



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
Programa de pós-graduação em ciência de alimentos

**COMBINAÇÃO DE MONENSINA SÓDICA, VIRGINIAMICINA
E MICROMINERAIS COM LEVEDURAS SOBRE O ESTRESSE
OXIDATIVO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM BOVINOS
TERMINADOS EM CONFINAMENTO COM DIETAS DE ALTO
GRÃO**

MURILO AUGUSTO TAGIARIOLLI

MARINGÁ-PR

Fevereiro/2021

MURILO AUGUSTO TAGIARIOLLI

**COMBINAÇÃO DE MONENSINA SÓDICA, VIRGINIAMICINA
E MICROMINERAIS COM LEDEDURAS SOBRE O ESTRESSE
OXIDATIVO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM BOVINOS
TERMINADOS EM CONFINAMENTO COM DIETAS DE ALTO
GRÃO**

Dissertação apresentada ao programa de Pós graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Maringá como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Ciência de Alimentos.

MARINGÁ-PR

Fevereiro/2021

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá - PR, Brasil)

T125c Tagiariolli, Murilo Augusto
Combinação de monensina sódica, virginiamicina e microminerais com leveduras sobre o estresse oxidativo e atividade antioxidante em bovinos terminados em confinamento com dietas de alto grão / Murilo Augusto Tagiariolli. -- Maringá, PR, 2021.
35 f.tabs.

Orientador: Prof. Dr. Ivanor Nunes do Prado.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2021.

1. Atividade antioxidante. 2. Carbonilação de proteínas. 3. Produção animal. 4. Bovinos - Alimentação - Aditivos naturais. 5. Glutathione peroxidase. I. Prado, Ivanor Nunes do , orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. III. Título.

CDD 23.ed. 636.2085

MURILO AUGUSTO TAGIARIOLLI

**COMBINAÇÃO DE MONENSINA SÓDICA, VIRGINIAMICINA
E MICROMINERAIS COM LEDEDURAS SOBRE O ESTRESSE
OXIDATIVO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM BOVINOS
TERMINADOS EM CONFINAMENTO COM DIETAS DE ALTO
GRÃO**

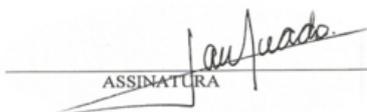
Dissertação apresentada ao programa de Pós graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Maringá como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Ciência de Alimentos.

Luiz Fernando Costa e Silva

Dr. Luiz Fernando Costa e Silva



Profa. Dra. Anacharis Babeto de Sá-Nakanishi



ASSINATURA

Prof. Dr. Ivanor Nunes do Prado
Orientador

MARINGÁ-PR
Fevereiro/2021

Orientador

Prof. Dr. Ivanor Nunes do Prado

BIOGRAFIA

MURILO AUGUSTO TAGIARIOLLI nasceu em 25 de novembro de 1995 na cidade de Jau no estado de São Paulo com filiação de Adilson Tagiariolli e Rosileide de Fátima Coleti Tagiariolli. Possui graduação em ZOOTECNIA pela UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA, PARANÁ (2014 – 2018). Tem experiência nas áreas de PRODUÇÃO ANIMAL, PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL, QUALIDADE DE CARNE E TIPIFICAÇÃO DE CARCAÇAS atuando principalmente nos seguintes temas: ESTRESSE OXIDATIVO, ADITIVOS NATURAIS, QUALIDADE DE CARNE.

Dedico

Dedico esta dissertação a minha família. Todo o incentivo e força permitiram meu avanço, mesmo durante os momentos mais difíceis. Agradeço do fundo do meu coração.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus.

Aos meus pais Adilson Tagiariolli e Rosileide de Fatima Coleti Tagiariolli e irmã Marina Elisabeth Tagiariolli por todo apoio, incentivo e base para que eu chegasse até aqui.

Ao meu orientador Prof. Dr. Ivanor Nunes do Prado por ter aceitado conduzir meu trabalho de pesquisa, pela orientação, dedicação, disposição e paciência para comigo.

A todos os professores e funcionários da Universidade Estadual de Maringá e os colaboradores da Fazenda Experimental de Iguatemi pela infraestrutura, disciplinas e apoio para que minha formação fosse de altíssima qualidade.

As minhas companheiras de experimento Aylle Medeiros Matos e Vanessa Duarte e todo o grupo de pesquisa em bovinocultura de corte e qualidade de carne – Venício Carvalho, Melina Cardoso, Edineia Bonin, Vicente Diaz, Gabriela Godoy, Giovana Penha, Leonardo Andrade, João Lucas, Beatriz Lazaretti, Luara Campos e Amanda Teixeira.

A doutoranda Heloisa Vialle Pereira Maróstica e aos professores Anacharis Babeto de Sa Nakanishi e Jurandir Fernando Comar por todo o auxílio nas análises e interpretações dos resultados.

Agradeço imensamente todas as amizades que conquistei e que estavam presentes nos momentos mais difíceis e também nos mais especiais – Carol Figueiredo, Djessica Raspe, Ingrid Silva, Daniel Marezze, Silvio Leite, Thainara Bovo, Annecler, Tatiane Dutra, Murilo Palma, Natalia Saab, Tassia Turini.

A todos, obrigado!

APRESENTAÇÃO

Esta dissertação de mestrado está apresentada na forma de UM artigo científico

TAGIARIOLLI, M.A., DUARTE, V., MATOS, A. M., CARVALHO, V. M., BONIN, E., PRADO, R. M. do, MARÓSTICA, H. V. P., COMAR, J. F., SILVA, L.F.C. e, PRADO, I.N.: Combinação de monensina, virginiamicina, micros minerais e leveduras sobre o perfil bioquímico no sangue e stress oxidativo no plasma, fígado e músculo de bovinos alimentados com dieta de alto grão. Research, Society and Development. 2020.

Submetido em: 04/11/2020; Aceito em: 20/11/2020; Publicado em: 26/11/2020

GENERAL ABSTRACT

INTRODUCTION: Raising efficiency in beef cattle is one of the main objectives of recent studies on the nutrition of farm animals handling rumen fermentation; for this, the use of additives such as monensin and virginiamycin in food is frequent. Many works have already proven their efficiency, however modern society, concerned with their well-being and quality of life, presses for the use of natural additives having as option mineral micros being components of enzymes, vitamins, gene expression, stability of membranes between others.

OBJECTIVES: The objective of the present work was to evaluate the synergism of monensin + virginiamycin and monensin in combination with micro minerals + yeasts by assessing blood biochemistry and oxidative stress of liver, meat and blood plasma.

MATERIALS AND METHODS: 36 cattle (European vs. Nelore) were used, with an average age of 24 ± 3.2 months and an initial average live weight of 385.5 ± 3.84 kg. They were distributed in a completely randomized design, with four diets and nine repetitions per diet. The basal diet consisted of 850 g / kg DM of concentrate and 150 g / kg DM of corn silage, provided ad libitum for 84 days. The four diets were: CONT - basal diet; MONE - basal diet and inclusion of 30 mg / kg of dry matter of monensin; MO + VI - basal diet and inclusion of 30 mg / kg of monensin + 30 mg / kg of dry virginiamycin; MO + AD - basal diet and inclusion of 30 mg / kg of monensin + 3.0 g / kg of dry matter from micro minerals and *Saccharomyces cerevisiae* (Advantage™ Confinement). Blood samples were collected at the beginning (day 0) and at the end of the experiment (day 84) in 10 ml vacutainer® tubes, centrifuged at 1,000 x g for 10 minutes and were immediately transported to the laboratory for analysis. The animals were slaughtered in a commercial refrigerator respecting the rules of humane slaughter. Soon after slaughter, the liver samples were collected, encapsulated in ice, stored in liquid nitrogen and transported to the biochemical analysis laboratory of UEM. The liver was homogenized in a van Potter homogenizer with 10 volumes of dry ice 0.1 M potassium phosphatase buffer (pH 7.4) and the aliquots were separated for use with the total homogenous. The rest of the homogeneous was centrifuged at 11,000 g for 15 min and the supernatant was separated as a soluble fraction of the homogeneous. 24 hours after slaughter, meat samples were taken for analysis. They were performed on the Longissimus lumborum muscle between the 12th and 13th ribs. After collection, the samples were placed on dry ice and transported to the Meat Quality laboratory at the State University of Maringá and frozen at -20 °C until the analyzes were performed. The values of the components of the blood count (erythrocytes, hemoglobin, hematocrit, MCV and MCHC) and the leukogram (leukocytes, myelocytes, metamielocytes, neutrophils, segmented, lymphocytes, monocytes, eosinophils and basophils) were determined according to the methodologies described by Jain & Jain. Urea was determined by ultraviolet photometry using two-point kinetics (fixed time), creatinine was evaluated according to the Jaffe technique and the total protein was measured by the biuret method. The plasma iron reduction capacity (FRAP) was measured by spectrophotometry (595 nm) using tripyridyltriazine (TPTZ) and ferric chloride (FeCl₃). Aspartate aminotransferase (AST) and alanine amino transferase (ALT) activities were measured in plasma to assess liver damage using commercial kits (Gold Analisa®). Plasma thiol content was measured by spectrophotometry (412 nm) using DTNB (5,5'-dithiobis 2-nitrobenzoic acid). The thiol content was calculated using the molar extinction coefficient (ϵ) of $1.36 \times 10^4 \cdot \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$. The carbonylated protein groups were measured by spectrophotometry using 2,4-dinitrophenylhydrazine. The levels of carbonylated protein groups were calculated using the molar extinction coefficient (ϵ) of $2.20 \times 10^4 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$. For the preparation of the homogenate (liver and beef), the portion of tissue clamped by freezing was homogenized in a Van Potter-

Elvehjem homogenizer, with 10 volumes of cold 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.4) and a aliquot was separated for use as total homogenate. The remaining homogenate was centrifuged at 11,000 g for 15 min and the supernatant was separated as a soluble fraction from the homogenate. Carbonylated proteins were measured spectrophotometrically in the liver and beef homogenate supernatant with 2,4-dinitrophenyl hydrazine as described above for plasma. The lipoperoxide content was measured using the TBARS test (substances reactive to thiobarbituric acid). TBARS levels were calculated from the standard curve prepared with 1,1', 3,3'-tetraethoxypropane. The reduced content (GSH) was measured spectrofluorimetrically (excitation at 350 nm and emission at 420 nm) using the o-phthalaldehyde (OPT) assay. The activities of catalase and superoxide dismutase (SOD) were analyzed by spectrophotometry in the liver homogenate supernatant. Catalase activity was estimated at 240 nm using H₂O₂ as a substrate. SOD activity was estimated according to the pyrogallol auto-oxidation method.

RESULTS AND DISCUSSION: The results of the CBC, total proteins, urea and blood creatinine on day 0 were within normal standards for animals that were grazing. The analysis of the erythrogram (day 84) showed a difference ($P < 0.05$) in blood hemoglobin and hematocrit levels, with the MO + AD diet having the lowest results. The number of platelets decreased when the combination of monensin and virginiamycin was included in the diet. For the analysis of the leukogram, there was an effect ($P < 0.05$) in the percentage of segmented, in which the MONE diet presented the highest value for this variable. Total protein, urea and creatinine were similar ($P > 0.05$) between diets. The concentration of urea and creatinine were lower ($P < 0.05$) when the number of feedlots increased, being directly related to the diets and can be explained by the fact that the animals were previously being recreated in pasture systems in Brachiaria, at the end of winter, presenting low levels of crude protein and reduced digestibility. The inclusion of monensin, or the combination of monensin with virginiamycin or with micro minerals + yeasts did not change ($P > 0.05$) the values of FRAP and Tiois group in the animals' blood plasma. On the other hand, the levels of carbonylated protein groups were approximately 30% ($P < 0.05$) lower in the blood plasma of animals fed with the addition of additives compared to animals in the control group. Furthermore, the levels of carbonylated proteins were similar in the blood plasma of cattle fed the diets MONE, MO + VI and MO + AD, respectively. These results show that the inclusion of ionophores, antibiotics, micro minerals and yeasts reduces oxidative damage in animals fed with additives. The inclusion of monensin alone or in combination with virginiamycin or with micro minerals + yeasts did not alter the activities of aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) in the animals' blood plasma. The levels of TBARS and carbonylated proteins in the liver were not altered ($P > 0.05$) with the inclusion of additives to the bovine diets, as well as the antioxidant markers GSH, SOD and CAT did not change. In meat, TBARS levels remained unchanged when monensin, virginiamycin and micro minerals + yeasts were included in the diet ($P > 0.05$). The test shows that the inclusion of additives reduced ($P < 0.05$) oxidative damage and decarbonylation of muscle protein. Cattle fed diets supplemented with monensin + virginiamycin or monensin associated with micro minerals + yeasts increased the muscle concentration of GSH compared to the CONT and MONE diet ($P < 0.05$). GSH plays an important role in the defense of cells against oxidative stress and, when present in low concentration, there is a greater risk of oxidative imbalance.

CONCLUSION: The inclusion of monensin sodium combined with virginiamycin and the micro minerals associated with yeasts (Advantage™ Confinement) showed similar results and did not show oxidative damage in plasma, liver and beef. In addition, no treatment has been associated with liver disorders.

KEY WORDS: Natural additives; Antioxidants; Protein carbonylation; Glutathione peroxidase;

RESUMO GERAL

INTRODUÇÃO: Elevar a eficiência na bovinocultura de corte é um dos principais objetivos dos recentes estudos sobre a nutrição dos animais de produção manipulando a fermentação ruminal; para isso, o uso de aditivos como a monensina e virginiamicina na alimentação é frequente. Muitos trabalhos já comprovaram a eficiência deles, no entanto a sociedade moderna, preocupada com seu bem estar e qualidade de vida, pressiona para o uso de aditivos naturais tendo por opção os micros minerais sendo componentes de enzimas, vitaminas, expressão gênica estabilidade de membranas entre outros.

OBJETIVOS: O objetivo do presente trabalho foi avaliar o sinergismo da monensina + virginiamicina e da monensina em combinação aos micros minerais + leveduras avaliando a bioquímica do sangue e o estresse oxidativo do fígado, carne e plasma sanguíneo.

MATERIAIS E MÉTODOS: Foram utilizados 36 bovinos (Europeu vs. Nelore) com idade média de $24 \pm 3,2$ meses e peso vivo médio inicial de $385,5 \pm 3,84$ kg foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, com quatro dietas e nove repetições por dieta. A dieta basal foi composta por 850 g/kg de MS de concentrado e 150 g/kg de MS de silagem de milho, fornecida ad libitum por 84 dias. As quatro dietas foram: CONT – dieta basal; MONE – dieta basal e inclusão de 30 mg/kg de matéria seca de monensina; MO+VI – dieta basal e inclusão de 30 mg/kg de monensina + 30 mg/kg da matéria seca de virginiamicina; MO+AD – dieta basal e inclusão de 30 mg/kg de monensina + 3,0 g/kg da matéria seca de micros minerais e *Saccharomyces cerevisiae* (Advantage™ Confinamento). Amostras de sangue foram coletadas no início (dia 0) e no final do experimento (dia 84) em tubos de 10 mL vacutainer®, centrifugadas a 1.000 x g durante 10 minutos e foram imediatamente transportadas para o laboratório para análises. Os animais foram abatidos em frigorífico comercial respeitando as regras de abate humanitário. Logo após o abate, as amostras de fígados foram coletadas, clampeado no gelo, estocado em nitrogênio líquido e transportado ao laboratório de análises de bioquímica da UEM. O fígado foi homogeneizado em um homogeneizador van Potter com 10 volumes de gelo seco 0,1 M de tampão de fosfatase de potássio (pH 7,4) e as alíquotas foram separadas para uso com o homogeinato total. O restante do homogeinato foi centrifugado a 11.000 g durante 15 min e o sobrenadante foi separado como fração solúvel do homogeinato. 24 horas após o abate, foram retiradas as amostras da carne para análises. Foram realizadas no músculo *Longissimus lumborum* entre a 12^a e 13^a costelas. Após a coleta, as amostras foram colocadas em gelo seco e transportadas para o laboratório de Qualidade da Carne, da Universidade Estadual de Maringá e congeladas à -20 °C até a realização das análises. Os valores dos componentes do hemograma (eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, MCV e MCHC) e do leucograma (leucócitos, mielócitos, metamielócitos, neutrófilos, segmentados, linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos) foram determinados conforme as metodologias descritas por Jain & Jain. A ureia foi determinada por fotometria em ultravioleta usando cinética de dois pontos (tempo fixo), a creatinina foi avaliada segundo a técnica de Jaffe e a proteína total foi medida pelo método biureto. A capacidade de redução férrica do plasma (FRAP) foi medida por espectrofotometria (595 nm) usando tripiridiltriazina (TPTZ) e cloreto férrico (FeCl₃). As atividades da aspartato aminotransferase (AST) e alanina amino-transferase (ALT) foram mensuradas no plasma para avaliar os danos no fígado usando kits comerciais (Gold Analisa®). O conteúdo plasmático de tiol foi mensurado por espectrofotometria (412 nm) usando DTNB (ácido 5,5'-ditiobis 2-nitrobenzóico). O conteúdo de tiol foi calculado usando o coeficiente de extinção molar (ϵ) de $1,36 \times 10^4 \cdot M^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Os grupos das proteína carboniladas foram medidos por espectrofotometria usando 2,4-dinitrofenil-hidrazina. Os níveis de grupos de proteínas carboniladas foram calculados usando o coeficiente de extinção

molar (ϵ) de $2,20 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Para a preparação do homogenato (fígado e carne bovina), a porção de tecido pinçada por congelamento foi homogeneizada em um homogeneizador Van Potter-Elvehjem, com 10 volumes de tampão fosfato de potássio 0,1 M gelado (pH 7,4) e uma alíquota foi separada para uso como homogenato total. O homogenato restante foi centrifugado a 11.000 g durante 15 min e o sobrenadante foi separado como fração solúvel do homogenato. As proteínas carboniladas foram medidas espectrofotometricamente no sobrenadante do homogenato de fígado e carne bovina com 2,4-dinitrofenil-hidrazina como descrito acima para o plasma. O teor de lipoperóxidos foi medido por meio do teste TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico). Os níveis de TBARS foram calculados a partir da curva padrão preparada com 1,1', 3,3'-tetraetoxipropano. O conteúdo reduzido (GSH) foi medido espectrofluorimetricamente (excitação a 350 nm e emissão a 420 nm) por meio do ensaio de o-ftalaldeído (OPT). As atividades da catalase e superóxido dismutase (SOD) foram analisadas por espectrofotometria no sobrenadante do homogenato hepático. A atividade da catalase foi estimada em 240 nm usando H₂O₂ como substrato. A atividade da SOD foi estimada de acordo com o método de auto oxidação do pirogalol.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Os resultados do hemograma, proteínas totais, ureia e creatinina no sangue no dia 0 estava dentro dos padrões normais para animais que estavam em pastagem. A análise do eritograma (dia 84) demonstrou diferença ($P < 0,05$) nos níveis sanguíneos de hemoglobina e hematócrito, sendo a dieta MO+AD a que apresentou os menores resultados. O número de plaquetas diminuiu quando a combinação da monensina e virginiamicina foram incluídas na dieta. Para a análise do leucograma, houve efeito ($P < 0,05$) no percentual de segmentados, na qual a dieta MONE apresentou o maior valor para esta variável. A proteína total, ureia e creatinina foram semelhantes ($P > 0,05$) entre as dietas. A concentração de ureia e creatinina foram menores ($P < 0,05$) quando aumentou o número de confinamento estando diretamente relacionado às dietas e pode ser explicado em decorrência dos animais anteriormente estarem sendo recriados em sistemas de pastagem de Braquiária, no final do inverno, apresentando baixos níveis de proteína bruta e digestibilidade reduzida. A inclusão da monensina, ou a combinação da monensina com a virginiamicina ou com micros minerais + leveduras não alteraram ($P > 0,05$) os valores de FRAP e do grupamento Tiois no plasma sanguíneo dos animais. Por outro lado, os níveis de grupos proteínas carboniladas foram aproximadamente 30% ($P < 0,05$) menores no plasma sanguíneo dos animais alimentados com a inclusão de aditivos em comparação aos animais do grupo controle. Ainda, os níveis de proteínas carboniladas foram semelhantes no plasma sanguíneo dos bovinos alimentados com as dietas MONE, MO+VI e MO+AD, respectivamente. Estes resultados mostram que a inclusão de ionóforos, antibióticos, micros minerais e leveduras reduz a lesão oxidativa nos animais alimentados com aditivos. A inclusão da monensina isolada ou em combinação com a virginiamicina ou com micros minerais + leveduras não alterou as atividades da aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) no plasma sanguíneo dos animais. Os níveis de TBARS e proteínas carboniladas no fígado não foram alterados ($P > 0,05$) com a inclusão dos aditivos às dietas dos bovinos assim como não alteraram os marcadores antioxidantes GSH, SOD e CAT. Na carne, os níveis de TBARS permaneceram inalterados quando monensina, virginiamicina e micros minerais + leveduras foram incluídos na dieta ($P > 0,05$). O ensaio demonstra que a inclusão dos aditivos reduziu ($P < 0,05$) o dano oxidativo e a descarboxilação da proteína muscular. Bovinos alimentados com dietas suplementadas com monensina + virginiamicina ou monensina associada com micros minerais + leveduras aumentaram a concentração muscular de GSH, em comparação a dieta CONT e MONE ($P < 0,05$). A GSH apresenta papel importante papel na defesa das células contra o estresse oxidativo e, quando presente em baixa concentração, existe maior risco de desequilíbrio oxidativo.

CONCLUSÃO: A inclusão da monensina sódica combinado com a virginiamicina e com os micros minerais associado a leveduras (Advantage™ Confinamento) apresentaram resultados semelhantes e não apresentaram lesão oxidativa no plasma, fígado e na carne bovina. Além disso, nenhum tratamento foi associado a desordens no fígado.

PALAVRAS CHAVE: Aditivos naturais; Antioxidantes; Carbonilação de proteínas; Glutationa peroxidase;

ARTICLE

Combinação de monensina, virginiamicina, micros minerais e leveduras sobre o perfil bioquímico no sangue e stress oxidativo no plasma, fígado e músculo de bovinos alimentados com dieta de alto grão

Combination of monensin, virginiamycin, micro minerals and yeasts on biochemical profile of the blood and oxidative stress of the liver and meat of cattle fed a high-grain diet

Combinación de monensina, virginiamicina, micro minerales y levaduras sobre el perfil bioquímico de la sangre i estrés oxidativo del plasma, hígado y carne de bovinos alimentados con una dieta rica en cereales

Recebido: 04/11/2020 | Revisado: 09/11/2020 | Aceito: 20/11/2020 | Publicado: 26/11/2020

Murilo Augusto Tagiariolli

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9348-5649>

Universidade Estadual de Maringá. Maringá, Brazil.

E-mail: murilotagi@hotmail.com

Vanessa Duarte

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2035-8416>

Universidade Estadual de Maringá. Maringá, Brazil.

E-mail: va.duarte114@gmail.com

Aylle Medeiros Matos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3219-0238>

Universidade Estadual de Maringá. Maringá, Brazil.

E-mail: ayllemedeiros@hotmail.com

Venício Macêdo Carvalho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2875-7799>

Universidade Estadual de Maringá. Maringá, Brazil.

E-mail: venicio_@hotmail.com

Edinéia Bonin

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0242-1170>

Universidade Estadual de Maringá. Maringá, Brazil.

E-mail: bonin_in@hotmail.com

Rodolpho Martin do Prado

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3529-7783>

Universidade Estadual de Maringá. Maringá, Brazil.

E-mail: rodolphoprado@hotmail.com

Heloisa Vialle Pereira Maróstica

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2960-4847>

Universidade Estadual de Maringá. Maringá, Brazil.

E-mail: helovialle@hotmail.com

Jurandir Fernando Comar

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9518-7589>

Universidade Estadual de Maringá. Maringá, Brazil.

E-mail: jfcomar@uem.br

Luiz Fernando Costa e Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4107-0932>

Alltech do Brasil.

E-mail: lfsilva@Alltech.com

Ivanor Nunes do Prado

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1058-7020>

Universidade Estadual de Maringá. Maringá, Brasil

E-mail: inprado@uem.br

Resumo

Este trabalho foi realizado para avaliar o efeito da combinação da monensina, virginiamicina e micros minerais + leveduras (Avantage-Confinamento[®]) sobre o hemograma, estresse oxidativo e atividade antioxidante no plasma sanguíneo, fígado e músculo de bovinos alimentados com dieta alto grão. Um total de 36 touros (Europeu vs. Nelore), com idade média de $24 \pm 3,2$ meses e peso vivo médio inicial de $385,5 \pm 3,84$ kg foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, com quatro dietas e nove repetições por dieta. A dieta basal foi composta por 850 g/kg de MS de concentrado e 150 g/kg de MS de silagem de milho, fornecida *ad libitum* por 84 dias. A composição da dieta foi a mesma para todos os animais. As quatro dietas foram: CONT – dieta basal; MONE – dieta basal e inclusão de 30 mg/kg de matéria seca de monensina; MO+VI – dieta basal e inclusão de 30 mg/kg de monensina + 30

mg/kg da matéria seca de virginiamicina; MO+AD – dieta basal e inclusão de 30 mg/kg de monensina + 3,0 g/kg da matéria seca de micros minerais e *Saccharomyces cerevisiae* (Advantage™ Confinamento). Dentre as variáveis relacionadas ao perfil bioquímico, houve alteração no volume corpuscular médio, creatinina e ureia ao longo dos dias de confinamento. Os parâmetros de avaliação do fígado, avaliado por marcador oxidativo e antioxidante não foram influenciados pelas dietas experimentais. Para os parâmetros de avaliação do estado oxidativo na carne, observou-se que inclusão dos aditivos reduziu o dano oxidativo, descarbonilação da proteína muscular, e que os bovinos alimentados com dietas suplementadas com monensina + virginiamicina ou monensina associada com microminerais + leveduras aumentaram a concentração muscular de GSH, em comparação a dieta CONT e MONE.

Palavras-chave: Aditivos naturais; Atividade antioxidante; Carbonilação de proteínas; Glutathione.

Abstract

This study was realized to evaluate the effect of monensin, virginiamycin and Advantage™ Confinamento (minerals traces + yeast) combination on blood hemogram, oxidative stress and antioxidant activity on blood plasma, liver and muscle. In total, 36 bulls (European vs. Nellore) were used, aged 24 ± 3.2 months and with an initial weight of 385.5 ± 3.84 kg, distributed in a completely randomized arrangement. The bulls were divided into four treatments according to their initial weight. The diet provided was based on concentrate (850 g/kg DM) and corn silage (150 g/kg DM) for 84 days. The diet composition was the same for all animals. The four diets were: CONT – without adding additives; MONE – inclusion of 30 mg/kg of dry matter of monensin; MO + VI – inclusion of 30 mg/kg of monensin + 30 mg/kg of dry matter of virginiamycin; MO + AD – inclusion of 30 mg/kg of monensin + 3.0 g/kg of dry matter of micro mineral and *Saccharomyces cerevisiae* (Advantage™ Confinamento). The biochemical profile of the blood was normal both at the start and at the final of the experiment. The oxidative stress of the liver had no difference in any evaluated parameter; however, in the muscle there was a difference in the enzyme glutathione peroxidase and in the group of carbonils protein. On oxidative stress of the plasma, the only difference was in the carbonils protein group. It was concluded that the monensin can be substituted by a combination of monensin + virginiamycin or monensin + Advantage™ Confinamento without generating oxidative damage in the tissues.

Keywords: Natural additives; Antioxidant activity; Glutathione; Protein carbonylation.

Resumen

Este estudio se realizó para evaluar la influencia de la combinación de monensina, virginiamicina y mezcla de micros minerales + levaduras (Advantage™ Confinamento) sobre el hemograma, estrés oxidativo y la actividad antioxidante en el plasma sanguíneo, hígado y en el músculo de bovinos alimentados con dieta rica en granos. En total, 36 bovinos (Europeos vs Nelores) de $24 \pm 3,2$ meses y peso inicial de $385,5 \pm 3,84$ kg y distribuidos en un diseño completamente al azar. Los animales se dividieron en cuatro grupos con 9 réplicas. La dieta basal fue compuesta de 850 g/kg MS de concentrado y 150 g/kg MS de ensilado de maíz fornecida *ad libitum* durante 84 días. La composición de la dieta fue igual para todos los animales. Los cuatro tratamientos fueron: CONT – dieta basal sin aditivos; MONE – dieta basal e inclusión de 30 mg/kg de materia seca de monensina; MO+VI – dieta basal e inclusión de 30 mg/kg de monensina + 30 mg/kg de materia seca de virginiamicina; MO+AD – dieta basal e inclusión de 30 mg/kg de monensina + 3,0 g/kg de materia seca de micros minerales e *Saccharomyces cerevisiae* (Advantage™ Confinamento). En las variables relacionadas al perfil bioquímico hubo alteraciones en el volumen corpuscular medio, creatinina y urea durante los días de estabulación. Los parámetros de evaluación hepática, evaluados por marcador oxidativo y antioxidante no fueron influenciados por dietas experimentales. Para los parámetros de evaluación del estado oxidativo en la carne, se observó que la inclusión de los aditivos redujo el daño oxidativo, descarbonilación de la proteína muscular, y que los bovinos alimentados con dietas suplementadas con monensina + virginiamicina o monensina asociada a microminerales + levaduras aumentaron la concentración muscular de GHS, en comparación con la dieta CONT y MONE. El perfil bioquímico sanguíneo fue normal tanto al inicio y final del experimento. El estrés oxidativo del hígado no difirió en ningún parámetro evaluado; sin embargo, en el músculo hubo una diferencia en la enzima glutatión peroxidasa y en el grupo de proteínas carboniladas. En el estrés oxidativo plasmático, la única diferencia fue en el grupo de proteínas carboniladas. Se concluyó que la monensina puede ser reemplazado por la combinación de monensina + virginiamicina o monensina + Advantage™ Confinamento sin generar alteraciones oxidativas en el plasma sanguíneo, hígado y músculo.

Palabras clave: Aditivos naturales; Actividad antioxidante; Carbonilación de proteínas; Glutatión.

1. Introdução

Melhorar a eficiência do sistema de produção é um dos principais objetivos dos estudos sobre nutrição dos animais de produção, principalmente os ruminantes, onde a manipulação da fermentação ruminal é considerada uma ferramenta de destaque (Arcuri et al., 2011; Berchielli et al., 2011). Com isso, mecanismos e/ou substâncias usados visam melhorar e aumentar a digestibilidade da fibra, a manutenção do pH próximo a normalidade, maior aproveitamento do ácido propiônico no rúmen, diminuição da metanogênese, proteólise ruminal e a desaminação de aminoácidos (Berchielli et al., 2011; Hobson & Stewart, 2012; Nagaraja et al., 2012; Valadares Filho et al., 2011).

Nesse contexto, os ionóforos e não ionóforos são utilizados para controlar a fermentação ruminal (Ornaghi et al., 2020; Pereira et al., 2018; Rivaroli et al., 2020; Souza et al., 2020; Witzig et al., 2018). A monensina sódica e a virginiamicina são aditivos capazes de alterar a fermentação ruminal, controlando o crescimento de alguns microrganismos que são responsáveis pelo decréscimo do pH no rúmen (Coe et al., 1999; Schelling, 1984). Esses aditivos contribuem para a manutenção do pH ruminal em níveis controlados, promovendo um ambiente ruminal favorável ao desenvolvimento microbiano (Bergen & Bates, 1984; Cocito, 1979), onde além de controlar o ambiente ruminal e controlar as bactérias gram-positivas, ambos possuem capacidade de melhorar o desempenho produtivo dos bovinos confinados (Goodrich et al., 1984).

A suplementação com os aditivos alimentares monensina ou virginiamicina isoladamente ou em combinação, durante as fases de confinamento, em vista de modular o ambiente ruminal e proporcionar melhoras no desempenho animal e eficiência alimentar, tem se tornado uma estratégia difundida nos confinamentos em todo o mundo (Erasmus et al., 2008; Montano et al., 2015; Rigueiro et al., 2020). No entanto, alterações na dieta dos animais com a inclusão de aditivos pode alterar o metabolismo ruminal, ocasionando estresse oxidativo (Konvičná et al., 2015; Souza et al., 2020). O estresse oxidativo pode ser definido como uma formação e/ou remoção insuficiente de moléculas reativas como espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio (ERN) (Sánchez-Valle et al., 2012). Inclui-se nos danos oxidativos a peroxidação lipídica, oxidação proteica e dano no DNA celular, além de desregular o sistema imunológico do animal.

Além das vias metabólicas do organismo animal, os microminerais estão envolvidos em importantes funções na performance produtiva, crescimento, metabolismo energético, imunidade e funções fisiológicas essenciais (López-Alonso, 2012; Valadares Filho et al., 2016). Alguns estudos sobre o sinergismo entre ionóforos, antibióticos e minerais sobre o desempenho

animal, eficiência alimentar e qualidade da carne de bovinos terminados em confinamento com dieta de alto grão não são bem conhecidos e os resultados são escassos e não conclusivos (Fonseca et al., 2016).

Este estudo foi realizado para avaliar o efeito do sinergismo da monensina + virginiamicina e monensina + uma mistura de micro mineral sobre os marcadores do estado oxidativo, atividade antioxidante e padrão bioquímico do sangue de bovinos jovens mestiços (Europeu vs. Nelore) não castrados, terminados em confinamento e alimentados com dietas alto grão.

2. Metodologia

Todos os cuidados com os animais e procedimentos experimentais foram conduzidos sob a vigilância do Comitê de Uso e Cuidado de Animais, da Universidade Estadual de Maringá, Brasil, e atenderam às diretrizes do Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA).

Localização, animais e dietas

O experimento foi conduzido no Setor Rosa & Pedro, da Fazenda Experimental do município de Iguatemi, pertencente a Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Sul do Brasil, de agosto a outubro de 2019. Utilizou-se o método quantitativo (Pereira et al., 2018), realizado por meio de pesquisa de campo para avaliar o efeito do sinergismo da monensina + virginiamicina e monensina + uma mistura de micro mineral sobre o estresse oxidativo, atividade antioxidante e padrão bioquímico do sangue de bovinos jovens mestiços (Europeu vs. Nelore) não castrados, terminados em confinamento e alimentados com dietas alto grão.

Um total de 36 touros (Europeu vs. Nelore), com idade média de $24 \pm 3,2$ meses e peso vivo médio inicial de $385,5 \pm 3,84$ kg foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, com quatro dietas e nove repetições por dieta. Os animais foram alocados em baias individuais (10 m^2), parcialmente coberta, com piso em concreto, equipada de cocho em concreto e bebedouros automático. O período de adaptação foi de 14 dias. Os touros foram pesados em jejum (sólidos) de 16 horas a cada 28 dias em balança de tronco (Beckehauser Cia., Paranaíba, Paraná, Brasil). No início do período de adaptação, todos os touros foram tratados para endoparasitas e ectoparasitas com Ivermectina injetável de longa duração LA 3,5% ($200 \mu\text{g}/\text{kg}$ PV; Ivomec Merial®, Paulínia, Brasil).

A dieta basal foi composta por $850 \text{ g}/\text{kg}$ de MS de concentrado e $150 \text{ g}/\text{kg}$ de MS de silagem

de milho, fornecida *ad libitum* por 84 dias. A dieta basal foi a mesma para todos os animais, formulada para ter a mesma quantidade de nitrogênio e energia, de acordo com Valadares Filho et al. (2016). As quatro dietas foram: CONT – dieta basal; MONE – dieta basal e inclusão de 30 mg/kg de matéria seca de monensina; MO+VI – dieta basal e inclusão de 30 mg/kg de monensina + 30 mg/kg da matéria seca de virginiamicina; MO+AD – dieta basal e inclusão de 30 mg/kg de monensina + 3,0 g/kg da matéria seca de micros minerais e *Saccharomyces cerevisiae* (Advantage™ Confinamento).

Abate dos animais

Ao final do período experimental (84 dias), os bovinos foram pesados após 16 horas de jejum (média de $539,3 \pm 6,32$ kg) e transportados para um abatedouro comercial (cidade de Campo Mourão, estado do Paraná, Sul do Brasil). Os bovinos foram abatidos seguindo as práticas usuais de abate pela indústria brasileira. Após o abate, as carcaças foram divididas ao meio a partir do esterno até a espinha, em duas partes iguais que foram usadas para calcular o peso de carcaça quente. Depois disso, as meias carcaças foram lavadas, identificadas e estocadas em câmaras frias a 4 °C, onde as mesmas permaneceram durante 24 horas.

Coleta das amostras

Foram coletadas amostras de sangue (dia 0) e ao final do experimento (dia 84), em tubos de 10 mL vacutainer® por punção da veia jugular, antes do fornecimento da dieta. Após a coleta, os tubos foram centrifugados a 1.000 x g durante 10 minutos. As amostras do soro foram imediatamente separadas e transportadas para o laboratório de análises de bioquímica da Universidade Estadual de Maringá.

Logo após o abate dos animais, o fígado foi imediatamente removido, campeado no gelo, estocado em nitrogênio líquido e transportado ao laboratório de análises de bioquímica da UEM. O fígado foi homogeneizado em um homogeneizador van Potter com 10 volumes de gelo seco 0,1 M de tampão de fosfato (pH 7,4) e as alíquotas foram separadas para uso com o homogeinato total. O restante do homogeinato foi centrifugado a 11.000 g durante 15 min e o sobrenadante foi separado como fração solúvel do homogeinato.

Após 24 horas do abate, quando ocorreu o resfriamento das carcaças, foram retiradas as amostras da carne para análises. As amostras foram realizadas no músculo *Longissimus lumborum* entre a 12ª e 13ª costelas. Após a coleta, as amostras foram colocadas em gelo seco e transportadas para o laboratório de Qualidade da Carne, da Universidade Estadual de Maringá

e congeladas à -20 °C até a realização das análises.

Análises do plasma sanguíneo

Os valores dos componentes do hemograma (eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, MCV e MCHC) e do leucograma (leucócitos, mielócitos, metamielócitos, neutrófilos, segmentados, linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos) foram determinados conforme as metodologias descritas por Jain & Jain (1993). A ureia foi determinada por fotometria em ultravioleta usando cinética de dois pontos (tempo fixo) (H U Bergmeyer & Bergmeyer, 1985). A Creatinina foi avaliada segundo a técnica de Jaffe (1986) e a proteína total foi medida pelo método biureto, conforme descrito por Gornall et al. (1949).

Estado oxidativo plasmático

A capacidade de redução férrica do plasma (FRAP) foi medida por espectrofotometria (595 nm) usando tripiridiltriazina (TPTZ) e cloreto férrico (FeCl_3) (Benzie & Strain, 1996). As atividades da aspartato aminotransferase (AST) e alanina amino-transferase (ALT) foram mensuradas no plasma para avaliar os danos no fígado usando kits comerciais (Gold Analisa[®]).

O conteúdo plasmático de tiol foi mensurado por espectrofotometria (412 nm) usando DTNB (ácido 5,5'-ditiobis 2-nitrobenzóico) como descrito por Sá-Nakanishi et al. (2018). O conteúdo de tiol foi calculado usando o coeficiente de extinção molar (ϵ) de $1,36 \times 10^4 \cdot \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$. Os grupos das proteína carboniladas foram medidos por espectrofotometria usando 2,4-dinitrofenil-hidrazina (Levine et al., 1990). Os níveis de grupos de proteínas carboniladas foram calculados usando o coeficiente de extinção molar (ϵ) de $2,20 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{cm}^{-1}$.

Estado oxidativo do fígado e da carne bovina

Para a preparação do homogenato (fígado e carne bovina), a porção de tecido pinçada por congelamento foi homogeneizada em um homogeneizador Van Potter-Elvehjem, com 10 volumes de tampão fosfato de potássio 0,1 M gelado (pH 7,4) e uma alíquota foi separada para uso como homogenato total. O homogenato restante foi centrifugado a 11.000 g durante 15 min e o sobrenadante foi separado como fração solúvel do homogenato.

As proteínas carboniladas foram medidas espectrofotometricamente no sobrenadante do homogenato de fígado e carne bovina com 2,4-dinitrofenil-hidrazina como descrito acima para o plasma (Levine et al., 1990). O teor de lipoperóxidos foi medido por meio do teste TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) (Buege & Aust, 1978). Os níveis de TBARS foram

calculados a partir da curva padrão preparada com 1,1', 3,3'-tetraetoxipropano.

O conteúdo reduzido (GSH) foi medido espectrofluorimetricamente (excitação a 350 nm e emissão a 420 nm) por meio do ensaio de o-ftalaldeído (OPT) (Hissin & Hilf, 1976). As atividades da catalase e superóxido dismutase (SOD) foram analisadas por espectrofotometria no sobrenadante do homogenato hepático. A atividade da catalase foi estimada em 240 nm usando H₂O₂ como substrato (Hans Ulrich Bergmeyer, 1987). A atividade da SOD foi estimada de acordo com o método de auto oxidação do pirogalol (Marklund & Marklund, 2007).

Análises estatísticas

Os dados foram analisados por meio de análise de variância, utilizando o PROC GLM do SAS (2004), de acordo com o modelo estatístico:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij},$$

em que: $e_{ij} \approx N(0, \sigma_e^2)$; onde, Y_{ij} é o valor da variável dependente; μ é a média geral; T_i é o efeito de tratamentos; e_{ij} é o erro residual; N representa a distribuição gaussiana. Quando a análise de variância foi significativa, as comparações entre os tratamentos foram feitas usando o teste DUNCAN. O nível de significância foi estabelecido em 0,05.

3. Resultados e Discussão

Hemograma, proteínas totais, ureia e creatinina no sangue

Observa-se (Tabela 1) que os níveis basais de todos os parâmetros sanguíneos (dia 0) foram semelhantes e estavam dentro dos padrões normais para os animais que estavam em pastagens. Da mesma forma, a inclusão da monensina sódica isolada (MONE), em combinação com a virginiamicina (MO+VI) ou em combinação com Advantage™ Confinamento (MO+AD) não teve efeito ($P > 0,05$) sobre os níveis sanguíneos de eritrócitos, VCM e CCMH (Tabela 1) na dieta de bovinos terminados em confinamento (dia 84).

Tabela 1. Hemograma, proteínas totais, ureia e creatinina de bovinos terminados em confinamento alimentados com dietas contendo monensina, combinação de monensina + virginiamicina ou combinação de monensina + micros minerais + leveduras (Advantage™ Confinamento) dia 0 e 84 dias de confinamento (final do experimento)

Eritograma, dia 0	Dietas				EPM⁵	P-valor	VR⁶
	CONT¹	MONE²	MO+VI³	MO+AD⁴			
Eritrócitos (x10 ³ /μL)	10,32	10,95	10,51	10,75	0,388	0,182	5-10
Hemoglobina (g/dL)	12,10	11,81	12,10	12,15	0,945	0,232	8-15
Hematócrito (%)	36,67	37,50	37,00	37,50	2,330	0,665	24-46
VCM ⁷ (fL)	35,57	34,25	35,45	34,75	1,856	0,778	40-60
CCMH ⁸ (%)	33,00	31,60	32,70	32,30	0,438	0,815	30-36
Plaquetas (x10 ³ /μL)	270.667	186.000	215.500	299.000	6,688	0,441	100.000-800.000

Leucograma, dia 0							
Leucócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	8,97	8,30	10,80	9,50	8,720		4,00-12,00
Mielócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-	0,00
Metamielócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-	0,00
Neutrófilos (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-	0-12
Segmentados (%)	34,00	22,50	24,00	36,00	4,846	0,100	15-45
Linfócitos (%)	53,67	66,00	66,00	56,00	5,202	0,180	45-75
Monócitos (%)	4,67	3,50	3,00	4,50	1,583	0,422	2-7
Eosinófilos (%)	4,33	7,50	7,00	5,50	1,007	0,133	0-20
Basófilos (%)	0,00	0,00	0,00	0,00			0-2
Proteína total (mg/dL)	7,23	7,15	6,90	7,35	0,459	0,226	7,0-8,5
Ureia (mg/dL)	9,03	7,35	8,85	5,76	2,053	0,345	4,0-25,0
Creatinina (mg/dL)	2,11	2,18	2,22	2,24	0,114	0,665	1-2
Eritograma, dia 84							
Eritrócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	9,76	9,99	9,32	9,09	0,025	0,160	5-10
Hemoglobina (g/dL)	13,13 ^a	13,01 ^a	13,00 ^a	11,82 ^b	0,024	0,016	8-15
Hematócrito (%)	41 ^a	39 ^a	41 ^a	37 ^b	0,004	0,006	24-46
VCM (fL)	42,19	38,87	43,99	41,03	0,049	0,238	40-60
CCMH (%)	32,00	32,00	32,00	32,00	0,051	0,470	30-36
Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	249.125 ^a	241.888 ^a	186.875 ^b	251.444 ^a	8,162	0,025	100.000-800.000
Leucograma, dia 84							
Leucócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	10,91	12,18	10,87	11,48	1,361	0,712	4,00-12,00
Mielócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-	0,00
Metamielócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-	0,00
Neutrófilos (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-	0-12
Segmentados (%)	28,50 ^b	40,10 ^a	33,20 ^b	37,10 ^b	0,010	0,013	15-45
Linfócitos (%)	51,50	57,00	52,70	51,60	0,110	0,504	45-75
Monócitos (%)							2-7
Eosinófilos (%)	4,30	6,10	7,00	5,40	0,014	0,705	0-20
Basófilos (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-	0-2
Proteína total (mg/dL)	8,43	8,60	8,66	8,35	0,070	0,395	7,0-8,5
Ureia (mg/dL)	21,06	21,50	22,50	17,88	0,064	0,180	4,0-25,0
Creatinina (mg/dL)	1,88	1,95	1,87	1,86	0,041	0,916	1-2

¹CONT – Sem aditivos; ²MONE – inclusão de 30 mg/kg de monensina (base da MS); ³MO+VI – inclusão de 30 mg/kg de monensina (base da MS) + 30 mg/kg de virginiamicina (base da MS); ⁴MO+AD – inclusão de 30 mg/kg de monensina (base da MS) + 3 g/kg do PC de micros minerais + leveduras (Advantage™ Confinamento). ⁵Erro padrão da média. ⁶VR – Valores de referências (Kramer, 2000). ⁷Volume corpuscular médio, ⁸Concentração corpuscular média de hemoglobina. ^{a, b}Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha (P < 0,05).

Fonte: Autor

A análise do eritograma (dia 84) demonstrou que houve diferença (P < 0,05) nos níveis sanguíneos de hemoglobina e hematócrito, sendo a dieta MO+AD a que apresentou os menores resultados. O número de plaquetas diminuiu quando a combinação da monensina e virginiamicina foram incluídas na dieta. Para a análise do leucograma, houve efeito (P < 0,05) no percentual de segmentados, na qual a dieta MONE apresentou o maior valor para esta variável. A proteína total, ureia e creatinina foram semelhantes (P > 0,05) entre as dietas (Tabela 1), apresentando valores similares aos reportados na literatura (Kramer, 2000).

Observou-se que os índices do eritograma (eritrócito, hemoglobina, hematócrito, CCMH), o número de plaquetas e leucograma não foram influenciados pelos dias de fornecimento da dieta (Tabela 2).

Tabela 2. Hemograma, proteínas totais, ureia e creatinina de bovinos terminados em confinamento alimentados

com dietas contendo monensina, combinação de monensina + virginiamicina ou combinação de monensina + micros minerais + leveduras (Advantage™ Confinamento) no início e final do experimento (84 dias)

Eritograma	Dia 0	Dia 84	VR ¹	EPM ²	P-valor
Eritrócito (x10 ³ /μL)	10,60	9,50	5-10	0,185	0,108
Hemoglobina (g/dL)	12,10	12,70	8-15	0,350	0,557
Hematócrito (%)	37,00	39,00	24-46	0,009	0,098
VCM ³ (fL)	35,10 ^b	41,40 ^a	40-60	0,950	0,003
CCMH ⁴ (%)	0,33	0,33	30-36	0,002	0,101
Plaquetas (x10 ³ /μL)	245.889	233.176	100.000-800.000	19.486	0,553
Leucograma					
Leucócitos (x10 ³ /μL)	9,71	11,39	4,00-12,00	9,755	0,466
Mielócitos (x10 ³ /μL)	0,00	0,00	0,00	0,000	-
Metamielócitos (x10 ³ /μL)	0,00	0,00	0,00	0,000	-
Bastonetes (%)	0,00	0,00	0-12	0,000	-
Segmentados (%)	29,00	38,00	15-45	0,042	0,812
Linfócitos (%)	62,00	53,00	45-75	0,408	0,996
Monócitos (%)	4,00	2,00	2-7	0,008	0,996
Eosinófilos (%)	7,00	6,00	0-20	0,014	0,276
Basófilos (%)	0,00	0,00	0-2	0,000	-
Proteínas totais (mg/dL)	7,17	8,54	7,0 – 8,5	0,220	0,247
Ureia (mg/dL)	7,89	20,67	4,0-25,0	1,023	0,672
Creatinina (mg/dL)	2,18 ^a	1,89 ^b	1-2	0,050	0,027

¹VR – Valores de referências (Kramer, 2000); ²EPM - Erro padrão da média; ³VCM - Volume corpuscular médio; ⁴ CCMH - Concentração corpuscular média de hemoglobina. ^{a, b}Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha (P < 0,05). **Fonte:** Autor

O volume corpuscular médio (VCM) foi influenciado pelos dias de confinamento, sendo o dia 84 o que apresentou os maiores valores para essa variável (Tabela 2). A concentração de ureia e creatinina foram menores (P < 0,05) quando aumentou o número de confinamento.

O aumento na concentração de ureia no sangue, observado ao final do experimento, está diretamente relacionado às dietas. Este fato pode ser explicado em decorrência dos animais anteriormente estarem sendo recriados em sistemas de pastagem de Braquiária, no final do inverno, apresentando baixos níveis de proteína bruta (4 - 8% de PB na MS) e digestibilidade reduzida (Moreira et al., 2004). Durante o experimento, os animais foram alimentados com dietas contendo maior concentração de proteína (14% na MS) em sua composição. Assim, o aumento no incremento proteico na dieta ocasionou aumento nos níveis de proteína no líquido ruminal e, por consequência, na corrente sanguínea (Berchielli et al., 2011).

Estado oxidativo no plasma

A inclusão da monensina, ou a combinação da monensina com a virginiamicina ou com micros minerais + leveduras não alteraram (P > 0,05) os valores de FRAP no plasma sanguíneo dos animais (Tabela 3). Desta forma, as inclusões de ionóforos, antibióticos, minerais e leveduras não causaram nenhum efeito sobre a oxidação de lipídeos no sistema circulatório de bovinos alimentados com dietas alto grão.

Tabela 3. Estado oxidativo do sangue de bovinos terminados em confinamento e alimentados com dietas contendo monensina, combinação de monensina + virginiamicina ou combinação de monensina + micros minerais + leveduras durante 84 dias

Parâmetros	Dietas				EPM ⁵	P-Valor
	CONT ¹	MONE ²	MO+VI ³	MO+AD ⁴		
FRAP ⁶ (μmols eq trolox/mL)	0,296	0,312	0,306	0,308	0,008	0,817
FRAP (nmols eq trolox/mg proteína)	4,018	4,013	3,881	4,105	0,095	0,878
TIOIS (nmols tióis/ml de plasma)	372,533	372,533	397,053	417,182	13,581	0,499
TIOIS (nmols de tióis/mg de proteína)	5,047	5,343	4,651	5,5344	0,117	0,241
Carbonil (nmoles carbonil/mg de proteína)	3,919 ^a	2,955 ^b	3,099 ^b	2,8559 ^b	0,139	0,020
AST, U/L	36,884	38,849	34,172	31,209	1,499	0,120
ALT, U/L	12,004	11,785	11,224	11,349	0,495	0,969

¹CONT – Sem aditivos; ²MONE – inclusão de 30 mg/kg de monensina (base da MS); ³MO+VI – inclusão de 30 mg/kg de monensina (base da MS) + 30 mg/kg de virginiamicina (base da MS); ⁴MO+AD – inclusão de 30 mg/kg de monensina (base da MS + 3 g/kg do PC de micros minerais + leveduras (Advantage™ Confinamento). ⁵EPM - Erro padrão da média. ⁶FRAP - Poder antioxidante de redução de ferro. ^{a, b}Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha (P < 0,05). **Fonte:** Autor

As principais alterações estruturais nas proteínas podem ser caracterizadas pelas dosagens de proteínas carboniladas e perda de função do estado redox do grupamento tiol. Com isso, o uso das proteínas carboniladas como marcador possui algumas vantagens em relação a outros marcadores, como sua formação relativamente rápida, grande estabilidade e longo tempo de vida (Silva et al., 2011).

Os níveis dos grupos tióis (parâmetro antioxidante) no plasma sanguíneo dos animais não foram influenciados (P > 0,05) quando adicionado a monensina em combinação com virginiamicina ou com micros minerais + leveduras. Desta forma, estes aditivos e suas combinações não perturbam o status oxidativo no plasma dos bovinos. Por outro lado, os níveis de grupos proteínas carboniladas, um parâmetro que diagnostica a lesão oxidativa, foram aproximadamente 30% (P < 0,05) menores no plasma sanguíneo dos animais alimentados com a inclusão de aditivos em comparação aos animais do grupo controle (Tabela 3). Ainda, os níveis de proteínas carboniladas foram semelhantes no plasma sanguíneo dos bovinos alimentados com as dietas MONE, MO+VI e MO+AD, respectivamente. Estes resultados mostram que a inclusão de ionóforos, antibióticos, micros minerais e leveduras reduz a lesão oxidativa nos animais alimentados com aditivos.

A inclusão da monensina isolada ou em combinação com a virginiamicina ou com micros minerais + leveduras não alterou as atividades da aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) no plasma sanguíneo dos animais (Tabela 3). Assim, a inclusão destes aditivos e suas combinações na dieta parece não causar dano hepático em bovinos terminados em confinamento e alimentados com dieta alto grão. Os valores de AST e ALT estão dentro da normalidade (Kaneko et al., 2008), expressando resultado positivo, uma vez que o aumento

dessas enzimas está associado à desordens hepáticas (Thrall, 2015).

Estado oxidativo no fígado

Os níveis de TBARS no fígado não foram alterados ($P > 0,05$) com a inclusão dos aditivos às dietas dos bovinos (Tabela 4). Os níveis médios de TBARS foram da ordem de 2,11 nmmol·g⁻¹. Estes baixos níveis mostram que a inclusão de ionóforos, antibióticos, micros minerais e leveduras às dietas dos bovinos terminados em confinamento não ocasionaram dano no metabolismo do fígado.

Tabela 4. Estado oxidativo do fígado de bovinos terminados em confinamento e alimentados com dietas contendo monensina, combinação de monensina + virginiamicina ou combinação de monensina + micros minerais + leveduras (Advantage™ Confinamento) no final do experimento (dia 84)

Parâmetros	Dietas					P-Valor
	CONT ¹	MONE ²	MO+VI ³	MO+AD ⁴	EPM ⁵	
TBARS ⁶ (nmol/g)	1,94	2,19	2,06	2,25	0,049	0,122
Proteína carbonilada (nmoles/mg proteína)	5,78	5,78	4,69	7,32	0,300	0,123
GSH ⁷ (nmol/mg proteína)	7,42	8,23	9,27	10,34	0,398	0,066
SOD ⁸ (U/mg proteína)	1,52	1,73	1,74	1,83	0,058	0,354
CAT (µmoles/min.mg proteína)	618,30	646,48	610,85	561,46	27,163	0,754

¹CONT – Sem aditivos; ²MONE – inclusão de 30 mg/kg de monensina (base da MS); ³MO+VI – inclusão de 30 mg/kg de monensina (base da MS) + 30 mg/kg de virginiamicina (base da MS); ⁴MO+AD – inclusão de 30 mg/kg de monensina (base da MS + 3 g/kg do PC de micros minerais + leveduras (Advantage™ Confinamento)). ⁵EPM - Erro padrão da média. ⁶TBARS - substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico. ⁷GSH – Glutathiona. ⁸SOD - Superóxido dismutase. ⁹CAT – Catalase. **Fonte:** Autor

Assim como observado para o TBARS, a inclusão do ionóforo, antibiótico, micro minerais e leveduras não alteram ($P > 0,05$) os níveis de proteínas carboniladas no fígado dos bovinos (Tabela 4).

A inclusão de dietas contendo monensina, virginiamicina ou micros minerais associado a leveduras não alteraram os marcadores antioxidante do fígado, representado por GSH, SOD e CAT ($P > 0,05$; Tabela 4). Segundo Daun & Åkesson (2004), existe correlação significativa entre a atividade da glutathiona e o conteúdo de micros minerais nos diferentes órgãos bovinos. Para minimizar os efeitos das substâncias pró-oxidantes que causam danos teciduais, o organismo utiliza o sistema antioxidante visando impedir ou retardar a oxidação das biomoléculas como, por exemplo, a GSH, importante antioxidante endógeno (Niki, 1999). Os micros minerais fazem parte do mecanismo antioxidante e são co-fatores de enzimas que reduzem os metabólitos reativos de oxigênio (Kurz, 2004) como o cobre, zinco e manganês na superóxido dismutase e o selênio na glutathiona peroxidase (Weiss, 2005).

Estado oxidativo da carne

A lesão oxidativa da carne foi avaliada pelos marcadores oxidativo TBARS e proteínas

carboniladas no homogenato. A oxidação lipídica é uma reação em cadeia de radical livre, que envolve três etapas: iniciação, propagação e terminação. Produtos de oxidação secundários, como alcanos, aldeídos e cetonas, são formados na fase final, responsáveis pelo ranço da carne, e esses compostos podem ser detectados pelo ensaio TBARS (Ladikos & Lougovois, 1990). Os níveis de TBARS permaneceram inalterados quando monensina, virginiamicina e micros minerais + leveduras foram incluídos na dieta ($P > 0,05$; Tabela 5).

Tabela 5. Estado oxidativo da carne de bovinos terminados em confinamento e alimentados com dietas contendo monensina, combinação de monensina + virginiamicina ou combinação de monensina + micros minerais + leveduras (Advantage™ Confinamento) no final do experimento (dia 84)

Parâmetros	Dietas				EPM ⁵	P-Valor
	CONT ¹	MONE ²	MO+VI ³	MO+AD ⁴		
TBARS ⁶ (nmol/g)	0,51	0,51	0,48	0,49	0,016	0,864
Proteína carbonilada (nmoles/mg proteína)	3,92 ^a	2,95 ^b	3,10 ^b	2,86 ^b	0,139	0,020
GSH ⁷ (nmol/mg proteína)	3,73 ^b	3,18 ^b	4,81 ^a	4,22 ^a	0,200	0,016

^{a, b} Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha ($P < 0,05$).

¹CONT – Sem aditivos; ²MONE – inclusão de 30 mg/kg de monensina (base da MS); ³MO+VI – inclusão de 30 mg/kg de monensina (base da MS) + 30 mg/kg de virginiamicina (base da MS); ⁴MO+AD – inclusão de 30 mg/kg de monensina (base da MS + 3 g/kg do PC de micros minerais + leveduras (Advantage™ Confinamento)). ⁵EPM - Erro padrão da média. ⁶TBARS - substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico. ⁷GSH – Glutathione. **Fonte:** Autor

O marcador oxidativo na carne bovina, aferido por proteína carbonilada, detecta modificações oxidativas de resíduos de aminoácidos em proteínas (Beal, 2002). O ensaio demonstra que a inclusão dos aditivos reduziu ($P < 0,05$) o dano oxidativo e a descarbonilação da proteína muscular.

Conforme mostrado na Tabela 5, bovinos alimentados com dietas suplementadas com monensina + virginiamicina ou monensina associada com micros minerais + leveduras aumentaram a concentração muscular de GSH, em comparação a dieta CONT e MONE ($P < 0,05$). A GSH apresenta papel importante na defesa das células contra o estresse oxidativo e, quando presente em baixa concentração, existe maior risco de desequilíbrio oxidativo (Aruoma, 1998).

4. Considerações Finais

A inclusão da monensina sódica combinado com a virginiamicina e com os micros minerais associado a leveduras (Advantage™ Confinamento) apresentaram resultados semelhantes e não apresentaram lesão oxidativa no plasma, fígado e na carne bovina. Além disso, nenhum tratamento foi associado a lesões hepáticas.

5. Agradecimentos

Este estudo foi financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pelas bolsas de estudos, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (401022/2016-1) e pela Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda (www.altech.com). Os autores agradecem a empresa por parte do financiamento e fornecimentos dos produtos usados nesta pesquisa com os quais foi possível desenvolver o projeto. As menções das marcas ou nome comerciais dos produtos nesta publicação é apenas pelo propósito do fornecimento de informações específicas e não implica em recomendações ou endosso por parte do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brasil.

6. Referências bibliográficas

Arcuri, P. B., Lopes, F. C. F., Carneiro, J. C., & FUNEP. (2011). Microbiologia do rumen. In T. T. Berchielli, A. V Pires, & S. G. Oliveira (Eds.), *Nutrição de Ruminantes* (Issue 2th ed., pp. 115–148). FUNEP.

Aruoma, O. I. (1998). Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(2), 199–212. <https://doi.org/10.1007/s11746-998-0032-9>.

Beal, M. F. (2002). Oxidatively modified proteins in aging and disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 32(9), 797–803. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(02\)00780-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(02)00780-3).

Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76.

Berchielli, T. T., Pires, A. V, Oliveira, S. G., & FUNEP. (2011). *Nutrição de Ruminantes* (Issue 2th ed.). FUNEP.

Bergen, W. G., & Bates, D. B. (1984). Ionophores: their effect on production efficiency and mode of action. *Journal of Animal Science*, 58(6), 1465–1483.

Bergmeyer, H U, & Bergmeyer, J. (1985). Methods of enzymatic analysis, vol. VI. *Verlag*

Chemie: Weinheim, Germany.

Bergmeyer, Hans Ulrich. (1987). Methods of enzymatic analysis. *Journal of Clinical Pathology*, 40(8), 934–934. <https://doi.org/10.1136/jcp.40.8.934-a>.

Buege, J. A., & Aust, S. D. (1978). [30] Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, 52, 302–310. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(78\)52032-6](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(78)52032-6)

Cocito, C. (1979). Antibiotics of the virginiamycin family, inhibitors which contain synergistic components. *Microbiological Reviews*, 43(2), 145–198. <https://doi.org/10.1128/membr.43.2.145-192.1979>.

Coe, M. L., Nagaraja, T. G., Sun, Y. D., Wallace, N., Towne, E. G., Kemp, K. E., & Hutcheson, J. P. (1999). Effect of virginiamycin on ruminal fermentation in cattle during adaptation to a high concentrate diet and during an induced acidosis. *Journal of Animal Science*, 77(8), 2259–2268. <https://doi.org/http://jas.fass.org/content/77/8/2259>.

Daun, C., & Åkesson, B. (2004). Glutathione peroxidase activity, and content of total and soluble selenium in five bovine and porcine organs used in meat production. *Meat Science*, 66(4), 801–807. [https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740\(03\)00178-5](https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740(03)00178-5)

Erasmus, L. J., Muya, C., Erasmus, S., Coertze, R. F., & Catton, D. G. (2008). Effect of virginiamycin and monensin supplementation on performance of multiparous Holstein cows. *Livestock Science*, 119(1–3), 107–115. <https://doi.org/http://jas.fass.org/content/77/8/2259>.

Fonseca, M. P., Borges, A. L. C. C., Silva, R. R., Lage, H. F., Ferreira, A. L., Lopes, F. C. F., Pancoti, C. G., & Rodrigues, J. A. S. (2016). Intake , apparent digestibility , and methane emission in bulls receiving a feed supplement of monensin , virginiamycin , or a combination. *Animal Production Science*, 56(7), 1041–1045. <https://doi.org/10.1071/AN14742>.

Goodrich, R. D., Garrett, J. E., Gast, D. R., Kirick, M. A., Larson, D. A., & Meiske, J. C. (1984).

Influence of monensin on the performance of cattle. *Journal of Animal Science*, 58(6), 1484–1498. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6378865>

Gornall, A. G., Bardawill, C. J., & David, M. M. (1949). Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *Journal of Biological Chemistry*, 177(2), 751–766.

Hissin, P. J., & Hilf, R. (1976). A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Analytical Biochemistry*, 74(1), 214–226. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90326-2](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90326-2).

Hobson, P. N., & Stewart, C. S. (2012). *Rumen microbial ecosystem* (2nd ed.). Blackie Academic & Professional.

Jaffe, M. (1986). Quantitative colorimetric determination of creatinine in serum or urine. *Z. Physiol. Chem*, 10, 391–400.

Jain, N. C. (1993). *Essentials of Veterinary Hematology* (1st ed.). Wiley-Blackwell.

Kaneko, J. J., Harvey, J. W., & Bruss, M. L. (2008). *Clinical biochemistry of domestic animals* (6th Ed. (ed.); Vol. 1). Academic press.

Konvičná, J., Vargová, M., Paulíková, I., Kováč, G., & Kostecká, Z. (2015). Oxidative stress and antioxidant status in dairy cows during prepartal and postpartal periods. *Acta Veterinaria Brno*, 84(2), 133–140. <https://doi.org/10.2754/avb201584020133>

Kramer, J. W. (2000). Normal hematology of cattle, sheep and goats. In B. F. Feldman, J. G. Zinkl, & N. C. Jain (Eds.), *Schalm's veterinary hematology* (Vol. 5, pp. 1075–1084). Lippincott Williams and Wilkins Philadelphia.

Kurz, M. W. (2004). *Nutritional modulation of immunity and physiological responses in beef calves*. Texas A&M University.

Ladikos, D., & Lougovois, V. (1990). Lipid oxidation in muscle foods: A review. *Food Chemistry*, 35(4), 295–314. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(90\)90019-Z](https://doi.org/10.1016/0308-8146(90)90019-Z)

Levine, R. L., Garland, D., Oliver, C. N., Amici, A., Climent, I., Lenz, A.-G., Ahn, B.-W., Shaltiel, S., & Stadtman, E. R. (1990). [49] Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology*, 186, 464–478. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(90\)86141-H](https://doi.org/10.1016/0076-6879(90)86141-H)

López-Alonso, M. (2012). Trace Minerals and Livestock: Not Too Much Not Too Little. *ISRN Veterinary Science*, 2012, 1–18. <https://doi.org/10.5402/2012/704825>

Marklund, S., & Marklund, G. J. (2007). Biochem catalytic activity of superoxide dismutase: A method based on its concentration-dependent constant decrease in rate of autoxidation of pyrogallol. *Current Science*, 47, 1481–1482.

Montano, M. F., Manriquez, O. M., Salinas-Chavira, J., Torrentera, N., & Zinn, R. A. (2015). Effects of monensin and virginiamycin supplementation in finishing diets with distiller dried grains plus solubles on growth performance and digestive function of steers. *Journal of Applied Animal Research*, 43(4), 417–425. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1080/09712119.2014.978785>.

Moreira, F. B., Prado, I. N., Cecato, U., Wada, F. Y., & Mizubuti, I. Y. (2004). Forage evaluation, chemical composition, and in vitro digestibility of continuously grazed star grass. *Animal Feed Science and Technology*, 113(1–4). <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2003.08.009>

Nagaraja, T. G., Newbold, C. J., Van Nevel, C. J., & Demeyer, D. I. (2012). Manipulation of ruminal fermentation. In P. N. Hobson & C. S. Stewart (Eds.), *The rumen microbial ecosystem* (Vol. 1, pp. 523–632). Black Academic & Professional.

Niki, E. (1999). Action of antioxidants against oxidative stress. In M. Dizdaroglu & A. E. Katarataya (Eds.), *Advances in DNA Damage and Repair* (pp. 313–318). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4865-2_25.

Ornaghi, M. G., Guerrero, A., Vital, A. C. P., Souza, K. A., Passetti, R. A. C., Mottin, C., Araújo Castilho, R., Sañudo, C., & Prado, I. N. (2020). Improvements in the quality of meat from beef cattle fed natural additives. *Meat Science*, *163*(108059), 108059. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108059>

Pereira A.S. et al. (2018). Metodologia da pesquisa científica. [eBook]. Santa Maria. Ed. UAB/NTE/UFMS. Disponível em: https://www.ufsm.br/app/uploads/sites/358/2019/02/Metodologia-da-Pesquisa-Cientifica_final.pdf

Pereira, M. C. S., Rigueiro, A. L. N., Oliveira, C. A., Soutello, R. V. G., Arrigoni, M. de B., & Millen, D. D. (2018). Different doses of sodium monensin on feedlot performance, carcass characteristics and digestibility of Nellore cattle. *Acta Scientiarum. Technology*, *41*, e34988–e34988. <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v41i1.34988>.

Rigueiro, A. L. N., Pereira, M. C. S., Squizatti, M. M., Ferreira, M. M., Dondé, S. C., Luiz, F. P., Silvestre, A. M., Muller, L. R., Garcia, C. P., Bueno, A. P. D., Toledo, L. V, Estevam, D. D., Martins, C. L., Arrigoni, M. D. B., & Millen, D. D. (2020). Different combinations of sodium monensin and virginiamycin during feedlot finishing of Nellore cattle. *Animal Production Science*, *60*(8), 1061–1072. <https://doi.org/https://doi.org/10.1071/AN18657>.

Rivaroli, D. C., Del Mar Campo, M., Sañudo, C., Guerrero, A., Jorge, A. M., Vital, A. C. P., Valero, M. V., Prado, R. M., & Prado, I. N. (2020). Effect of an essential oils blend on meat characteristics of crossbred heifers finished on a high-grain diet in a feedlot. *Animal Production Science*, *60*(4), 595–602. <https://doi.org/10.1071/AN18620>

Sá-Nakanishi, A. B., Soni-Neto, J., Moreira, L. S., Gonçalves, G. A., Silva, F. M. S., Bracht, L., Bersani-Amado, C. A., Peralta, R. M., Bracht, A., & Comar, J. F. (2018). Anti-Inflammatory and Antioxidant Actions of Methyl Jasmonate Are Associated with Metabolic Modifications in the Liver of Arthritic Rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2018*, 2056250. <https://doi.org/10.1155/2018/2056250>

Sánchez-Valle, V., Chavez-Tapia, N. C., Uribe, M., & Méndez-Sánchez, N. (2012). Role of

oxidative stress and molecular changes in liver fibrosis: a review. *Current Medicinal Chemistry*, 19(28), 4850–4860.

SAS. (2004). *SAS/STAT User guide, Version 9.1.2*. SAS Institute Inc.

Schelling, G. T. (1984). Monensin mode of action in the rumen. *Journal of Animal Science*, 58(6), 1518–1527.

Silva, M., Lima, W. G., Silva, M. E., & Pedrosa, M. L. (2011). Efeito da estreptozotocina sobre os perfis glicêmico e lipídico e o estresse oxidativo em hamsters. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, 55(1), 46–53. <https://doi.org/10.1590/S0004-27302011000100006>.

Souza, K. A., Ramos, T. R., Bonin, E., Carvalho, V. M., Guerrero, A., Bagaldo, A. R., Cecato, U., & Prado, I. N. (2020). Performance and immune response of steers Nellore finished in feedlot and fed diets containing dry leaves of *Baccharis dracunculifolia*. *Research, Society and Development*, 9(10), e339107776. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i10.7776>

Thrall, M. A. (2015). Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. In 2. ed. Editora Roca.

Valadares Filho, S. C., Costa e Silva, L. F., Gionbelli, M. P., Rotta, P. P., Marcondes, M. I., Chizzotti, M. L., & Prados, L. F. (2016). *Exigências nutricionais de zebuínos puros e cruzado - BR-Corte* (Vol. 1). Universidade Federal de Viçosa. <https://doi.org/10.5935/978-85-8179-111-1.2016b001>.

Valadares Filho, S. C., Pina, D. S., & FUNEP. (2011). Fermentação ruminal. In T. T. Berchielli, A. V Pires, & S. G. Oliveira (Eds.), *Nutrição de Ruminantes* (Issue 2th ed., pp. 161–192). FUNEP.

Weiss, W. P. (2005). Antioxidant nutrients, cow health, and milk quality. *Dairy Cattle Nutrition Workshop, Department of Dairy and Animal Sciences, Penn State*, 11–18.

Witzig, M., Zeder, M., & Rodehutschord, M. (2018). Effect of the ionophore monensin and tannin

extracts supplemented to grass silage on populations of ruminal cellulolytics and methanogens in vitro. *Anaerobe*, 50, 44–54. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2018.01.012>.

CARTA DE ACEITE DO ARTIGO

RESEARCH, SOCIETY AND DEVELOPMENT

Carta de Aceite

O trabalho intitulado "Combinação de monensina, virginiamicina, micros minerais e leveduras sobre o perfil bioquímico no sangue e stress oxidativo no plasma, fígado e músculo de bovinos alimentados com dieta de alto grão", submetido em "03/11/2020" foi aceito para publicação e será publicado em até 30 dias na Revista Research, Society and Development - ISSN 2525-3409.

O trabalho é de autoria de:

Murilo Augusto Tagiariolli, Venício Macêdo Carvalho, Vanessa Duarte, Aylle Medeiros Matos, Venício Macêdo Carvalho, Edinéia Bonin, Rodolpho Martin do Prado, Heloisa Vialle Pereira Maróstica, Jurandir Fernando Comar, Luiz Fernando Costa e Silva e Ivanor Prado.

São Paulo, 20 de novembro de 2020.



Dr. Ricardo Shitsuka
Editor