

## **AVALIAÇÃO DE ADITIVOS PROBIÓTICOS EM FORRAGENS TROPICAIS DE BAIXA QUALIDADE SOBRE A CINÉTICA DE PRODUÇÃO DE GASES, EMISSÃO DE METANO ENTÉRICO E FERMENTAÇÃO RUMINAL EM SISTEMA IN VITRO DE PRODUÇÃO DE GASES**

Mel Suzane Santos **Marques**<sup>1</sup>; Thiago H. **Silva**<sup>2</sup>, Bruna R. **Amâncio**<sup>3</sup>, Elaine **Magnani**<sup>4</sup>, Thaynã G. **Timm**<sup>5</sup>, Renata H. **Branco**<sup>6</sup>, Eduardo Marostegan **De Paula**<sup>7</sup>

**Nº 24703**

**RESUMO** – O Brasil vem durante muito tempo utilizando antibióticos como moduladores do ambiente ruminal e melhoradores da eficiência produtiva. Entretanto, muito tem-se questionado sobre os perigos de desenvolvimento de cepas resistentes em decorrência da utilização deste aditivo. Por isso, tem-se cada vez mais buscado por aditivos naturais como os probióticos que desempenhem o mesmo papel na alimentação bovina e garanta maior segurança para o produto final. Os probióticos são aditivos contendo microrganismos vivos que visam auxiliar no equilíbrio da microbiota no trato gastrointestinal dos animais assim promovendo a sua saúde e auxiliando no processo de digestão e absorção de nutrientes. Deste modo, o presente estudo objetivou avaliar os efeitos da inclusão de diferentes níveis de probióticos sobre diversos parâmetros da fermentação ruminal. Para isso, foram utilizados dois probióticos comerciais incluídos na alimentação de animais cuja dieta foi se compunha exclusivamente por forragem de baixa qualidade, para então compreender a real eficácia deste aditivo na substituição de antibióticos como os ionóforos. Os resultados obtidos foram satisfatórios pois demonstraram um significativo efeito de aumento da produção total de gases e melhora no perfil de ácidos graxos voláteis, menor concentração de nitrogênio amoniacal no rúmen e alteração do pH ruminal. Com isso, é possível sugerir que a inclusão de probióticos na dieta de bovinos alimentados a pasto possui efeito benéfico significativo sob a fermentação ruminal.

**Palavras-chaves:** Aditivos, Fermentação, Ionóforos, Probióticos, Ruminantes.

1 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Zootecnia, UFMG, Montes Claros - MG; [melsuzane@gmail.com](mailto:melsuzane@gmail.com)

2 Autor, Bolsista Pós-doutorado (FAPESP): Pós-Doutorando do Instituto de Zootecnia, São José do Rio Preto - SP; [dasilvath2@gmail.com](mailto:dasilvath2@gmail.com)

3 Autor, Bolsista Treinamento Técnico nível 4 (FUNDAG): Instituto de Zootecnia, São José do Rio Preto - SP; [bruna\\_roberta11@hotmail.com](mailto:bruna_roberta11@hotmail.com)

4 Autor, Bolsista Pós-doutoradoA (FUNDAG): Pós-Doutoranda do Instituto de Zootecnia, São José do Rio Preto – SP; [lainemag@hotmail.com](mailto:lainemag@hotmail.com)

5 Autor, Bolsista CNPq (Doutoranda): Doutoranda, Universidade Regional de Blumenau, Blumenau -SC; [ttimm@furb.br](mailto:ttimm@furb.br)

6 Autor, Pesquisador do Instituto de Zootecnia, São José do Rio Preto - SP; [renata@sp.gov.br](mailto:renata@sp.gov.br)

7 Orientador: Pesquisador do Instituto de Zootecnia, São José do Rio Preto - SP; [emarostegandepaula@gmail.com](mailto:emarostegandepaula@gmail.com)

**ABSTRACT** – Brazil has long been using antibiotics as modulators of the rumen environment and improvers of production efficiency. However, there have long been questions about the dangers of developing resistant strains as a result of the use of this additive. Therefore, there is an increasing search for natural additives such as probiotics that play the same role in beef feed and guarantee greater safety for the final product. Probiotics are additives containing live microorganisms that aim to help balance the microbiota in the gastrointestinal tract of animals, thus promoting their health and assisting in the process of digestion and absorption of nutrients. Therefore, the present study aims to evaluate the effects of including different levels of probiotics on different parameters of ruminal fermentation. For this, two commercial probiotics included in the feed of animals whose diet was made up exclusively of low-quality forage were used, in order to understand the real effectiveness of this additive in replacing antibiotics such as ionophores. The results obtained were significant as they revealed a significant effect of increasing total gas production and improving the volatile fatty acid profile, lower concentration of ammonia nitrogen in the rumen and changes in ruminal pH. Therefore, it is possible to suggest that the inclusion of probiotics in the diet of grass-fed cattle has a significant beneficial effect on ruminal fermentation.

**Keywords:** Additives, Fermentation, Ionophores, Probiotics, Ruminants.

## 1. INTRODUÇÃO

Para melhorar a eficiência da fermentação ruminal, os sistemas de produção vêm, durante décadas, utilizando antibióticos como aditivos promotores de crescimento afim de modular os microrganismos responsáveis por esta fermentação. Entretanto, o uso intensivo de antibióticos como promotores de crescimento e moduladores da fermentação ruminal tem gerado preocupações significativas, especialmente em relação ao desenvolvimento de resistência antimicrobiana (EMBRAPA, 2006).

Diante desta preocupação, alguns mercados externos proibiram a utilização dos antibióticos como promotores de crescimento na produção de animais com finalidade alimentícia. Assim, estudos como o de Pereira (2021) vêm buscando aditivos naturais que objetivam atingir os mesmos resultados produtivos e com a mesma qualidade, porém acompanhando a tendência de uma carne livre de antibióticos e com mais rastreabilidade.

Pensando em atender a esta demanda, alguns estudos estão voltando pesquisas aos probióticos (PBO) e sua ação no ambiente ruminal, como é retratado no estudo publicado por Hassan *et al.* (2016). Estes aditivos contêm microrganismos vivos como bactérias e fungos que auxiliam na recomposição da microbiota do trato gastrointestinal dos animais contribuindo para o seu equilíbrio (MAPA, 2004).

A incorporação de PBO na dieta dos bovinos de corte pode resultar em uma série de benefícios, tais como a estabilização do pH ruminal, a redução da incidência de distúrbios digestivos e a melhoria na eficiência de utilização das fibras (Dias *et. al*, 2017). Tais efeitos não apenas promovem a saúde e o bem-estar dos animais, mas também podem refletir em melhores índices produtivos, como ganho de peso e conversão alimentar, tornando-se uma estratégia promissora para a indústria pecuária. Consequentemente, o uso de PBO como moduladores do ambiente ruminal representa uma abordagem inovadora e segura para a nutrição de bovinos de corte, alinhada às atuais demandas por práticas mais naturais e sustentáveis na produção de alimentos de origem animal.

Portanto, a hipótese do trabalho foi que a inclusão de probióticos alterasse os padrão fermentativos e a produção total de gases comparado a dieta controle. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da inclusão de dois diferentes aditivos na dieta de bovinos alimentados exclusivamente à base de forragem de baixa qualidade sob a produção total de gases, perfil de ácidos graxos voláteis produzidos e nitrogênio amoniacal do rúmen.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Local do experimento e tratamentos**

O experimento foi conduzido no laboratório de fermentação e nutrição animal do centro de pesquisa em bovinos de corte APTA – IZ, Sertãozinho -SP, utilizando um sistema in vitro de produção de gases (Sistema de Produção de Gás RF Ankom, Ankom Technology®, Macedônia, NY, EUA).

A forragem testada se compôs por: uma dieta total exclusiva à base de forragem de baixa qualidade com o objetivo de simular as condições de pastagem durante a estação seca em regiões tropicais, para isso foi utilizado feno de brachiaria cuja análise química pode ser observada na tabela 1. Os aditivos testados foram: PBO1) Bovacillus (2 cepas de Bacillus® - Chr. Hansen A/S, Hørsholm, Denmark); PBO2) Probios Precise® (3 cepas de Enterococcus faecium + levedura viva® - Chr. Hansen A/S, Hørsholm, Denmark).

**Tabela 1.** Composição química do feno de brachiaria

ÍTEM	%
Matéria Seca (MS, % da MN <sup>1</sup> )	96.9
Matéria mineral (MM)	7.0
Proteína Bruta (PB)	5.4
Fibra em Detergente Neutro (FDN)	84.1
Extrato Etereo (EE)	0.95

<sup>1</sup>MN = matéria natural

## 2.2. Cinética de produção de gases

Um aparelho de produção de gás (Sistema de Produção de Gás RF Ankom, Ankom Technology®, Macedônia, NY, EUA) equipados com sensores de pressão que foram conectados sem fio a um computador utilizado para avaliar a cinética ruminal dos nutrientes e gases. O delineamento experimental se fez da seguinte maneira: 3 ensaios de incubação × 2 tipos de aditivos × 2 níveis de aditivo probiótico × 1 dietas (feno de brachiaria) × 4 frascos por tratamento por incubação, além de 3 frascos em branco também por incubação.

Os ingredientes das dietas foram moídos para passar através de uma peneira de 1 mm no moinho Wiley Mill (modelo número 2; Arthur H. Thomas Co., Filadélfia, PA). Cada frasco (250 mL) foi preenchido com 1,0 g de cada dieta + adição ou não de aditivos. Os frascos foram inoculados com 150 ml de solução de líquido ruminal/mistura tampão, mantendo o headspace do frasco continuamente infundido com N<sub>2</sub>. Garrafas sem amostras de dieta, mas com solução de mistura de líquido/tampão de rúmen foram usadas como brancos para corrigir a fermentação do inóculo do rúmen. Após a inoculação, as garrafas foram fechadas e colocadas em uma incubadora com agitador com ventilação a ar (Innova 4400 incubadoras; New Brunswick Scientific, Edison, NJ, EUA) sob temperatura e agitação controladas (39°C e 80 RPM).

Um software foi usado para a aquisição de dados (Gas Pressure Monitor, tecnologia Ankom, NY, EUA), e configurado para registrar a pressão acumulada a cada 15 minutos, durante 72-h. As válvulas foram configuradas para liberar automaticamente o gás quando a pressão atingisse 3,4 kPa (Tagliapietra et al., 2011). No início (0 h) e no final da incubação (48 h), o pH da solução foi medido com um medidor de pH AP61 portátil Accumet (Fisher Scientific, Atlanta, GA).

Ao final da incubação, subamostras de 10 mL foram filtradas através de duas camadas de gaze, para posterior determinação de AGV, N-NH<sub>3</sub>, Lactato e cálculo da produção de

metano ( $\text{CH}_4$ ). O restante do conteúdo dos frascos foi armazenado e liofilizado para determinações posteriores de MS e FDN para determinação da cinética de degradação ruminal.

### 2.3. Análises Químicas

Todos os ingredientes foram moídos em peneira de 1 mm em moinho Wiley (TE 650; Tecnal® Piracicaba, SP, Brasil) antes das incubações e para posteriores análises.

As amostras foram analisadas quanto à matéria seca (MS; método 930.15; AOAC, 1990), matéria mineral (MM; método 942.05; AOAC, 1990), proteína bruta (PB; Dumatherm®; Gerhardt GmbH & Co, Königswinter, Alemanha; método 990.13; AOAC, 2005) e extrato etéreo (EE; método 2003.05; AOAC, 1990). Para fibra em detergente neutro (FDN), as amostras foram tratadas com alfa amilase termoestável sem sulfito de sódio (Van Soest, Robertson e Lewis 1991) e adaptadas para um Analisador de Fibra (TE 149; Tecnal®).

### 2.4. Metano e $\text{CO}_2$

Para realização da mensuração de  $\text{CH}_4$  e gás carbônico ( $\text{CO}_2$ ), foi utilizado o mesmo sistema com capacidade para 50 frascos (Ankom Technology, Macedon. NY, EUA), equipados com sensores sem fios, ligados a um computador, com capacidade de leitura de pressão interna dos frascos. Porém, nesta etapa, os frascos não foram programados automaticamente para realizar a abertura das válvulas quando atingissem 3,4kPa, estas permaneceram totalmente fechadas durante o período de incubação, para que não houvesse perda de gás.

Os procedimentos de incubação para esta etapa foram iguais a etapa de coleta de pressão cumulativa. Dentro de cada frasco, foi adicionado cerca de  $0,5\text{g} \pm 0,05\text{g}$  (Base na MS) de cada dieta. As amostras no interior do frasco, foram hidratados com 5ml de água deionizada, com objetivo de evitar a dispersão das partículas. Com a dieta já no interior dos frascos, foi adicionado 75mL da mistura da solução tampão com o fluido ruminal, e limpado o headspace continuamente com  $\text{N}_2$ , a fim de manter a anaerobiose do ambiente.

Após a incubação, os frascos foram fechados e colocados em incubadora ventilada (EI-450T, ENGCO, Piracicaba, SP, BR), sob temperatura controlada de  $39^\circ\text{C}$  e agitação de 83 rpm por 72 horas. Após a incubação, os frascos foram retirados da incubadora, e permaneceram em banho de gelo por 15 minutos, com finalidade de sessar a atividade dos microrganismos dentro dos frascos. A mensuração das concentrações de  $\text{CH}_4$  e  $\text{CO}_2$ , foram determinadas por cromatografia gasosa de alta resolução utilizando-se cromatógrafo a gás ([Nexis GC-2030, Shimadzu) equipado com coluna capilar GS- Carbonplot (Agilent Technologies) de 30 m de comprimento e diâmetro de 0,32 mm acoplado a um detector BID.

A temperatura foi programada para iniciar em  $35^\circ\text{C}$  e manter-se assim por 3 minutos, quando foi elevada a  $140^\circ\text{C}$  a taxa de  $25^\circ\text{C}/\text{minuto}$  e mantida por 4 minutos. As temperaturas

do injetor e detector foram de 140 e 170°C, respectivamente, as amostras foram injetadas em modo "split", utilizando-se gás hélio como gás carreador. A produção de CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub> dos frascos, foram corrigidas quanto a produção dos frascos de branco.

## 2.5. Determinação de ácidos graxos de cadeia curta

Para determinação de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), no final das 48 horas de incubação, foi coletado uma subamostra de 15ml de cada frasco, que foram filtradas através de quatro camadas de gaze, e acondicionadas em tubo Falcon previamente identificado e com 0,2ml de solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (500 mL/L) com finalidade de preservação das amostras. Posterior a coleta, as amostras foram centrifugadas no tubo Falcon a 1000g, por 15 minutos em temperatura de 4°C. Após centrifugação, o sobrenadante foi retirado, armazenado em eppendorf com capacidade de 2ml, e centrifugados novamente por trinta minutos, em velocidade de 20000g, por trinta minutos, sob temperatura de 4°C.

A mensuração da concentração e perfil de AGCC, foi determinado por cromatografia gasosa de alta resolução utilizando-se cromatógrafo a gás ([Nexis GC-2030, Shimadzu) equipado com coluna capilar Nukol (Supelco) de 30 m de comprimento e diâmetro de 0,53 mm acoplado a um detector de ionização de chama (FID). A temperatura foi programada para iniciar em 100°C e manter-se assim por 2 minutos, quando foi elevada a 130°C a taxa de 10°C/minuto.

Posteriormente, outra elevação de temperatura de 130 a 170°C, foi realizada a 15°C/minuto e mantida por 11 minutos. As temperaturas do injetor e detector foram de 230 e 250°C, respectivamente, e as amostras de 0,5 µL foram injetadas em modo "split", utilizando-se nitrogênio como gás carreador.

## 2.6. Determinação de nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>)

Para determinação de N-NH<sub>3</sub>, no final das 72 horas de incubação, foi coletado uma subamostra de 15ml de cada frasco, que foram filtradas através de quatro camadas de gaze, e acondicionadas em tubo Falcon previamente identificado e com 0,2ml de solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (500 mL/L) com finalidade de preservação das amostras. Posterior a coleta, as amostras foram centrifugadas no tubo Falcon a 1000g, por 15 minutos em temperatura de 4°C. após centrifugação, o sobrenadante foi retirado, armazenado em eppendorf com capacidade de 2ml, e centrifugados novamente por trinta minutos, em velocidade de 20000g, por trinta minutos, sob temperatura de 4°C. A concentração de N-NH<sub>3</sub>, foi determinada por análise colorimétrica, conforme descrito por Chaney and Marbach (1962).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos a partir da inclusão de probióticos na dieta de bovinos nelore terminados em sistema a pasto serão apresentados a seguir. A produção total de gás (PTG) às 48 h apresentou um aumento quadrático ( $P = 0,03$ ) de acordo com a adição do PBO1 (Tabela 2); entretanto, esse efeito não foi observado às 72 horas para PTG e para a digestibilidade in vitro de matéria orgânica (DIVMO) ( $P = 0,10$  e  $P = 0,11$ , respectivamente). O valor do pH teve efeito de aumento quadrático ( $P = 0,002$ ) de acordo com a inclusão do PBO1, em que a dose 1X apresentou o maior valor comparado ao controle e à dose 5X (Tabela 2). O  $\text{N-NH}_3$  reduziu quadraticamente ( $P = 0,001$ ) com o aumento das doses do PBO1, em que na dose 1X foi detectada a menor concentração de  $\text{N-NH}_3$  em comparação com CON e 5X (Tabela 3).

A PTG às 24 e 48 horas após a incubação teve um aumento quadrático com o aumento das doses do PBO2 ( $P = 0,08$ ,  $P = 0,03$  e  $P = 0,06$ , respectivamente). Os resultados encontrado para a PTG refletiram nos resultados do DIVMO, que também apresentaram tendência de aumento quadrático ( $P = 0,06$ ) de acordo com a adição do PBO2. As concentrações de AGVCR e  $\text{NH}_3\text{-N}$  tiveram tendência de aumento quadrático e redução quadrática, respectivamente ( $P = 0,09$  e  $P = 0,06$ , respectivamente) com o aumento das doses do PBO2 como pode ser observado na Tabela 3. A proporção de isovalerato aumentou e a concentração de ácidos graxos voláteis de cadeia ramificada (AGVCR) tendeu a aumentar linearmente pela adição do PBO1 ( $P = 0,003$  e  $P = 0,06$ , respectivamente).

**Tabela 2.** Efeito da inclusão de probióticos sob as variáveis de fermentação in vitro.

ÍTEM	TRATAMENTOS					Erro padrão da média	P- valores			
	PBO1			PBO2			PBO1		PBO2	
	CON <sup>1</sup>	1X	5X	1X	5X		LIN <sup>2</sup>	QUA <sup>2</sup>	LIN <sup>2</sup>	QUA <sup>2</sup>
PTG <sup>3</sup> 24h, mL/g DM	35,7	39	34	36,5	41,6	3,22	0,36	0,2	0,8	0,88
PTG <sup>3</sup> 48h, mL/g DM	59,5	66,4	58,4	63,1	68,5	4,47	0,32	0,03	0,03	0,55
PTG <sup>3</sup> 72h, mL/g DM	69,5	74,8	69,1	72,1	77,3	4,68	0,55	0,1	0,06	0,71
DIVMO <sup>4</sup> , g/kg	440,1	449,4	439,9	444,7	454,0	7,84	0,54	0,11	0,06	0,73
pH	6,71	6,75	6,71	6,73	6,73	0,01	0,25	0,002	0,40	0,45
NH3-N, mg/dL	11,7	8,07	8,54	9,59	9,41	0,69	0,02	0,001	0,06	0,06

<sup>1</sup>CON = Grupo controle; <sup>2</sup>LIN = efeito linear; QUA = Efeito quadrático; <sup>3</sup>PTG = Produção total de gases ; <sup>4</sup>DIVMO = Digestibilidade in vitro da matéria orgânica;



Deste modo, os resultados indicam que a inclusão de probióticos na dieta de bovinos pode otimizar a fermentação ruminal e a digestibilidade da matéria orgânica. Doses moderadas de PBO1 e PBO2 mostraram-se eficazes em melhorar variáveis como PTG, pH e N-NH<sub>3</sub>, além de aumentar a produção de AGVs. A menor concentração de N-NH<sub>3</sub> observada com o acréscimo de PBO na dieta é um efeito positivo pois indica uma menor desaminação de aminoácidos e com isso, possivelmente um melhor aproveitamento deste pelos microrganismos.



**Tabela 3.** Efeito da inclusão de probióticos sob a produção de gás.

ÍTEM	TRATAMENTOS					Erro padrão da média	P- valores			
	PBO1			PBO2			PBO1		PBO2	
	CON <sup>2</sup>	1X	5X	1X	5X		LIN <sup>2</sup>	QUA <sup>2</sup>	LIN <sup>2</sup>	QUA <sup>2</sup>
AGV <sup>1</sup> Total, mM	81,6	83,1	82,7	82,6	80,9	0,78	0,54	0,23	0,28	0,28
Perfil de AGV <sup>3</sup> , mol/100mol										
Acetato	76,8	76,9	76,9	76,8	76,9	0,11	0,96	0,46	0,59	0,84
Propionato	15,0	14,9	14,8	14,9	15	0,09	0,48	0,65	0,88	0,50
Iso-butirato	0,77	0,78	0,78	0,78	0,78	0,01	0,67	0,97	0,72	0,62
Butirato	5,49	5,45	5,5	4,49	5,39	0,05	0,64	0,54	0,1	0,76
Iso-valerato	0,77	0,77	0,79	0,78	0,78	0,01	0,003	0,31	0,75	0,16
Valerato	1,19	1,19	1,22	1,21	1,20	0,01	0,12	0,44	0,92	0,25
Acetato : propionato	5,13	5,17	5,17	5,17	5,14	0,04	0,55	0,58	0,99	0,54

<sup>1</sup>CON = grupo controle ; <sup>2</sup>LIN = efeito linear; QUA = Efeito quadrático; <sup>3</sup>AGV = Ácidos graxos voláteis;

Ademais, em doses de 1X do PBO1 e dose de 5X do PBO2, foi observado um significativo aumento da produção de gases o que evidencia uma melhor capacidade de fermentação e degradabilidade do conteúdo ruminal. Os resultados satisfatórios em relação à produção de gases concordam com os resultados encontrados por Lima (2021) em sua avaliação de diferentes aditivos na alimentação de bovinos criados a pasto. Isso sugere que a suplementação com probióticos pode ser uma estratégia eficaz para melhorar a eficiência alimentar e a saúde ruminal em sistemas de terminação a pasto.

#### 4. CONCLUSÃO

Em uma dieta à base de forragem (100% feno de capim brachiaria), o aumento da PTG foi detectado apenas após 48 horas do processo de fermentação para o tratamento com PBO1, o que não se refletiu na DIVMO. Por outro lado, o PBO1 aumentou a PTG e a DIVMO na dose 5X. Em relação à emissão de gases de efeito estufa, a inclusão de PBO1 não afetou a emissão de CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub>.

Deste modo, a inclusão de probiótico na dieta de bovinos alimentados a base de forragens de baixa qualidade pode melhorar certos aspectos da fermentação ruminal e da digestibilidade, especialmente em termos de produção de gás e parâmetros químicos específicos, sem afetar negativamente a produção de gases de efeito estufa.

## 5. AGRADECIMENTOS

Agradecimentos especiais ao Instituto de Zootecnia que me permitiu o desenvolvimentos dos meus conhecimentos através da pesquisa. Ao meu orientador, Eduardo Marostegen de Paulo que foi fundamental na minha jornada e sem dúvidas, peça chave em minha formação. E por fim, ao CNPq que viabilizou a minha bolsa de estudo, sem seu apoio jamais seria possível. Agradecimentos também a empresa Chr. Hansen A/S, Hørsholm, Denmark, pelo suporte financeiro ao presente estudo.

## 6. REFERÊNCIAS

- BEAUCHEMIN, K. A.; MCGINN, S. M. Methane emissions from beef cattle: Effects of fumaric acid, essential oil, and canola oil. *Journal of Animal Science*, v. 84, n. 6, p. 1489–1496, 2006.
- BERCHIELLI, TELMA TERESINHA; MESSANA, J. D.; CANESIN, R. C. Produção de metano entérico em pastagens tropicais. *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.*, v. 46, n. 8, p. 2708–2720, 2012.
- BERCHIELLI, TELMA.TERESINHA.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G.. *Nutrição de Ruminantes*. Ed 2. Funep, 2011. ISBN: 9788578050689
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. Instrução Normativa nº 13, de 30 de novembro de 2004. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 1 dez. 2004. Seção 1, p. 13.
- Dias, A. L.G.; FREITAS, J. A.; MICAL, B.; AZEVEDO, R. A.; GRECO, L. F.; SANTOS, J. E.P. Effect of Supplemental Yeast Culture and Dietary Starch Content on Rumen Fermentation and Digestion in Dairy Cows. ***Journal of Dairy Science***, v.101, n.1, p.201–21, 2018. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13241>.
- EGAN, K. et al. Bacteriocins: Novel solutions to age old spore-related problems? *Frontiers in Microbiology*, v. 7, n. APR, 2016.
- GALINARI, G. Embrapa mapeia degradação das pastagens no Cerrado. Embrapa
- HASSAN, A. A.; SALEM, A. Z. M.; KHOLIF, A. E.; SAMIR, M.; YACOUT, M. H.; HAFSA, S. H. A.; LOPEZ, S. Performance of crossbred dairy Friesian calves fed two levels of *Saccharomyces cerevisiae*: intake, digestion, ruminal fermentation, blood parameters and faecal pathogenic bacteria. ***The Journal of Agricultural Science***, v.154, n.8, p.1488–1498, 2016. doi:10.1017/S0021859616000599
- LIMA, I. A. Parâmetros de fermentação ruminal de novilhos suplementados a pasto com diferentes aditivos. 2021. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Zootecnia) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS, 2021.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (Brasil). Instrução Normativa nº13, de 30 de novembro de 2004. Estabelece os procedimentos para o controle e a fiscalização da produção, importação e comercialização de produtos de origem animal destinados à alimentação animal. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, n.230, p.10-12, 2004. Disponível em: <http://www.in.gov.br>. Acesso em: 23/07/2024.

MOLL, G. N.; KONINGS, W. N.; DRIESSEN, A. J. Bacteriocins: mechanism of membrane insertion and pore formation. *Antonie van Leeuwenhoek*, Amsterdam, v.76, p.185-198, 1999.

PEREIRA, M.U.; SPISSO, B.F.; JACOB, S.C.; FERREIRA, R.G.; MONTEIRO, M.A; COSTA, R.P.; NÓBREGA, A.W. Ocorrência de resíduos de ionóforos poliéteres em leite UHT comercializado na região metropolitana do Rio de Janeiro. *Vigilância Sanitária em Debate*, 2015. <https://doi.org/10.3395/2317-269x.00279>.

PEREIRA, T. G. Aditivos naturais em substituição a monensina sódica: comportamento e desempenho de novilhas cruzadas confinadas. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2021.

RUSSELL, J. B.; WALLACE, R. J. Energy-yielding and energy-consuming reactions. *The Rumen Microbial Ecosystem*, 1997.

SALMAN, A. K. D.; PAZIANI, S. de F.; SOARES, J. P. G. **Utilização de ionóforos para bovinos de corte**. Porto Velho, RO: Embrapa Rondônia, 2006.