 in Microbiology 5, 334. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2014.00334>
- 2324 Danieli, B., Schogor, A.L., 2020. Uso de aditivos na nutrição de ruminantes:Revisão.
2325 *Veterinária e Zootecnia* 27, 1–13. doi:10.35172/rvz.2020.v27.444.
- 2326 Duffield, T.F., Merrill, J.K., Bagg, R.N., 2012. Meta-analysis of the effects of monensin in beef
2327 cattle on feed efficiency, body weight gain, and dry matter intake. *Journal of Animal*
2328 *Science* 90, 4583–4592. doi:10.2527/jas.2011-5018.
- 2329 EMEA (European Medicines Agency), 2007. COMMITTEE FOR MEDICINAL PRODUCTS
2330 FOR VETERINARY USE MONENSIN (Cattle, including dairy cows).
2331 EMEA/CVMP/185123/2007-Final. London.
- 2332 Erwin, E.S., Marco, G.J., Emery, E.M., 1961. Volatile Fatty Acid Analyses of Blood and
2333 Rumen Fluid by Gas Chromatography. *Journal of Dairy Science* 44, 1768–1771.
2334 doi:10.3168/jds.S0022-0302(61)89956-6.
- 2335 Food and Agriculture Organization (FAO), 2020. *World Food and Agriculture - Statistical*
2336 *Yearbook 2020*. FAO, Rome, Italy. doi:10.4060/cb1329en.
- 2337 Fenner, H., 1965. Method for Determining Total Volatile Bases in Rumen Fluid by Steam
2338 Distillation. *Journal of Dairy Science* 48, 249–251. doi:10.3168/jds.S0022-
2339 0302(65)88206-6.
- 2340 Fereli, F., Branco, A.F., Jobim, C.C., Coneglian, S.M., Granzotto, F., Barreto, J.C., 2010.
2341 Sodium monensin and *Saccharomyces cerevisiae* in cattle diets: ruminal fermentation,
2342 nutrient digestibility and microbial synthesis efficiency. *Revista Brasileira de Zootecnia*.
2343 39, 183–190. doi:10.1590/s1516-35982010000100024.
- 2344 Garcia-Mazcorro, J.F., Ishaq, S.L., Rodriguez-Herrera, M. V., Garcia-Hernandez, C.A., Kawas,
2345 J.R., Nagaraja, T.G., 2020. Review: Are there indigenous *Saccharomyces* in the digestive

- 2346 tract of livestock animal species? Implications for health, nutrition and productivity traits.
2347 *Animal* 14, 22–30. doi:10.1017/S1751731119001599.
- 2348 Gomes, R. da C., Antunes, M.T., Nogueira Filho, J.C.M., Ítavo, L.C.V., Leme, P.R., 2010.
2349 Leveduras vivas e monensina em dietas de alto concentrado para bovinos: parâmetros
2350 ruminais e degradabilidade “in situ”. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal* 11,
2351 202–216.
- 2352 González, F.H.D., Silva, C. da S., 2017. *Introdução à bioquímica clínica veterinária*, 3rd ed,
2353 Editora da UFRGS. Editora da UFRGS, Porto Alegre,RS, Brazil, 538.
- 2354 Hafner, D., Tuboly, T., Mézes, M., Bloch-Bodnár, Z., Balogh, K., Vántus, V., Bóta, B., Szabó-
2355 Fodor, J., Matics, Z., Szabó, A., Kovács, M., 2019. Effect of feeding *Bacillus cereus* var.
2356 *toyoi* and/or mannan oligosaccharide (MOS) on blood clinical chemistry, oxidative stress,
2357 immune response and genotoxicity in T-2 toxin exposed rabbits. *Italian Journal of Animal*
2358 *Science* 18, 1239–1251. doi:10.1080/1828051X.2019.1641165.
- 2359 Hossain, S.A., Parnerkar, S., Haque, N., Gupta, R.S., Kumar, D., Tyagi, A.K., 2012. Influence
2360 of dietary supplementation of live yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on nutrient
2361 utilization , ruminal and biochemical profiles of Kankrej calves. *International Journal of*
2362 *Applied Animal Sciences* 1, 30–38.
- 2363 İnal, F., Gürbüz, E., Coşkun, B., Alataş, M.S., Çitil, Ö.B., Polat, E.S., Şeker, E., Özcan, C.,
2364 2010. The Effects of Live Yeast Culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on Rumen
2365 Fermentation and Nutrient Degradability in Yearling Lambs. *Kafkas Universitesi*
2366 *Veteriner Fakultesi Dergisi* 16, 799–804. doi:10.9775/kvfd.2010.1672.
- 2367 Ishaq, S.L., AlZahal, O., Walker, N., McBride, B., 2017. An investigation into rumen fungal
2368 and protozoal diversity in three rumen fractions, during high-fiber or grain-induced sub-
2369 acute ruminal acidosis conditions, with or without active dry yeast supplementation.
2370 *Frontiers in Microbiology* 8. doi:10.3389/fmicb.2017.01943.
- 2371 Ítavo, C.C.B.F., Morais, M.G., Costa, C., Ítavo, L.C.V., Franco, G.L., da Silva, J.A., Reis, F.A.,
2372 2011. Addition of propolis or monensin in the diet: Behavior and productivity of lambs
2373 in feedlot. *Animal Feed Science and Technology* 165, 161–166.
2374 doi:10.1016/j.anifeedsci.2011.02.020.
- 2375 Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Bruss, M.L., 2008. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals (*
2376 *Sixth Edition*). Academic Press, Burlington, MA, USA.
- 2377 Kantas, D., Papatsiros, V.G., Tassis, P.D., Giavasis, I., Bouki, P., Tzika, E.D., 2015. A feed
2378 additive containing *Bacillus toyonensis* (Toyocerin®) protects against enteric pathogens
2379 in postweaning piglets. *Journal of Applied Microbiology* 118, 727–738.

- 2380 doi:10.1111/jam.12729.
- 2381 Kayser, W.C., Carstens, G.E., Washburn, K.E., Welsh, T.H., Lawhon, S.D., Reddy, S.M.,
2382 Pinchak, W.E., Chevaux, E., Skidmore, A.L., 2019. Effects of combined viral-bacterial
2383 challenge with or without supplementation of *Saccharomyces cerevisiae* boulardii strain
2384 CNCM I-1079 on immune upregulation and DMI in beef heifers. *Journal of Animal
2385 Science* 97, 1171–1184. doi:10.1093/jas/sky483.
- 2386 Kumprechtová, D., Illek, J., Julien, C., Homolka, P., Jančík, F., Auclair, E., 2019. Effect of live
2387 yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) supplementation on rumen fermentation and metabolic
2388 profile of dairy cows in early lactation. *Journal of Animal Physiology and Animal
2389 Nutrition* 103, 447–455. doi:10.1111/jpn.13048.
- 2390 Laven, R.A., 2016. *Bovine Medicine*, 3rd Edition. *New Zealand Veterinary Journal* 64, 69–69.
2391 doi:10.1080/00480169.2016.1114069.
- 2392 Luo, J.C., Long, H., Zhang, J., Zhao, Y., Sun, L., 2021. Characterization of a Deep Sea *Bacillus*
2393 *toyonensis* Isolate: Genomic and Pathogenic Features. *Frontiers in Cellular and Infection
2394 Microbiology* 11, 1–13. doi:10.3389/fcimb.2021.629116.
- 2395 Moallem, U., Lehrer, H., Livshitz, L., Zachut, M., Yakoby, S., 2009. The effects of live yeast
2396 supplementation to dairy cows during the hot season on production, feed efficiency, and
2397 digestibility. *Journal of Dairy Science* 92, 343–351. doi:10.3168/jds.2007-0839.
- 2398 Monnerat, J.P.I. dos S., Paulino, P.V.R., Detmann, E., Valadares Filho, S.C., Valadares, R.D.F.,
2399 Duarte, M.S., 2013. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and monensin on digestion,
2400 ruminal parameters, and balance of nitrogenous compounds of beef cattle fed diets with
2401 different starch concentrations. *Tropical Animal Health and Production* 45, 1251–1257.
2402 doi:10.1007/s11250-013-0356-9.
- 2403 de Moraes, G.J., Ítavo, L.C. V., Ítavo, C.C.B.F., Dias, A.M., Niwa, M.V.G., Leal, E.S.,
2404 Kozerski, N.D., da Costa, M.C.M., da Mata, D.G., Inada, A.C., 2019. Extruded urea could
2405 reduce true protein source in beef cattle diets. *Journal of Animal Physiology and Animal
2406 Nutrition* 103, 1283–1294. doi:10.1111/jpn.13140.
- 2407 Neumann, M., Ueno, R.K., Heker, J.C., Askel, E.J., De Souza, A.M., Vigne, G.L.D., Poczynek,
2408 M., Coelho, M.G., Eto, A.K., 2018. Growth performance and safety of meat from cattle
2409 feedlot finished with monensin in the ration. *Semina: Ciências Agrárias* 39, 697–709.
2410 doi:10.5433/1679-0359.2018v39n2p697.
- 2411 National Research Council (NRC), 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. National
2412 Academies Press, Washington, DC, USA.
- 2413 Perna Junior, F., Vásquez, D.C.Z., Gardinal, R., Meyer, P.M., Berndt, A., Friguetto, R.T.S., de

- 2414 Abreu Demarchi, J.J.A., Rodrigues, P.H.M., 2020. Short-term use of monensin and
2415 tannins as feed additives on digestibility and methanogenesis in cattle. *Revista Brasileira*
2416 *de Zootecnia* 49. doi:10.37496/RBZ4920190098
- 2417 Roos, T.B., Tabeleão, V.C., Dümmer, L.A., Schwegler, E., Goulart, M.A., Moura, S. V., Corrê,
2418 M.N., Leite, F.P.L., Gil-Turnes, C., 2010. Effect of bacillus cereus var. Toyoi and
2419 *Saccharomyces boulardii* on the immune response of sheep to vaccines. *Food and*
2420 *Agricultural Immunology* 21, 113–118. doi:10.1080/09540100903443691.
- 2421 Russell, J.B. and Houlihan, A.J., 2003. Ionophore resistance of ruminal bacteria and its potential
2422 impact on human health. *FEMS Microbiology Reviews* 27, 65–74. doi: 10.1016/S0168-
2423 6445(03)00019-6
- 2424 Sniffen, C.J., O'Connor, J.D., Van Soest, P.J., Fox, D.G., Russell, J.B., 1992. A net
2425 carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein
2426 availability. *Journal of Animal Science*. 70, 3562–3577. doi:10.2527/1992.70113562x.
- 2427 Tavares, L.A., de Araújo, M.C.N., Barbosa, A.A., Brauner, C.C., Corrêa, M.N., Schmitt, E.,
2428 Rabassa, V.R., Pino, F.A.B. Del, 2021. Use of *saccharomyces cerevisiae*-based products
2429 and effects on rumen environment and performance of sheep subjected to dietary changes.
2430 *Ciencia Rural* 51, 1–12. doi:10.1590/0103-8478cr20200407.
- 2431 Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Methods for Dietary Fiber, Neutral
2432 Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *Journal*
2433 *of Dairy Science* 74, 3583–3597. doi:10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2.
- 2434 Weiss, C.P., Beck, P.A., Gadberry, M.S., Richeson, J.T., Wilson, B.K., Robinson, C.A., Zhao,
2435 J., Hess, T., Hubbell, D., 2020. Effects of intake of monensin during the stocker phase
2436 and subsequent finishing phase on performance and carcass characteristics of finishing
2437 beef steers. *Applied Animal Science* 36, 668–676. doi:10.15232/aas.2020-02031.
- 2438 Xu, C., Shen, T., Yang, W., Yu, H., Gao, S., Huang, B., 2016. The Effect of Subacute Ruminant
2439 Acidosis of Dairy Cows on Productivity, Digestibility and Greenhouse Gas Emission.
2440 *Journal of Agricultural Science* 8, 92. doi:10.5539/jas.v8n4p92.
- 2441

2442 **Tabela 1**

2443 Participação dos ingredientes e química da dieta experimental oferecida aos novilhos sem os
 2444 aditivos.

Item	Dieta
Ingrediente (% MS da dieta)	
Silagem de milho	30
Concentrado ¹	70
Milho moído	45,50
Farelo de soja	8,52
Casca de soja	14,00
Amireia® 180S	0,82
Sal	0,23
Lithonutri®	0,85
Premix	0,04
Vitamina ADE	0,04
Composição química da dieta (g/kg MS da dieta)	
Matéria seca	695,64
Matéria orgânica	953,06
Proteína bruta	151,34
Extrato etéreo	27,38
Fibra em detergente neutro	400,67
Fibra em detergente ácido	212,06
Carboidratos não-fibrosos (CNF) ²	388,43

2445 ¹Conteúdo (por kg de concentrado): Cálcio 5,00 g; Fósforo 2600,00 mg; Cobalto 0,62 mg; Cobre 15,30 mg;

2446 Enxofre 195,00 mg; Iodo 0,80 mg; Magnésio 78,40 mg; Manganês 12,48 mg; Selênio 0,20 mg; Sódio 1230,00

2447 mg; Zinco 51,00 mg; Vitamina A 3300,00 UI; Vitamina D 412,50 UI; Vitamina E 15,00 UI.

2448 ² CNF (%) = 100-(%PB-(%PBamiréia * %amiréia)) + %FDN + %EE + %MM)

2449

2450 **Tabela 2**

2451 Consumo de nutrientes e digestibilidade aparente de novilhos recebendo dieta com a
 2452 associação de probióticos e ionóforo.

Item	Tratamentos ¹				EPM ²	P-value
	MO	MBT	MSB	BTSB		
Consumo kg/dia (base de MS)						
MS	9,942 ^b	10,035 ^b	10,180 ^b	11,281 ^a	0,49	0,0177
MO	8,793 ^{ab}	8,817 ^{ab}	8,312 ^b	9,632 ^a	0,40	0,0378
PB	1,452 ^{ab}	1,439 ^{ab}	1,351 ^b	1,611 ^a	0,08	0,0136
EE	0,373 ^b	0,374 ^b	0,405 ^{ab}	0,448 ^a	0,04	0,0362
FDAa	3,332	3,395	3,127	3,548	0,12	0,1335
FDA	1,841	1,908	1,690	1,834	0,11	0,2874
CNF	3,636 ^{ab}	3,609 ^{ab}	3,428 ^b	4,025 ^a	0,26	0,0459
NDT	6,985	6,916	6,837	7,225	0,35	0,8105
Digestibilidade aparente (g/kg na MS)						
MS	750,73	745,25	778,39	720,21	15,22	0,5114
MO	744,71	735,69	750,06	694,45	16,10	0,4465
PB	725,47	722,31	714,14	672,78	16,60	0,2177
EE	868,14	893,30	887,11	898,84	16,78	0,6317
FDNa	624,19	648,04	653,92	536,12	24,10	0,2085
FDA	589,84	615,02	609,12	482,03	36,19	0,1741
CNF	847,66	801,98	833,55	812,04	17,03	0,6899
NDT	705,52	696,87	660,64	638,88	16,21	0,2483
PBB(g/dia)	941,16	929,85	916,98	980,33	57,53	0,8105

2453 ¹MO = Monensina apenas; MBT = Monensina + *B. toyonensis*; MSB = Monensina + *S. cerevisiae boulardii*;

2454 BTSB = *B. toyonensis* + *S. cerevisiae boulardii*.

2455 ²EPM= erro padrão da média.

2456 ^{a-b} Os valores dentro de uma linha com sobrescritos diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey (*P*
 2457 < 0,05).

2458

2459 **Tabela 3**

2460 Variáveis ruminiais de novilhos recebendo dieta com a associação de probióticos e ionóforo.

Item	Tratamentos ¹				EPM ²	P-value
	MO	MBT	MSB	BTSB		
pH Ruminal ³	6,496	6,411	6,475	6,329	0,58	0,0891
NH ₃ -N, mg/dL ⁴	18,086 ^{ab}	16,801 ^b	15,712 ^b	21,080 ^a	0,84	0,0032
AGV total, mmol/l	88,262	82,053	75,184	75,472	2,96	0,1442
Proporção molar do AGV, %						
Acetato (C2)	63,810	63,949	63,004	65,711	0,75	0,0609
Propionato (C3)	18,683 ^a	18,926 ^a	20,228 ^a	14,730 ^b	0,99	0,0001
iButirato (iC4)	1,273	1,402	1,439	1,354	0,61	0,1074
nButirato (nC4)	12,508	11,943	11,174	14,005	0,04	0,1789
nValerato (nC5)	0,985 ^{ab}	0,932 ^{ab}	0,859 ^b	1,003 ^a	0,03	0,0397
iValerato (iC5)	2,550	2,612	3,168	2,950	0,12	0,0399
nCaprico (nC6)	0,191	0,236	0,129	0,247	0,02	0,1494
Acetato:propionato	3,709 ^b	3,723 ^b	3,524 ^b	4,561 ^a	0,21	0,0003

2461 ¹MO = Monensina apenas; MBT = Monensina + *B. toyonensis*; MSB = Monensina + *S. cerevisiae boulardii*;2462 BTSB = *B. toyonensis* + *S. cerevisiae boulardii*.2463 ²EPM= erro padrão médio.2464 ³Interação tratamento x hora do pH ruminal, $P = 0,9677$.2465 ⁴Interação tratamento x hora do NH₃-N, $P = 0,6672$.2466 ^{a-b} Os valores dentro de uma linha com sobrescritos diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey (P
2467 $< 0,05$).

2468

2469 **Tabela 4**

2470 Variáveis sanguíneas de novilhos recebendo dieta com a associação de probióticos e ionóforo.

Item	Tratamentos ¹				EPM ²	P-value
	MO	MBT	MSB	BTSB		
Glucose (mg/dl)	80,51	81,96	75,44	80,57	2,53	0,0567
Metabolismo enzimático						
AST (U/L)	53,73 ^{ab}	44,65 ^c	47,95 ^{bc}	61,08 ^a	1,70	0,0001
GGT (U/L)	15,85 ^a	14,00 ^b	14,90 ^{ab}	15,70 ^a	0,67	0,0034
Metabolismo proteico						
Albumina (g/L)	33,00 ^a	29,50 ^b	31,00 ^{ab}	32,25 ^{ab}	0,61	0,0254
Creatinina (mg/dl)	1,35	1,30	1,30	1,35	0,05	0,8013
Proteína total (g/L)	66,50	63,17	65,65	64,45	1,63	0,3598
Ureia (mg/dl)	36,70 ^a	30,85 ^b	32,75 ^b	37,28 ^a	1,26	0,0001
Metabolismo lipídico						
Colesterol (mg/dl)	123,75	120,00	119,25	128,00	6,28	0,3290
Triglicerídeos (mg/dl)	15,20 ^b	17,95 ^a	14,07 ^b	14,78 ^b	0,74	<0,0001

2471 ¹MO = Monensina apenas; MBT = Monensina + *B. toyonensis*; MSB = Monensina + *S. cerevisiae boulardii*;2472 BTSB = *B. toyonensis* + *S. cerevisiae boulardii*.2473 ²EPM= erro padrão da média.2474 ^{a-c} Os valores dentro de uma linha com sobrescritos diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey (*P*

2475 < 0.05).

2476

2477 **Tabela 5**

2478 Variáveis urinárias e balanço de nitrogênio de novilhos recebendo dieta com a associação de
 2479 probióticos e ionóforo.

Item	Tratamentos ¹				EPM ²	P-value
	MO	MBT	MSB	BTSB		
PC final	491,00	464,25	488,25	469,50	22,39	0,9887
Volume urinário (L/dia)	4,89	6,40	6,75	5,74	0,66	0,8615
Variáveis urinário (mg/dl)						
Creatinina	65,31	78,75	68,44	56,25	7,44	0,7426
Ureia	1225,00	1687,50	1143,75	1343,75	182,53	0,7639
Ácido úrico	8,75	2,50	5,00	8,75	1,91	0,3072
Nitrogênio total	2350,17	1690,78	2040,75	2422,50	233,29	0,8370
N-ureia	571,68	787,52	533,76	627,68	85,18	0,7639
Variáveis urinários (mg/kg do PC)						
Creatinina	6,43	11,02	9,05	6,56	1,13	0,5481
Ureia	123,90	233,27	163,09	158,47	25,47	0,6772
Ácido úrico	0,82	0,29	0,38	0,92	0,19	0,2520
Nitrogênio total	232,30	232,16	207,75	269,17	15,59	0,5849
N-ureia	57,82	108,86	76,11	73,96	11,88	0,6772
Balanço de nitrogênio (g/dia)						
N-Consumo	232,39 ^{ab}	230,28 ^{ab}	216,21 ^b	257,72 ^a	12,10	0,0135
N-Fezes	63,00 ^b	63,96 ^{ab}	58,58 ^b	83,72 ^a	4,72	0,0200
N-Urina	108,96 ^{ab}	107,78 ^{ab}	99,90 ^b	123,15 ^a	6,78	0,0135
N-Retido	60,44	58,55	57,73	50,86	5,32	0,4587

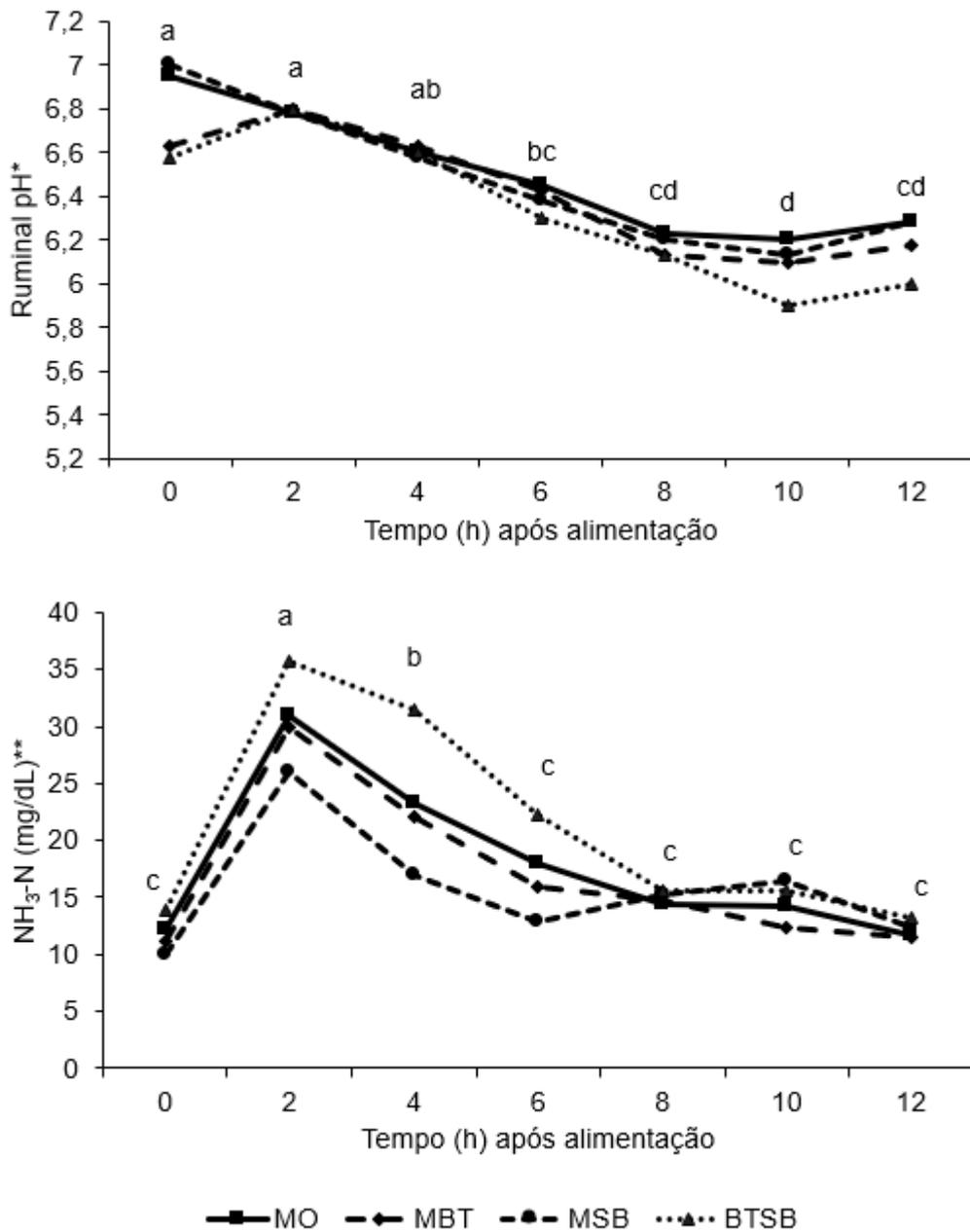
2480 ¹MO = Monensina apenas; MBT = Monensina + *B. toyonensis*; MSB = Monensina + *S. cerevisiae boulardii*;

2481 BTSB = *B. toyonensis* + *S. cerevisiae boulardii*.

2482 ²EPM= erro padrão da média.

2483 ^{a-b} Os valores dentro de uma linha com sobrescritos diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey (*P*
 2484 < 0.05).

2485



2486

2487 **Fig. 1.** Valores médios de pH ruminal e nitrogênio amoniacal (NH₃-N) em diferentes horários
 2488 de coleta de novilhos recebendo dieta com a associação de probióticos e ionóforo.

2489 Abreviações: MO = Monensina apenas; MBT = Monensina + *B. toyonensis*; MSB = Monensina + *S. cerevisiae*
 2490 *boulardii*; BTSB = *B. toyonensis* + *S. cerevisiae boulardii*.

2491 * Efeito da hora no pH, $P = <0.0001$. ** Efeito da hora no NH₃-N, $P = <0.0001$. Valores com diferentes sobrescritos
 2492 diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0.05$).

2493

2494 **Materiais suplementares**

2495

2496 **Material suplementar S1 Modelo estatístico usado no software SAS®**

2497

2498 *Non-repeated variables:*2499 PROC GLM DATA= *Data*;

2500 CLASS PERIOD TREATMENT ANIMAL;

2501 MODEL *Variable* = PERIOD TREATMENT ANIMAL;

2502 MEANS TREATMENT/TUKEY;

2503 RUN;

2504

2505 *Repeated variables:*2506 PROC GLM DATA= *Data*;

2507 CLASS PERIOD TREATMENT ANIMAL HOUR;

2508 MODEL *Variable* = PERIOD TREATMENT ANIMAL HOUR TREATMENT*HOUR;

2509 MEANS TREATMENT/TUKEY;

2510 MEANS HOUR/TUKEY;

2511 RUN;

2512

2513 **Tabela Suplementar S1:** Consumo de nutrientes e digestibilidade aparente de novilhos
 2514 recebendo dieta com a associação de probióticos e ionóforo.

Item	Tratamentos ¹				EPM ²	P-value		
	MO	MBT	MSB	BTBSB		Trat.	Período	Animal
Consumo kg/dia (base de MS)								
MS	9,942	10,035	10,180	11,281	0,49	0,0177	0,0001	0,0004
MO	8,793	8,817	8,312	9,632	0,40	0,0378	0,0004	0,0023
PB	1,452	1,439	1,351	1,611	0,08	0,0136	0,0001	0,0020
EE	0,373	0,374	0,405	0,448	0,04	0,0362	<0,0001	0,0030
FDNa	3,332	3,395	3,127	3,548	0,12	0,1335	0,0399	0,0035
FDA	1,841	1,908	1,690	1,834	0,11	0,2874	0,0005	0,0108
CNF	3,636	3,609	3,428	4,025	0,26	0,0459	<0,0001	0,0070
NDT	6,985	6,916	6,837	7,225	0,35	0,8105	0,0013	0,0540
Digestibilidade aparente (g/kg de MS)								
MS	750,73	745,25	778,39	720,21	15,22	0,5114	0,0843	0,6929
MO	744,71	735,69	750,06	694,45	16,10	0,4465	0,0475	0,7429
PB	725,47	722,31	714,14	672,78	16,60	0,2177	0,0094	0,0592
EE	868,14	893,30	887,11	898,84	16,78	0,6317	0,0027	0,8018
FDNa	624,19	648,04	653,92	536,12	24,10	0,2085	0,0918	0,6887
FDA	589,84	615,02	609,12	482,03	36,19	0,1741	0,0093	0,3446
CNF	847,66	801,98	833,55	812,04	17,03	0,6899	0,0821	0,5571
NDT	705,52	696,87	660,64	638,88	16,21	0,2483	0,1051	0,1392
PBB(g/dia)	941,16	929,85	916,98	980,33	57,53	0,8105	0,0013	0,0540

2515 ¹MO = Monensina apenas; MBT = Monensina + *B. toyonensis*; MSB = Monensina + *S. cerevisiae boulardii*;

2516 BTBSB = *B. toyonensis* + *S. cerevisiae boulardii*.

2517 ²EPM= erro padrão da média.

2518 ^{a-b} Os valores dentro de uma linha com sobrescritos diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey

2519 (Tratamento; $P < 0.05$).

2520 **Tabela suplementar S2:** Variáveis ruminais de novilhos recebendo dieta com a associação de probióticos e ionóforo.

Item	Tratamentos ¹				EPM ²	P-value				
	MO	MBT	MSB	BTSB		Tratamento	Período	Animal	Hora	Tratamento *Hora
pH ruminal	6,496	6,411	6,475	6,329	0,58	0,0891	<0,0001	0,1646	<0,0001	0,9677
NH ₃ -N, mg/dl	18,086 ^{ab}	16,801 ^b	15,712 ^b	21,080 ^a	0,84	0,0032	0,0310	0,0004	<0,0001	0,6672
AGV total, mmol/l	88,262	82,053	75,184	75,472	2,96	0,1442	0,0214	0,0059		
Proporção molar do AGV, %										
Acetato (C2)	63,810	63,949	63,004	65,711	0,75	0,0609	<0,0001	<0,0001		
Propionato (C3)	18,683 ^a	18,926 ^a	20,228 ^a	14,730 ^b	0,99	0,0001	<0,0001	<0,0001		
iButirato (iC4)	1,273	1,402	1,439	1,354	0,61	0,1074	0,0010	0,0012		
nButirato (nC4)	12,508	11,943	11,174	14,005	0,04	0,1789	0,5666	0,0003		
nValerato (nC5)	0,985 ^{ab}	0,932 ^{ab}	0,859 ^b	1,003 ^a	0,03	0,0397	0,0058	0,0002		
iValerato (iC5)	2,550	2,612	3,168	2,950	0,12	0,0399	0,0013	0,0072		
nCaproico (nC6)	0,191	0,236	0,129	0,247	0,02	0,1494	0,6748	0,6148		
Acetato: propionato	3,709 ^b	3,723 ^b	3,524 ^b	4,561 ^a	0,21	0,0003	<0,0001	<0,0001		

2521 ¹MO = Monensina apenas; MBT = Monensina + *B. toyonensis*; MSB = Monensina + *S. cerevisiae boulardii*; BTSB = *B. toyonensis* + *S. cerevisiae boulardii*.2522 ²EPM= erro padrão da média.2523 ^{a-b} Os valores dentro de uma linha com sobrescritos diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey (Tratamento; $P < 0.05$).

2524 **Tabela suplementar S3:** Valores de precisão do kit ELISA utilizado para a medição
 2525 quantitativa das variáveis séricas de novilhos de corte recebendo dieta com a associação de
 2526 probióticos e ionóforo.

	CV	
	Intra-teste	Inter-teste
Albumin kit – ALB2 (ref. 04657357; Roche Diagnostics GmbH, Germany)	<0,8	7,11
Aspartate aminotransferase kit – ASTL (ref. 04657543; Roche Diagnostics GmbH, Germany)	<1,4	11,05
γ -Glutamyltransferase kit – GGT-2 (ref. 05401461; Roche Diagnostics GmbH, Germany)	<1,9	6,43
Cholesterol kit – CHOL2 (ref. 04718917; Roche Diagnostics GmbH, Germany)	<1,4	8,41
Creatinine kit – CREJ2 (ref. 05401755; Roche Diagnostics GmbH, Germany)	<4,0	10,67
Glucose kit – GLUC2 (ref. 04657527; Roche Diagnostics GmbH, Germany)	<1,1	12,25
Total Protein kit – TP2 (ref. 04657586; Roche Diagnostics GmbH, Germany)	<3,1	5,94
Triglycerides kit – TRIGL (ref. 04657594; Roche Diagnostics GmbH, Germany)	<1,3	7,62
Urea kit – UREAL (ref. 04657616; Roche Diagnostics GmbH, Germany)	<1,0	7,25

2527

2528

2529 **Tabela suplementar S4:** Variáveis sanguíneas de novilhos recebendo dieta com a associação
 2530 de probióticos e ionóforo.

Item	Tratamentos ¹				EPM ²	P-value		
	MO	MBT	MSB	BTSB		Tratamento	Período	Animal
Glucose (mg/dl)	80,51	81,96	75,44	80,57	2,53	0,0567	0,0001	0,0509
Metabolismo enzimático								
AST (U/L)	53,73 ^{ab}	44,65 ^c	47,95 ^{bc}	61,08 ^a	1,70	0,0001	0,0005	0,6301
GGT (U/L)	15,85 ^a	14,00 ^b	14,90 ^{ab}	15,70 ^a	0,67	0,0034	<0,0001	<0,0001
Metabolismo proteico								
Albumina (g/L)	33,00 ^a	29,50 ^b	31,00 ^{ab}	32,25 ^{ab}	0,61	0,0254	0,0003	0,0254
Creatinina (mg/dl)	1,35	1,30	1,30	1,35	0,05	0,8013	0,0325	<0,0001
Proteína total (g/L)	66,50	63,17	65,65	64,45	1,63	0,3598	<0,0001	<0,0001
Ureia (mg/dl)	36,70 ^a	30,85 ^b	32,75 ^b	37,28 ^a	1,26	0,0001	0,0182	<0,0001
Metabolismo lipídico								
Colesterol (mg/dl)	123,75	120,00	119,25	128,00	6,28	0,3290	<0,0001	<0,0001
Triglicérides (mg/dl)	15,20 ^b	17,95 ^a	14,07 ^b	14,78 ^b	0,74	<0,0001	<0,0001	<0,0001

2531 ¹MO = Monensina apenas; MBT = Monensina + *B. toyonensis*; MSB = Monensina + *S. cerevisiae boulardii*;

2532 BTSB = *B. toyonensis* + *S. cerevisiae boulardii*.

2533 ²EPM= erro padrão da média.

2534 ^{a-c} Os valores dentro de uma linha com sobrescritos diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey

2535 (Tratamento; $P < 0.05$).

2536

2537 **Tabela suplementar S5:** Valores de precisão do kit ELISA utilizado nas medidas
 2538 quantitativas das variáveis urinárias de novilhos recebendo dieta com a associação de
 2539 probióticos e ionóforo.

	%CV	
	Intra-Teste	Inter-Teste
Creatinine Kit – Método calorimétrico cinético (ref. K067-24.1; Bioclin, Quibasa Química Básica Ltda, Belo Horizonte, MG, Brasil)	<1,20	41,79
Urea Kit – Método enzimático (ref. K047; Bioclin, Quibasa Química Básica Ltda, Belo Horizonte, MG, Brasil)	<0,72	56,72
Uric Acid Kit – Método monoreagente (ref. K139-8.1; Bioclin, Quibasa Química Básica Ltda, Belo Horizonte, MG, Brasil)	<2,96	80,00

2540

2541

2542 **Tabela suplementar S6:** Variáveis urinárias e balanço de nitrogênio de novilhos recebendo
 2543 dieta com a associação de probióticos e ionóforo.

Item	Tratamentos ¹				EPM ²	<i>P</i> -value		
	MO	MBT	MSB	BTSB		Tratamentos	Período	Animal
PC final	491,00	464,25	488,25	469,50	22,39	0,9887	0,9303	0,9996
Volume da urina (L/dia)	4,89	6,40	6,75	5,74	0,66	0,8615	0,7203	0,7387
Variáveis urinário (mg/dl).								
Creatinina	65,31	78,75	68,44	56,5625	7,44	0,7426	0,2112	0,4052
Ureia	1225,00	1687,50	1143,75	1343,75	182,53	0,7639	0,4764	0,3838
Ácido úrico	8,75	2,50	5,00	8,75	1,91	0,3072	0,3486	0,0231
Nitrogênio total	2350,17	1690,78	2040,75	2422,50	233,29	0,8370	0,9569	0,7805
N ureia	571,68	787,52	533,76	627,68	85,18	0,7639	0,4764	0,3838
Variáveis urinário (mg/kg de PC)								
Creatinina	6,43	11,02	9,05	6,56	1,13	0,5481	0,5966	0,7776
Ureia	123,90	233,27	163,09	158,47	25,47	0,6772	0,8408	0,7135
Ácido úrico	0,82	0,29	0,38	0,92	0,19	0,2520	0,3349	0,0205
Nitrogênio total	232,30	232,16	207,75	269,17	15,59	0,5849	0,2388	0,5565
N Ureia	57,82	108,86	76,11	73,96	11,88	0,6772	0,8408	0,7135
Balanço de nitrogênio (g/dia)								
N-Consumo	232,39 ^{ab}	230,28 ^{ab}	216,21 ^b	257,72 ^a	12,10	0,0135	<0,0001	0,0020
N-Fezes	63,00 ^b	63,96 ^{ab}	58,58 ^b	83,72 ^a	4,72	0,0200	0,4983	0,0030
N-Urina	108,96 ^{ab}	107,78 ^{ab}	99,90 ^b	123,15 ^a	6,78	0,0135	<0,0001	0,0020
N-Retido	60,44	58,55	57,73	50,86	5,32	0,4587	0,0007	0,1787

2544 ¹MO = Monensina apenas; MBT = Monensina + *B. toyonensis*; MSB = Monensina + *S. cerevisiae boulardii*;

2545 BTSB = *B. toyonensis* + *S. cerevisiae boulardii*.

2546 ²EPM= erro padrão da média.

2547 ^{a-b} Os valores dentro de uma linha com sobrescritos diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey

2548 (Tratamento; *P* < 0.05).

2549

2550 4. IMPLICAÇÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

2551

2552 Com a grande variedade de aditivos existentes é comum se buscar o efeito associativos
2553 pela combinação de diferentes tipos ou classes de aditivos para serem utilizados nos bovinos,
2554 com intuito de melhor ainda mais a produtividade ou reduzir os já problemas existentes na
2555 pecuária. Com base nos estudos realizados nesta tese, quando combinado o ionóforo monensina
2556 sódica com o *Bacillus toyonensis* ou mesmo com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* var.
2557 *boulardii*, não houve benefícios na cinética nem na produção de gás *in vitro* da silagem de
2558 milho. Também não houve efeito positivo dessas duas combinações no consumo de alimento,
2559 digestibilidade aparente, variáveis ruminais e variáveis sanguíneas dos novilhos.

2560 Já quando associados o dos probióticos *Bacillus toyonensis* com *Saccharomyces*
2561 *cerevisiae* var. *boulardii*, esta combinação apresentou valores semelhantes aos observados no
2562 tratamento com monensina sódica, na digestibilidade dos nutrientes, variáveis ruminais,
2563 sanguíneas, urinárias e na retenção de nitrogênio.

2564 Com base nas observações promissoras da associação de *Bacillus toyonensis* com
2565 *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* obtidos nesta tese, são sugeridos mais estudos com
2566 esta associação de probióticos sobre os aspectos produtivos para que seja recomendado como
2567 melhorador de desempenho alternativo para os bovinos.

2568

2569 **5. ANEXOS**

2570

The screenshot displays the MDPI journal website interface. At the top, there is a navigation bar with links for Journals, Information, Author Services, Initiatives, and About, along with a Sign In / Sign Up button and a Submit button. Below this is a search bar with fields for Title / Keyword, Author / Affiliation, and a dropdown menu for Fermentation. The main content area features the journal logo 'fermentation' and a sidebar with options like 'Submit to this Journal', 'Review for this Journal', and 'Edit a Special Issue'. The article title is 'Kinetics of In Vitro Gas Production and Fitting Mathematical Models of Corn Silage', with authors Camilla da Silva Zornitta, Luis Carlos Vinhas Itavo, Camilla Celeste Brandão Ferreira Itavo, Gelson dos Santos Difante, and Antonio Leandro Chaves Gurgel. The abstract describes a study on the effects of rumen inoculum of steers receiving different combinations of ionophore and probiotics in their diets on in vitro gas production of corn silage. The article is available as an Open Access Article.

2571

2572 Anexo I – Artigo publicado (Capítulo 1) no periódico científico Fermentation (ISSN: 2311-
 2573 5637). DOI: <https://doi.org/10.3390/fermentation7040298>