



Substituição de virginiamicina por produtos à base de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) em dietas de bovinos: Digestibilidade e parâmetros ruminais

Substitution of virginiamycin with yeast-based products (*Saccharomyces cerevisiae*) in diets of cattle: digestibility and ruminal parameters

Daiana dos Santos de Oliveira^{*1} , Luan de Oliveira Moura Silva¹ , Laís Gonçalves Ribeiro¹ , Debora Gomes de Sousa¹ , Leidiano Martins Pereira¹ , Victor Rezende Moreira Couto¹ , Marcia Helena Machado da Rocha Fernandes² , Emmanuel Arnhold¹ , Mariana Quintino do Nascimento³ , Ricardo Pereira Manzano⁴ , Juliano José de Resende Fernandes¹ 

1 Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, Goiás, Brasil

2 Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, São Paulo, Brasil

3 Sapiens, Jundiaí, São Paulo, Brasil

4 NUTRIPEC Consultoria, Catanduva São Paulo, Brasil

*Autor correspondente: daiana.zootec2013@gmail.com

Resumo: O objetivo do estudo foi avaliar a substituição de virginiamicina por produtos à base de levedura em dietas de alto grão contendo monensina, sobre a digestibilidade dos nutrientes e parâmetros ruminais. Cinco novilhos cruzados Nelore x Holandês (peso inicial 281 kg $\pm$ 9,2 kg) distribuídos em um delineamento Quadrado Latino 5 x 5. As dietas foram compostas por silagem de milho (355 g kg⁻¹) e concentrado composto por: milho moído, farelo de soja, casca de soja, mistura mineral, calcário, sal e ureia (645 g kg⁻¹). Os tratamentos foram: 1. Controle, 18 mg kg⁻¹ MS de virginiamicina (VM); 2. Cultura de levedura enriquecida (*Saccharomyces cerevisiae*) 7g animal dia⁻¹ (CLE 7); 3. Cultura de levedura enriquecida (*Saccharomyces cerevisiae*) 14g animal dia⁻¹ (CLE 14); 4. Levedura autolisada (*Saccharomyces cerevisiae*) 7g animal dia⁻¹ (LA 7) e Levedura autolisada (*Saccharomyces cerevisiae*) 14g animal dia⁻¹ (LA 14). A monensina (18 mg kg⁻¹ MS) estava presente na mistura mineral vitamínica fornecida em todos tratamentos. Não houve diferença significativa ($P>0,05$) para o consumo de matéria seca (média 8,36 kg MS); digestibilidade da matéria orgânica (média 58,39%) e média de pH ruminal (média 6,75). Além disso, não foram encontrados efeitos significativos de tratamentos para concentração de ácidos graxos de cadeia curta e nitrogênio amoniacal. Estes resultados indicam a possibilidade de substituir a virginiamicina por produtos à base de levedura nos menores níveis (7g animal dia⁻¹ de cultura de levedura enriquecida ou 7g animal dia⁻¹ de levedura autolisada) em dietas de alto grão com monensina.

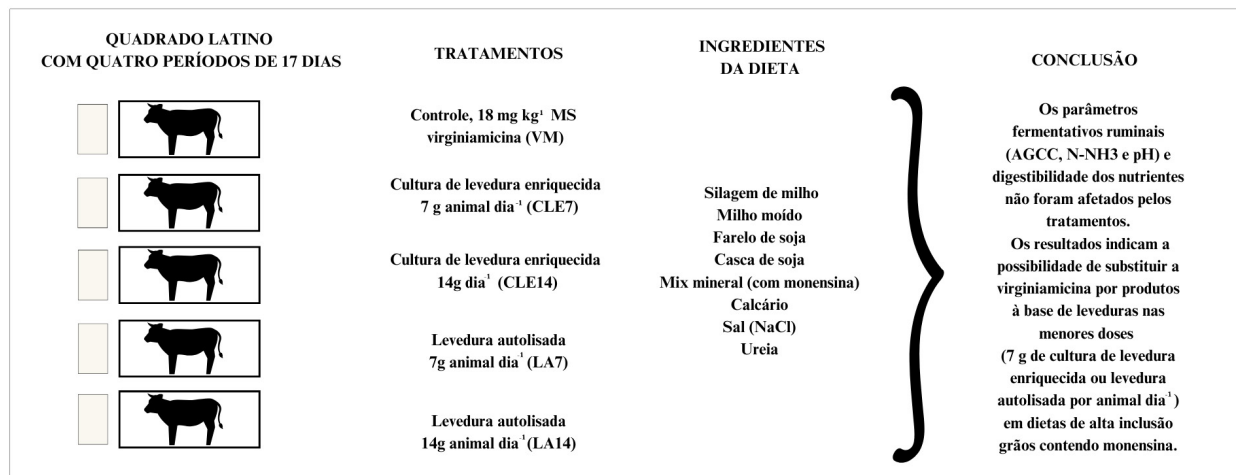
Palavras-chave: antibiótico, bovinos, cultura de levedura enriquecida, levedura autolisada

Abstract: The aim of this study was to evaluate the effect of substituting virginiamycin with yeast-based products in high-energy diets containing monensin on the nutrient digestibility and ruminal parameters of cattle. Five crossbred Nelore $\times$ Holstein steers (initial body weight 281 kg $\pm$ 9.2 kg) were allotted to a 5 $\times$ 5 Latin square design. The diets were composed in dry matter basis of corn silage (355 g kg⁻¹), and concentrate composed of ground corn, soybean meal, soybean hulls, mineral mix, limestone, salt and urea (645 g kg⁻¹). The treatments were: 1 - control, 18 mg kg⁻¹ dry matter (DM) virginiamycin

Recebido: 23 de novembro 2023. Aceito: 26 de março, 2024. Publicado: 08 de julho, 2024.

(VM); 2 - enriched yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) at 7 g animal day⁻¹ (EYC 7); 3 - enriched yeast culture (*S. cerevisiae*) at 14 g animal day⁻¹ (EYC 14); 4 - autolyzed yeast (*S. cerevisiae*) at 7 g animal day⁻¹ (AY 7); and 5 - autolyzed yeast (*S. cerevisiae*) at 14 g animal day⁻¹ (AY 14). Monensin (18 mg kg⁻¹ DM) was added to the mineral mix in all treatments. No significant differences ($P > 0.05$) were found for DM intake (mean 8.36 kg DM), organic matter (OM) digestibility (average of 58.39%), or mean ruminal pH (mean 6.75) among treatments. Moreover, the treatment did not have a significant effect on the short-chain fatty acid or ammonia nitrogen concentrations. These results indicated the possibility of replacing virginiamycin with yeast-based products at the lowest level (7 g of enriched yeast culture or autolyzed yeast per animal day⁻¹) in high-energy diets containing monensin.

Keywords: antibiotics, cattle, enriched yeast culture, autolyzed yeast



Resumo gráfico - Substituição de virginiamicina por cultura de levedura enriquecida ou levedura autolisada (*Saccharomyces cerevisiae*) na dieta de bovinos: digestibilidade e parâmetros ruminais.

1. Introdução

O risco de acidose ruminal em bovinos aumenta com dietas ricas em concentrados devido à rápida fermentação no rúmen, que produz grandes quantidades de ácidos, diminui o pH ruminal e pode prejudicar o seu funcionamento adequado ⁽¹⁾. A monensina é frequentemente usada para modular a fermentação ruminal, reduzir a incidência de distúrbios metabólicos, como acidose ruminal, e melhorar a eficiência alimentar ^(2, 3).

Semelhante à monensina, foi relatado que a virginiamicina atua sob as bactérias gram-positivas no rúmen ^(4, 5), porém com mecanismos de ação diferentes ⁽⁶⁾. Com a capacidade de penetrar na parede celular das bactérias gram-positivas, a Virginiamicina chega ao seu interior, e então os fatores M e S ligam-se aos ribossomos de forma irreversível, impedindo assim a síntese proteica e a multiplicação celular, causando eventualmente a morte das bactérias gram-positivas ⁽⁷⁾. Em contrapartida, a monensina atua na membrana celular dos microrganismos, afetando o fluxo iônico da membrana e interrompendo o gradiente de prótons e cátions responsáveis pela entrada de nutrientes na célula ⁽⁸⁾. Alguns estudos demonstraram que a monensina e a virginiamicina podem melhorar a eficiência alimentar em novilhos de corte confinados ^(9, 10) e aumentar a produção de leite em vacas de alta produção ⁽¹¹⁾. Essa associação pode ter efeito aditivo ou complementar ⁽¹¹⁾. Contudo, a necessidade de reduzir o uso de antibióticos na alimentação animal tem fomentado o desenvolvimento de produtos naturais para substituir a virginiamicina.

Produtos à base de levedura, como cultura de levedura enriquecida (CLE) e levedura autolisada (LA), são alternativas promissoras aos antimicrobianos comumente usados. A cultura de levedura (CL) é uma combinação de biomassa de levedura e metabólitos produzidos durante um processo de fermentação específico ⁽¹²⁾. Embora a CL contenha células de levedura, a sua viabilidade é zero ou muito baixa ⁽¹²⁾. Assim, os efeitos fisiológicos dos produtos CL não dependem da viabilidade das células vivas de levedura ⁽¹³⁾. A secagem da cultura de levedura preserva metabólitos, como peptídeos, proteínas, nucleotídeos e vitaminas do complexo B ^(14, 15), estimulando o crescimento de bactérias ruminais ⁽¹⁵⁾, e estes produtos são considerados prebióticos ⁽¹⁶⁾, assim como as leveduras autolisadas ⁽¹⁷⁾.

Leveduras autolisadas são células de levedura cujas paredes celulares são rompidas em fragmentos muito pequenos ⁽¹²⁾. Quanto menor o fragmento da parede celular da levedura, melhor será a estimulação imunológica, a adsorção de micotoxinas, a capacidade de ligação de patógenos às fímbrias bacterianas e a disponibilidade de carboidratos da parede celular para o crescimento bacteriano benéfico no intestino ^(18, 13). Além disso, a ruptura da parede celular aumenta a área de contato superficial de oligossacarídeos e polissacarídeos, amplificando sua ação no trato digestivo dos animais. Consequentemente, o conteúdo citoplasmático está altamente disponível para os microrganismos ruminais afetando a fermentação ruminal ^(19, 20).

Estudos prévios demonstraram que os benefícios do uso de produtos à base de levedura, incluindo aumento da ingestão de matéria seca (MS) ⁽²¹⁾, aumento na concentração de ácidos graxos de cadeia curta ⁽²²⁾, melhora da estabilidade do pH ruminal ^(23, 24) e melhora na digestibilidade da matéria orgânica e da fibra alimentar ⁽²⁵⁾ é semelhante à da virginiamicina. Estas semelhanças poderiam permitir a substituição da virginiamicina por produtos à base de leveduras. No entanto, os efeitos ruminais da associação entre produtos à base de levedura e monensina são pouco conhecidos. Nossa hipótese é que a combinação de cultura de levedura enriquecida ou levedura autolisada e monensina teria efeitos semelhantes na digestibilidade da dieta e nos parâmetros ruminais como a combinação de virginiamicina e monensina.

Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a digestibilidade da dieta e os parâmetros ruminais de novilhos alimentados com diferentes níveis de levedura autolisada (CULTRON PRO) ou cultura de levedura enriquecida (CULTRON X) como substitutos da virginiamicina em dieta contendo alto concentrado e monensina.

2. Material e Métodos

Todos os procedimentos experimentais envolvendo animais foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (protocolo nº 055/18). O estudo foi realizado em Goiânia, Goiás, Brasil (16°36'15.621"S; 49°16'51.790"W; 733 m de altitude).

Foram utilizados cinco novilhos mestiços Nelore × Holandês, fistulados no rúmen, com peso corporal inicial de 281 kg ± 9,2 kg, distribuídos em delineamento em quadrado latino 5 × 5. Os tratamentos foram os seguintes: 1 - controle, 18 mg kg⁻¹ de virginiamicina (VM) na matéria seca (MS); 2 - cultura de levedura enriquecida (*Saccharomyces cerevisiae*) na dose de 7 g animal dia⁻¹ (CLE 7); 3 - cultura de levedura enriquecida (*S. cerevisiae*) na dose de 14

g animal dia⁻¹ (CLE 14); 4 - levedura autolisada (*S. cerevisiae*) na dose de 7 g animal dia⁻¹ (LA 7); e 5 - levedura autolisada (*S. cerevisiae*) na dose de 14 g animal dia⁻¹ (LA 14). A Monensina (Elanco, Greenfield, IN, USA) foi adicionada à mistura vitamínico-mineral de todos os tratamentos de acordo com a faixa sugerida pelo Guia Técnico Rumensin (15–20 mg kg⁻¹ MS) ⁽²⁶⁾. Virginiamicina (Vmax 50%; Phibro, Ridgefield Park, NJ, USA) foi pesada separadamente de acordo com a quantidade de ração fornecida. As dosagens utilizadas tanto para leveduras quanto para produtos antibióticos foram baseadas nas recomendações do fabricante.

Os animais foram alojados individualmente em baias revestidas com piso de concreto, equipadas com comedouros automáticos e bebedouros. Todos os novilhos receberam a mesma dieta, com proporção volumoso:concentrado de 35,5:64,5. As dietas foram compostas por silagem de milho, milho moído, farelo de soja, casca de soja, mix vitamínico-mineral, uréia e monensina (Tabela 1) com produtos à base de levedura ou virginiamicina adicionados conforme o tratamento.

Table 1 Ingredientes e composição química da dieta.

Ingredientes (g kg ⁻¹ MS) ¹	
Silagem de milho	355,0
Milho moído	361,3
Farelo de soja	152,0
Casca de soja	105,0
Mistura mineral ²	16,9
Calcário	4,20
Sal (NaCl)	2,80
Ureia	2,80
Composição química da dieta (g kg ⁻¹ DM)	
Matéria seca	480,8
Proteína bruta	135,5
Fibra em detergente neutro	398,4
Matéria orgânica	937,5
Extrato etéreo	24,8
Carboidratos não fibrosos	378,8

¹ g kg⁻¹ MS: gramas por quilo de alimento (matéria seca). ²Nível de garantia (por kg): Cálcio (min) 21%; Fósforo: 5%; Vitamina A: 250,000 IU kg⁻¹; Vitamina D3: 50,000 IU kg⁻¹; Vitamina E: 2,000 IU kg⁻¹; Sódio: 8%; Magnésio: 1.6%; Enxofre: 1.30%; Manganês: 3,200 mg kg⁻¹; Zinco: 4,000 mg kg⁻¹; Cobalto: 23 mg kg⁻¹; Iodo: 50 mg kg⁻¹; Selênio: 27 mg kg⁻¹; Monensina: 1,080 mg kg⁻¹; BHT: 100 mg kg⁻¹.

A cultura de levedura enriquecida ou levedura autolisada foi misturada ao concentrado de acordo com o tratamento e fornecida individualmente a cada animal diariamente. Além disso, a virginiamicina foi adicionada ao concentrado e administrada diariamente a cada animal. A quantidade de virginiamicina foi calculada com base no consumo de matéria seca (CMS) do dia anterior, de forma que o aditivo correspondesse a 18 mg kg⁻¹ MS. Monensina (18 mg kg⁻¹ MS) foi adicionada à mistura vitamínico-mineral em todos os tratamentos.



A cultura de levedura enriquecida - CULTRON X (Aleris Animal Nutrition, Jundiaí, São Paulo, Brasil) utilizada neste estudo foi enriquecida com uma parede celular mais espessa proveniente de células de levedura autolisadas e agentes aromatizantes. A cultura de levedura (*S. cerevisiae*) foi obtida a partir de um processo de produção de etanol de milho, utilizando melaço de cana-de-açúcar e creme de levedura de etanol para controlar o crescimento da biomassa de levedura e gerar alta concentração de metabólitos de levedura. Os metabólitos da cultura de levedura incluíam aminoácidos, vitaminas do complexo B, enzimas e ácidos orgânicos, que são importantes fontes de energia, carbono e nitrogênio para as bactérias ruminais.

A levedura autolisada - CULTRON PRO (Aleris Animal Nutrition, Jundiaí, São Paulo, Brasil) foi obtida a partir da fermentação da cana-de-açúcar para produção de etanol. Este produto é caracterizado por uma maior proporção de MOS e B-glucanos disponíveis através do fracionamento por autólise da parede celular em comparação com a maioria das leveduras lisadas. As células de levedura foram submetidas a estresse físico ou químico durante a autólise. Isto promove o espessamento da parede celular, seguido do seu rompimento promovido por enzimas endógenas, liberando assim o conteúdo citoplasmático e aumentando a exposição superficial dos componentes da parede celular (MOS e β -glucanos).

O período experimental teve duração de 85 dias e foi dividido em cinco períodos de 17 dias cada (11 dias para adaptação e 6 dias para coleta de dados) ⁽²⁷⁾. As dietas foram fornecidas diariamente às 07h30, horário de referência para coleta de líquido ruminal. As sobras foram pesadas previamente para ajuste da dieta. As dietas experimentais foram formuladas de acordo com BCNRM ⁽²⁸⁾ para proporcionar ganho de peso de 1,13 kg dia⁻¹.

As amostras da dieta foram coletadas do 12º ao 15º dia, enquanto as amostras de sobras foram coletadas do 13º ao 16º dia de cada período experimental. As amostras diárias foram misturadas para produzir amostras compostas para cada tratamento durante cada período.

Amostras fecais (200 g) foram retiradas diretamente do reto dos animais quatro vezes ao dia (08h30, 12h00, 16h00 e 18h00) do 13º ao 16º dia de cada período experimental. As amostras foram misturadas para produzir uma amostra fecal composta para cada tratamento durante cada período e congeladas a -20°C para posterior análise química.

Após o descongelamento, as amostras foram secas em estufa a 55°C e moídas em moído Wiley para passar em peneira de 1 mm para análise de MS, proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), extrato etéreo (EE) e cinzas, conforme metodologia descrita anteriormente Detmann ⁽²⁹⁾.

A excreção fecal foi estimada usando a fração indigestível de FDN (FDNi) como marcador interno. As amostras foram moídas para passar em peneira de 2 mm, transferidas para sacos de tecido não tecido (100 g m²) e incubadas por 288 horas em animais canulados no rúmen, conforme descrito anteriormente por Detmann ⁽²⁹⁾.

A digestibilidade aparente dos nutrientes (DNAp) foi calculada como a diferença entre a quantidade ingerida e a quantidade excretada nas fezes, conforme equação de Silva e Leão ⁽³⁰⁾, onde CN é a concentração do nutriente na dieta ou nas fezes:

$$\text{DNAp} = \frac{(\text{consumo} \cdot \text{CN}) - (\text{excreção} \cdot \text{CN})}{\text{consumo} \cdot \text{CN}} \quad (1)$$

A produção fecal (PF) foi estimada pela equação proposta por Ferreira et al. ⁽³¹⁾:

$$\text{PF (matéria seca)} = \frac{\text{Consumo do marcador } \left(\frac{\text{kg}}{\text{dia}}\right)}{\text{Concentração de marcador nas fezes (\%)}} \quad (2)$$

Amostras de líquido ruminal foram coletadas de quatro diferentes regiões do rúmen antes do horário de alimentação (0) e 2, 4, 8 e 12 horas após a alimentação nos dias 16 e 17 de cada período experimental para medir o pH e estimar as concentrações de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). O líquido ruminal foi filtrado em tecido de algodão para obtenção de amostra de 250 mL. O pH do líquido ruminal foi medido imediatamente após a amostragem, utilizando um pHmetro digital (PG 1800, Gehara, Ltd., Goiânia, Brasil).

Uma alíquota de 50 mL de líquido ruminal foi acidificada com 1,0 mL de ácido sulfúrico a 50% e depois congelada para posterior análise de N-NH₃. A concentração de N-NH₃ foi medida pelo método colorimétrico descrito por Detmann ⁽²⁹⁾.

Uma alíquota de 40 mL de líquido ruminal foi acidificada com 10 mL de ácido metafosfórico a 25% e depois congelada para análise de AGCC. Após o descongelamento, uma subamostra de 2 mL de líquido ruminal foi coletada, transferida para um tubo e centrifugada a 15.000 × g por 15 min a 4°C. Uma amostra de 0,8 mL de fluído ruminal centrifugado foi transferida para frascos aos quais foram adicionados 0,4 mL de uma solução 3:1 de ácido metafosfórico:ácido fórmico como conservante e 0,2 mL de solução de ácido 2-etilbutírico como padrão interno. Os frascos foram então agitados em vórtex e refrigerados até que o teor de AGCC fosse determinado ⁽³²⁾. Os níveis de AGCC foram determinados usando um cromatógrafo gasoso (GC 2014, Shimadzu Corporation, Tóquio, Japão) equipado com um detector de ionização de chama e equipado com uma coluna capilar de polietilenoglicol (RESTEK, Bellfonte, PA, EUA; 30 m de comprimento, 320 µm de diâmetro interno, 0,25 µm de cianopropil polissiloxano). Os dados foram coletados utilizando o software CG Solution Analysis v. As amostras foram submetidas a três ciclos de aquecimento consecutivos: 80°C (1 min), 120°C (20°C min⁻¹ e mantido por 3 min) e 205°C (10°C min⁻¹ e mantido por 2 min). Hélio foi utilizado como gás de arraste a uma vazão de 1,0 mL min⁻¹, e a temperatura do injetor e detector foi de 260°C. O Hélio foi utilizado como gás de arraste a uma vazão de 30 mL min⁻¹.

As variáveis relacionadas à digestibilidade foram analisadas em um desenho de quadrado latino 5 × 5 de acordo com o seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = m + t_i + L_j + C_k + e_{ijk} \quad (3)$$

onde Y_{ijk} é a resposta observada para os tratamentos i , animal j e período k , m é a média geral, t_i é o efeito fixo do tratamento, L_j é o efeito fixo do animal, C_k é o efeito fixo do período e e_{ijk} é o erro aleatório associado ao tratamento, período e animais.

Variáveis associadas ao pH, concentração de nitrogênio amoniacal e AGCC foram analisadas em um desenho de quadrado latino 5 × 5 com medidas repetidas usando modelos mistos de acordo com o seguinte modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + t_i + a_j + \delta_{ij} + p_k + t_{el} + (tte)_{il} + \varepsilon_{ijk} \quad (4)$$

onde, Y_{ijkl} : valor observado no tratamento i , animal j , período k e tempo l ; μ : média geral do experimento; t_i : efeito fixo do tratamento i ; a_j : efeito fixo do animal j ; δ_{ij} : efeito aleatório da unidade experimental j no tratamento i ; p_k : efeito fixo de período k ; t_{el} : efeito do tempo de avaliação l ; $(tte)_{il}$: efeito fixo da interação entre o tratamento i e o tempo de avaliação l ; ε_{ijk} : erro aleatório associado ao tratamento i , animal j , período k e tempo de avaliação l .

Os dados foram testados para a melhor estrutura de covariância usando o critério de informação de Akaike com correção mais baixa. Análise de variância e teste de Tukey foram realizados utilizando um delineamento de quadrado latino 5 × 5. O software R (R Core Team, 2021) e o pacote R easyanova foram utilizados para análise estatística.

3. Resultados e discussão

O consumo de matéria seca (CMS), a digestibilidade da MS e a digestibilidade dos nutrientes não diferiram significativamente entre os tratamentos ($P > 0,05$, Tabela 2).

Tabela 2 Consumo médio e digestibilidade aparente dos componentes da dieta.

Tratamentos ¹							
Componentes da dieta ²	VM	CLE 7	CLE 14	LA 7	LA 14	EPM ³	P-valor ⁴
Consumo (kg dia ⁻¹)							
MS	8,22	8,45	8,33	8,51	8,27	0,31	0,96
PB	1,10	1,13	1,11	1,17	1,10	0,04	0,79
FDN	3,34	3,43	3,41	3,27	3,38	0,13	0,90
MO	7,71	7,93	7,81	7,97	7,78	0,29	0,96
EE	0,20	0,21	0,20	0,22	0,21	0,01	0,55
CNF	3,07	3,16	3,09	3,31	3,10	0,17	0,86
Digestibilidade aparente total (%)							
MS	61,41	53,79	57,46	54,45	55,83	3,09	0,46
PB	52,75	42,26	49,32	45,76	45,84	3,63	0,36
FDN	61,68	55,28	56,19	49,89	55,49	3,86	0,37
MO	62,85	56,06	59,09	56,4	57,79	3,01	0,53
EE	68,29	66,03	63,9	69,42	66,31	3,35	0,80
CNF	67,22	60,06	65,31	65,62	63,82	3,14	0,58

¹Tratamentos: 1 - control, 18 mg kg⁻¹ MS virginiamicina (VM); 2 – cultura de levedura enriquecida (*Saccharomyces cerevisiae*) at 7 g animal dia⁻¹ (CLE 7); 3 - cultura de levedura enriquecida (*S. cerevisiae*) at 14 g animal dia⁻¹ (CLE 14); 4 – levedura autolisada (*S. cerevisiae*) at 7 g animal dia⁻¹ (LA 7); and 5 - levedura autolisada (*S. cerevisiae*) at 14 g animal dia⁻¹ (LA 14).
²Componentes da dieta: MS, matéria seca; PB, proteína bruta; FDN, fibra em detergente neutro; MO, matéria orgânica; EE, extrato etéreo; CNF, carboidratos não fibrosos. ³EPM: erro padrão médio. ⁴P-valor: As médias para efeitos significativos foram comparadas utilizando o teste de Tukey ($P<0,05$).



Os resultados indicaram que a cultura de levedura enriquecida e a levedura autolisada, testadas em dois níveis, não alteraram o CMS ou a digestibilidade comparada com a dieta contendo virginiamicina e monensina. Em estudos prévios, a levedura autolisada aumentou a digestibilidade da MS ($P = 0,0503$), embora não tenha tido qualquer efeito sobre a CMS em dietas de confinamento⁽³³⁾. Além disso, Shen et al.⁽²⁵⁾ não detectaram qualquer diferença na digestibilidade do trato total da MS em novilhas de corte alimentadas com cultura de levedura em comparação com o tratamento controle (sem aditivo) e antibiótico (monensina mais tilosina), embora os animais alimentados com cultura de levedura tenham mostrado uma maior digestibilidade da FDN no trato total.

A ausência de diferenças na digestibilidade da FDN entre os tratamentos ($P > 0,05$) indicou que tanto a cultura de levedura enriquecida como a levedura autolisada nos níveis mais baixos, combinadas com a monensina, foram satisfatórias em comparação com a combinação monensina e virginiamicina. Este resultado foi consistente com a semelhança no CMS entre os tratamentos. No entanto, estudos anteriores relataram que produtos à base de levedura contêm compostos capazes de estimular o microbioma ruminal, especialmente microorganismos fibrolíticos^(34, 21), favorecendo a eficiência da digestibilidade da fibra^(35, 36). Isto contrasta com os aditivos antibióticos ionóforos e não ionóforos que podem afetar negativamente o crescimento de bactérias gram-positivas, incluindo as bactérias que digerem a fibra^(8, 25, 37).

As semelhanças na digestibilidade da FDN entre os tratamentos sugerem que a monensina associada a cultura de levedura enriquecida ou levedura autolisada poderia inibir o crescimento de microorganismos que digerem fibra. Estudos futuros sobre o microbioma ruminal poderiam ajudar a elucidar a influência da alimentação com produtos à base de levedura em combinação com monensina na abundância de bactérias que digerem fibras.

Não há consenso na literatura sobre como os produtos à base de levedura influenciam o CMS. De acordo com Yuan et al.⁽³⁸⁾, a cultura de levedura não afeta o CMS, e os autores relataram que o CMS foi modulado pela diminuição do tamanho, duração e intervalos entre as refeições, levando ao aumento da frequência das refeições. Em contraste, Wagner et al.⁽³⁹⁾ em um estudo de meta-análise detectaram aumento no CMS quando a cultura de levedura é fornecida a novilhos confinados. Os produtos à base de levedura aumentam a disponibilidade de nutrientes para a microbiota ruminal através de autólise (levedura autolisada) ou concentrações de metabólitos (cultura de levedura), promovendo assim a atividade dos microorganismos ruminais^(16, 21), o que poderia explicar os efeitos positivos do CMS.

Os principais efeitos da monensina nas dietas dos bovinos são uma diminuição do CMS e melhora na eficiência alimentar^(2, 37). Do mesmo modo, Navarrate et al.⁽⁴⁰⁾ observaram um aumento da CMS e uma melhora na eficiência alimentar quando a virginiamicina foi utilizada em comparação com o tratamento controle. Erasmus et al.⁽⁴¹⁾ verificaram uma associação positiva entre a monensina e a cultura de levedura, que atenuou o efeito supressor da ingestão da monensina e demonstrou um efeito complementar. Rigueiro et al.⁽⁴²⁾ observaram CMS mais elevado para as dietas com virginiamicina em comparação com as dietas com monensina, e a associação de ambos os antibióticos.

Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos para o pH ruminal médio nos diferentes horários ao longo do dia (Figura 1). O pH médio do rúmen foi de aproximadamente 7,0 na hora 0, independentemente do tratamento. O pH diminuiu de forma semelhante ao longo do dia entre os tratamentos, permanecendo entre 6,3 e 7,2 ($P > 0,05$), o que é adequado para a sobrevivência e multiplicação da maioria dos microorganismos ruminais ⁽¹⁾.

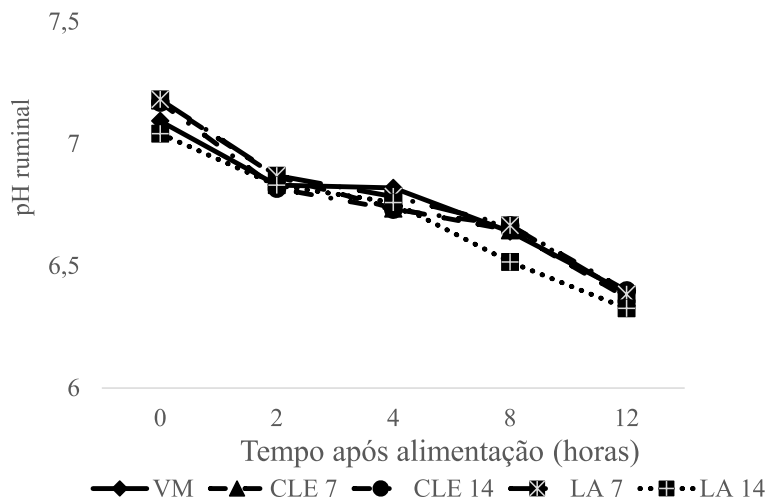


Figure 1 pH ruminal médio ao longo do dia. 1 - controle, 18 mg kg⁻¹ MS virginiamicina (VM); 2 - cultura de levedura enriquecida (*Saccharomyces cerevisiae*) a 7 g animal dia⁻¹ (CLE 7); 3 - cultura de levedura enriquecida (*S. cerevisiae*) a 14 g animal dia⁻¹ (CLE 14); 4 - levedura autolisada (*S. cerevisiae*) a 7 g animal dia⁻¹ (LA 7); e 5 - levedura autolisada (*S. cerevisiae*) a 14 g animal dia⁻¹ (LA 14). Tratamento: $P = 0,84$; interação (tratamento*tempo): $P = 0,99$.

Os resultados mostraram que diferentes níveis de cultura de levedura enriquecida e levedura autolisada associada à monensina não afetaram o pH ruminal ao longo do dia quando comparados com a combinação de monensina e virginiamicina. Este resultado foi positivo, pois o pH ruminal abaixo de 6,0 dificulta o crescimento de bactérias celulolíticas, resultando na redução da taxa de digestão da fibra e no aumento do tempo de atraso, prejudicando a degradação da parede celular ⁽⁴³⁾. O fato do pH do fluído ruminal ser superior a 6,2 ao longo do dia em todos os tratamentos explica a falta de diferença na digestibilidade da FDN entre os tratamentos. As dietas com elevado teor de concentrados aceleram a produção de ácidos graxos de cadeia curta pelas bactérias fermentativas do rúmen, resultando num pH inferior a 6,0 ^(24, 44).

A estabilização do pH ruminal quando se utiliza a cultura de leveduras tem sido associada a fatores estimulantes inerentes, tais como ácidos orgânicos, vitaminas do complexo B e aminoácidos ⁽²⁵⁾, que promovem o crescimento de *Selenomonas ruminantium* e *Megasphaera elsdenii*, que são bactérias consumidoras de ácido lático ⁽³⁹⁾. Além disso, foi sugerido que a cultura de levedura promove o desenvolvimento de protozoários ruminais que podem engolfar partículas de amido e restringir o acesso das bactérias produtoras de ácido lático ao amido ⁽²⁵⁾. Contudo, o fato de a virginiamicina poder interromper os processos metabólicos, resultando na inibição da multiplicação e eventualmente na morte de bactérias produtoras de ácido lático, tais como *Lactobacillus* sp. e *Streptococcus bovis*, sem interferir com o crescimento

de bactérias consumidoras de ácido láctico, tais como *Megasphaera elsdenii*, poderia explicar o resultado do tratamento controle ⁽⁵⁾.

O pH ruminal diminuiu linearmente ao longo do dia, atingindo valor mínimo às 12 horas após o fornecimento da ração em todos os tratamentos. Este resultado coincide com o momento de maior concentração de AGCC, que, de acordo com Millen et al. ⁽¹⁾, é a principal causa da redução do pH. Resultados semelhantes entre os tratamentos no presente estudo sugerem que a virginiamicina, a levedura autolisada e a cultura de levedura enriquecida, administradas em combinação com a monensina, podem manter o pH ruminal dentro da faixa adequada.

As concentrações ruminais de acetato e propionato variaram ao longo do dia, com pico 12 horas após a alimentação, e foram semelhantes entre os tratamentos (Figuras 2 e 3).

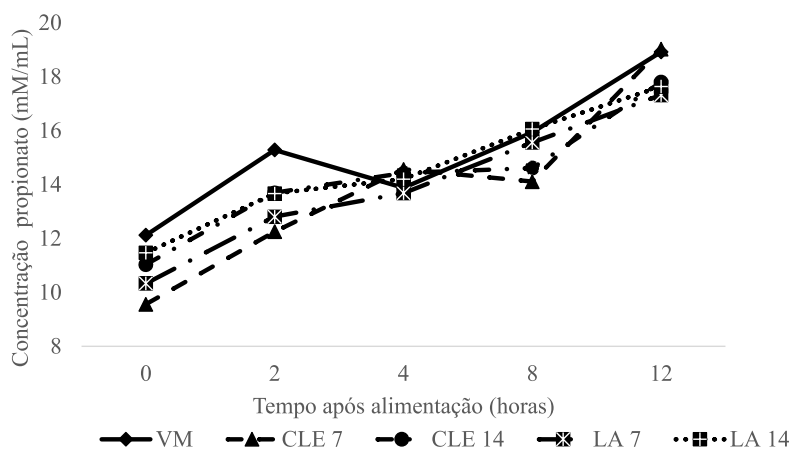


Figure 2 Concentrações médias de acetato ao longo do dia. 1 - controle, 18 mg kg⁻¹ MS virginiamicina (VM); 2 - cultura de levedura enriquecida (*Saccharomyces cerevisiae*) a 7 g animal dia⁻¹ (CLE 7); 3 - cultura de levedura enriquecida (*S. cerevisiae*) a 14 g animal dia⁻¹ (CLE 14); 4 - levedura autolisada (*S. cerevisiae*) a 7 g animal dia⁻¹ (LA 7); e 5 - levedura autolisada (*S. cerevisiae*) a 14 g animal dia⁻¹ (LA 14). Tratamento: P = 0,3257; interação (tratamento*tempo): P = 0.5458.

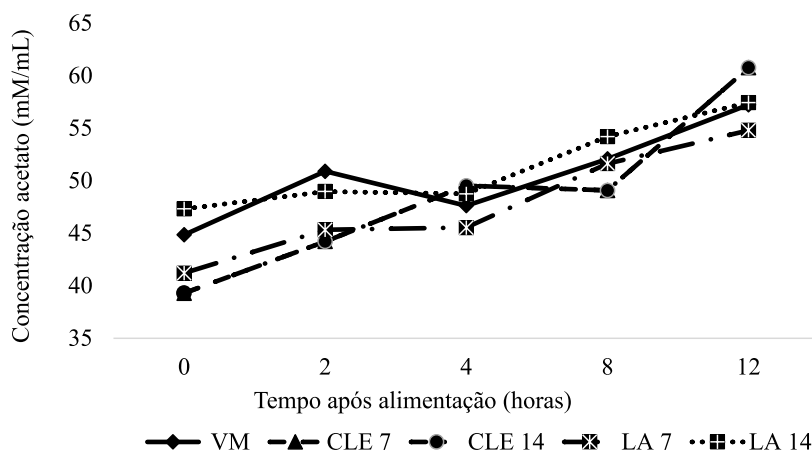


Figura 3 Concentrações médias de propionato ao longo do dia. 1 - controle, 18 mg kg⁻¹ MS virginiamicina (VM); 2 - cultura de levedura enriquecida (*Saccharomyces cerevisiae*) a 7 g animal dia⁻¹ (CLE 7); 3 - cultura de levedura enriquecida (*S. cerevisiae*) a 14 g animal dia⁻¹ (CLE 14); 4 - levedura autolisada (*S. cerevisiae*) a 7 g animal dia⁻¹ (LA 7); e 5 - levedura autolisada (*S. cerevisiae*) a 14 g animal dia⁻¹ (LA 14). Tratamento: P = 0,2346; interação (tratamento*tempo): P = 0.6794.

A ausência de diferença entre os tratamentos para as concentrações e perfil de AGCC ao longo do tempo ($P > 0,05$) foi consistente com a digestibilidade aparente da OM e FDN, que não mostraram diferença entre os tratamentos ($P > 0,05$). De acordo com Metwally e Windisch ⁽⁴⁵⁾, a produção de AGCC está associada a alterações na população microbiana ruminal, sendo o ácido acético produzido, em maior proporção, principalmente por bactérias celulolíticas e o ácido propiônico por bactérias fermentadoras de amido. A semelhança na relação acetato:propionato entre os tratamentos indica que os microrganismos celulolíticos cresceram satisfatoriamente apesar da elevada proporção de cereais na dieta, não mostrando qualquer diferença significativa ($P > 0,05$) entre os aditivos e níveis de cultura de levedura enriquecida e de levedura autolisada testados no perfil dos AGCC.

Neubauer et al. ⁽³⁶⁾ não observaram o efeito da adição de levedura autolisada nas concentrações de acetato e propionato ou na relação acetato:propionato no fluido ruminal de vacas alimentadas com dietas de alta energia. Além disso, Shen et al. ⁽²⁵⁾ não detectaram qualquer diferença na relação acetato:propionato, embora a concentração de acetato fosse mais elevada ($P = 0,06$) no fluido ruminal de novilhas alimentadas com dietas de terminação de alto grão suplementadas com produto de fermentação de levedura em comparação com o controle (sem aditivo) e monensina mais tilosina.

Não foram encontradas diferenças significativas na digestibilidade aparente da PB (Tabela 2) ou nas concentrações de N-NH₃ no fluido ruminal em diferentes momentos do dia ($P > 0,05$). As concentrações de nitrogênio amoniacal foram mais elevadas 2 horas após a alimentação (Figura 4).

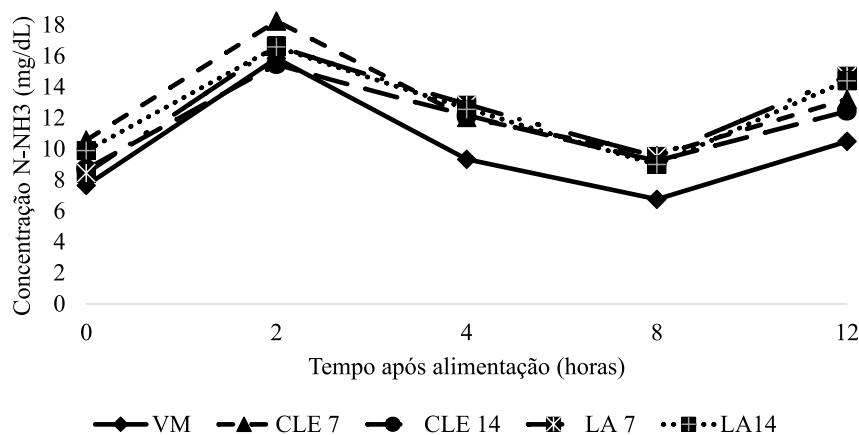


Figura 4 Concentrações médias de nitrogênio amoniacal ruminal ao longo do dia. 1 - controle, 18 mg kg⁻¹ MS virginiamicina (VM); 2 - cultura de levedura enriquecida (*Saccharomyces cerevisiae*) a 7 g animal dia⁻¹ (CLE 7); 3 - cultura de levedura enriquecida (*S. cerevisiae*) a 14 g animal dia⁻¹ (CLE 14); 4 - levedura autolisada (*S. cerevisiae*) a 7 g animal dia⁻¹ (LA 7); e 5 - levedura autolisada (*S. cerevisiae*) a 14 g animal dia⁻¹ (LA 14). Tratamento: $P = 0,1447$; interação (tratamento*tempo): $P = 0,9692$.

Foi relatado que tanto a monensina como a virginiamicina reduzem as populações de bactérias proteolíticas no ambiente ruminal, afetando assim a concentração de N-NH₃ ^(46, 37). Os produtos à base de levedura podem estimular os microrganismos ruminais e, assim, aumentar as concentrações de N-NH₃, mas o mecanismo ainda não foi completamente

elucidado ^(47, 23). No entanto, Shen et al. ⁽²⁵⁾ não registaram diferenças nas concentrações de N-NH₃ no rúmen entre a associação monensina-tilosina e a cultura de levedura em novilhas alimentadas com dietas de alta inclusão de grãos. Além disso, não foi observado qualquer efeito da alimentação com cultura de levedura nas concentrações de N-NH₃ ruminal em novilhos ou vacas leiteiras ^(48, 49).

Uma concentração adequada de N-NH₃ sincronizada com a energia pode maximizar o crescimento de microrganismos proteolíticos e celulolíticos, melhorar a digestibilidade da matéria orgânica e evitar gastos desnecessários de energia devido à excreção do excesso de N ^(50, 51). Embora não tenha havido efeito do tratamento sobre a concentração ruminal de N-NH₃, o mesmo esteve sempre dentro ou próxima do nível considerado adequado para o crescimento dos microrganismos ruminais e a digestão da MO no rúmen (6,2 mg dL⁻¹) ⁽⁵²⁾.

Assim, a concentração de nitrogênio amoniacal não foi um fator limitante do crescimento dos microrganismos ruminais ou da digestibilidade ruminal da MO entre os tratamentos no presente estudo.

4. Conclusão

Os níveis de cultura de levedura enriquecida e de levedura autolisada não mostraram qualquer efeito sobre os parâmetros avaliados em comparação com os da virginiamicina. Sendo assim, a virginiamicina pode ser substituída por cultura de levedura enriquecida ou levedura autolisada (*S. cerevisiae*) nos níveis mais baixos avaliados deste estudo para bovinos alimentados com dietas de alta energia contendo monensina.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Contribuição dos autores

Oliveira, D.S., Silva, L.O.M., Ribeiro, L.G.R., Sousa, D.G., Pereira, L.M.: Investigação, redação - rascunho original; Fernandes, M.H.M.R., Nascimento, M.Q.: redação - revisão e edição.

Couto, V.R.M., and Arnhold, E.: Análise formal; Manzano, R.P., Fernandes, J.J.R.: Metodologia, Conceptualização, Supervisão.

References

1. Millen DD, Pacheco RDL, Cabral LS, Cursino LL, Watanabe DHM, Rigueiro A. Rumenology. Millen DD, Pacheco RDL AM, editos. Springer International Publishing AG Switzerland; 2016. p. 127-156.
2. Duffield TF, Merrill JK, Bagg RN. Meta-analysis of the effects of monensin in beef cattle on feed efficiency, body weight gain, and dry matter intake¹. Journal of Animal Science. 2012 Dec 1;90(12):4583–92. doi: 10.2527/jas.2011-5018.
3. Nagaraja TG, Avery TB, Bartley EE, Galitzer SJ, Dayton AD. Prevention of lactic acidosis in cattle by lasalocid or monensin. Journal of Animal Science. 1981 Jul 1;53(1):206–16. doi: 10.2527/jas1981.531206x.
4. Coe ML, Nagaraja TG, Sun YD, Wallace N, Towne EG, Kemp KE, Hutcheson JP. Effect of virginiamycin on ruminal fermentation in cattle during adaptation to a high concentrate diet and during an induced acidosis. Journal of Animal Science. 1999;77(8):2259–68. doi: 10.2527/1999.7782259x.
5. de Araújo DB, Barbosa LFSP, Borges CAA, et al. Rumenology. Millen, DD, Arrigoni, M. D. B. & Pacheco, R. D. L. editors. Springer International Publishing AG Switzerland; 2016. p. 189-209.

6. Nagaraja TG. Rumen health compendium. In: Sub-Acute Ruminal Acidosis in Beef Cattle. Teaneck, NJ, United States of America, 2020. p. 55-60. English.
7. Cocito C. Antibiotics of the virginiamycin family, inhibitors which contain synergistic components. *Microbiological Reviews*. 1979 Jun;43(2):145–92. doi: 10.1128/mr.43.2.145-192.1979.
8. Rodrigues, PHM. Rumenology. Millen, DD, Arrigoni, M. D. B. & Pacheco, R. D. L. editors. Springer International Publishing AG Switzerland; 2016. p. 157-187.
9. Benatti JMB, Alves Neto JA, de Oliveira IM, de Resende FD, Siqueira GR. Effect of increasing monensin sodium levels in diets with virginiamycin on the finishing of Nelore cattle. *Animal Science Journal*. 2017 May 30;88(11):1709–14. doi: 10.1111/asj.12831.
10. Neumann M, Pontarolo GB, Cristo FB, Venancio BJ, Manchur AD, Ueno RK, et al. Associative effect of monensin sodium to virginiamycin on the performance of beef steers in the initial feedlot phase. *Semina Ciências Agrárias*. 2020 Aug 7;v 41:2349–64. doi: 10.5433/1679-0359.2020v41n5supl1p2349.
11. Erasmus LJ, Muya C, Erasmus S, Coertze RF, Catton DG. Effect of virginiamycin and monensin supplementation on performance of multiparous Holstein cows. *Livestock Science*. 2008 Dec;119(1-3):107–15. doi: 10.1016/j.livsci.2008.03.005.
12. Shurson GC. Yeast and yeast derivatives in feed additives and ingredients: Sources, characteristics, animal responses, and quantification methods. *Animal Feed Science and Technology*. 2018 Jan;235:60–76. doi: 10.1016/j.anifeeds.2017.11.010.
13. Poppy GD, Rabiee AR, Lean IJ, Sanchez WK, Dorton KL, Morley PS. A meta-analysis of the effects of feeding yeast culture produced by anaerobic fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* on milk production of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2012 Oct;95(10):6027–41. doi: 10.3168/jds.2012-5577.
14. Alves Z, Melo A, Figueiredo AR, Coimbra MA, Gomes AC, Rocha SM. Exploring the *Saccharomyces cerevisiae* Volatile Metabolome: Indigenous versus Commercial Strains. *PLOS ONE*. Weir TL, editor. 2015 Nov 24;10(11):e0143641. doi: 10.1371/journal.pone.0143641.
15. Callaway ES, Martin SA. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* Culture on ruminal bacteria that utilize lactate and digest cellulose. *Journal of Dairy Science*. 1997 Sep;80(9):2035–44. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(97)76148-4.
16. Alugongo GM, Xiao J, Wu Z, Li S, Wang Y, Cao Z. Review: Utilization of yeast of *Saccharomyces cerevisiae* origin in artificially raised calves. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 2017 May 1;8(1):34. doi: 10.1186/s40104-017-0165-5.
17. Oeztuerk H, Schroëder B, Beyerbach M, Breves G. Influence of living and autoclaved yeasts of *Saccharomyces boulardii* on in vitro ruminal microbial metabolism. *Journal of Dairy Science*. 2005 Jul 1;88(7):2594–600. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(05)72935-0
18. Spring P, Wenk C, Connolly A, Kiers A. A review of 733 published trials on Bio-Mos®, a mannan oligosaccharide, and Actigen®, a second generation mannose rich fraction, on farm and companion animals. *Journal of Applied Animal Nutrition*. 2015;3. doi: 10.1017/jan.2015.6.
19. Salinas-Chavira J, Arzola C, González-Vizcarra V, Manríquez-Núñez OM, Montañó-Gómez MF, Navarrete-Reyes JD, et al. Influence of feeding enzymatically hydrolyzed yeast cell wall on growth performance and digestive function of feedlot cattle during periods of elevated ambient temperature. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 2015 May 14;28(9):1288–95. doi: 10.5713/ajas.15.0061.
20. Knollinger SE, Poczynek M, Miller B, Mueller I, de Almeida R, Murphy MR, Cardoso FC. Effects of autolyzed yeast supplementation in a high-starch diet on rumen health, apparent digestibility, and production variables of lactating holstein cows. *Animals*. 2022 Sep 16;12(18):2445–5. doi: 10.3390/ani12182445.
21. Kröger I, Humer E, Neubauer V, Reisinger N, Aditya S, Zebeli Q. Modulation of chewing behavior and reticular pH in nonlactating cows challenged with concentrate-rich diets supplemented with phytochemical compounds and autolyzed yeast. *Journal of Dairy Science*. 2017 Dec;100(12):9702–14. doi: 10.3168/jds.2017-12755.
22. Zhu W, Wei ZH, Xu N, Yang F, Yoon I, Chung YH, et al. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation products on performance and rumen fermentation and microbiota in dairy cows fed a diet containing low quality forage. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 2017 Apr 28;8(1):36. doi: 10.1186/s40104-017-0167-3.

23. Vyas D, Uwizeye A, Mohammed R, Yang WZ, Walker ND, Beauchemin KA. The effects of active dried and killed dried yeast on subacute ruminal acidosis, ruminal fermentation, and nutrient digestibility in beef heifers¹. *Journal of Animal Science*. 2014 Feb 1;92(2):724–32. doi: 10.2527/jas.2013-7072.
24. Dias ALG, Freitas JA, Micai B, Azevedo RA, Greco LF, Santos JEP. Effect of supplemental yeast culture and dietary starch content on rumen fermentation and digestion in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2018 Jan;101(1):201–21. doi: 10.3168/jds.2017-13241.
25. Shen Y, Wang H, Ran T, Yoon I, Saleem AM, Yang WZ. Influence of yeast culture and feed antibiotics on ruminal fermentation and site and extent of digestion in beef heifers fed high grain rations. *Journal of Animal Science*. 2018 Sep 7;96(9):3916–27. doi: 10.1093/jas/sky249.
26. Rumensin technical Guide [Internet]; 2011 [cited 21 Mar 2024]. Available from: https://issuu.com/grupopublicue/docs/v2rm28_06_2010_manual_rumensin. Portuguese.
27. Gonçalves JRS, Pires AV, Susin I, de Lima LG, Mendes CQ, Ferreira EM. Substituição do grão de milho pelo grão de milheto em dietas contendo silagem de milho ou silagem de capim-elefante na alimentação de bovinos de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2010 Sep;39(9):2032–9. doi: 10.1590/S1516-35982010000900023.
28. BCNRM - Beef Cattle Nutrient Requirements Model. Nutrient Requirements of Beef Cattle; 2016. 8th edition, 475p. Washington, DC: The National Academies Press.
29. Detmann E, Souza M, Filho SV, Berchielli T, Cabral L, Ladeira M; 2012. Métodos para Análise de Alimentos-Ciência Animal. Belo Horizonte, MG, Brazil, 214 p.
30. da Silva JF, Leão MI. Fundamentos de nutrição dos ruminantes. Livrocercos. 1979.
31. Ferreira MA, Valadares Filho SC, Marcondes MI, Paixão ML, Paulino MF, Valadares RFD. Avaliação de indicadores em estudos com ruminantes: Digestibilidade. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 1806-9290;2009(Aug 1);38:1568–73. doi: 10.1590/S1516-35982009000800022.
32. Ferreira EM, Pires AV, Susin I, Biehl MV, Gentil RS, de Parente M OM, et al. Nutrient digestibility and ruminal fatty acid metabolism in lambs supplemented with soybean oil partially replaced by fish oil blend. *Animal Feed Science and Technology*. 2016 Jun 1;216:30–9. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2015.09.007.
33. Pontarolo GB, Neumann M, Cristo FB, Stadler Júnior ES, de Souza AM, Machado MP, et al. Effects of including autolyzed yeast in the finishing of feedlot steers. *Semina: Ciências Agrárias*. 2021 May 20;42(4):2471–88. doi: 10.5433/1679-0359.2021v42n4p2471.
34. Robinson PH, Erasmus LJ. Effects of analyzable diet components on responses of lactating dairy cows to *Saccharomyces cerevisiae* based yeast products: A systematic review of the literature. *Animal Feed Science and Technology*. 2009 Mar;149(3-4):185–98. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2008.10.003.
35. Lascano GJ, Zanton GI, Suarez-Mena FX, Heinrichs AJ. Effect of limit feeding high- and low-concentrate diets with *Saccharomyces cerevisiae* on digestibility and on dairy heifer growth and first-lactation performance. *Journal of Dairy Science*. 2009 Oct 1;92(10):5100–10. doi: 10.3168/jds.2009-2177.
36. Neubauer V, Petri R, Humer E, Kröger I, Mann E, Reisinger N, et al. High-grain diets supplemented with phytogenic compounds or autolyzed yeast modulate ruminal bacterial community and fermentation in dry cows. *Journal of Dairy Science*. 2018 Mar;101(3):2335–49. doi: 10.3168/jds.2017-13565.
37. Marques RDS, Cooke RF. Effects of ionophores on ruminal function of beef cattle. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*. 2021 Sep 30;11(10):2871. doi: 10.3390/ani11102871.
38. Yuan K, Liang T, Muckey MB, Mendonça LGD, Hulbert LE, Elrod CC, Bradford BJ. Yeast product supplementation modulated feeding behavior and metabolism in transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2015 Jan;98(1):532–40. doi: 10.3168/jds.2014-8468.
39. Wagner JJ, Engle TE, Belknap CR, Dorton KL. Meta-analysis examining the effects of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation products on feedlot performance and carcass traits. *The Professional Animal Scientist*. 2016 Apr;32(2):172–82. doi: 10.15232/pas.2015-01438.

40. Navarrete JD, Montano MF, Raymundo C, Salinas-Chavira J, Torrentera N, Zinn RA. Effect of energy density and virginiamycin supplementation in diets on growth performance and digestive function of finishing steers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 2017 Mar 21;30(10):1396–404. doi: 10.5713/ajas.16.0826.
41. Erasmus LJ, Robinson PH, Ahmadi A, Hinders R, Garrett JE. Influence of prepartum and postpartum supplementation of a yeast culture and monensin, or both, on ruminal fermentation and performance of multiparous dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*. 2005 Sep 1;122(3-4):219–39. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2005.03.004.
42. Rigueiro ALN, Squizatti MM, Silvestre AM, Pinto ACJ, Estevam DD, Felizari LD, et al. The potential of shortening the adaptation of Nellore cattle to high-concentrate diets using only virginiamycin as sole feed additive. *Frontiers in Veterinary Science*. 2021 Aug 2;8:692705.
43. Russell JB, Wilson DB. Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH? *Journal of Dairy Science*. 1996 Aug 1;79(8):1503–9. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(96)76510-4.
44. McAllister TA. Rumen health compendium. In: *Microbial Habitat and the Physico-Chemistry of the Rumen*. Teaneck, NJ, United States of America, 2020. p. 23-31. English.
45. Metwally AE, Windisch W. Effect of inactivated yeast on rumen dry matter degradation and fermentation of low concentrate feed. *African Journal of Agricultural Research*. 2015 Dec 31;10(53):4888–95. doi: 10.5897/AJAR2015.10520.
46. Nagaraja TG; 1997. *The Rumen Microbial Ecosystem*. Hobson PN, Stewart CS, editors. Dordrecht: Springer Netherlands.
47. Cunha CS, Marcondes MI, Lopes A, Gionbelli S, Aurélio M, Knupp LS, et al. Do live or inactive yeasts improve cattle ruminal environment? *Revista Brasileira de Zootecnia*. 1806-9290;2019(Jan 1);48. doi: 10.1590/rbz4820180259.
48. Lehloenyia KV, Krehbiel CR, Mertz KJ, Rehberger TG, Spicer LJ. Effects of propionibacteria and yeast culture fed to steers on nutrient intake and site and extent of digestion. *Journal of Dairy Science*. 2008 Feb 1;91(2):653–62. doi: 10.3168/jds.2007-0474.
49. Acharya S, Pretz JP, Yoon I, Scott MF, Casper DP. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation products on the lactational performance of mid-lactation dairy cows. *Translational Animal Science*. 2017;1(2):221–8. doi: 10.2527/tas2017.0028.
50. Savari M, Khorvash M, Amanlou H, Ghorbani GR, Ghasemi E, Mirzaei M. Effects of rumen-degradable protein:rumen-undegradable protein ratio and corn processing on production performance, nitrogen efficiency, and feeding behavior of Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2018 Feb 1;101(2):1111–22. doi: 10.3168/jds.2017-12776.
51. Putri EM, Zain M, Warly L, Hermon H. Effects of rumen-degradable-to-undegradable protein ratio in ruminant diet on in vitro digestibility, rumen fermentation, and microbial protein synthesis. *Veterinary World*. Mar 2021 Mar 17;14(3):640–8;14(3):640–8. doi: 10.14202/vetworld.2021.640-648.
52. Hoover WH. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. *Journal of Dairy Science*. 1986 Oct;69(10):2755–66. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(86)80724-X.