

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

INCLUSÃO DO PRODUTO DA FERMENTAÇÃO DE
LEVEDURA NA DIETA SOBRE O DESEMPENHO E
METABOLISMO RUMINAL DE VACAS LEITEIRAS

Autor: André Luiz Garcia Dias
Orientador: Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos
Coorientador: Prof. Dr. José Eduardo Portela Santos

MARINGÁ
Estado do Paraná
novembro– 2014

INCLUSÃO DO PRODUTO DA FERMENTAÇÃO DE LEVEDURA NA DIETA SOBRE O DESEMPENHO E METABOLISMO RUMINAL DE VACAS LEITEIRAS

Autor: André Luiz Garcia Dias
Orientador: Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos
Coorientador: Prof. Dr. José Eduardo Portela Santos

Tese apresentada como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação da Universidade Estadual de Maringá – Área de Concentração Produção Animal

MARINGÁ
Estado do Paraná
novembro– 2014

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

D541i Dias, André Luiz Garcia
Inclusão do produto da fermentação de levedura na
dieta sobre o desempenho e metabolismo ruminal de
vacas leiteiras / André Luiz Garcia Dias. --
Maringá, 2014.
87 f. : il., figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos.
Coorientador: Prof. Dr. José Eduardo Portela
Santos.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de
Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia, 2014.

1. Levedura - Dieta - Desempenho - Vacas
leiteiras. 2. Levedura - Dieta - Metabolismo - Vacas
leiteiras. 3. Distúrbio ruminal. 4. Fermentação
ruminal. 5. Ph do rúmen. 6. *Saccharomyces*
cerevisiae. I. Santos, André Luiz Garcia, orient.
II. Santos, José Eduardo Portela. III. Universidade
Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias.
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. IV. Título.

CDD 21.ed. 636.2

ECSL-00189



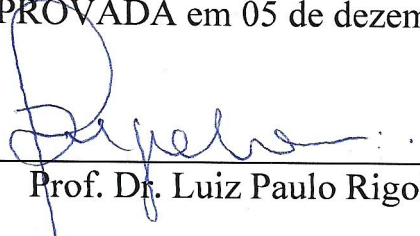
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**INCLUSÃO DO PRODUTO DA FERMENTAÇÃO DE
LEVEDURA NA DIETA SOBRE O DESEMPENHO E
METABOLISMO RUMINAL DE VACAS LEITEIRAS**

Autor: André Luiz Garcia Dias
Orientador: Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos

TITULAÇÃO: Doutor em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal

APROVADA em 05 de dezembro de 2014.



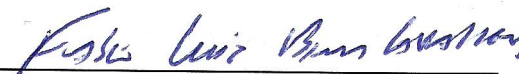
Prof. Dr. Luiz Paulo Rigolon




Prof.ª Dr.ª Lúcia Maria Zeoula



Prof. Dr. Luís Carlos Vinhas Ítavo



Prof. Dr. Fábio Luiz
Bim Cavaliere



Prof. Dr. Geraldo Tadeu
dos Santos
(Orientador)

*“A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará
ao seu tamanho original”*

Albert Einstein

À minha mãe, Ester Liana Garcia Dias e ao meu pai Mário Gomes Dias por todo amor, carinho e confiança em mim depositados.

OFEREÇO

Ao meu irmão, Álvaro Tarouco Dias Neto por sua amizade, companheirismo e palavras de incentivo. Aos meus avôs Anna Maria E Álvaro Tarouco Dias (*In Memoriam*) e Yeda e Cândido Afonso Garcia, por acreditarem em mim e não me deixarem esmorecer nos momentos de dificuldade, por me ampararem e apoiarem nas decisões mais importantes.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sua presença em todos os momentos da minha vida, por trilhar meus caminhos e por mais essa vitória.

À Universidade Estadual de Maringá e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, pela oportunidade de realização do doutorado.

Ao Professor Geraldo Tadeu dos Santos, pela orientação, ajuda e paciência.

Ao Professor José Eduardo Portela Santos pela recepção, orientação, oportunidade do desenvolvimento dos experimentos, paciência, ensinamentos e atenção a mim dedicados.

Ao Professor Júlio César Damasceno, pela amizade e ajuda durante meu doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos entre julho de 2011 a março de 2013, pelo Projeto Repensa/Plexus, Edital 22/2010.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa Científica (CNPq), pela concessão da bolsa de doutorado sanduíche entre abril de 2013 a março de 2014.

À Universidade da Flórida, pela oportunidade e ajuda, disponibilizando toda a estrutura para a realização dos experimentos.

Aos Professores Charles Staples e Adegbola T. Adesogan, por liberarem seus laboratórios, equipamentos e materiais.

Ao Professor Luciano Soares de Lima, pela ajuda na correção da tese.

Aos amigos Aline Bravo, Emerson H. Yoshimura, Maria Clara Ferreira e Fábio S. Santos pelo companheirismo em Maringá.

Aos amigos, Eduardo Ribeiro, Leandro Greco, Rafael Bisinotto, Raylon Maciel, Pedro Monteiro Jr, Natália Martinez, Gabriel Gomes, Ana Carolina Parize, Sabrina Freitas, Cassandra, João Bittar e Fernando e Luís Sirqueira por toda a ajuda, recepção, apoio, amizade e companheirismo, durante minha permanência nos Estados Unidos.

Aos amigos e colegas, Rafael Azevedo, Beatriz Micai e José Freitas que se dedicaram de forma integral e incansável ao desenvolvimento dos experimentos realizados nos Estados Unidos. Sem a ajuda e trabalho deles, a condução dos estudos não teria ocorrido com o sucesso que foi realizado.

À querida Ana María Mesa pela incrível paciência de conversar comigo sem eu saber inglês e, por fim, me ensinar, ajudar e apoiar em todos os momentos nos Estados Unidos.

À minha família, por todo carinho, por acreditarem no meu sonho e na minha capacidade e por estarem sempre presentes em minha vida.

Aos demais professores e funcionários do DZO.

A todos aqueles que me acompanharam e apoiaram nessa conquista.

BIOGRAFIA

André Luiz Garcia Dias, filho de Mário Gomes Dias e Ester Liana Garcia Dias, nasceu em Pelotas, Rio Grande do Sul, no dia 28 de fevereiro de 1984.

Em março de 2002, ingressou na Universidade do Oeste de Santa Catarina, em Xanxerê e em Agosto de 2004, transferiu-se para a Universidade do Estado de Santa Catarina, em Lages, onde, em dezembro de 2007, obteve o título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Em março de 2008, iniciou o mestrado em Ciência Animal, na Universidade do Estado de Santa Catarina, em Lages e, em Julho de 2010, submeteu-se à banca para defesa da Dissertação para obtenção do título de Mestre na área de Ciência Animal.

Em março de 2011, iniciou o doutorado em Produção Animal na Universidade Estadual de Maringá, e, em março de 2013, iniciou o estágio de doutorado Sanduíche na Universidade da Flórida, em Gainesville, Flórida, Estados Unidos.

Em outubro de 2014, submeteu-se à banca para qualificação de Tese para obtenção do Título de Doutor em Zootecnia, na área de Produção Animal.

Em dezembro de 2014, defendeu a tese de doutorado e foi aprovado pela banca examinadora e recebeu o Título de Doutor em Zootecnia na área de Produção Animal.

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE	vii
LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE FIGURAS	xii
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xv
INTRODUÇÃO	1
Cultura de leveduras e produto da fermentação	4
Mecanismos sistêmicos de ação	10
Efeito das leveduras vivas e do produto da fermentação sobre a degradação da fibra no rúmen.....	10
Acidose ruminal e efeito da levedura viva e do produto da fermentação sobre o pH ruminal	12
Efeito de leveduras vivas e do produto da fermentação no metabolismo de nitrogênio e na proteína microbiana.....	14
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA	15
OBJETIVOS GERAIS	22

INTRODUÇÃO	24
MATERIAIS E MÉTODOS	25
Peso corporal, escore de condição corporal e determinação do balanço energético.....	28
Análises químicas das dietas	28
Amostras e análises dos metabólitos do sangue.....	29
Desafio a acidose ruminal subclínica	30
Análises estatísticas	30
RESULTADOS	31
Composição do leite	31
Metabólitos do plasma antes do desafio.....	32
Metabólitos do plasma após o desafio	33
DISCUSSÃO	33
Composição do leite	35
Metabólitos do plasma	36
CONCLUSÃO	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
RESUMO	48
INTRODUÇÃO	49
MATERIAL E MÉTODOS	51
Animais, tratamentos e procedimentos experimentais.....	51
Análises químicas	53
Peso corporal e determinação do balanço energético	55
Digestibilidade ruminal e total e fluxo de nutrientes.....	56
Coleta e análise de nitrogênio amoniacal do rúmen.....	56

Mensuramento do pH ruminal	57
Coleta e análise de urina e estimativa do fluxo de nitrogênio microbial	58
Análises estatísticas	58
RESULTADOS	59
Antes do desafio	59
Composição do leite	60
Digestibilidade total	61
Digestibilidade ruminal e fluxo omasal do nitrogênio	61
Nitrogênio amoniacal e pH ruminal	62
Metabólitos do sangue	62
Depois do desafio	62
Composição do leite	63
Nitrogênio amoniacal e pH ruminal	63
Metabólitos do sangue	64
DISCUSSÃO	64
Antes do desafio	64
Composição do leite	65
Digestibilidade total	66
Digestibilidade ruminal e fluxo omasal de nitrogênio	67
Nitrogênio amoniacal e pH ruminal	68
Metabólitos do plasma	69
Depois do desafio	69
CONCLUSÃO	70
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
CONSIDERAÇÕES FINAIS	86

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

Tabela 1. Composição nutricional e elementos ativos do produto da fermentação de levedura (Rumen Yeast)..... 43

Tabela 2. Composição dos ingredientes das rações completas e composição nutricional das dietas de alto e baixo amido..... 44

Tabela 3. Efeito da inclusão do produto da fermentação de levedura em dietas de baixo e alto amido sobre o desempenho produtivo, peso, balanço energético e ECC em vacas lactantes..... 45

Tabela 4. Efeito da inclusão do produto da fermentação de levedura em dietas de baixo e alto amido sobre os componentes do leite em vacas lactantes..... 46

Tabela 5. Efeito da inclusão do produto da fermentação de levedura em dietas de baixo e alto amido sobre os metabólitos plasmáticos em vacas lactantes antes e após o desafio à acidose ruminal subclínica.....47

Capítulo II

Tabela 1. Composição dos ingredientes das rações completas e composição nutricional das dietas de alto e baixo amido..... 76

Tabela 2. Composição nutricional e elementos ativos do produto da fermentação de levedura (Rumen Yeast)	77
Tabela 3. Efeito da inclusão do produto da fermentação de levedura em dietas de baixo e alto teor de amido sobre o desempenho produtivo, peso corporal e composição do leite de vacas lactantes.....	78
Tabela 4. Efeito da inclusão do produto da fermentação de levedura em dietas de baixo e alto teor de amido sobre a digestibilidade total e ruminal e fluxo omasal de nitrogênio dos elementos alimentares em vacas lactantes.....	79
Tabela 5. Efeito da inclusão do produto da fermentação de levedura em dietas de baixo e alto teor de amido sobre o nitrogênio amoniacal e o pH do rúmen.....	80
Tabela 6. Efeito da inclusão do produto da fermentação de levedura em dietas de baixo e alto teor de amido sobre os metabólitos plasmáticos em vacas lactantes.....	81
Tabela 7. Efeito da inclusão do produto da fermentação de levedura em dietas de baixo e alto teor de amido sobre o desempenho produtivo, peso corporal e composição do leite de vacas lactantes após o desafio a acido ruminal subclínica.....	82
Tabela 8. Efeito da inclusão do produto da fermentação de levedura em dietas de baixo e alto teor de amido sobre o nitrogênio amoniacal e o pH do rúmen após o desafio a acido ruminal subclínica.....	83
Tabela 9. Efeito da inclusão do produto da fermentação de levedura em dietas de baixo e alto teor de amido sobre metabólitos plasmáticos em vacas lactantes antes do desafio à acidose ruminal subclínica.....	84

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Variação do pH ruminal durante 24 h de vacas em lactação com inclusão do produto da fermentação de levedura ou não (A) em dietas de baixo e alto teor de amido (B)..... 85
- Figura 2.** Variação do pH ruminal durante 24 h de vacas em lactação com inclusão do produto da fermentação de levedura ou não (A) em dietas de baixo e alto teor de amido (B) após o desafio a acidose ruminal subclínica..... 86

RESUMO

Dietas com alta quantidade de amido para vacas em lactação pode ocasionar acidose ruminal, o que irá reduzir o consumo de alimento, produção de leite e gordura do leite. A inclusão de leveduras na dieta de vacas em lactação vem sendo praticada comercialmente para aliviar os efeitos provocados pela alimentação com alta quantidade de alimentos concentrados. Objetivou-se com esse trabalho, avaliar os efeitos da inclusão de 15 g por dia do produto da fermentação de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) na alimentação de vacas, recebendo dois níveis de amido na dieta sobre parâmetros produtivos, sanguíneos e ruminais. Também foi induzido um quadro de acidose ruminal subclínica para observar se o produto da fermentação de levedura (PFL) é eficiente em amenizar os efeitos provocados pelo acidose ruminal. Os tratamentos consistiram na adição ou não do PFL em dieta com dois níveis de amido (23 e 29%). Foram mensurados o consumo de nutrientes, a produção e a composição do leite, os níveis de glicose, ácidos graxos não esterificados (AGNE), nitrogênio (N) ureico e haptoglobina no sangue, o pH ruminal, a digestibilidade ruminal e total e o fluxo rúmen-retículo de proteína de origem microbiana. Não houve diferença na ingestão de matéria seca entre os tratamentos, mas o PFL aumentou a produção de leite e também do leite corrigido para 3,5% de gordura em até 3,3 kg/d comparado ao controle. Houve aumento na digestibilidade da proteína bruta, na produção de gordura, proteína e lactose no leite dos animais recebendo o PFL. O alto teor de amido aumentou a proteína no leite e a glicose plasmática e reduziu o N ureico no plasma e a digestibilidade e o pH ruminal. A interação entre o fornecimento do PFL e o alto teor de amido na dieta aumentou a digestibilidade ruminal da fibra em detergente neutro (FDN), o fluxo de proteína de origem microbiana para o omaso e o pH ruminal. Conclui-se que o produto da fermentação da *Saccharomyces cerevisiae* aumenta a produção e sem alterar a composição do leite de vacas. Esses efeitos

representam um melhor ambiente ruminal promovido pela presença do PFL ao manter o pH ruminal mais próximo ao neutro. Pode-se concluir que a utilização do PFL com alto teor de amido na dieta de vacas leiteiras em lactação aumenta o crescimento das bactérias ruminais, melhorando a digestão da FDN ruminal e conseqüentemente a produção de leite.

Palavras-chave: acidose ruminal subclínica, fermentação ruminal, pH do rúmen, *Saccharomyces cerevisiae*

ABSTRACT

Highstarch levels in diets of dairy cows can promote ruminal acidosis, what will decrease feed intake, milk yield and milk fat yield. The yeast inclusion in the lactating cows diets have being used commercially to reduce the effects caused by feeding with high level of concentrate food. The objective of this study was to evaluate the inclusion effects of the 15 g per day of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) fermentation product inclusion in lactating cow' diet receiving two levels of starch on performance, blood, and ruminal parameters. Also, was inducted a subacute ruminal acidosis to determine if the yeast fermentation product (YFP) is efficient to reduce the ruminal acidosis effects. The treatments were with or without YFP addition in the diets with two levels of starch (23 and 29%). There were measured the feed intake, milk yield and composition, the glucose, NEFA, ureic N, and haptoglobin levels in the blood, the ruminal pH, ruminal and total digestibility, as well as the flux of microbial protein between rumen and omaso. There was not difference in the dry matter intake between the treatments, but the YFP increased the milk yield and the FCM yield until 3.3 kg/d compared to control. There were increases in the milk fat, protein, and lactose and in the crude protein digestibility for the animals receiving YFP. The high starch increased milk protein and glucose plasmatic and decreased ureic N plasmatic and ruminal digestibility and pH. The interaction between YFP and high starch level in the diet increased ruminal NDF digestibility, flux of microbial protein to omaso, and ruminal pH. In conclusion the *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product increase milk yield and did not affect the milk composition of dairy cows. These effects represent a better ruminal environment promoted by YFP to maintaining the rumen pH highest. YFP plus high starch level in lactating cows' diet increase the ruminal bacteria growing, improving the rumen NDF digestion and consequently the milk production.

Key words: rumen pH, subacute ruminal acidosis, ruminal fermentation, *Saccharomyces cerevisiae*

INTRODUÇÃO

A maior parte do trato gastro-intestinal (TGI) dos animais domésticos abriga uma densa e complexa comunidade microbiana, que pode ser composta por bactérias, protozoários, fungos, arqueas e vírus. Pesquisas têm sido realizadas durante os últimos 30 anos com o objetivo de caracterizar o ecossistema digestivo em termos de composição microbiana e diversidade funcional, que tem levado a um melhor entendimento da contribuição da microbiota sobre a nutrição e a saúde animal (Khafipour et al., 2009, Hristov et al., 2010, Mullins et al., 2013). Entre os efeitos benéficos da comunidade microbiana do rúmen, estão a digestão e fermentação dos polímeros de plantas que são particularmente importantes para herbívoros. A microbiota é também responsável pela síntese de algumas vitaminas, bioconversão de compostos tóxicos para resíduos não tóxicos, estimulação do sistema imune, manutenção do peristaltismo e integridade da mucosa e tem importante papel contra a colonização de patógenos (Chaucheyras-Durand e Durand, 2010).

A maioria dos componentes dietéticos que entram no rúmen são degradados por numerosos microrganismos anaeróbios (principalmente bactérias e protozoários) presentes no fluído ruminal. Assim, o ecossistema ruminal tem um papel chave na resposta dos ruminantes às suas dietas. As raças bovinas com aptidão leiteira vêm sendo selecionadas ao longo de décadas para esta função, no entanto, este grau de especialização para produção de leite não foi acompanhada pelo aumento na capacidade de ingestão de alimentos (Kozloski, 2009). Esta característica fez com que a nutrição das vacas de leite fosse modificada ao longo dos anos e uma maior proporção de alimentos com altos níveis de energia começou a ser adicionada na dieta. Uma das consequências da alimentação com dietas com alto concentrado é a ocorrência de acidose ruminal subclínica, caracterizado quando o pH do rúmen está entre

5,2 e 5,6 (Cooper et al., 1997) ou ainda, segundo Desnoyers et al. (2009), os sinais de acidose ruminal subclínica já podem ser observados com pH do rúmen abaixo de 6,25. Acidez ruminal por longo período inibe o consumo e a digestão da parece celular das plantas (Plaizier et al., 2012). Este último aspecto, altera o valor energético da dieta, principalmente das forragens (Desnoyers et al., 2009). Ainda, o perfil de AGV no fluido ruminal é alterado com uma baixa proporção acetato-propionato e às vezes, um acúmulo de ácido láctico é observado (Agle et al., 2010; Plaizier et al., 2012).

Com o consumo de carboidratos prontamente fermentáveis, uma marcada redução do pH ruminal após a ingestão do alimento normalmente é constatada (Steele et al., 2012). A rápida fermentação microbiana leva a um aumento na concentração de AGV no rúmen, o que contribui para acidificar o pH ruminal. Como o pH do rúmen diminui, espécies de bactérias produtoras de ácido láctico, tais como *Streptococcus bovis*, podem ultrapassar o número de bactérias utilizadoras de ácido láctico, como a *Megasphaera elsdenii* e *Selenomonas ruminantium*, levando a um acúmulo de ácido láctico no rúmen. Devido ao baixo pK_a (3,7) do ácido láctico comparado ao pK_a da maioria dos AGV (pK_a é 4,8 – 4,9 para acetato, propionato e butirato), o ácido láctico geralmente tem o papel principal no início dos casos de acidose (Nocek, 1997).

A maioria das espécies bacterianas que degradam fibras tais como *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus* e *Ruminococcus flavefaciens* são particularmente sensíveis ao pH ácido (Russell e Wilson, 1996). Se o pH ruminal continuar a acidificar, lactobacilos podem substituir *S. Bovis*, iniciando um efeito contínuo com excessiva acumulação de ácido láctico, levando à acidose metabólica (Russell e Hino, 1985).

A acidose é prejudicial ao desempenho produtivo e tem impacto no *status* sanitário dos animais. Por exemplo, acidose ruminal tem sido claramente implicada como fator inicial de laminite, sendo a severidade da laminite associada à frequência, intensidade e duração da acidose sistêmica, a qual, provoca liberação de substâncias vasoativas, tais como endotoxinas e histamina (Plaizier et al., 2012). Na acidose subclínica, endotoxinas ou lipopolissacarídeos (LPS) são liberados devido à lise de bactérias Gram negativas, as quais são sensíveis ao pH ácido. Os LPS podem então atingir a corrente sanguínea e provocar uma resposta anti-inflamatória. Adicionalmente, a bactéria ruminal ácido-resistente *Allisonella histaminiformans*, tem sido implicada em casos de laminite como produtora de histamina como único metabólico da descarboxilação da histidina (Garner et al., 2004). Acidose é também frequentemente relatada com inchaço, visto que a motilidade do rúmen diminui em

pH ácido e há liberação de mucopolissacarídeos pela *S. bovis* ácido-resistente induz um aumento na viscosidade do conteúdo ruminal (Khafipour et al., 2012).

Além disso, o pH ácido da digesta do rúmen pode ter um impacto negativo na integridade da parede ruminal. Repetidas agressões provocadas pelos ácidos da fermentação podem causar atrofia papilar, lesões agudas ou crônicas de áreas de difusão, cicatrizes resultantes de ruminites locais severas, perfuração e mucomicoses que causam dor, desconforto, bem como disfunção na ingestão de alimento e alteração da função do rúmen (Enemark, 2008).

Uma teoria amplamente difundida na nutrição de ruminantes é a de que a população microbiana do rúmen se adapta a mudanças na dieta e existem algumas evidências que suportam essa teoria (Khafipour et al., 2009, Ramirez et al., 2012). Entretanto, estudos têm demonstrado que a microbiota ruminal de alguns animais individualmente é resistente a mudanças (Weimer et al., 2010, Mohammed et al., 2012). É possível que influências dietéticas sobre a população microbiana do rúmen podem melhorar o metabolismo nutricional dos ruminantes (Allen e Ying, 2012, Mullins et al., 2013), mas os mecanismos não estão totalmente esclarecidos.

Desta forma, passou a existir o interesse do uso de suplementos alimentares para melhorar a saúde, o bem estar e a produtividade animal através da manipulação do ecossistema microbiano do rúmen. Antibióticos promotores de crescimento, tais como ionóforos, têm sido amplamente difundidos e ainda utilizados em alguns países. Entretanto, devido ao crescimento dos conceitos de segurança alimentar a respeito do risco de transferência de resistência a antibióticos para os microrganismos e a persistência de resíduos químicos nos produtos de origem animal, outras estratégias de suplementação alimentar, tais como os probióticos, têm sido desenvolvidas para melhorar a saúde e produtividade dos rebanhos (Erasmus et al., 2005).

Probióticos podem ser definidos como suplementos alimentares à base de microrganismos vivos ou mortos, com ou sem seus meios de cultivos, que afetam benéficamente o animal hospedeiro (Chaucheyras-Durand e Durand, 2010). A utilização dos probióticos tem demonstrado benefícios (Desnoyers et al., 2009, Ramsing et al., 2009) quando eles são inclusos na dieta dos animais, principalmente durante períodos de estresse para a microbiota ruminal e para o animal, tais como no desaleitamento, no início da lactação e após mudanças na dieta de alta forragem para alto carboidratos prontamente fermentáveis. Em ruminantes adultos, os probióticos têm sido utilizados visando a melhora no processo

fermentativo dentro do rúmen, que é o maior local de digestão dos alimentos. O ecossistema microbiano do rúmen consiste de uma grande diversidade de bactérias predominantemente anaeróbias, protozoários ciliados, fungos anaeróbios e arqueas que são responsáveis pela degradação e fermentação de 70 a 75% dos componentes dietéticos (Chaucheyras-Durand e Durand, 2010).

Cultura de leveduras e produto da fermentação

Leveduras são fungos unicelulares que são referenciados como organismos saprófitas devido à sua incapacidade de produzir nutrientes orgânicos através da fotossíntese. Algumas leveduras não afetam seus hospedeiros (i.e. *Saccharomyces cerevisiae*) enquanto outras podem apresentar importante potencial patogênico (i.e. *Candida albicans*). A *S. cerevisiae* é frequentemente adicionada ao alimento dos animais como fontes de proteínas e vitaminas ou como um probiótico. As vitaminas presentes nas leveduras incluem biotina, ácido fólico, niacina, ácido pantotênico, tiamina e vitaminas B₂ e B₆ (NRC, 2001).

Produtos à base de leveduras estão sendo bem aceitos por apresentarem efeitos benéficos na produção animal. Estes produtos são geralmente caracterizados pela alta concentração de células viáveis ou inativas (maior que 10 bilhões de UFC/g), sendo a espécie mais comum a *Saccharomyces cerevisiae*. A biomassa de levedura é seca para preservar a viabilidade das células e a atividade metabólica e em alguns produtos, as células são misturadas com seu meio de fermentação. Outros produtos contêm somente as células mortas das leveduras e são usados como ingredientes nutricionais (Delcenserie et al., 2008).

A resposta obtida via inclusão com leveduras para ruminantes apresenta bastante variação quando se observa os trabalhos publicados na literatura (Desnoyers et al., 2009, Nocek et al., 2011). Esta falta de uniformidade dos resultados é dependente da cepa da levedura utilizada, da diversidade de produtos, da composição dos produtos, da natureza da dieta, do estado fisiológico do animal, do efeito em razão do seu modo de ação e no caso de produtos à base de parede celular de leveduras, da ativação química dos compostos (Chaucheyras-Durand e Durand, 2010, Nocek et al., 2011). Estas características são de extrema importância para entender o mecanismo microbiano pelo qual as leveduras atuam no rúmen para otimizar sua utilização na nutrição de ruminantes (Chaucheyras-Durand e Durand, 2010).

Os produtos à base de leveduras mais utilizados na nutrição animal são:

1) cultura de leveduras vivas, 2) levedura seca ativa, 3) mineral enriquecido com levedura e 4) produto da fermentação da *S. cerevisiae*.

1) Cultura de levedura viva é definido como um produto composto da levedura viva e o seu meio de crescimento e seco de tal maneira que se preserve a atividade fermentativa da levedura. Para que a cultura de levedura promova o efeito de melhoria na fermentação ruminal, as culturas dependem da presença de células de levedura, dos meios de crescimento em que a levedura foi cultivada e dos metabólitos produzidos pela levedura durante o processo de fermentação. Para exercer um efeito direto no rúmen, geralmente a cultura de levedura está associada com a captura de oxigênio ou redução do potencial redutor do rúmen (Marden et al., 2008).

2) Levedura seca ativa é definida como fungos viáveis que tenham sido secos, de tal modo que preserve uma grande parte do seu poder de fermentação. Não pode conter adição de cereais e deve conter pelo menos 15 bilhões de células de leveduras vivas por grama. A levedura seca ativa é escolhida a partir de uma cepa específica e é separada do seu meio de cultura no final do processo de produção. A rotatividade natural de leveduras vivas no rúmen ocorre ao longo do tempo devido às condições ambientais e de organismos predatórios, como protozoários. A população de leveduras no rúmen é mantida através de uma combinação de reprodução e suplementação alimentar diária ao longo do tempo (Satyanarayana e Kunze, 2009).

3) Mineral enriquecido com levedura é um produto em que a levedura é cultivada em um mineral como substrato. A levedura incorpora os minerais na sua própria estrutura celular. Algumas empresas usam levedura para fornecer oligoelementos (i.e. selênio, cobre, manganês e zinco). O mineral é muito mais biodisponível para o animal, com menor risco de toxicidade e poluição do meio ambiente (Satyanarayana e Kunze, 2009).

4) Produtos da fermentação da *S. cerevisiae* são obtidos durante a fermentação de uma cepa de *S. cerevisiae* e inclui os produtos da fermentação, as células da levedura, os fragmentos de parede celular da levedura, e os meios de crescimento utilizados durante a fermentação (Shen et al., 2011). Vários processos são necessários no desenvolvimento dos produtos da fermentação de leveduras (PFL), que são críticos para sua atividade e diferenciação: cepa de levedura, meio de crescimento, veículo, processo de secagem e técnicas de fracionamento da parede celular, isto é, mecânico, químico ou enzimático (Nocek et al., 2011).

PFL têm sido utilizados para a dieta de vacas de leite por décadas para beneficiar a fermentação ruminal e o desempenho produtivo (Allen e Ying, 2012). Os PFL são ricos em fatores de crescimento solúveis, tais como ácidos orgânicos, vitaminas do complexo B e aminoácidos, que têm mostrado efeito estimulador do crescimento de culturas puras de bactérias ruminais que digerem celulose e utilizam ácido láctico *in vitro*, e desta forma, a suplementação com PFL, pode mudar a população microbiana no rúmen, promovendo grandes benefícios através de algumas condições estimulando o crescimento de bactérias ruminais que utilizam o ácido láctico e digerem celulose (isto é, *Selenomonas ruminantium*, *Megasphaera elsdenii*, *Fibrobacter succinogenes*, e *Ruminococcus flavefaciens*) (Callaway e Martin, 1997).

A parede celular da *S. cerevisiae* é uma complexa interação de quatro importantes polissacarídeos: β -(1,3) glucanos os quais são uma cadeia linear de aproximadamente 1500 unidades de glicose ligadas por ligações do tipo β -(1,3), β -(1,6) glucanos compostos por 140-350 resíduos de glicose ligados através de ligações do tipo β -(1,6), mananas que compreendem unidades de manoses ligadas por ligações α -(1,2), α -(1,3) e α -(1,6) e quitina que é um polímero de 90-100 unidades de N-acetilglicosaminas ligadas por ligações β -(1,4) (Schivavone et al., 2014).

As mananas que compõem a parede celular das leveduras são oligossacarídeos que apresentam alta afinidade de ligação, oferecendo opção de sítio de ligação competitivo para bactérias Gram-negativas, que possuem fimbrias manose-específicas do tipo 1 (Ofek et al., 1977). Os benefícios imediatos estão associados com a remoção de patógenos do sistema digestivo sem ataque e colonização. Este fenômeno pode provocar uma significativa resposta antigênica, assim, melhorando a imunidade humoral contra patógenos específicos através da preservação de antígenos atenuados pelas células imunes (Spring et al., 2000). Em adição, este processo pode suprimir uma resposta imune pró-inflamatória, que é prejudicial ao desempenho produtivo (Nocek et al., 2011).

O fornecimento de leveduras na dieta de vacas de leite é eficaz e tem sido praticada comercialmente há vários anos (Irvine et al., 2011, Allen e Ying, 2012, Poppy et al., 2012, AlZahal et al., 2014).

As leveduras parecem aumentar a produção de leite e também influenciam diversos parâmetros ruminais, tais como pH, a concentração de AGV e a digestão de nutrientes (Rabiee et al., 2008, Bruno et al., 2009, Hippen et al., 2010, Allen e Ying, 2012, Zaworski et

al., 2014). Desta forma, a adição de levedura no ecossistema ruminal parece influenciar a fermentação e pode ter maior efeito em ambientes com alto nível de carboidratos (Desnoyers et al., 2009).

Desnoyers et al. (2009) realizaram uma metanálise em estudos que avaliaram o efeito da *S. cerevisiae* viva sobre parâmetros ruminais e produção de leite de ruminantes. Eles reportam que a levedura aumentou o pH do rúmen e a concentração de AGV no rúmen, e tendeu a diminuir a concentração de ácido láctico no rúmen, mas não teve influência na proporção acetato-propionato nos trabalhos avaliados. O pH ruminal e a concentração de AGV aumentaram linearmente com a concentração de leveduras fornecida aos animais. Os autores relataram que o efeito positivo da levedura no pH ruminal tende a aumentar quanto maior for a ingestão de matéria seca. A proporção de concentrado na dieta aumentou este efeito sobre o pH do rúmen. Além disso, o efeito positivo da levedura viva na concentração de AGV no rúmen foi aumentado pela ingestão de matéria seca, pela proporção de alimento concentrado, FDN e PB na dieta.

De forma semelhante, a levedura aumentou a digestibilidade da matéria orgânica de uma forma dose-dependente do manejo nutricional. O efeito positivo da levedura na digestibilidade da matéria orgânica foi menor conforme aumentou a proporção de concentrado na dieta e aumentou com a maior da proporção de FDN na dieta. Não houve influência da FDN ou PB da dieta sobre o efeito da levedura na concentração de ácido láctico no rúmen (Desnoyers et al., 2009).

Os efeitos de duas cepas diferentes de levedura seca ativa (*S. cerevisiae*) sobre a acidose ruminal e produção de metano em vacas leiteiras não lactantes foram estudados por Chung et al. (2011). As vacas foram distribuídas em três tratamentos, controle, cepa de levedura 1, ou a cepa de levedura 2 (cepa que foi selecionada para aumentada a degradação da fibra *in vitro*). Os dois produtos foram fornecidos na concentração de 1×10^{10} UFC/dia. O consumo de matéria seca, o peso corporal e digestibilidade total dos nutrientes não foram afetados pelos tratamentos com levedura. A cepa 2 diminuiu o pH ruminal mínimo, médio e máximo, e prolongou o tempo em que o pH ruminal manteve-se acima de 5,8 em comparação com o controle e a cepa 1. A percentagem molar de acetato foi menor e propionato foi maior no líquido ruminal de vacas que receberam a cepa 2, em comparação com as vacas que não receberam levedura ou a cepa 1. A produção entérica de metano não diferiu entre ambos os tratamentos com levedura em comparação com o controle e tendeu a ser reduzida em 10% quando a cepa 2 foi comparada com a cepa 1.

O PFL também pode influenciar a fermentação ruminal e a população microbiana. Em um estudo *in vitro*, Fortina et al. (2011) avaliaram o efeito da levedura inativada na fermentação do rúmen ao acrescentar 1 g de levedura ao fluido de rúmen e incubar durante diferentes períodos. A cultura de levedura aumentou a digestibilidade da PB e da FDN após 48 h de incubação, mas não influenciou na digestibilidade da MS.

O PFL não teve efeito sobre a fermentação ruminal, digestibilidade dos nutrientes, ou perdas de N em vacas da raça Holandesa que receberam 56 g/d do PFL (Hristov et al., 2010). O fornecimento do PFL tendeu a reduzir a concentração de amônia ruminal e aumentar a síntese de proteína microbiana no rúmen. As vacas que receberam o PFL diminuíram as perdas de amônia e metano através das fezes.

A inclusão de *S. cerevisiae* aumentou IMS e a produção de leite e tendeu a aumentar o teor de gordura do leite (Descoyers et al., 2009). A levedura não influenciou o teor de proteína do leite. O consumo de MS e produção de leite tenderam a aumentar linearmente com a dose da levedura, mas teores de gordura e proteína do leite não foram afetados pela dose dos tratamentos. Os efeitos positivos da levedura na IMS foi aumentado com a maior proporção de concentrado na dieta, mas não foi alterada pela proporção de FDN e PB na dieta. O efeito da levedura na produção de leite aumentou com a IMS, a proporção de concentrado, FDN e PB na ração. O efeito da levedura no teor de gordura do leite não foi influenciado pela IMS, FDN dietética, ou percentual de PB, mas tendeu a ser aumentada pela proporção de concentrado na dieta (Descoyers et al., 2009).

AlZahal et al. (2014) forneceram PFL para vacas da raça Holandesa em lactação, as quais foram submetidas a um desafio para acidose ruminal subclínica com uma dieta com alto teor de grãos (49/51% - volumoso/concentrado) após 7 semanas, recebendo uma dieta com alto nível de forragens (77/23% - volumoso/concentrado). Os pesquisadores realizaram isolamento de DNA microbiano do conteúdo ruminal após o desafio e quantificaram este material através de PCR em tempo real. Foi observado que os animais que receberam o PFL apresentavam um número total de microrganismos ruminais nove vezes maior que o grupo controle. Em especial, foi apontado aumento de seis vezes na população de *Anaerovibrio lipolytica*, de duas vezes na *Fibrobacter succionogenes* e de 1,3 vezes na *Ruminococcus albus*, sendo os dois últimos grupos de bactérias conhecidas por degradarem fibra no rúmen (Kozloski, 2009). Além disso, os autores reportam que o grupo que recebeu o PFL teve maior produção de AGV, redução da depressão da gordura do leite e que o pH ruminal para as

vacas que receberam o PFL permaneceu acima de 5,6 (limite considerado no estudo para quadros de acidose ruminal subclínica) mais minutos por dia que o grupo controle.

De forma semelhante, Mullins et al. (2013) reportaram aumento na população de *Eubacterium ruminantium* quando forneceram PFL para vacas da raça Holandesa lactantes em dietas com 34% de glúten de milho. Apesar do resultado, os autores acrescentaram que existe uma grande especificidade de comunidade bacteriana entre animais, o que pode dificultar o efeito da levedura sobre o meio ambiente ruminal.

Vacas multíparas e primíparas recebendo 57 ou 227 g/d do PFL foram avaliadas entre 21 dias pré-parto até 21 dias pós-parto (Ramsing et al., 2009). Os animais alimentados com 57 g/d tiveram uma maior IMS pré-parto do que aqueles alimentados com 227 g/d. A IMS pós-parto e o peso corporal pré e pós-parto foram semelhantes para todos os grupos. A produção de leite foi maior em vacas com o fornecimento de PFL que nas vacas controle. A energia corrigida para leite, produção de leite corrigido para 3,5% de gordura e a produção de gordura do leite tendeu a ser maior para as vacas recebendo PFL do que as vacas controle. A produção de proteína do leite, percentagem de proteína do leite, o percentual de gordura no leite e a contagens de células somáticas não foram influenciados pelos tratamentos. Não houve efeito do PFL sobre β -hidroxibutirato, glicose, ou concentrações de ácidos graxos não esterificados do plasma pré ou pós-parto.

O PFL (60 g/d) aumentou na IMS de vacas da raça Jersey, entre 21 dias pré-parto até 140 dias pós-parto (Dann et al., 2000). A interação entre tratamento e dia indicou que as vacas com o PFL perderam peso mais lentamente após o parto e atingiram o pico de produção de leite mais rapidamente do que as vacas controle. No entanto, o leite total produzido durante os primeiros 140 dias de lactação não diferiram entre os tratamentos. As concentrações de gordura, proteína, lactose, sólidos totais e N ureico no leite, bem como a contagem de células somáticas, não foram afetados pelo PFL. Também Hristov et al. (2010) relataram que a inclusão diária de 56 g do PFL não teve efeito sobre a produção ou composição do leite.

O aumento na digestibilidade da fibra alimentar também está entre os efeitos promovidos pelas leveduras no ambiente ruminal. A levedura viva aumentou a taxa inicial de degradação do material fibroso no rúmen de novilhos Friesian alimentados com dietas com 60/40% concentrado-forragem (Williams et al., 1991) e provocou aumento na digestão da alfafa mais que da silagem de milho e de outras forragens (Adams et al., 1995, Miranda et al., 1996). Fortina et al. (2011) mostraram que o PFL aumentou a degradação da FDN *in vitro*.

Assim, a inclusão de PFL à dieta de vacas leiteiras pode melhorar consumo, digestibilidade e produção de leite, sem alterações na composição e qualidade do leite.

Mecanismos sistêmicos de ação

Os efeitos e modos de ação das leveduras sobre a microbiota ruminal têm sido extensivamente estudados nos últimos 20 anos. Diversos mecanismos são descritos, a maioria deles oriundos de pesquisas *in vitro*, mas também de pesquisas com modelos animais. Os três principais mecanismos que têm sido identificados são: o aumento da degradação da fibra e interação com microrganismos que degradam a parede celular das plantas, a estabilização do pH ruminal e interação com bactérias que metabolizam o ácido lático e o aumento no fluxo de N microbiano ruminal (Desnoyers et al., 2009, Hristov et al., 2010, Fortina et al., 2011).

O mecanismo de ação das leveduras não está claramente estabelecido. Hipóteses específicas dos benefícios destes produtos sobre a produção animal incluem a estimulação do crescimento das bactérias que digerem a fibra alimentar (Callaway e Martin, 1997) e com isso aumentando a digestibilidade, o que irá reduzir o efeito de enchimento ruminal e possibilitará maior ingestão de matéria seca; estimulação do crescimento de bactérias que utilizam o ácido lático, reduzindo a acumulação de ácido lático no rúmen (Nisbet e Martin, 1991); e aumentando o fluxo de proteína de origem microbiana para o duodeno (Yoon e Stern, 1996, Hristov et al., 2010). Além disso, o PFL tende a aumentar a concentração de amilase no rúmen (Hristov et al., 2010) e aumentando a digestibilidade ruminal do amido, pode-se aumentar a produção de leite em alguns casos.

Efeito das leveduras vivas e do produto da fermentação sobre a degradação da fibra no rúmen

A celulose e hemicelulose representam aproximadamente 300 g/kg da maioria das dietas de ruminantes. Estes polímeros da parede celular das plantas são insolúveis, estruturalmente complexos e não totalmente acessíveis fisiologicamente, o que explica o motivo de sua degradação algumas vezes ser limitada (Forsberg et al., 2000). Desta forma, as enzimas do hospedeiro são incapazes de hidrolisar este tipo de molécula. O fornecimento de PFL pode influenciar o crescimento e a atividade de microrganismos ruminais que degradam fibras, mas isso é mais observado *in vitro* (Fortina et al., 2011).

A germinação de zoósporos do fungo *Neocallimastix frontalis* foi estimulada *in vitro* pela *S. cerevisiae* e Chaucheyras et al.(1995) sugeriram que leveduras poderiam melhorar a colonização fúngica na parede celular das plantas. No mesmo estudo, a degradação da celulose de filtros de papel pelo *N. frontalis* foi estimulada pela presença de leveduras. Diversos modos de ação foram identificados neste efeito, sendo um deles o fornecimento de tiamina, que é uma vitamina necessária pelos fungos ruminais para zoosporogênese.

Um dos principais fatores implicados no efeito benéfico das leveduras sobre as bactérias que degradam as fibras é a capacidade da célula de levedura em captar oxigênio. Muitos dos microrganismos ruminais são altamente sensíveis ao oxigênio e Newbold et al. (1996) reportaram que cepas mutantes de *S. cerevisiae* respiratório-deficientes vivas foram incapazes de estimular o número de bactérias *in vitro*, enquanto cepas normais da mesma levedura foram capazes de consumir o oxigênio efetivamente e estimular a atividade bacteriana. Outros estudos reportaram que o potencial de redução (redox) do fluído ruminal foi baixo na presença de leveduras vivas em cordeiros (Chaucheyras-Durand e Fonty, 2002) e ovelhas (Jouany et al., 1998), sugerindo que células de leveduras vivas criaram uma condição ecológica mais favorável para o crescimento e atividade da microbiota anaeróbica. Em razão das leveduras vivas poderem liberar vitaminas ou outros fatores de crescimento intimamente associados às células bacterianas (Jouany, 2006), seu impacto sobre o potencial de redução poderia ser mediado pela microflora e não apenas um efeito direto do consumo de oxigênio.

Grande parte da atividade das polissacarídases e glicosídeo-hidrolases aumentam na presença de produtos a base de leveduras (Chaucheyras-Durand e Fonty, 2002). *In vitro*, a *S. cerevisiae* estimulou o crescimento da *Fibrobacter succinogenes* S85 e reduziu o atraso no tempo de crescimento da *Ruminococcus albus* 7, *Ruminococcus flavefaciens* FD1 e *Butyrivibrio fibrisolvens* D1 (Girard e Dawson, 1995).

Callaway e Martin (1997) demonstraram que a mesma levedura poderia acelerar, mas não estender, a degradação da celulose do papel filtro pela *F. succinogenes* S85 e *R. flavefaciens* FD1. Chaucheyras-Durand e Fonty (2002) reportaram que a proporção de RNA ribossômico 16S das três principais espécies bacterianas celulolíticas (*F. succinogenes*, *R. albus*, e *R. flavefaciens*) aumentou no rúmen de ovelhas alimentadas com leveduras vivas, confirmando um benefício no crescimento e/ou atividade destas bactérias. Um aumento de duas a quatro vezes no número de rRNA 16S de genes de *R. albus* e *R. flavefaciens* foram também mensurados com PCR em tempo real no conteúdo ruminal de ovelhas recebendo uma dieta com alto concentrado e leveduras (Mosoni et al., 2007). Tais efeitos podem

explicar a melhora na degradação das fibras no rúmen frequentemente reportada *in vivo* (Miranda et al., 1996, Chaucheyras-Durand e Fonty, 2002). Estes efeitos benéficos sobre a digestão da fibra podem ser particularmente responsáveis pelo aumento na ingestão de MS frequentemente observada com uso de leveduras (Jouany, 2006).

Acidose ruminal e efeito da levedura viva e do produto da fermentação sobre o pH ruminal

Estudos com animais têm reportado efeito do uso de leveduras na estabilidade do pH ruminal (Chaucheyras-Durand e Fonty, 2002, Desnoyers et al., 2009, AlZahal et al., 2014). Em ovelhas com cânula ruminal recebendo leveduras vivas durante a adaptação a dietas com 60% de concentrado, foi reportado que o pH do rúmen se manteve em valores compatíveis com um rúmen eficientemente funcional, isto é, acima de 6.0 e com alta atividade fibrolítica no rúmen destes animais comparados aos controle (Chaucheyras-Durand e Fonty, 2002). Williams et al. (1991) indicaram uma maior estabilidade do pH ruminal em vacas leiteiras com cânula ruminal alimentadas diariamente com leveduras. Nestes estudos, o pH ruminal próximo a alcalinidade (7,0) ocorreu juntamente com a baixa concentração de ácido láctico no rúmen de animais que receberam levedura. Uma redução na concentração de ácido láctico foi também reportado em incubação *in vitro* de microrganismos ruminais (Lynch e Martin, 2002), que poderia ser devido a uma interação entre as células das leveduras e bactérias que metabolizam ácido láctico.

Adicionalmente, foi demonstrado *in vitro* que cepas de *S. cerevisiae* vivas foram capazes de superar numericamente a *S. bovis* quando competindo pela utilização do açúcar, que conseqüentemente, limitou a quantidade de ácido láctico produzido por esta espécie bacteriana (Chaucheyras et al., 1996). Este efeito foi observado quando com a utilização de leveduras vivas, mas o efeito foi perdido quando foram utilizadas células inativadas pelo calor. Além do mais, a estimulação do crescimento e metabolismo de bactérias utilizadoras de ácido láctico, tais como *M. Elsdenii* ou *S. ruminantium*, tem sido observado *in vitro* na presença de várias leveduras (Nisbet e Martin, 1991, Rossi et al., 2004) através da suplementação de fatores de crescimento, tais como aminoácidos, peptídeos, vitaminas e ácidos orgânicos, que parecem ser componentes essenciais para bactérias fermentadoras de ácido láctico. Estes resultados demonstram o potencial das leveduras no controle da neutralização do pH e também no acúmulo de ácido láctico no rúmen. Entretanto, em muitas circunstâncias práticas, o ácido láctico é acumulado no rúmen somente em baixos níveis e os

padrões de fermentação e a acidificação do pH são dirigidos pela alta concentração de AGV total (maior que 150 mM) (Brossard et al., 2004).

Um dos resultados mais consistentes observados com leveduras na dieta de ruminantes é um aumento no número de células bacterianas ruminais. Alguns trabalhos (Newbold et al., 1996, Mullins et al., 2013, AlZahal et al., 2014) têm reportado aumento nas bactérias viáveis que seria recorrente do rúmen de animais alimentados com *S. cerevisiae*. Com o aumento da população bacteriana, a necessidade de nitrogênio (N) disponível no rúmen aumenta, devido a maior fermentação ruminal das proteínas alimentares e formação de amônia. Assim, se for fornecido N disponível suficiente no meio, é esperado que um aumento na proporção de esqueletos de carbono esteja disponível para a síntese de proteína microbiana, sendo esta quantidade de N maior que a utilizada para fermentação e produção de AGV como produto final. Desta forma, um aumento no número de células microbianas viáveis no rúmen promovido pelo PFL pode minimizar o aumento na concentração ruminal de AGV evitando assim a acidificação do pH ruminal.

Bach et al. (2007) relataram que o fornecimento do PFL aumentou o pH médio e a média do pH máximo em 0,5 unidades e a média mínima de pH em 0,3 unidades de vacas em lactação. Além disso, os autores descreveram uma mudança no comportamento alimentar de vacas que receberam o PFL tendo um curto intervalo entre alimentações (3,32 horas) contra vacas controle (4,32 horas). Os autores sugeriram que esta mudança no comportamento alimentar pode também ser responsável pela mudança no pH ruminal. Um estudo similar com vacas em sistema *tie-stall*, Thrune et al. (2009), reportaram um aumento na média do pH do rúmen de 0,2 unidades quando compararam vacas com PFL com vacas controle.

Em casos de acidose ruminal subclínica, que pode evoluir rapidamente para acidose aguda em circunstâncias deteriorantes, o impacto das leveduras não têm sido bem estudado, mas é provável que produtos compostos com leveduras vivas tenham a habilidade de utilizar o amido e açúcares solúveis promovendo, assim, um papel importante na redução da taxa de produção de ácidos no rúmen. Lynch e Martin (2002) compararam o efeito de um produto com leveduras vivas e um preparado de leveduras mortas *in vitro* sobre o pH ruminal e encontraram que, quando amido solúvel ou feno de alfafa foram incubados, o pH reduziu com o preparado de leveduras mortas, mas aumentou com as leveduras vivas.

Brossard et al. (2004) citaram o efeito de uma cepa de *S. cerevisiae* na fermentação ruminal em ovelhas alimentadas com uma dieta com 600 g/kg de grão de trigo, em que a levedura viva foi eficiente na estabilização do pH ruminal pela estimulação dos protozoários

ciliados Entodiniomorfos, que são conhecidos por engolfar rapidamente grânulos de amido e competem eficientemente com o substrato de bactérias amilolíticas (Williams e Coleman, 1997). Em adição, o amido é fermentado em uma taxa mais baixa pelos protozoários do que pelas bactérias amilolíticas e os principais produtos finais da fermentação são os AGV, em quantidade maior que o ácido láctico, que é outro motivo pelo qual os ciliados têm o efeito na estabilidade do pH do rúmen (Williams e Coleman, 1997). Em adição, os Entodiniomórfos são também capazes de captar algum ácido láctico e isso pode prevenir a acumulação no rúmen (Satyanarayana e Kunze, 2009).

Efeito de leveduras vivas e do produto da fermentação no metabolismo de nitrogênio e na proteína microbiana

A conversão microbiana de peptídeos e aminoácidos para amônia no rúmen é desfavorável ao animal hospedeiro porque certa quantidade de energia é necessária para a síntese de proteína microbiana, não sendo a totalidade da amônia convertida para proteína (Wallace et al., 1997). Consequentemente, se um alto nível de amônia estiver presente no rúmen, uma grande quantidade de N é excretada na urina e fezes.

Alguns autores em seus trabalhos, têm sugerido mudanças no metabolismo de N dos microrganismos ruminais na presença de leveduras (Erasmus et al., 1992, Hristov et al., 2010). Chaucheyras-Durand et al., (2005) em um estudo *in vitro* indicaram que uma cepa de levedura viva poderia influenciar o crescimento e a atividade das bactérias ruminais proteolíticas por limitar sua atuação sobre proteínas e peptídeos. O mecanismo de ação da levedura pode ser devido à competição entre as células de *S. cerevisiae* e as bactérias pelo fornecimento de energia e por um efeito inibitório direto de pequenos peptídeos da levedura nas peptidases bacterianas.

Bactérias ruminais fibrolíticas têm alta preferência por amônia como fonte de N (Enjalbert et al., 1999). Desta forma, se o crescimento das bactérias que degradam fibras melhora com a presença de produtos de leveduras, um aumento na utilização da amônia ruminal para síntese de proteína microbiana pode ser esperado. Tal fato foi confirmado por Hristov et al. (2010) que relataram redução na concentração de amônia no rúmen e aumento na síntese de proteína microbiana de vacas de leite que receberam PFL.

Alternativas alimentares como a inclusão do PFL têm demonstrado efeito benéfico sobre o controle do pH ruminal, aumento na degradação da fibra alimentar, aumento no

crescimento e número de bactérias ruminais. A taxa de passagem de N de origem microbiana para o duodeno aumentou em 38 g/d para vacas em lactação alimentadas com cultura de levedura comparadas as controle (Erasmus et al., 1992).

Estudos realizados com o objetivo de determinar os efeitos do PFL em vacas em lactação ainda são encontrados em pequeno número na literatura e a maioria faz observações dos parâmetros produtivos e algumas avaliações ruminais (Bruno et al., 2009, Nocek et al., 2011, AlZahal et al., 2014). Desta forma, para um melhor entendimento da forma de ação das leveduras no ambiente ruminal, é necessário a comparação com trabalhos que utilizaram leveduras vivas ou inativadas com o PFL. Alguns autores citaram que a diferença entre o mecanismo sistêmico de ação das leveduras vivas e o PFL está somente na capacidade de captação de oxigênio e competição por substrato, como o amido, entre as leveduras vivas e os microrganismos ruminais (Satyanarayana e Kunze, 2009, Nocek et al., 2011), o que não ocorre com o uso de PFL como aditivo nutricional.

As leveduras vivas permanecem ativas dentro do rúmen somente por algum tempo, enquanto existir quantidade de oxigênio e substratos necessários para sua sobrevivência. Após este período, as leveduras morrem e a lise celular libera os componentes da membrana celular e que têm efeito para os microrganismos do rúmen da mesma forma que os PFL. (Delcenserie et al., 2008).

Muito ainda necessita ser esclarecido sobre o mecanismo de ação das leveduras no rúmen (vivas ou PFL), como possíveis efeitos sobre receptores de membrana nas papilas ruminais e sobre a influência no crescimento das bactérias ruminais. Entretanto, os efeitos sobre o aumento na IMS, estabilidade do pH ruminal, aumento da produção de leite, redução da concentração de ácido láctico no rúmen e aumento da multiplicação de bactérias celulolíticas e conseqüentemente, da digestibilidade da FDN têm sido relatos na maioria dos estudos aqui revisados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

Adams, A. L., B. Harris, Jr., H. H. Van Horn, e C. J. Wilcox. 1995. Effects of varying forage types on milk production responses to whole cottonseed, tallow, and yeast. *J Dairy Sci.* 78(3):573-581.

- Agle, M., A. N. Hristov, S. Zaman, C. Schneider, P. M. Ndegwa, e V. K. Vaddella. 2010. Effect of dietary concentrate on rumen fermentation, digestibility, and nitrogen losses in dairy cows. *J Dairy Sci.* 93(9):4211-4222.
- Allen, M. S. e Y. Ying. 2012. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on ruminal starch digestion are dependent upon dry matter intake for lactating cows. *J Dairy Sci.* 95(11):6591-6605.
- AlZahal, O., L. Dionissopoulos, A. H. Laarman, N. Walker, e B. W. McBride. 2014. Active dry *Saccharomyces cerevisiae* can alleviate the effect of subacute ruminal acidosis in lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 97:1-13.
- Bach, A., C. Iglesias, e M. Devant. 2007. Daily rumen pH pattern of loose-housed dairy cattle as affected by feeding pattern and live yeast supplementation. *Anim Feed Sci. Technol* 136(12):146-153.
- Brossard, L., C. Martin, F. Chaucheyras-Durand, e B. Michalet-Doreau. 2004. Protozoa involved in butyric rather than lactic fermentative pattern during latent acidosis in sheep. *Reprod Nutr Dev.* 44(3):195-206.
- Bruno, R.G.S., H.M. Rutigliano, R.L. Cerri, P.H. Robinson, e J.E.P. Santos. 2009. Effect of feeding *Saccharomyces Cerevisiae* on performance of dairy cows during summer heat stress. *Anim Feed Sci Technol.* 150:175-186.
- Callaway, E. S. e S. A. Martin. 1997. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on ruminal bacteria that utilize lactate and digest cellulose. *J Dairy Sci.* 80(9):2035-2044.
- Chaucheyras, F., G. Fonty, G. Bertin, e P. Gouet. 1995. Effects of live *Saccharomyces cerevisiae* cells on zoospore germination, growth, and cellulolytic activity of the rumen anaerobic fungus, *Neocallimastix frontalis* MCH3. *Curr Microbiol.* 31(4):201-205.
- Chaucheyras, F., G. Fonty, G. Bertin, J. M. Salmon, e P. Gouet. 1996. Effects of a strain of *Saccharomyces cerevisiae* (Levucell SC1), a microbial additive for ruminants, on lactate metabolism in vitro. *Can J Microbiol.* 42(9):927-933.
- Chaucheyras-Durand, F. e H. Durand. 2010. Probiotics in animal nutrition and health. *Benef Microb.* 1(1):3-9.
- Chaucheyras-Durand, F. e G. Fonty. 2002. Influence of a probiotic yeast (*Saccharomyces cerevisiae* CNCMI-1077) on microbial colonization and fermentation in the rumen of newborn lambs. *Microb Ecol Health Dis.* 14:30-36.

- Chaucheyras-Durand, F. D. R., S. b. Massaglia, e G. R. Fonty. 2005. Effect of the microbial feed additive *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-1077 on protein and peptide degrading activities of rumen bacteria grown *In Vitro*. *Current Microb.* 50(2):96-101.
- Chung, Y. H., N. D. Walker, S. M. McGinn, e K. A. Beauchemin. 2011. Differing effects of 2 active dried yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) strains on ruminal acidosis and methane production in nonlactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 94(5):2431-2439.
- Cooper, R., T. J. Klopfenstein, R. Stock, C. Parrott, e D. Herold. 1997. Effect of rumensin and feed intake variation on ruminal pH. *Nebraska Beef Report*:430.
- Dann, H. M., J. K. Drackley, G. C. McCoy, M. F. Hutjens, e J. E. Garrett. 2000. Effects of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on prepartum intake and postpartum intake and milk production of Jersey cows. *J Dairy Sci.* 83(1):123-127.
- Delcenserie, V., D. Martel, M. Lamoureux, J. Amiot, Y. Boutin, e D. Roy. 2008. Immunomodulatory effects of probiotics in the intestinal tract. *Curr Issues Mol Biol.* 10(1-2):37-54.
- Desnoyers, M., S. Giger-Reverdin, G. Bertin, C. Duvaux-Ponter, e D. Sauvant. 2009. Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. *J Dairy Sci.* 92(4):1620-1632.
- Enemark, J. r. M. D. 2008. The monitoring, prevention and treatment of sub-acute ruminal acidosis (SARA): A review. *The Vet J.* 176(1):32-43.
- Enjalbert, F., J. E. Garrett, R. Moncoulon, C. Bayourthe, e P. Chicoteau. 1999. Effects of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on ruminal digestion in non-lactating dairy cows. *Anim Feed Sci Technol.* 76(34):195-206.
- Erasmus, L. J., P. M. Botha, e A. Kistner. 1992. Effect of yeast culture supplement on production, rumen fermentation, and duodenal nitrogen flow in dairy cows. *J Dairy Sci.* 75(11):3056-3065.
- Erasmus, L. J., P. H. Robinson, A. Ahmadi, R. Hinders, e J. E. Garrett. 2005. Influence of prepartum and postpartum supplementation of a yeast culture and monensin, or both, on ruminal fermentation and performance of multiparous dairy cows. *Anim Feed Sci Technol.* 122(34):219-239.
- Forsberg, C. W., E. Forano, e A. Chesson. 2000. Microbial adherence to the plant cell wall and enzymatic hydrolysis. Pages 79-97 in *Ruminant physiology: digestion, metabolism, growth and reproduction*. P. B. Cronje, ed.

- Fortina, R., L. M. Battaglini, F. Opsi, S. Tassone, M. Renna, e A. Mimosi. 2011. Effects of inactivated yeast culture on rumen fermentation and performance of mid-lactation dairy cows. *J Anim Vet Advan.* 10(5):577-580.
- Garner, M. R., M. R. Gronquist, e J. B. Russell. 2004. Nutritional requirements of *Allisonella histaminiformans*, a ruminal bacterium that decarboxylates histidine and produces histamine. *Curr Microbiol.* 49(4):295-299.
- Girard, E. e J. Dawson. 1995. Effect of a yeast culture on growth characteristics of representative ruminal bacteria. *J Anim Sci.* 73:264.
- Hippen, A. R., D. J. Schingoethe, K. F. Kalscheur, P. L. Linke, D. R. Rennich, M. M. Abdelqader, e I. Yoon. 2010. *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product in dairy cow diets containing dried distillers grains plus solubles. *J Dairy Sci.* 93:2661-2669.
- Hristov, A. N., G. Varga, T. Cassidy, M. Long, K. Heyler, S. K. Karnati, B. Corl, C. J. Hovde, e I. Yoon. 2010. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on ruminal fermentation and nutrient utilization in dairy cows. *J Dairy Sci.* 93(2):682-692.
- Irvine, L. D., M. J. Freeman, D. J. Donaghy, I. Yoon, G. Lee, e J. R. Roche. 2011. Short communication: Responses to supplemental *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product and triticale grain in dairy cows grazing high-quality pasture in early lactation. *J Dairy Sci.* 94:3119-3123.
- Jouany, J. P. 2006. Optimizing rumen functions in the close-up transition period and early lactation to drive dry matter intake and energy balance in cows. *Anim Reprod Sci.* 96(3-4):250-264.
- Jouany, J. P., F. Mathieu, J. Senaud, J. Bohatier, G. Bertin, e M. Mercier. 1998. The effect of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* on the digestion of the cell wall fraction of a mixed diet in defaunated and refaunated sheep rumen. *Reprod Nutr Dev.* 38(4):401-416.
- Khafipour, E., S. Li, J. C. Plaizier, e D. O. Krause. 2009. Rumen microbiome composition determined using two nutritional models of subacute ruminal acidosis. *Appl Environ Microbiol.* 75(22):7115-7124.
- Kozloski, G. V. 2009. *Bioquímica dos Ruminantes*. 2a Edição ed. Editora UFSM.
- Lynch, H. A. e S. A. Martin. 2002. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* culture and *Saccharomyces cerevisiae* live cells on in vitro mixed ruminal microorganism fermentation. *J Dairy Sci.* 85(10):2603-2608.

- Marden, J. P., C. Julien, V. Monteils, E. Auclair, R. Moncoulon, e C. Bayourthe. 2008. How does live yeast differ from sodium bicarbonate to stabilize ruminal pH in high-yielding dairy cows? *J Dairy Sci.* 91(9):3528-3535.
- Miranda, R. L. A., M. G. D. Mendoza, J. R. Barcena-Gama, M. S. S. Gonzalez, R. Ferrara, C. M. E. Ortega, e P. M. A. Cobos. 1996. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* or *Aspergillus oryzae* cultures and NDF level on parameters of ruminal fermentation. *Anim Feed Sci. Technol.* 63(14):289-296.
- Mohammed, R., D. M. Stevenson, P. J. Weimer, G. B. Penner, e K. A. Beauchemin. 2012. Individual animal variability in ruminal bacterial communities and ruminal acidosis in primiparous Holstein cows during the periparturient period. *J Dairy Sci.* 95(11):6716-6730.
- Mosoni, P., F. Chaucheyras-Durand, C. Bera-Maillet, e E. Forano. 2007. Quantification by real-time PCR of cellulolytic bacteria in the rumen of sheep after supplementation of a forage diet with readily fermentable carbohydrates: effect of a yeast additive. *J Appl Microbiol.* 103(6):2676-2685.
- Mullins, C. R., L. K. Mamedova, A. J. Carpenter, Y. Ying, M. S. Allen, I. Yoon, e B. J. Bradford. 2013. Analysis of rumen microbial populations in lactating dairy cattle fed diets varying in carbohydrate profiles and *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product. *J Dairy Sci.* 96(9):5872-5881.
- Newbold, C. J., R. J. Wallace, e F. M. Mcintosh. 1996. Mode of action of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a feed additive for ruminants. *British J Nutrit.* 76(02):249-261.
- Nisbet, D. J. e S. A. Martin. 1991. Effect of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on lactate utilization by the ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. *J Anim Sci.* 69(11):4628-4633.
- Nocek, J. E. 1997. Bovine acidosis: implications on laminitis. *J Dairy Sci.* 80(5):1005-1028.
- Nocek, J. E., M. G. Holt, e J. Oppy. 2011. Effects of supplementation with yeast culture and enzymatically hydrolyzed yeast on performance of early lactation dairy cattle. *J Dairy Sci.* 94(8):4046-4056.
- National Research Council, 2001. Nutrient requirements of dairy cattle, 7th revised ed. National Academic Science, Washington, DC, USA.
- Ofek, I., D. Mirelman, e N. Sharon. 1977. Adherence of *Escherichia coli* to human mucosal cells mediated by mannose receptors. *Nature* 265(5595):623-625.

- Plaizier, J.C., E. Khafipour, S. Li, G.N. Gozho, D.O. Krause. 2012. Subacute ruminal acidosis (SARA), endotoxins and health consequences. *Anim. Feed Sci Technol.* 172:9-21.
- Poppy, G. D., A. R. Rabiee, I. J. Lean, W. K. Sanchez, K. L. Dorton, e P. S. Morley. 2012. A meta-analysis of the effects of feeding yeast culture produced by anaerobic fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* on milk production of lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 95:6027-6041.
- Rabiee, A. R., Lean, I. J., Dorton, K. L., Emgstrom, M. E. e Sanchez. W. K. 2008. Effect of feeding Diamond V Yeast Culture on milk production and dry matter intake in lactating dairy cows: A meta-analysis. *J Dairy Sci.* 86 (Suppl. 1).
- Ramirez, H. A. R., K. Nestor, L. O. Tedeschi, T. R. Callaway, S. E. Dowd, S. C. Fernando, e P. J. Kononoff. 2012. The effect of brown midrib corn silage and dried distillers' grains with solubles on milk production, nitrogen utilization and microbial community structure in dairy cows. *Canadian J Anim Sci.* 92(3):365-380.
- Ramsing, E. M., J. A. Davidson, P. D. French, I. Yoon, M. Keller, e H. Peters-Fleckenstein. 2009. Effects of yeast culture on peripartum intake and milk production of primiparous and multiparous Holstein cows. *The Prof Anim Scient.* 25(4):487-495.
- Rossi, F., A. D. Luccia, D. Vincenti, e P. S. Cocconcelli. 2004. Effects of peptidic fractions from *Saccharomyces cerevisiae* culture on growth and metabolism of the ruminal bacteria *Megasphaera elsdenii*. *Anim Res.* 53(3):177-186.
- Russell, J. B. e T. Hino. 1985. Regulation of lactate production in *Streptococcus bovis*: a spiraling effect that contributes to rumen acidosis. *J Dairy Sci.* 68(7):1712-1721.
- Russell, J. B. e D. B. Wilson. 1996. Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH? *J Dairy Sci.* 79(8):1503-1509.
- Satyanarayana, T. e G. Kunze. 2009. *Yeast Biotechnology: diversity and applications: diversity and applications.* Springer.
- Schiavone, M., A. Vax, C. Formosa, H. Martin-Yken, E. Dague e J. M. François. 2014. A combined chemical and enzymatic method to determine quantitatively the polysaccharide components in the cell wall of yeasts. *FEMS Yeast Res.* 14:933-947.
- Shen, Y. B., J. A. Carroll, I. Yoon, R. D. Mateo, e S. W. Kim. 2011. Effects of supplementing *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product in sow diets on performance of sows and nursing piglets. *J Anim Sci.* 89(8):2462-2471.

- Spring, P., C. Wenk, K. A. Dawson, e K. E. Newman. 2000. The effects of dietary mannaoligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in the ceca of salmonella-challenged broiler chicks. *Poultry Sci.* 79(2):205-211.
- Steele , M. A., O. AlZahal , M. E. Walpole , and B. W. McBride. 2012. Short communication: Grain-induced subacute ruminal acidosis is associated with the differential expression of insulin-like growth factor-binding proteins in rumen papillae of lactating dairy cattle. *J Dairy Sci.* 95:6072-6076.
- Throne, M., A. Bach, M. Ruiz-Moreno, M. D. Stern, e J. G. Linn. 2009. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* on ruminal pH and microbial fermentation in dairy cows: Yeast supplementation on rumen fermentation. *Livest Sci.* 124(13):261-265.
- Zaworski, E. M., C. M. Shriver-Munsch, N. A. Fadden, W. K. Sanchez, I. Yoon, e G. Bobe. 2014. Effects of feeding various dosages of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product in transition dairy cows. *J Dairy Sci.* 97:3081-3098.
- Wallace, R., R. Onodera, e M. A. Cotta. 1997. Metabolism of nitrogen-containing compounds. Pages 283-328 in *The Rumen Microbial Ecosystem*. C. Hall, ed, London.
- Weimer, P. J., D. M. Stevenson, e D. R. Mertens. 2010. Shifts in bacterial community composition in the rumen of lactating dairy cows under milk fat-depressing conditions. *J Dairy Sci.* 93(1):265-278.
- Williams, P. E., C. A. Tait, G. M. Innes, e C. J. Newbold. 1991. Effects of the inclusion of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae* plus growth medium) in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of steers. *J Anim Sci.* 69(7):3016-3026.
- Williams, R. e R. Coleman. 1997. The rumen protozoa. Pages 73-139 in *The Rumen Microbial Ecosystem*. C. Hall, ed, London.
- Yoon, I. K. e M. D. Stern. 1996. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* cultures on ruminal fermentation in dairy cows. *J Dairy Sci.* 79(3):411-417.

OBJETIVOS GERAIS

Avaliar os efeitos da inclusão do produto da fermentação da *Saccharomyces cerevisiae* sobre o consumo, desempenho produtivo, parâmetros sanguíneos, digestibilidade ruminal e total, pH ruminal e fluxo de proteínamicrobiana em vacas alimentadas com dois níveis de amido.

Determinar se a inclusão do produto da fermentação da *S. cerevisiae* é capaz de amenizar os efeitos da acidose ruminal subclínica.

INCLUSÃO DO PRODUTO DA FERMENTAÇÃO DE LEVEDURAMELHORA O DESEMPENHO PRODUTIVO DE VACAS LEITEIRAS

RESUMO

A inclusão diária de produtos à base de leveduras, especialmente a *Saccharomyces cerevisiae* tem se mostrado promissora na melhoria do desempenho produtivo de vacas leiteiras. Neste trabalho objetivou-se avaliar o efeito da inclusão diária com um produto da fermentação da *S. cerevisiae* sobre o desempenho produtivo, composição do leite, balanço energético e metabólitos plasmáticos de vacas leiteiras em lactação recebendo dietas com dois níveis de amido. No estudo, foram utilizadas 56 vacas em início de lactação com peso médio de $601,7 \pm 69,1$ kg e produção de leite de $40,0 \pm 4,9$ kg/d. Os tratamentos iniciaram com 21 dias de lactação e perduraram por 91 dias. O experimento foi delineado em blocos casualizado em esquema fatorial 2 x 2. Os tratamentos consistiram na adição ou não do produto da fermentação de levedura (PFL) em dietas com dois níveis de amido (23 e 29%). Diariamente, foram mensurados o consumo e as sobras, a produção de leite, e o peso das vacas. Semanalmente, foram mensurados o escore de condição corporal e foi coletado leite, para determinar a composição do leite, e sangue, nas 5 primeiras semanas. Na última semana, um desafio à acidose ruminal subclínica foi realizado e amostras de leite e sangue foram coletadas após o desafio. A inclusão do PFL aumentou a produção de leite corrigido para 3,5% de gordura em 2,2 kg/d. Comparando o grupo que recebeu PFL com o grupo controle, foi observado diferença na composição do leite na produção de gordura (1,55 vs. 1,45 kg/d), proteína (1,18 vs. 1,12 kg/d) e lactose (1,98 vs. 1,90 kg/d). O teor de amido teve efeito somente sobre a proteína do leite e sobre a glicose e N ureico plasmático. Após o desafio à acidose ruminal, foi observado efeito do teor de amido sobre a glicose, AGNE e a haptoglobina. Conclui-se que a inclusão do PFL aumenta a produção de leite e a alimentação

com alto teor de amido aumenta a produção de proteína no leite e a glicose plasmática. Quando O PFL foi utilizado junto com dietas com alto amido, os efeitos de acidose mostraram-se atenuados e um melhor ambiente ruminal pode ter ocorrido pela redução do N ureico plasmático.

Palavras-chave: acidose ruminal, alto amido, produção de leite, *Saccharomyces cerevisiae*

INTRODUÇÃO

O uso de leveduras como aditivo alimentar em vacas leiteiras tem sido amplamente utilizado nos últimos anos em propriedades comerciais e tem sido estudado nos últimos 20 anos devido a inúmeros benefícios das leveduras reportados na literatura e por parte dos produtores (Irvine et al., 2011, Allen e Ying, 2012, Poppy et al., 2012). O produto da fermentação de levedura (PFL), principalmente da *Saccharomyces cerevisiae*, tem se mostrado eficaz para aumentar a ingestão de matéria seca (IMS), aumentar a produção e os sólidos do leite, evitar a acidificação do pH ruminal, aumentar a concentração de AGV e a digestão de nutrientes (Fortina et al., 2011, AlZahal et al., 2014, Zawoeski et al., 2014). A maioria desses efeitos mostraram-se mais evidentes com o uso concomitante de dietas com alto teor de carboidratos prontamente fermentáveis (Desnoyers et al., 2009).

Embora alguns estudos mostrem efeito significativo do uso de *S. cerevisiae* em ruminantes, outros não têm reportado os mesmos resultados. Bruno et al. (2009) e Hippen et al. (2010) não observaram efeito sobre a IMS de vacas ao receber o PFL. Entretanto, os autores observaram aumento na produção de leite em 1,2 e 1,6 kg/d, respectivamente, além de aumento na produção de proteína e lactose no leite. Entretanto, Putnam et al. (1997) reportaram aumento na IMS de 0,9 kg/d, aumento na produção de leite e na proteína do leite de vacas que receberam PFL na dieta. Os autores ainda observaram que a inclusão do PFL não influenciou o pH ruminal, a concentração de amônia, a digestibilidade dos nutrientes

e a glicose plasmática. A IMS também aumentou para as vacas no pré e no pós-parto que receberam PFL no estudo de Ramsing et al. (2009), bem como a produção de leite após o parto. Os autores também reportam mudança no comportamento alimentar dos animais tratados com PFL, com aumento no número de refeições por dia. Entretanto, nenhum efeito sobre a glicose e os ácidos graxos não esterificados (AGNE) foi observado. Allen e Ying (2012) não indicaram efeito sobre IMS, digestibilidade, pH ruminal para vacas recebendo PFL. Porém, os autores observaram um aumento na concentração de amônia ruminal das vacas que receberam o PFL, sugerindo que houve uma maior fermentação ruminal.

Essa variação nos resultados observados nos estudos com PFL é um fator importante que dificulta a utilização destes produtos corretamente e com alta eficiência. A discrepância nos dados reportados na literatura se devem a diversos motivos: existe uma variação muito grande entre os produtos, como a cepa de levedura utilizada, a forma de produção do produto, a dose utilizada, o meio de cultivo e crescimento da levedura, a natureza da dieta, a forma de fornecimento do produto, o manejo da propriedade, o estado fisiológico e sanitário dos animais (Chaucheyras-Durand e Durand, 2010).

Objetivou-se com este estudo investigar o efeito da inclusão diária com o produto da fermentação da *S. cerevisiae* em dois níveis de amido na dieta em relação ao desempenho produtivo, composição do leite, peso, condição corporal e parâmetros sanguíneos de vacas da raça Holandesa no início de lactação. Também foi observado se o PFL poderia ter efeito nos metabólitos sanguíneos, após as vacas serem desafiadas a um quadro de acidose ruminal subclínica.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi conduzido com 56 vacas (36 multíparas e 20 primíparas) da raça Holandesa selecionadas a partir do rebanho da Unidade Leiteira da Universidade da Flórida,

Gainesville, Florida, EUA. Todos os procedimentos envolvendo animais foram aprovados no protocolo experimental número 007-13ANS pelo Comitê de Pesquisa Animal Não-Regulatório da Universidade da Flórida.

Animais, tratamentos e procedimentos experimentais

Durante oito dias antes do início do experimento (período pré-experimental), os animais foram alojados em estábulo tipo *free-stall* equipado com portões de alimentação eletrônicos (Calan gates – Calan Broadbent feeding system, American Calan Inc., Northwood, NH, EUA) e receberam ração total misturada, sendo 50% concentrado e 50% volumoso. Os dados de produção coletados durante este período foram usados como covariável para ajustar as análises estatísticas dos dados experimentais.

No início do experimento, os animais estavam com 21 dias em lactação e apresentaram em média $601,7 \pm 69,1$ kg de peso corporal, $40,0 \pm 4,9$ kg de leite produzido ao dia.

Foi utilizado o delineamento em blocos casualizado em esquema fatorial 2×2 . As vacas foram blocadas por ordem de parto (primíparas ou multíparas) e por produção de leite, e dentro de cada bloco, as vacas foram aleatoriamente inseridas em um dos quatro tratamentos por 13 semanas.

Os tratamentos experimentais consistiram em: 1) dieta baixo amido sem produto da fermentação de levedura (PFL); 2) dieta alto amido sem PFL; 3) dieta baixo amido + PFL e 4) dieta alto amido + PFL. OPFL utilizada foi à base de um produto da fermentação da *Saccharomyces cerevisiae* (Rumen Yeast, ICC Brazil, São Paulo, SP), o qual é composto por células inativas de *S. cerevisiae*, uma alta concentração de metabólitos produzidos durante a fermentação da levedura e do meio de crescimento (Tabela 1). Foi utilizada uma dose de 15 g de PFL por vaca por dia. Esta quantidade de PFL fornecida para as vacas foi misturada com

milho moído fino em uma proporção de 15% de PFL. Uma dose de 90 g de MS da mistura foi oferecida por vaca, a qual foi adicionada sobre o alimento da manhã. As vacas dos tratamentos sem a inclusão do PFL receberam 90 g de milho moído fino (MS) sem adição de PFL.

As vacas foram alimentadas com uma mesma ração total misturada (RTM) duas vezes ao dia (07:30 e 13:00 h) para uma ingestão ad libitum permitindo 5% de sobras com base na matéria natural. A RTM foi composta por silagem de milho, silagem de triticale e uma ração concentrada base (baixo amido). Os animais pertencentes aos tratamentos contendo dieta alto amido receberam uma ração concentrada de grãos adicional para a dieta alcançar 29% de amido. As dietas (Tabela 2) foram formuladas para atender as exigências em energia metabolizável e proteína bruta (NRC, 2001) para vacas da raça Holandesa pesando 630 kg e produzindo em média 42 kg de leite contendo 3,5% de gordura e 3,1% de proteína, com IMS de 23 kg/d.

Uma vez por semana, as forragens e a mistura de grãos foram coletadas, secas a 55°C e armazenadas para posterior análise. A ingestão de matéria seca (IMS) foi calculada com base na matéria seca (MS) dos alimentos determinada a 105°C. As amostras semanais foram homogeneizadas, formando compostos mensais para determinação da MS, cinzas, proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e minerais.

As vacas foram ordenhadas duas vezes por dia (08:30h e 20:30h) e a produção de leite diária foi determinada pelo sistema Afikim Milking (AfiFlo milk meters, S.A.E. Afikim). O sistema AfiLab foi calibrado uma vez por mês com os dados de produção e composição do leite de 450 vacas analisadas pelo laboratório Southeast DHIA em Bellview, FL, EUA. Uma vez por semana, amostras de leite foram coletadas nas ordenhas da manhã e da noite. As amostras foram coletadas por vaca e armazenadas em recipientes contendo o conservante bromopol e enviado a um laboratório comercial (Southeast DHIA) para determinação da concentração de gordura, proteína, lactose e contagem células somáticas. A

produção de leite corrigida para 3,5% de gordura foi calculada como $[(0,4324 \times \text{produção de leite}) + (16,218 \times \text{produção de gordura no leite})]$ (NRC, 2001). A energia corrigida para produção de leite foi calculada como $[(0,3246 \times \text{produção de leite}) + (12,86 \times \text{produção de gordura}) + (7,04 \times \text{produção de proteína})]$ (NRC, 2001).

Peso corporal, escore do condicionamento corporal e determinação do balanço energético

Imediatamente após cada ordenha, as vacas foram pesadas em balança eletrônica localizada na saída da sala de ordenha (AfiWeigh, S.A.E. Afikim). O escore de condição corporal (ECC) foi determinado uma vez por semana usando uma escala de 1 a 5 (Ferguson et al., 1994) com incremento de 0,25 unidades, sempre pelo mesmo avaliador.

O balanço energético foi calculado usando a ingestão de calorias diárias, calculada com base na ingestão de matéria seca e no conteúdo de energia da dieta em 3 vezes da manutenção (Weiss, 1998) menos a soma das exigências diárias em calorias para manutenção $(0,08 \times \text{peso corporal}^{0,75})$ e as calorias secretadas pelo leite de acordo com a produção de gordura, proteína e lactose $\{\text{produção de leite} \times [(0,0929 \times \% \text{ de gordura}) + (0,0563 \times \% \text{ de proteína}) + (0,0395 \times \% \text{ de lactose})]\}$. O balanço energético médio durante a semana foi usado para ajustar a dieta das vacas. Uma média dos valores diários foi transformada em valor semanal para análises estatísticas.

Análises químicas das dietas

As amostras secas compostas mensalmente de silagem de milho, silagem de triticale, da ração concentrada e o suplemento de grãos adicional foram moídos em peneira de 1mm em moinho Wiley (Thomas Scientific, Swedesboro, NJ, EUA). As amostras foram então analisadas para MS (105°C por 12h), matéria orgânica (MO - 512°C por 8h) e analisadas na

sequência para FDN, usando α -amilase estável ao calor e FDA (Van Soest et al., 1991) com o sistema analisador de fibra Ankom (Ankom Technology, Macedon, NY, EUA) e para nitrogênio (N), usando um método automatizado de quantitativo de digestão por combustão (sistema analisador Elementar, Elementar Americas, Inc., Mt. Laurel, NJ, EUA). O amido foi determinado pelo método de digestão enzimática e leitura da glicose por ELISA. A densidade energética da dieta foi estimada usando os valores dos alimentos analisados e calculando o consumo em 3 vezes a manutenção (Weiss, 1998).

Amostras e análises dos metabólitos do sangue

Amostras de aproximadamente 8 mL de sangue foram coletadas uma vez durante o período de pré-tratamento. Após o início dos tratamentos, as amostras de sangue foram coletadas duas vezes por semana durante as cinco primeiras semanas do estudo. Na última semana, um desafio à acidose ruminal subclínica foi realizado e quatro amostras de sangue foram coletadas no dia do desafio. As coletas iniciaram uma hora antes do desafio com coletas subsequentes a cada 4 horas. O sangue foi coletado por punção da veia coccígea com tubos com vácuo contendo K₂ EDTA (Vacutainer, Becton Dickinson, Francklin Lakes, NJ, EUA). Os tubos com o sangue foram imediatamente alocados em gelo e transportados para o laboratório e centrifugados a 3.000 x g (centrífuga Allegra X-15R) por 15 minutos a 4°C para separação do plasma. O plasma foi congelado a -20°C para análises posteriores. A concentração de glicose foi analisada seguindo o método modificado por Gochman e Schimitz (1972) e N ureico pelo método modificado por Coulombe e Favreau (1963) e por Marsh et al. (1965) usando um auto analisador (Technicon Instruments Corp., Tarrytown, NY, EUA). A concentração dos ácidos graxos não esterificados (AGNE) foi analisada de acordo com Johnson e Peter (1993) usando um kit comercial (NEFA-C kit; Wako Fine

Chemical Industries, Inc., Dallas, TX, EUA). A proteína plasmática de fase aguda haptoglobina foi analisada segundo Makimura e Suzuki (1982).

Desafio à acidose ruminal subclínica

No dia 87, as vacas foram desafiadas para acidose ruminal subclínica. As vacas receberam 3,0 kg de milho moído fino (MS) antes da alimentação da manhã. Após as vacas terem consumido o milho, suas respectivas dietas foram fornecidas aproximadamente 2 horas mais tarde.

Análises estatísticas

Os dados foram analisados usando o procedimento MIXED do pacote estatístico SAS (SAS versão 9.3, SAS Inst. Inc., Cary, NC, EUA). Os dados contínuos foram testados para normalidade dos resíduos, dados não normalmente distribuídos foram transformados antes das análises e a transformação que melhor ajustou ao modelo foi utilizada. Dados com medidas repetidas no tempo dentro da mesma unidade experimental foram analisados com vaca aninhada dentro de tratamento com o efeito aleatório para testar os efeitos de tratamento.

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + L_j + P_k + t_l + AL_{ij} + At_{il} + Lt_{jl} + ALt_{ijl} + B + e_{ijkl}$$

em que: Y_{ijkl} = variável dependente, μ = média geral, A_i = efeito do teor de amido, L_j = efeito da inclusão do PFL, P_k = efeito da ordem de parto (primípara ou múltípara), t_l = efeito do tempo (semana, dia, ou hora), AL_{ij} = efeito da interação entre teor de amido e inclusão do PFL, At_{il} = efeito da interação entre teor de amido e tempo, Lt_{jl} = efeito da interação entre inclusão do PFL e tempo, ALt_{ijl} = efeito da interação tripla entre teor de amido, inclusão do PFL e tempo, B = efeito de bloco e e_{ijkl} = erro residual. A referência de tempo para o modelo

estatístico foi semana ou dia relativo ao início do estudo ou hora relativo ao desafio para acidose ruminal subclínica. Os dados para produção e composição do leite foram analisados, incluindo o valor de covariável obtido no período de pré-tratamentos. Diferenças significativas foram consideradas quando $P \leq 0,05$ e tendência de diferença quando $0,05 < P \leq 0,10$.

RESULTADOS

Foi observado aumento ($P = 0,05$) na produção de leite corrigido para 3,5% de gordura para as vacas que receberam PFL comparadas ao grupo controle em 5,18% (42,5 vs. 40,3 kg/d) (Tabela 3). Para a produção de leite, houve tendência ($P = 0,09$) de efeito positivo no uso do PFL comparado ao controle com incremento de 3,41% na produção (41,0 vs. 39,6 kg/d) e uma tendência ($P = 0,09$) para o teor de amido (41,0 kg/d para alto amido vs. 39,6 kg/d para baixo amido).

Não foi observado efeito significativo para IMS, leite corrigido para gordura em razão da IMS, peso corporal e balanço energético tanto para PFL como para amido (Tabela 3).

O ECC mostrou uma tendência ($P = 0,06$) de maior escore corporal para as vacas que receberam PFL (2,99 pontos) comparado com as vacas do grupo controle (2,87 pontos) (Tabela 3).

Composição do leite

A inclusão de PFL aumentou ($P = 0,05$) a produção de gordura (1,55 kg/d para PFL vs. 1,45 kg/d para controle) (Tabela 4). A produção de proteína verdadeira do leite aumentou ($P = 0,04$) de 1,12 kg/d do grupo controle para 1,18 kg/d para o grupo que recebeu o PFL. Também foi observado efeito ($P = 0,001$) do teor de amido, sendo que vacas que receberam dieta com alto amido produziram 1,20 kg/d de proteína no leite contra 1,11 kg/d dos animais

do tratamento com baixo teor de amido, o que também foi observado ($P = 0,01$) na percentagem de proteína do leite (3,00% para alto amido vs. 2,87% para baixo amido).

Foi observada uma tendência ($P = 0,06$) com maior produção de lactose para as vacas com PFL comparadas as controle (1,98 vs. 1,90 kg/d) (Tabela 4).

A inclusão de PFL não mostrou nenhum efeito para a percentagem dos componentes do leite (Tabela 4).

Na energia líquida de lactação do leite (EL_L), foi observado efeito ($P = 0,04$) para o uso de PFL com maior energia para produção de leite (28,81 Mcal/d), quando comparado ao controle (27,34 Mcal/d) o que representou um incremento de 5,20% a mais de EL_L . Para energia líquida de lactação em relação à quantidade de alimento ingerido não houve efeito significativo (Tabela 4).

Metabólitos do plasma antes do desafio

A glicose foi maior ($P = 0,02$) para os animais do tratamento com alto teor de amido (63,8 mg/dL) comparadas ao baixo teor de amido (62,1 mg/dL) (Tabela 5). Efeito do teor de amido também foi observado sobre o N ureico, mas neste caso, o grupo com baixo amido na dieta teve maior concentração de N ureico ($P = 0,02$) que o grupo com alto amido (10,1 vs. 9,4 mg/dL).

Não foi observado efeito do uso de PFL para os metabólitos plasmáticos, exceto uma tendência ($P = 0,07$) de redução da haptoglobina nos animais que receberam PFL comparados aos controle (0,051 vs. 0,058 de densidade óptica – DO) (Tabela 5).

Metabólitos do plasma após o desafio

Após o desafio, houve um aumento significativo ($P = 0,02$) da glicose plasmática no grupo alto amido comparado ao baixo amido (65,3 vs. 63,1 mg/dL) (Tabela 5). Foi observado também uma tendência do amido sobre o AGNE ($P = 0,09$) que foi menor no grupo alto amido, comparado com o baixo amido (0,119 vs. 0,139 mM).

No N ureico, não foi observado nenhum efeito de amido e de PFL (Tabela 5). Para haptoglobina, foi observado efeito altamente significativo de amido ($P = 0,001$), o qual foi maior para o grupo alto amido (0,051 DO) comparado ao baixo amido (0,041 DO). Mesmo não sendo observado efeito significativo do PFL ($P = 0,15$) para haptoglobina, os resultados com alto e baixo teor de amido do grupo com PFL tiveram praticamente o mesmo valor numérico de densidade óptica (0,046 vs. 0,045). Um efeito significativo ($P = 0,001$) para a interação levedura x amido também foi observado para haptoglobina.

DISCUSSÃO

A inclusão de leveduras na dieta das vacas em lactação tem sido amplamente utilizada em muitas propriedades comerciais. O principal objetivo das leveduras para estes animais é a melhoria no desempenho produtivo, como observado na Tabela 3. Trabalhos reportam efeito positivo do produto da fermentação de leveduras (PFL), principalmente da *S. cerevisiae*, no desempenho produtivo, ingestão de matéria seca e melhorias no ambiente ruminal (Rabiee et al., 2008, Bruno et al., 2009, AlZahal et al., 2014). Todavia, foi verificado efeito apenas para produção de leite corrigido para 3,5% de gordura. O consumo de MS não se alterou com a adição de PFL nas dietas de baixo ou alto teor de amido.

No presente trabalho, foi observada uma tendência de aumento na produção de leite para o uso de PFL e também para os animais que receberam alto amido. Quando foi analisada a produção de leite corrigido para gordura, houve efeito significativo nas vacas que

receberam inclusão de PFL frente aos animais controle. Estes dados estão de acordo com os resultados apresentados por Nocek et al. (2011), que reportaram efeito positivo na produção de leite e leite corrigido para 3,5% de gordura em vacas que receberam cultura de leveduras vivas ou PFL comparadas ao controle. Segundo Desnoyers et al. (2009), a influência da levedura viva na produção de leite ocorre pelo aumento na IMS e com a proporção de concentrado, FDN e PB na dieta. Este dado pode explicar a tendência de aumento na produção de leite das vacas que receberam maior teor de amido na dieta. Entretanto, no presente estudo, não houve diferença na IMS entre os tratamentos.

Trabalhos reportaram aumento na produção de leite de vacas que receberam PFL (Bruno et al., 2009, Zawoeski et al., 2014). Nestes trabalhos, a diferença de produção de leite foi entre 0,5 a 1,6 kg/d de leite dos animais com PFL comparados ao controle. No presente estudo, houve uma diferença numérica de 1,4 kg/d (3,41%) de leite a mais para as vacas que receberam PFL comparadas ao controle (41,0 vs. 39,6 kg/d), mas essa diferença não foi significativa. De forma semelhante, não foi observada diferença significativa para IMS. Bruno et al. (2009) também não observaram efeito na IMS, mas houve maior produção de leite para as vacas que receberam PFL. Os autores atribuíram este efeito à melhor fermentação ruminal devido ao uso de PFL, com melhor utilização dos nutrientes alimentares.

A maior EL_L observada no grupo que recebeu o PFL pode ser o principal responsável pelo aumento de produção de leite corrigido para 3,5% de gordura observado neste estudo. Mesmo não ocorrendo diferença na IMS entre os tratamentos, a EL_L foi 5,20% maior para as vacas do grupo PFL comparadas ao controle. Esse maior aporte de energia utilizada para produção de leite pode ter sido resultado uma melhor utilização dos nutrientes alimentares e melhor fermentação ruminal. Não foram encontrados trabalhos relatando a EL_L em vacas em lactação recebendo o PFL.

Composição do leite

O aumento observado na produção de gordura do leite dos animais que receberam PFL concorda com os resultados encontrados por Nocek et al. (2011), que reportaram aumento na produção de gordura do leite e também não observaram efeito na percentagem de gordura. As vacas que receberam dieta com alto teor de amido tenderam a ter menor percentagem de gordura no leite e este efeito pode ser possivelmente devido a dois efeitos: primeiramente, a tendência de maior produção de leite dos animais com dietas com alto amido comparado à dieta com baixo amido (41,0 vs. 39,6 kg/d), o que acabou diluindo a gordura; e em segundo lugar, vacas que recebem alta quantidade de alimento concentrado na dieta apresentam maior produção de propionato. Assim, a proporção acetato/propionato diminui, podendo reduzir a produção de gordura no leite, a qual é dependente de acetato para a síntese *de novo* de gordura na glândula mamária (Kozloski, 2009).

A produção de proteína verdadeira do leite aumentou tanto para o uso de PFL quanto para dietas de alto teor de amido. O efeito provocado pelo PFL também foi observado por Nocek et al. (2011). Segundo os autores, o uso de PFL, aumenta a quantidade da proteína microbiana disponível o que provocaria um maior aporte de proteína no leite. O modo de atuação do PFL modifica a função ruminal pela estimulação da fermentação, aumentando a população e a taxa de crescimento das bactérias celulolíticas e, assim, melhorando a taxa de digestão inicial das forragens (AlZahal et al., 2014).

O efeito provocado pelo alto teor de amido sobre a proteína também pode ter ocorrido em função da utilização do PFL. Desnoyers et al (2009) sugerem que as leveduras vivas apresentam maior efeito benéfico quando utilizadas com dietas de alto concentrado e no início de lactação. Esse benefício pode ser explicado pela habilidade das leveduras em reduzir a concentração de ácido láctico ruminal e modular o pH do rúmen. Todavia, os autores

observaram que a levedura não influenciou o teor de proteína do leite. Também, Ramsing et al. (2009) não observaram efeito do PFL sobre os teores de proteína do leite.

Foi observada uma tendência ($P = 0,06$) a maior produção de lactose no leite das vacas que receberam PFL (Tabela 4). Segundo Miller-Webster et al. (2002), a utilização de leveduras na dieta de ruminantes aumenta a produção de ácido propiônico no rúmen. O propionato é um dos principais responsáveis pela produção de lactose e quando se aumenta a produção deste ácido graxo volátil (AGV) pode aumentar a produção de lactose, a qual faz o controle osmótico da produção de leite (Kozloski, 2009).

Metabólitos do plasma

Os resultados obtidos para os metabólitos plasmáticos estão de acordo com outros estudos (Irvine et al., 2011, Zaworski et al., 2014) que não observaram efeito com a inclusão de PFL. O efeito do amido sobre a glicose plasmática observado tanto no período pré como no pós-desafio é facilmente compreendido, visto que a maior concentração de glicose foi observada nos dois períodos, no grupo que recebeu dieta com alto teor de amido. A maior ingestão de amido irá aumentar a concentração plasmática de glicose. Diversos produtos da digestão e absorção do amido são fontes de carbono importantes para a gliconeogênese. O propionato é quantitativamente o mais importante AGV, sendo que a captação líquida de propionato pelo fígado representa aproximadamente 70% da glicose produzida pelo fígado, e com isso, quanto mais amido na dieta, maior será a produção de glicose derivada do propionato (Huntington et al., 2006).

No período pré-desafio, o N ureico foi influenciado pelo amido. As vacas que receberam alto teor de amido com inclusão de PFL apresentaram o menor valor de N ureico. Esse efeito pode ser explicado pelo resultado obtido por Hristov et al. (2010) que observaram que vacas que receberam PFL em dietas tiveram maior fluxo omasal de proteína microbiana,

utilizando para esse crescimento, maior quantidade de N. O uso de PFL mantém o pH ruminal mais alto, o que estimula o crescimento da população celulolítica (Mullins et al., 2013, AlZahal et al., 2014).

Normalmente, a maior parte do N consumido pelos ruminantes é convertida em amônia pelas bactérias ruminais. Cerca de 40 a 100% do N bacteriano é derivado da amônia. Embora mais de 90% das espécies bacterianas ruminais possam utilizar a amônia para síntese de seus compostos nitrogenados, cerca de 25% destas, particularmente as celulolíticas, são necessariamente dependentes da amônia para o seu crescimento (Kozloski, 2009). Com a alta quantidade de esqueletos de carbono e o ambiente favorável para o crescimento bacteriano, mais N é necessário no rúmen e, assim, a amônia presente no fluído ruminal é utilizada para produção de proteína bacteriana. Desta forma, uma menor quantidade de amônia será absorvida e menos N ureico estará presente na circulação sanguínea.

Antes do desafio, as vacas com PFL apresentaram uma tendência de menor densidade óptica de haptoglobina. A haptoglobina é uma proteína de fase aguda sintetizada pelos hepatócitos em resposta à liberação de citocinas dos macrófagos e outras células imunes como resultado de um dano tecidual, inflamação, infecção e componentes bacterianos e também após períodos de estresse (Murata et al., 2004, Lomborg et al., 2008).

As vacas que receberam PFL apresentaram menor quantidade de haptoglobina, o que pode indicar menor inflamação no rúmen em consequência do pH baixo, demonstrando que a inclusão de PFL pode ser capaz de reduzir a ocorrência de acidose ruminal subclínica em vacas de leite alimentadas com dietas com alto teor de amido. Quando o desafio com milho moído foi realizado, o teor de amido no rúmen das vacas foi aumentado e com isso, pode ser observado que o grupo alto amido sofreu aumento na haptoglobina. Esse efeito é claramente observado no grupo de vacas que não recebeu o PFL na dieta. As vacas do grupo com alto amido na dieta após o desafio, tiveram alta concentração de haptoglobina comparado aos

outros grupos, indicando que possivelmente as vacas passaram por um quadro de inflamação ou tiveram acidose ruminal subclínica.

Após o desafio, as vacas que receberam dietas com alto teor de amido apresentaram baixa concentração de AGNE. Este resultado está de acordo com os reportados por Khalipour et al. (2012), que reportam que a ingestão de alto teor de carboidratos aumenta a oxidação de glicose, que está particularmente associada com um aumento na secreção de insulina, o que pode inibir a liberação de AGNE do tecido adiposo.

CONCLUSÃO

A inclusão de produto da fermentação da *Saccharomyces cerevisiae* para vacas leiteiras aumenta a produção de leite corrigido para gordura sem alterar a composição do leite. Dietas contendo alto teor de amido aumenta a produção de leite, a concentração de glicose plasmática e diminui a produção de gordura do leite. A utilização do produto da fermentação de levedura juntamente com dietas com alto teor de amido atenua os efeitos de acidose ruminal subclínica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allen, M. S. e Y. Ying. 2012. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on ruminal starch digestion are dependent upon dry matter intake for lactating cows. J Dairy Sci. 95(11):6591-6605.
- AlZahal, O., L. Dionissopoulos, A. H. Laarman, N. Walker, e B. W. McBride. 2014. Active dry *Saccharomyces cerevisiae* can alleviate the effect of subacute ruminal acidosis in lactating dairy cows. J Dairy Sci. 97:1-13.

- Bruno, R.G.S., H.M. Rutigliano, R.L. Cerri, P.H. Robinson, e J.E.P. Santos. 2009. Effect of feeding *Saccharomyces Cerevisiae* on performance of dairy cows during summer heat stress. *Anim Feed Sci Technol.* 150:175-186.
- Chaucheyras-Durand, F. e H. Durand. 2010. Probiotics in animal nutrition and health. *Benef Microb.* 1(1):3-9.
- Coulombe, J. J. e L. Favreau. 1963. A new simple semimicro method for colorimetric determination of urea. *Clin Chemist.* 9(1):102-108.
- Desnoyers, M., S. Giger-Reverdin, G. Bertin, C. Duvaux-Ponter, e D. Sauvant. 2009. Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. *J Dairy Sci.* 92(4):1620-1632.
- Ferguson, J. D., D. T. Galligan, e N. Thomsen. 1994. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. *J Dairy Sci.* 77(9):2695-2703.
- Fortina, R., L. M. Battaglini, F. Opsi, S. Tassone, M. Renna, e A. Mimosi. 2011. Effects of inactivated yeast culture on rumen fermentation and performance of mid-lactation dairy cows. *J Anim Vet Advan.* 10(5):577-580.
- Gochman, N. e J. M. Schmitz. 1972. Application of a new peroxide indicator reaction to the specific, automated determination of glucose with glucose oxidase. *Clin Chem.* 18(9):943-950.
- Hippen, A. R., D. J. Schingoethe, K. F. Kalscheur, P. L. Linke, D. R. Rennich, M. M. Abdelqader, e I. Yoon. 2010. *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product in dairy cow diets containing dried distillers grains plus solubles. *J Dairy Sci.* 93:2661-2669.
- Hristov, A. N., G. Varga, T. Cassidy, M. Long, K. Heyler, S. K. Karnati, B. Corl, C. J. Hovde, e I. Yoon. 2010. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on ruminal fermentation and nutrient utilization in dairy cows. *J Dairy Sci.* 93(2):682-692.

- Huntington, G. B., D. L. Harmon, e C. J. Richards. 2006. Sites, rates, and limits of starch digestion and glucose metabolism in growing cattle. *J Anim Sci.* 84(13 suppl):E14-E24.
- Irvine, L. D., M. J. Freeman, D. J. Donaghy, I. Yoon, G. Lee, e J. R. Roche. 2011. Short communication: Responses to supplemental *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product and triticale grain in dairy cows grazing high-quality pasture in early lactation. *J Dairy Sci.* 94:3119-3123.
- Khafipour, E., S. Li, J. C. Plaizier, e D. O. Krause. 2009. Rumen microbiome composition determined using two nutritional models of subacute ruminal acidosis. *Appl Environ Microbiol.* 75(22):7115-7124.
- Kozloski, G. V. 2009. *Bioquímica dos Ruminantes*. 2a Edição ed. Editora UFSM.
- Lomborg, S. R., L. R. Nielsen, P. M. Heegaard, e S. Jacobsen. 2008. Acute phase proteins in cattle after exposure to complex stress. *Vet Res Commun.* 32(7):575-582.
- Makimura, S. e N. Suzuki. 1982. Quantitative determination of bovine serum Haptoglobin and its elevation in some inflammatory diseases. *The Japanese J Vet Sci.* 44:15-21.
- Marsh, W. H., B. Fingerhut, e H. Miller. 1965. automated and manual direct methods for the determination of blood urea. *Clin Chem.* 11:624-627.
- Miller-Webster, T., W. H. Hoover, M. Holt, e J. E. Nocek. 2002. influence of yeast culture on ruminal microbial metabolism in continuous culture. *J Dairy Sci.* 85(8):2009-2014.
- Mullins, C. R., L. K. Mamedova, A. J. Carpenter, Y. Ying, M. S. Allen, I. Yoon, e B. J. Bradford. 2013. Analysis of rumen microbial populations in lactating dairy cattle fed diets varying in carbohydrate profiles and *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product. *J Dairy Sci.* 96(9):5872-5881.
- Murata, H., N. Shimada, e M. Yoshioka. 2004. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *Vet J.* 168(1):28-40.

- Newbold, C. J., R. J. Wallace, X. B. Chen, e F. M. McIntosh. 1995. Different strains of *Saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on ruminal bacterial numbers in vitro and in sheep. *J Anim Sci.* 73(6):1811-1818.
- Newbold, C. J., R. J. Wallace, e F. M. Mcintosh. 1996. Mode of action of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a feed additive for ruminants. *British J Nutrit.* 76(02):249-261.
- Nocek, J. E., M. G. Holt, e J. Oppy. 2011. Effects of supplementation with yeast culture and enzymatically hydrolyzed yeast on performance of early lactation dairy cattle. *J Dairy Sci.* 94(8):4046-4056.
- National Research Council, 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*, 7th revised ed. National Academic Science, Washington, DC, USA.
- Putnam, D. E., C. G. Schwab, M. T. Socha, N. L. Whitehouse, N. A. Kierstead, e B. D. Garthwaite. 1997. Effect of yeast culture in the diets of early lactation dairy cows on ruminal fermentation and passage of nitrogen fractions and amino acids to the small intestine. *J Dairy Sci.* 80(2):374-384.
- Poppy, G. D., A. R. Rabiee, I. J. Lean, W. K. Sanchez, K. L. Dorton, e P. S. Morley. 2012. A meta-analysis of the effects of feeding yeast culture produced by anaerobic fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* on milk production of lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 95:6027-6041.
- Rabiee, A. R., Lean, I. J., Dorton, K. L., Emgstrom, M. E. e Sanchez. W. K. 2008. Effect of feeding Diamond V Yeast Culture on milk production and dry matter intake in lactating dairy cows: A meta-analysis. *J Dairy Sci.* 86 (Suppl. 1).
- Ramsing, E. M., J. A. Davidson, P. D. French, I. Yoon, M. Keller, e H. Peters-Fleckenstein. 2009. Effects of yeast culture on peripartum intake and milk production of primiparous and multiparous Holstein cows. *The Prof Anim Scient.* 25(4):487-495.

- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, e B. A. Lewis. 1991. methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J Dairy Sci. 74(10):3583-3597.
- Zaworski, E. M., C. M. Shriver-Munsch, N. A. Fadden, W. K. Sanchez, I. Yoon, e G. Bobe. 2014. Effects of feeding various dosages of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product in transition dairy cows. J Dairy Sci. 97:3081-3098.
- Weiss, W. P. 1998. Estimating the available energy content of feeds for dairy cattle. J Dairy Sci. 81(3):830-839.

Tabela 1. Composição nutricional e elementos ativos do produto da fermentação de levedura (Rumen Yeast)

Nitrogênio não proteico	%		0,2
Extrato etéreo	%		0,1
Fibra bruta	%		0,9
Carboidratos	%		40,0
Cinzas	%		7,0
Nutrientes digestíveis totais	%		77,9
Energia digestível	kcal/kg		3.432
Densidade	g/L		500,0
<u>Análise Bromatológica</u>			
Contagem de cél. Inativas	Bilhões de cél/g	Mínimo	15
Umidade	%	Máximo	8,0
Proteína bruta	%	Mínimo	35,0
Mananoligossacarídeos	%	Mínimo	15,0
β -glucanos	%	Mínimo	25,0
<u>Análise Microbiológica</u>			
Contagem total de placa	UFC/g	Máximo	15.000
Coliformes totais	NMP/g	Máximo	10
Coliformes fecais	NMP/g	-	Ausente
<i>E. coli</i>	UFC/g	-	Ausente
Leveduras e fungos	UFC/g	Máximo	100
<i>Salmonella</i>	/25g	-	Ausente

UFC/g – Unidades formadoras de colônia por grama

NMP/g – Número mais provável por grama

Tabela 2. Composição dos ingredientes das rações completas e composição nutricional das dietas de alto e baixo teor de amido

	Dieta	
	Baixo Amido	Alto Amido
Ingrediente, % MS		
Silagem de milho	39,1	32,7
Silagem de triticales	10,9	9,1
Milho moído fino	11,7	21,7
Casca de soja	12,0	11,6
Polpa cítrica	4,4	3,6
Semente de girassol integral	4,4	3,6
Farelo de soja, extração com solvente	8,7	9,7
Farelo de soja, processo térmico	4,4	3,6
Premix mineral-vitamínico-proteico	4,4	4,4
Nutrientes, Base na MS		
EL _L , Mcal/kg	1,56	1,59
Matéria orgânica, %	93,2 ± 0,3	93,5 ± 0,3
Proteína bruta, %	14,6 ± 0,6	14,6 ± 0,5
Amido, %	23,2 ± 1,7	29,0 ± 1,2
Carboidratos não fibrosos, %	36,6 ± 1,3	40,3 ± 1,1
Fibra em detergente ácido, %	21,7 ± 0,7	19,5 ± 0,6
Fibra em detergente neutro, %		
Total	38,1 ± 1,0	32,9 ± 0,8
Forragem	21,0 ± 0,1	17,0 ± 0,9
Extrato etéreo, %	3,9 ± 0,1	3,7 ± 0,1

EL_L = Energia líquida de lactação

Tabela 3. Efeito da inclusão do produto da fermentação de levedura em dietas de baixo e alto teor de amido sobre o desempenho produtivo, peso, balanço energético e ECC em vacas lactantes

	Tratamento				EPM	P		
	Controle		PFL ¹			PFL ¹	Amido ²	PFL x A ³
	Baixo	Alto	Baixo	Alto				
Ingestão MS, kg/d	25,1	24,8	25,4	26,1	0,6	0,13	0,76	0,36
Leite, kg/d	38,7	40,4	40,4	41,7	1,2	0,09	0,09	0,81
LCG 3,5%, kg/d	40,3	40,3	41,9	43,1	1,3	0,05	0,57	0,62
LCG/IMS	1,62	1,64	1,65	1,65	0,05	0,65	0,90	0,89
Peso corporal inicial, kg	580,9	582,0	579,7	583,3	8,09	0,87	0,88	0,58
Peso corporal médio, kg	606,8	602,9	601,8	612,8	10,4	0,80	0,71	0,44
Mudança no peso, kg/d	0,45	0,52	0,41	0,52	0,09	0,81	0,30	0,79
Balanço energético, Mcal/d	2,24	2,20	1,65	2,30	0,87	0,76	0,71	0,67
ECC, 1 a 5	2,85	2,89	3,00	2,92	0,05	0,06	0,70	0,21

¹PFL = Efeito do produto da fermentação de levedura

²Amido = Efeito do teor de amido

³PFL x A = Efeito da interação entre o produto da fermentação de levedura e o teor de amido

LCG 3,5% = Leite corrigido para 3,5% de gordura; calculado segundo NRC (2001)

Tabela 4. Efeito da inclusão do produto da fermentação de levedura em dietas de baixo e alto teor de amido sobre os componentes do leite em vacas lactantes

	Tratamento				EPM	P		
	Controle		PFL ¹			PFL ¹	Amido ²	PFL x A ³
	Baixo	Alto	Baixo	Alto				
Gordura								
%	3,90	3,64	3,84	3,82	0,09	0,49	0,10	0,17
Produção, kg/d	1,47	1,43	1,53	1,57	0,05	0,05	0,96	0,41
Proteína								
%	2,90	2,97	2,84	3,04	0,05	0,95	0,01	0,12
Produção, kg/d	1,09	1,16	1,12	1,24	0,03	0,04	0,001	0,40
Lactose								
%	4,94	4,90	4,93	4,92	0,03	0,99	0,34	0,55
Produção, kg/d	1,86	1,93	1,96	2,01	0,06	0,06	0,20	0,85
EL _L do leite								
Mcal/kg	0,72	0,70	0,71	0,72	0,01	0,54	0,45	0,12
Mcal/d	27,2	27,5	28,2	29,4	0,9	0,04	0,28	0,51

¹ PFL = Efeito do produto da fermentação de levedura

² Amido = Efeito do teor de amido

³ PFL x A = Efeito da interação entre o produto da fermentação de levedura e o teor de amido

EL_L = Energia líquida de lactação; calculado segundo NRC (2001)

Tabela 5. Efeito da inclusão do produto da fermentação de levedura em dietas de baixo e alto teor de amido sobre os metabólitos plasmáticos em vacas lactantes antes e após o desafio a acidose ruminal subclínica

	Tratamento				EPM	<i>P</i>		
	Controle		PFL ¹			PFL ¹	Amido ²	PFL x A ³
	Baixo	Alto	Baixo	Alto				
Antes do desafio								
Glicose, mg/dL	61,6	64,3	62,7	63,2	0,7	0,98	0,02	0,13
AGNE, mM	0,156	0,140	0,159	0,160	0,020	0,53	0,70	0,62
N ureico, mgdL	10,0	9,7	10,1	9,0	0,3	0,28	0,02	0,14
Haptoglobina, DO	0,054	0,062	0,051	0,052	0,004	0,07	0,24	0,34
Após o desafio								
Glicose, mg/dL	63,1	66,2	63,1	64,5	1,05	0,35	0,02	0,40
AGNE, mM	0,139	0,105	0,138	0,133	0,013	0,25	0,09	0,20
N ureico, mgdL	9,12	9,55	9,42	8,87	0,33	0,55	0,85	0,12
Haptoglobina, DO	0,038	0,063	0,045	0,046	0,004	0,15	0,001	0,001

¹ PFL = Efeito do produto da fermentação de levedura

² Amido = Efeito do teor de amido

³ PFL x A = Efeito da interação entre o produto da fermentação de levedura e o teor de amido

AGNE = Ácidos graxos não esterificados

DO = Densidade óptica

**INCLUSÃO DO PRODUTO DA FERMENTAÇÃO DE LEVEDURA NA DIETA DE
VACAS EM LACTAÇÃO MELHORA O DESEMPENHO E AUMENTA A
DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES E O FLUXO DE PROTEÍNA
MICROBIANA**

RESUMO

Este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito da inclusão do produto da fermentação da levedura (PFL) *Saccharomyces cerevisiae* sobre o desempenho produtivo, metabolismo ruminal e digestibilidade ruminal e total de vacas alimentadas com dietas contendo dois níveis de amido. Quatro vacas da raça Holandesa em lactação com cânulas ruminais foram distribuídas em um quadrado latino 4×4 com arranjo fatorial 2×2 dos tratamentos: 1) dieta baixo amido sem PFL; 2) dieta alto amido sem PFL; 3) dieta baixo amido + PFL; e 4) dieta alto amido + PFL. Foram mensurados o consumo de alimento, a produção e composição do leite e peso das vacas. Coletas de conteúdo ruminal, omasal, fezes, alimentos e sobras foram realizados. Um desafio à acidose ruminal subclínica foi realizado e amostras de sangue foram coletadas e o pH ruminal foi mensurado antes e após o desafio. O PFL aumentou a produção de leite em 3,3 kg/d, comparado ao controle (29,6 vs. 26,3 kg/d) e também aumentou a produção de leite corrigido para gordura (30,3 vs. 26,6 kg/d), gordura (1,08 vs. 0,94 kg/d), proteína (0,96 vs. 0,84 kg/d) e lactose (1,42 vs. 1,26 kg/d) no leite. O alto teor de amido aumentou a produção e a percentagem de proteína do leite e reduziu a digestibilidade total da MS, MO, FDN, FDA e a digestibilidade ruminal da FDN. A associação entre o PFL e o alto teor de amido na dieta aumentou o pH ruminal médio e o fluxo de proteína de origem microbiana para o omaso. Após o desafio à acidose ruminal, não foram observados efeitos prejudiciais do desafio sobre o desempenho produtivo e composição do leite, contudo foi observado que o alto teor de amido reduziu o pH médio e o

N amoniacal do rúmen no dia do desafio. Pode-se concluir que o PFL é capaz de aumentar a produção de leite e os componentes do leite e quando associado à dieta com alto teor de amido, há melhora do ambiente ruminal, determinado pelo aumento do pH médio, o que aumenta o crescimento dos microrganismos ruminais, elevando a produtividade.

Palavras-chave: alto amido, digestibilidade ruminal, produção de leite, *Saccharomyces cerevisiae*

INTRODUÇÃO

A inclusão de leveduras vivas ou o produto da fermentação de levedura (PFL) em dietas de vacas de leite é eficaz e tem sido praticada comercialmente há vários anos. A levedura aumenta o consumo de alimento, a produção de leite, o pH ruminal, os ácidos graxos voláteis (AGV) no rúmen e a digestibilidade da matéria orgânica (MO) (Desnoyers et al., 2009). Em adição, os efeitos da levedura são melhores quando os animais consomem dietas com alta proporção de concentrado, limitando a acidificação do ruminal, tipicamente associada com o aumento da concentração dos AGV e diminuição o ácido láctico, sugerindo uma melhoria na capacidade tamponante.

Uma influência importante da levedura é a estimulação de bactérias utilizadoras de ácido láctico (Callaway e Martin, 1997). Essa ação resultaria na redução da concentração de ácido láctico, com uma acidificação do pH, promovendo uma maior estabilidade do ambiente ruminal. Um pH mais próximo ao neutro ($\text{pH} = 7$) pode criar um ambiente mais propício para o crescimento de bactérias celulolíticas (Mullins et al., 2013, AlZahal et al., 2014), aumentando a digestão da fibra, a ingestão de alimento, e com isso, aumento produtivo.

Estudos têm demonstrado que produtos da fermentação da *Saccharomyces cerevisiae* melhora a utilização do ácido láctico pela *Selenomonas ruminantium* e a *Megasphaera elsdenii* (Nisbet e Martin, 1991, Rossi et al., 2004). Bactérias utilizadoras de ácido láctico são

comuns no rúmen e aparecem em maior número em animais que recebem grãos na dieta. Essas espécies bacterianas não apresentam repressão catabólica por açúcares solúveis e fermentam o ácido láctico a propionato pela via do acrilato (Chaucheyras et al., 1996).

Outra teoria associada com o PFL é a influência positiva sobre a captação de amônia (Allen e Ying, 2012). Isto poderia melhorar a eficiência e a produção de proteína microbiana, assim promovendo aumento no suprimento de aminoácidos no intestino para a vaca, o que estimula a produção (Hristov et al., 2010).

Miller-Webster et al. (2002) reportaram que o PFL aumentou a digestibilidade da proteína bruta (PB), o nitrogênio (N) amoniacal e a produção de proteína de origem microbiana. No mesmo estudo, os autores não observaram diferença no pH ruminal e nem efeito na digestibilidade para os outros nutrientes. Hristov et al. (2010) relataram que a levedura reduziu a concentração de amônia no rúmen e aumentou a síntese de proteína microbiana ruminal. No entanto, Putnam et al. (1997) não citaram efeito sobre o pH e a concentração de amônia no rúmen dos animais que receberam PFL. Segundo os autores, foi observado aumento na produção de leite e proteína do leite e uma tendência de maior ingestão de matéria seca (IMS), porém não houve efeito sobre a digestibilidade da MO, da fibra em detergente neutro (FDN), da fibra em detergente ácido (FDA), da PB e dos carboidratos não estruturais.

A alimentação com dieta de alto teor de amido altera a fermentação ruminal, o que pode comprometer a digestão da fibra e o conteúdo de gordura no leite e o fornecimento de levedura influencia na microbiota do rúmen neutralizando o pH, aumentando a digestão da fibra e a produtividade. Este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar os efeitos da inclusão do produto da fermentação da *Saccharomyces cerevisiae* para vacas de leite em lactação alimentadas com dois níveis de amido sobre o desempenho produtivo, o metabolismo do rúmen e a digestibilidade dos nutrientes.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido na Unidade Leiteira da Universidade da Flórida, Gainesville, Flórida, EUA) entre setembro de 2013 e janeiro de 2014.

Todos os procedimentos envolvendo animais neste estudo foram aprovados no protocolo experimental número 007-13ANS pelo Comitê de Pesquisa Animal Não-Regulatório da Universidade da Flórida.

Animais, tratamentos e procedimentos experimentais

Quatro vacas primíparas da raça Holandesa com cânulas no rúmen foram distribuídas em um quadrado latino 4×4 com arranjo fatorial 2×2 dos tratamentos e com períodos de 28 dias. No início do experimento, os animais apresentaram em média $564,9 \pm 51,2$ kg de peso corporal, $176,2 \pm 17,7$ dias em lactação e $25,7 \pm 3,4$ kg de leite produzido ao dia.

As vacas foram alojadas em estábulo tipo *tie-stall* e possuíam cochos de alimentação e de água individuais. Foram utilizadas camas de gel para maior conforto das vacas e sobre a cama, uma camada de maravalha foi utilizada para facilitar a limpeza e manter a cama seca.

Os animais foram alimentados uma vez ao dia (08:00 h) na forma de ração totalmente misturada (RTM) para ingestão *ad libitum*, permitindo 5% de sobras com base na matéria natural. A RTM foi composta por silagem de milho, silagem de triticales e um concentrado base (baixo amido). Os animais pertencentes aos tratamentos, contendo dieta alto amido, receberam concentrado de grãos adicional para a dieta alcançar 29% de amido. As dietas (Tabela 1) foram formuladas para atender às exigências em energia metabolizável e proteína bruta (NRC, 2001) para vacas da raça Holandesa pesando 630 kg e produzindo em média 42 kg de leite contendo 3,5% de gordura e 3,1% de proteína, com IMS de 23 kg/d.

Os tratamentos experimentais consistiram em: 1) dieta baixo amido sem o produto da fermentação da levedura (PFL); 2) dieta alto amido sem PFL; 3) dieta baixo amido + PFL e 4) dieta alto amido + PFL. A dieta com baixo amido continha 23% de amido e a dieta com alto amido 29% de amido (Tabela 1). O PFL utilizado neste estudo foi à base de *Saccharomyces cerevisiae* (Rumen Yeast, ICC Brazil, São Paulo, SP) que é um produto da fermentação da *S. cerevisiae*, composto por células da levedura inativadas, uma alta concentração de metabólitos produzidos pela fermentação da levedura e o meio de crescimento, que contém diversos carboidratos funcionais (Tabela 2). Foi utilizada uma dose de 15 g de PFL por vaca por dia. Esta quantidade de leveduras fornecida para as vacas foi misturada com milho moído fino em uma proporção de 15% de PFL. Uma dose de 90 g MS da mistura foi oferecida por vaca, a qual foi adicionada sobre o alimento da manhã. As vacas dos tratamentos sem levedura receberam 90 g de milho moído fino (MS) sem adição de PFL.

As vacas foram ordenhadas duas vezes por dia aproximadamente às 06:00h e às 18:00h e a produção de leite individual foi determinada pelo sistema Afikim Milking (AfiFlo milk meters, S.A.E. Afikim). O sistema AfiLab foi calibrado uma vez por mês com os dados de produção e composição do leite de 450 vacas analisadas pelo laboratório Southeast DHIA em Bellview, FL, EUA. Dos dias 20 a 28 de cada período, amostras de leite foram coletadas diariamente nas duas ordenhas em alíquotas individuais e armazenadas em potes contendo bromopol para conservação das amostras e estas foram enviadas para laboratório, onde foram analisadas para concentração de gordura, proteína e lactose, pelo laboratório Southeast DHIA em Bellview, FL, EUA.

A concentração dos componentes de leite de cada ordenha foi utilizada para calcular a produção diária de gordura, proteína e lactose, sendo ajustada para o volume de leite produzido em cada ordenha. A produção de leite corrigida para 3,5% de gordura foi calculada como $[(0,4324 \times \text{produção de leite}) + (16,218 \times \text{produção de gordura no leite})]$ NRC

(2011). A energia corrigida para produção de leite foi calculada como $[(0,3246 \times \text{produção de leite}) + (12,86 \times \text{produção de gordura}) + (7,04 \times \text{produção de proteína})]$ (NRC, 2001).

Uma vez por semana, as forragens e a mistura de grãos foram coletadas, secas a 55°C, moídas e armazenadas para posteriores análises. A IMS individual foi calculada com base na MS dos alimentos determinada a 105°C. Foram feitas amostras compostas de cada período, nas quais foram determinadas a MS, cinzas, PB, FDN, FDA e minerais.

No dia 25 de cada período, as vacas foram desafiadas para acidose ruminal subclínica. As vacas receberam 3 kg de milho moído fino dentro do rúmen através da cânula ruminal, no momento em que retornam da sala de ordenha. Os cochos de alimentação foram removidos impedindo a ingestão de alimento por um período de 1 hora. Após esse período, os cochos foram disponibilizados para as vacas com suas respectivas dietas.

Amostras de aproximadamente 8 mL de sangue foram coletadas nos dias 24 e 25 do período. Uma amostra foi coletada às 8 horas da manhã (0 Hora) e mais 3 amostras foram coletadas com 4 horas de intervalo (4, 8 e 12 Horas). O mesmo esquema de coleta foi realizado no dia seguinte. As amostras do dia 24 foram usadas para representar o período pré-desafio e, do dia 25, para avaliar os efeitos do desafio. O sangue foi coletado por punção da veia coccígea com tubos com vácuo contendo K₂ EDTA (Vacutainer, Becton Dickinson, Francklin Lakes, NJ, EUA). Os tubos com o sangue foram imediatamente alocados em gelo, transportados para o laboratório e centrifugados a 3.000 x g (centrífuga Allegra X-15R) por 15 minutos a 4°C para separação do plasma. O plasma foi congelado a -20°C para posteriores análises.

Análises químicas

As amostras das silagens e grão foram compostas por período e analisadas para MS, cinzas, PB, FDN, FDA, e minerais (Ca, P, K, Mg, S, Na, Cl, Zn, Cu e Mn). Os minerais

foram analisados pelo laboratório Dairyland, Arcadia, WI, EUA. As amostras das dietas ofertadas e as sobras foram coletadas nos dias 20 a 28 do período. Para análise, as dietas e as sobras foram secas a 55°C e moídas em peneira de 1mm em um moinho Wiley (Thomas Scientific, Swedesboro, NJ, EUA). Após moídas, foram feitas duas amostras compostas. A primeira, representava as mostras coletadas antes do desafio para acidose ruminal (20 ao 24 do período) e, a segunda, com as amostras coletadas após o desafio (25 ao 28 do período). As duas amostras compostas foram analisadas para MS (105°C por 12h), MO (512°C por 8h) e analisadas na sequência para FDN, usando α -amilase estável ao calor e FDA (Van Soest et al., 1991) com o sistema analisador de fibra Ankom (Ankom Technology, Macedon, NY, EUA) e para N usando um método automatizado quantitativo de digestão por combustão (sistema analisador Elementar, Elementar Americas, Inc., Mt. Laurel, NJ, EUA). O amido foi determinado pelo método de digestão enzimática, segundo Poore et al. (1989). A densidade energética da dieta foi estimada usando os valores dos alimentos analisados e calculando o consumo em 3 vezes a manutenção (Weiss, 1998).

As amostras de plasma sanguíneos foram descongeladas sob refrigeração e a concentração de glicose foi analisada seguindo o método modificado por Gochman e Schimitz (1972) e o N ureico pelo método modificado por Coulombe e Favreau (1963) e por Marsh et al. (1965) usando um auto analisador (Technicon Instruments Corp., Tarrytown, NY, EUA). A concentração dos ácidos graxos não esterificados (AGNE) foi analisada de acordo com Johnson e Peter (1993), usando um kit comercial (NEFA-C kit; Wako Fine Chemical Industries, Inc., Dallas, TX, EUA). A proteína plasmática de fase aguda haptoglobina foi analisada segundo Makimura e Suzuki (1982).

As amostras de fezes, omaso, RTM, e sobras foram secas em estufa com circulação de ar forçado a 55°C durante 96 h, a perda de umidade anotada e foram moídas com peneira de 1 mm em um moinho Wiley (Thomas Scientific, Swedesboro, NJ, EUA). As amostras foram

homogeneizadas vigorosamente e divididas em duas alíquotas, sendo uma do período pré-desafio (dias 20 a 24) e a outra para o período pós-desafio (dias 25 a 28). Cápsulas com óxido de cromo foram fonecidas para as vacas via cânula ruminal na quantidade de 10 g/dia. O cromo foi quantificado por espectrofotometria de absorção atômica, utilizando um espectrômetro de absorção atômica Perkin Elmer 5000 (Perkin Elmer, Wellesley, MA) de acordo com Williams et al. (1962).

As amostras de omaso foram analisadas para determinar o N total, MS, cinzas, amido, FDA e FDN para estimar a digestibilidade ruminal da MS, MO, amido, FDA e FDN. O fluxo de proteína alimentar (proteína não degradada no rúmen) foi estimada pela diferença [N total - (N microbiano + N amoniacal)].

Peso corporal e determinação do balanço energético

Imediatamente após cada ordenha, as vacas foram pesadas em uma balança eletrônica localizada na saída da sala de ordenha (AfiWeigh, S.A.E. Afikim). O balanço energético foi calculado usando a ingestão de calorias diárias, calculada com base na IMS e no conteúdo de energia da dieta, em 3 vezes da manutenção (Weiss, 1998), menos a soma do requerimento de calorias diárias para manutenção ($0,08 \times \text{peso corporal}^{0,75}$) e as calorias secretadas pelo leite de acordo com a produção de gordura, proteína e lactose {produção de leite x [0,0929 x % de gordura) + (0,0563 x % de proteína) + (0,0395 x % de lactose)]}. O balanço energético médio durante a semana foi usado para ajustar a dieta das vacas. Uma média dos valores diário foi transformada em valor semanalmente, para análises estatísticas.

Digestibilidade ruminal e total e fluxo de nutrientes

No dia 12 de cada período, as vacas receberam via cânula ruminal uma cápsula de gelatina contendo 10 g de Cr_2O_3 , duas vezes ao dia, com intervalos de 12 h (20 g/vaca/d). O cromo foi usado como um marcador para estimar a digestibilidade ruminal e total e a saída ruminal de MS, MO, N, FDA, FDN e amido pela técnica da razão dos marcadores (Schneider e Flatt, 1975). As vacas receberam o marcador por 16 dias e amostras de conteúdo ruminal, conteúdo de omaso e fezes foram coletadas duas vezes por dia, a partir do dia 20 até o dia 28. As amostras foram coletadas em horários alternados (espaçamento de 2 h por dia), começando imediatamente antes da alimentação da manhã no primeiro dia de coleta (dia 20 = 0 e 12 h, em relação à alimentação da manhã, dia 21 = 2 e 14 h em relação à alimentação matinal; dia 22 = 4 e 16 horas, em relação à alimentação da manhã; dia 23 = 6 e 18 horas em relação à alimentação da manhã; dia 24 = 8 e 20 horas, em relação à alimentação da manhã).

O mesmo esquema foi usado para os dias 25 a 28, exceto para a primeira amostra que foi coletada 2 h após o desafio para acidose ruminal (dia 25 = 2 e 14 h, em relação à alimentação da manhã, dia 26 = 4 e 16 h, em relação à alimentação da manhã, dia 27 = 6 e 18 h, em relação à alimentação da manhã, dia 28 = 8 e 20 h, em relação à alimentação da manhã).

As amostras de omaso, de aproximadamente 200 – 250 mL, foram realizadas utilizando uma sonda, a qual era inserida uma extremidade no orifício retículo-omasal manualmente através da cânula ruminal e a outra extremidade foi adaptada a um kitasato conectado a uma bomba de vácuo.

Coleta e análise de nitrogênio amoniacal do rúmen

Amostras da digesta ruminal foram coletadas duas vezes ao dia em intervalos de 12 h, seguindo o mesmo esquema descrito anteriormente para as coletas de fezes e conteúdo de

omaso. As amostras foram coletadas distintas regiões anatômica do rúmen (dorsal, ventral, cranial e caudal).

As amostras foram homogeneizadas e filtradas por 2 camadas de tecido tipo gaze e uma alíquota de 10 mL de fluído ruminal foi preservada por adição de 0,2 mL de H₂SO₄ 50% (vol/vol). Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 3000 × g durante 20 minutos. O sobrenadante foi recolhido e congelado a -20°C até análise do N amoniacal. A concentração de N amoniacal foi mensurada, usando uma adaptação do procedimento de Noel e Hambleton (1976) que envolveu uma quantificação colorimétrica do N em um Auto Analisador Technicon (Technicon, Tarrytown, NY, EUA).

Mensuramento do pH ruminal

O pH do rúmen foi mensurado em dois dias, sendo um dia antes do desafio e o outro, o dia em que o desafio foi realizado. No dia 24 do período, às 7h da manhã (antes da alimentação) um sensor (PHE-7352-15, Omega Engineering, INC, Stanford, CN, EUA) foi colocado dentro do rúmen através da fístula ruminal e lá permaneceu durante 48 horas consecutivas (24h antes do desafio e 24h após o desafio). O sensor permaneceu todo o período de coleta conectada a um coletor de dados (OM-CP-PH101, Omega Engineering, INC, Stanford, CN, EUA) localizado fora do rúmen e foi programado para fazer medições a cada 10 minutos. Os medidores de pH foram calibrados em todos os períodos antes do uso e usado no mesmo animal em cada período. No dia 26 do período, durante a manhã, o equipamento foi removido das vacas e levados para o laboratório, onde as leituras dos dados captados foram transferidas para o software OM-CP Data Logging (Omega Engineering, versão 2.07.1).

Coleta e análise de urina e estimativa do fluxo de nitrogênio microbiano

Amostra *spot* de urina foram colhidas uma vez por dia a partir do dia 20 até o dia 24 de cada período. Massagem na região perineal foi realizada para estimular a micção e as amostras foram colhidas a partir de um fluxo normal de urina. O pH das amostras de urina foi mensurado imediatamente após a colheita, e em seguida, as mesmas foram acidificadas por meio da adição de HCL 5 M para atingir $\text{pH} < 4$ e congeladas a -20°C . As amostras foram descongeladas sob refrigeração antes das análises e foi feita uma amostra composta por vaca e período para a realização das análises de N total, N ureico, derivados de purinas (alantoína + ácido úrico) e creatinina.

O N foi mensurado pelo método Kjeldahl, a creatinina por colorimetria usando kit comercial (Arbor Assays Kit # K002-H1, Arbor Assays, Ann Arbor, MI, EUA), o ácido úrico pelo método de fluorescência com kit comercial (Cayman Chemical Kit # 700320, Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, EUA) e o N ureico foi mensurado por colorimetria, utilizando kit comercial (Urea Nitrogen – BUN, Colorimetric Detection Kit # K024-H1, Arbor Assays, Ann Arbor, MI, EUA). O volume de urina diária foi estimado, utilizando a taxa de excreção de creatinina de 29 mg/kg de peso corporal (Valadares et al., 1999). O fluxo de N microbiano foi calculado, usando a estimativa da excreção dos derivados de purina de acordo com Chen e Gomes (1995).

Análises estatísticas

Os dados foram analisados, usando o procedimento MIXED do pacote estatístico SAS (SAS versão 9.3, SAS Inst. Inc., Cary, NC, EUA). Os dados contínuos foram testados para normalidade dos resíduos, dados não normalmente distribuídos foram transformados antes das análises e a transformação que melhor se ajustou ao modelo foi utilizada. Dados com medidas repetidas no tempo dentro da mesma unidade experimental foram analisados com

vaca aninhada dentro de tratamento com o efeito aleatório para testar os efeitos de tratamento.

Os modelos estatísticos utilizados foram os seguintes:

$$Y_{ijl} = \mu + A_i + L_j + P_k + AL_{ij} + e_{ijk}$$

em que: Y_{ijkl} = a variável dependente, μ = média geral, A_i = efeito do teor de amido, L_j = efeito da inclusão do PFL, P_k = efeito do período, AL_{ij} = efeito da interação entre teor de amido e inclusão do PFL e e_{ijkl} = erro residual.

Quando a variável em teste possuía medidas repetidas no tempo, dentro de um mesmo período, o efeito fixo da unidade de tempo bem como suas interações com teor de amido e inclusão do PFL foram adicionados ao modelo estatístico:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + L_j + P_k + t_l + AL_{ij} + At_{il} + Lt_{jl} + ALt_{ijl} + e_{ijkl}$$

em que: Y_{ijkl} = a variável dependente, μ = média geral, A_i = efeito do teor de amido, L_j = efeito da inclusão do PFL, P_k = efeito do período, t_l = efeito do tempo, AL_{ij} = efeito da interação entre teor de amido e inclusão do PFL, At_{il} = efeito da interação entre teor de amido e tempo, Lt_{jl} = efeito da interação entre inclusão do PFL e tempo, ALt_{ijl} = efeito da interação tripla entre teor de amido, inclusão do PFL e tempo e e_{ijkl} = erro residual. Diferenças significativas foram consideradas quando $P \leq 0,05$ e tendência de diferença quando $0,05 < P \leq 0,10$.

RESULTADOS

Antes do desafio

A inclusão de PFL aumentou ($P = 0,01$) a produção de leite comparado ao grupo controle (29,6 vs. 26,3 kg/d) (Tabela 3). De forma semelhante, quando foi analisado o efeito do PFL sobre o controle, o grupo que recebeu o PFL também apresentou efeito significativo

com maior ($P = 0,03$) produção de leite corrigido para 3,5% de gordura (30,3 vs. 26,6 kg/d) e aumentou ($P = 0,01$) a produção de leite corrigido para gordura em relação a IMS (1,33 vs. 1.18). A IMS não foi afetada pelos tratamentos. O teor de amido não afetou nenhuma das características citadas acima.

Quando o peso corporal foi analisado, houve uma tendência tanto do uso de PFL ($P = 0,07$) como do teor de amido ($P = 0,10$) sobre essa variável, sendo que tanto o alto amido (597,5 kg para o alto amido vs. 586,6 kg para o baixo amido) como o uso de PFL (598,3 kg para PFL vs. 585,9 kg para controle) tenderam a aumentar o peso das vacas (Tabela 3).

Composição do leite

Foi observado aumento ($P = 0,04$) na produção de gordura no grupo que recebeu PFL (1,08 kg/d), comparado ao grupo controle (0,94 kg/d) (Tabela 3). Ocorreu efeito ($P = 0,05$) da interação entre PFL e amido para percentagem de gordura, sendo que o PFL aumentou a percentagem de gordura para o grupo baixo amido e reduziu para o grupo alto amido quando estes foram comparados com os respectivos grupos sem PFL.

Observou-se que o PFL aumentou ($P = 0,002$) a produção de proteína, comparado ao controle (0,96 vs. 0,84 kg/d) (Tabela 3). O teor de amido teve efeito tanto na produção ($P = 0,02$) como na porcentagem ($P = 0,005$) de proteína. O grupo alto amido produziu mais proteína que o baixo teor de amido (0,94 vs. 0,86 kg/d) e também teve maior porcentagem de proteína no leite (3,31 vs. 3,18%).

O fornecimento de PFL também teve efeito na produção de lactose ($P = 0,02$), sendo que este grupo produziu mais lactose que o controle (1,42 vs. 1,26 kg/d). As vacas que receberam PFL também apresentaram maior quantidade ($P = 0,02$) de energia líquida para produzir leite que as vacas controle (21,1 vs. 18,4 Mcal/d) (Tabela 3).

Digestibilidade total

A inclusão do PFL mostrou efeito somente na digestibilidade da proteína bruta. As vacas que receberam o PFL tiveram maior ($P = 0,03$) digestibilidade da proteína que as vacas controle (70 vs. 68%) (Tabela 4). Em relação à digestibilidade da PB também foi observada uma tendência ($P = 0,09$) de interação entre o uso de PFL e o teor de amido, sendo que houve aumento na digestibilidade da PB quando se associou o PFL na dieta de alto teor de amido.

O teor de amido da dieta influenciou a digestibilidade total de forma mais ampla. Quando foram comparadas as vacas que receberam alto teor de amido com as vacas de baixo amido na dieta, houve redução ($P = 0,02$) na digestibilidade da MO (72 vs. 74%), menor ($P = 0,04$) digestibilidade da FDN (57 vs. 61%), menor ($P = 0,04$) digestibilidade da FDA (52 vs. 58%) e uma tendência de redução ($P = 0,06$) sobre a digestibilidade da MS (70 vs. 72%) (Tabela 4). A digestibilidade do amido não foi afetada pelos tratamentos (PFL ou teor de amido).

Digestibilidade ruminal e fluxo omasal do nitrogênio

A digestibilidade ruminal da FDN foi afetada ($P = 0,01$) pelo teor de amido na dieta (Tabela 4). Vacas que receberam baixo amido na dieta tiveram 59% de digestibilidade do FDN contra 51% nas vacas que receberam alto amido na dieta. Houve interação significativa ($P = 0,02$) entre o teor de amido e o PFL para a digestibilidade da FDN. A dieta com alto teor de amido apresentou superioridade de 10% na digestibilidade quando adicionado PFL quando comparada à dieta sem PFL.

Não foi observado efeito sobre a digestibilidade aparente da MO entre os tratamentos (Tabela 4). O fluxo omasal de proteína também não mostrou efeito para o PFL e para o teor de amido. Esse resultado foi semelhante tanto para o fluxo total de PB como para o fluxo de proteína microbiana. Entretanto, observa-se uma tendência ($P = 0,09$) de interação

entretende amido e PFL, sendo que, houve um aumento na proteína microbiana quando se associou o PFL e o alto teor de amido e de forma oposta, o tratamento com baixo teor de amido apresentou redução da proteína microbiana quando o PFL esteve presente na dieta.

Nitrogênio amoniacal e pH ruminal

Os animais com dieta com alto teor de amido mostraram uma tendência ($P = 0,06$) de ter menor concentração de N amoniacal (6,65 mM) que os animais do grupo baixo amido (8,33 mM) (Tabela 5).

Não foi observado efeito do PFL sobre a concentração de N amoniacal ou para o pH ruminal (Tabela 5). No pH ruminal, foi observado interação significativa ($P = 0,04$) entre teor de amido e PFL. O tratamento com alto teor de amido com PFL a, onde o pH ruminal foi mais elevado que os demais tratamentos (Figura 1).

Metabólitos do sangue

A inclusão de PFL tendeu ($P = 0,07$) a aumentar a concentração de N ureico no plasma (9,0 vs. 9,7 mg/dL) e tendeu ($P = 0,08$) a reduzir a concentração de haptoglobina (0,060 vs. 0,037 DO) (Tabela 6). Uma tendência ($P = 0,08$) na interação entre PFL e teor de amido foi observada na concentração de haptoglobina plasmática, sendo que o grupo que recebeu PFL com alto amido teve menor densidade óptica de haptoglobina que o grupo alto amido sem PFL.

Depois do desafio

Após desafiar as vacas à acidose ruminal subclínica, foi observado efeito ($P = 0,004$) de PFL sobre a produção de leite. As vacas que receberam PFL tiveram maior produção de leite (30,1 kg/d) que as vacas controle (27,3 kg/d). O mesmo efeito ($P = 0,001$) foi observado

para leite corrigido para 3,5% de gordura (30,1 kg/d para o grupo PFL contra 27,0 kg/d para o grupo controle). O PFL também afetou ($P = 0,03$) de forma positiva a relação entre leite corrigido para gordura e IMS (1,30 e 1,20 para o grupo PFL e o controle) (Tabela 7).

Não houve efeito sobre a IMS e o peso corporal entre os tratamentos. O teor de amido na dieta não afetou a IMS, produção de leite, peso corporal e os componentes do leite (Tabela 7).

Composição do leite

O tratamento PFL apresentou efeito significativo para produção de gordura ($P = 0,01$), produção de proteína ($P = 0,02$), produção de lactose ($P = 0,008$) e energia líquida para produção de leite ($P = 0,003$) (Tabela 7). O PFL aumentou a produção de todos os componentes do leite, sendo que a gordura aumentou de 0,93 kg/d do grupo controle para 1,06 kg/d para o grupo com PFL, a proteína de 0,87 para 0,98 kg/d, a lactose de 1,32 para 1,45 kg/d e a EL_L de 18,8 para 21,1 Mcal/d, respectivamente.

Para lactose, foi observada uma tendência ($P = 0,09$) de interação entre teor de amido e PFL (Tabela 7). A lactose foi mais elevada no grupo tratado com PFL e com alto teor de amido na dieta, comparado ao baixo amido e sem PFL. O teor de amido não afetou nenhum dos componentes do leite após o desafio.

Nitrogênio amoniacal e pH ruminal

O N amoniacal foi analisado no dia do desafio, fazendo uma média dos resultados entre as duas coletas realizadas durante este dia (1h e 13h após o desafio) e uma análise nos dias seguintes ao desafio. Em ambos os resultados, o PFL não apresentou efeito sobre a concentração de N amoniacal (Tabela 8). No entanto, o teor de amido teve efeito ($P = 0,02$) no dia do desafio, sendo que o tratamento com alto teor de amido apresentou menor

concentração de N amoniacal que o tratamento com baixo teor de amido na dieta (4,40 vs. 6,38 mg/dL, respectivamente). Nos dias seguintes ao desafio, foi observado uma tendência ($P = 0,06$) de redução na concentração do grupo alto amido (4,80 mg/dL) comparado ao grupo baixo teor de amido (6,54 mg/dL).

O pH do rúmen após o desafio foi alterado como efeito ($P = 0,03$) do teor de amido, sendo que o pH médio foi mais elevado para o grupo baixo amido (6,32) que para o grupo com alto amido na dieta (6,06) (Figura 2) (Tabela 8).

Metabólitos do sangue

Nenhum efeito foi observado sobre os metabólitos do sangue tanto para PFL quanto para o teor de amido da dieta (Tabela 9). Somente foi observada uma tendência ($P = 0,10$) de maior valor de densidade óptica de haptoglobina para o tratamento com alto teor de amido na dieta (0,049), comparado ao tratamento com baixo teor de amido na dieta (0,030).

DISCUSSÃO

Antes do desafio

Estudos realizados já reportavam efeito da inclusão da leveduras vivas e o produto da fermentação de leveduras (PFL) sobre o ambiente ruminal resultando em melhora no desempenho produtivo de vacas de leite (Desnoyers et al., 2009, Nocek et al., 2011, Allen e Ying, 2012, Poppy et al., 2014). No entanto, até o presente momento, os resultados de trabalhos que avaliaram a resposta da adição de *S. cerevisiae* na dieta de vacas leiteiras em lactação, ainda tem sido bastante variável.

Não foi observado efeito dos tratamentos sobre a IMS, o que também foi reportado por Thrune et al. (2009), Hippen et al. (2010) e Hristov et al. (2010). Entretanto, houve maior

produção de leite corrigido para gordura para as vacas que receberam PFL. Segundo Bruno et al. (2009), não houve efeito sobre o consumo, mas foi observado aumento na produção de leite para vacas recebendo PFL. Os autores reportaram que esse aumento na produção de leite com a mesma IMS pode ter ocorrido por uma melhoria no ambiente ruminal, observada na redução da concentração de amônia no rúmen, provocado pela presença do PFL.

No presente estudo o PFL aumentou a produção de leite em 3,3 kg/d em relação às vacas que não receberam PFL e também aumentou 3,7 kg/d quando o leite foi corrigido para 3,5% de gordura. Este resultado está de acordo com outros trabalhos que também observaram aumento na produção de leite e de leite corrigido para gordura em vacas com PFL (Nocek et al., 2011, Zaworski et al., 2014).

Composição do leite

Os aumentos na produção de gordura e proteína do leite observados no tratamento com PFL, estão de acordo com os resultados reportados por Nocek et al. (2011). Os autores atribuem esse aumento na produção de gordura e proteína pela modificação na função ruminal promovido pela ação do PFL, e assim, estimulando a fermentação, aumentando a população e a taxa de crescimento das bactérias celulolíticas, o que irá melhorar a taxa de digestão inicial das forragens e aumentar a produção de gordura pelo aumento da síntese de acetato e proteína microbiana.

Chaucheyras-Durand e Durand (2010) reportaram que o efeito das leveduras vivas ou do PFL no ambiente ruminal favorece microrganismos que estão envolvidos na biohidrogenação ruminal e na síntese *de novo* da gordura do leite. Além disso, o aumento na quantidade da proteína microbiana pode ter o objetivo de fornecer mais proteína para o leite (Nocek et al., 2011). O efeito observado pelo teor de amido sobre a produção e a

percentagem de proteína pode estar relacionado ao fornecimento de PFL para as vacas. Existe uma interação entre o teor de amido e o uso de PFL sobre a produção de proteína no leite.

Hristov et al.(2010) citaram um incremento no efeito do PFL quando esta foi associada a dietas com alto amido e isso pode ser observado no presente estudo, visto que quando se associou PFL com o alto teor de amido, houve aumento no fluxo de proteína microbiana para o omaso. Esse aumento da proteína microbiana aumenta o aporte de aminoácidos para o intestino e isso pode aumentar a proteína no leite, além do peso corporal e do escore de condição corporal. Segundo Erasmus et al. (1992), o fornecimento de PFL aumentou o fluxo duodenal de metionina de 41 para 58 g/d, o que pode favorecer a síntese de proteína no leite, pois a metionina é um aminoácido limitante no metabolismo dos ruminantes (Schwab et al., 1992).

Outro efeito da inclusão de PFL na dieta de vacas de leite reportado por AlZahal et al. (2014), foi o aumento na produção de ácido propiônico na fermentação ruminal. O propionato é um importante precursor de lactose no leite e o seu aumento no rúmen pode estar diretamente ligado a uma maior produção de lactose. Isso pode explicar o aumento na produção de lactose observado.

Digestibilidade aparente

O fornecimento de PFL para as vacas aumentou a digestibilidade aparente da proteína bruta. Este resultado está de acordo com os dados reportados por Miller-Webster et al. (2002) e Fortina et al. (2011) que observaram aumento da digestibilidade da proteína bruta de vacas com inclusão de PFL comparado ao controle. Miller-Webster et al. (2002) também citam que não houve efeito do PFL sobre nenhum dos outros coeficientes de digestibilidade.

Foi observado que ao contrário do PFL, o aumento no teor de amido reduziu a digestibilidade da MO, FDN, FDA e MS. Esses resultados então de acordo com Sarwar et al.

(1992), que observaram redução na digestibilidade da MO e do FDN em vacas que receberam uma dieta com 35% de carboidratos não fibrosos comparado com vacas com uma dieta com 25% de carboidratos não fibrosos. Segundo os autores, isso aconteceu porque houve redução no pH ruminal devido ao maior teor de amido na dieta. Esse efeito sobre o pH ruminal também foi observado no presente estudo. Quando se aumenta o nível de grãos na dieta, se aumenta a densidade energética, a produção de ácidos pela fermentação de carboidratos não estruturais e com isso, pode-se ultrapassar a capacidade tamponante do rúmen. Quando o pH ruminal começa a reduzir, a degradação da fibra também reduz (Sarwar et al., 1992).

Digestibilidade ruminal e fluxo omasal de nitrogênio

A redução na digestibilidade ruminal da FDN está de acordo com os resultados reportados por Agle et al. (2010). Segundo estes autores, que testaram dietas contendo 52 vs. 72% de concentrado, os animais que receberam o alto nível de concentrado apresentaram digestibilidade ruminal do FDN inferior aos animais que receberam 52% de concentrado na dieta. A alta concentração de glicose no rúmen está relacionada à redução na digestão da fibra pelas bactérias através da produção de compostos inibitórios, principalmente ácido láctico.

O fluxo omasal apresentou um aumento na quantidade de proteína microbiana na interação entre amido e PFL e o maior valor foi observado quando se associou o PFL com alto teor de amido. Estes resultados estão de acordo com os observados por Erasmus et al. (1992) que reportam que o N microbiano representou 56 e 47% do N ingerido em vacas com PFL e controle, respectivamente. Segundo os autores o aumento no fluxo de N não alimentar nos animais que receberam PFL ocorreu devido à maior eficiência na síntese de proteína microbiana. O PFL estimula a atividade microbiana e, com isso, mais N alimentar foi incorporado dentro da fração microbiana. Fungos e cultura de leveduras podem afetar o fluxo

de proteína originado no rúmen e, provavelmente, o que ocorre devido a mudanças no número e na atividade da população microbiana do rúmen (Erasmus et al., 1992).

Os PFL fornecem vários fatores de crescimento, pró-vitaminas e/ou micronutrientes que estimulam o crescimento das bactérias ruminais (Allen e Ying et al., 2012). Todas estas características que os PFL demonstram sobre o ambiente e as bactérias ruminais, associadas com a disponibilidade de energia e esqueletos de carbono oriundos do alto teor de amido na dieta, estimulam o crescimento da microbiota ruminal. Porém, tal fato não foi observado para o tratamento PFL (Tabela 4).

Nitrogênio amoniacal e pH ruminal

O alto teor de amido da dieta tendeu a reduzir a concentração de N amoniacal no rúmen, comparado ao tratamento com baixo teor de amido na dieta. Esse resultado está de acordo com Agle et al. (2010). Os autores reportam que a provisão de carboidratos fermentáveis pode reduzir a produção de amônia por reduzir a deaminação e melhorar a captura microbiana de aminoácidos livres ou melhorar a captura microbiana da amônia livre no rúmen.

Não foi observado efeito do PFL e do teor de amido sobre o pH ruminal antes do desafio. Entretanto, houve interação significativa entre PFL e amido, ficando o grupo com PFL e com alto amido na dieta como o valor mais elevado de pH ruminal médio (Tabela 5). Autores atribuem esse resultado ao efeito que os PFL têm na estimulação de bactérias utilizadores de ácido láctico. Essa ação poderia resultar em uma redução na concentração de ácido láctico e assim, aumentar o ponto mínimo do pH diário, resultando em uma maior estabilidade do ambiente ruminal (Nisbet e Martin, 1991, Callaway e Martin, 1997).

Metabólitos do plasma

Foi observada uma tendência de redução da haptoglobina plasmática nas vacas que receberam PFL e dietas com alto teor de amido. A haptoglobina é uma proteína de fase aguda que é liberada por macrófagos em situações de estresse tecidual, principalmente em processos inflamatórios e infecções (Murata et al., 2004, Lomborg et al., 2008). Essa redução da haptoglobina indica que o PFL foi eficiente em manter um ambiente ruminal estável e isso pode ter ocorrido principalmente pelo pH mais elevado nas vacas tratadas com PFL (Tabela 5).

Depois do desafio

Após o desafio à acidose subclínica, os resultados observados foram praticamente os mesmos dos observados durante o período pré-desafio. Esses dados indicam que o desafio não foi capaz de provocar mudanças no desempenho produtivo das vacas.

Destaca-se que o pH passou a ter efeito do teor de amido após o desafio. Foi observado que o alto teor de amido reduziu o pH ruminal comparado ao tratamento contendo baixo teor de amido. Este resultado está de acordo com Agle et al. (2010) que compararam dietas com diferentes níveis de carboidratos em vacas de leite. Alta quantidade de carboidratos prontamente degradáveis aumenta a fermentação ruminal e a produção de AGV e ácido láctico, que tendem a baixar o pH no rúmen.

O N amoniacal também sofreu efeito do teor de amido no dia do desafio e nos dias seguintes. As vacas que receberam alto teor de amido tiveram menor concentração de N amoniacal no rúmen que as vacas com baixo teor de amido na dieta. Esses resultados também foram observados por Agle et al. (2010). A disponibilidade de carboidratos no rúmen determina a taxa de crescimento microbiano no rúmen e a eficiência da utilização da amônia (Allen e Ying, 2012). Se a energia é limitante, os microrganismos ruminais degradam as

proteínas alimentares formando amônia e a captação de amônia é suprimida (Hristov et al., 2010). Os carboidratos fermentáveis podem reduzir a produção de amônia (por reduzir a deaminação e melhorar a captura microbiana de aminoácidos livres) ou por melhorar a captação microbiana da amônia livre no rúmen (Hristov et al., 2005).

CONCLUSÃO

Alimentação com alto teor de amido na dieta (29%) de vacas em lactação reduz o pH ruminal e a digestibilidade ruminal e verdadeira da FDN, mas esses efeitos negativos sobre a digestibilidade podem ser atenuados com o fornecimento do produto da fermentação de leveduras (PFL) na dieta. Esta combinação entre a dieta com alto teor de amido e PFL também aumenta o fluxo de proteína microbiana para o omaso. Estas duas características podem confirmar que a associação entre alto teor de amido e PFL mostra-se eficiente na estabilidade do ambiente ruminal, aumentando o pH ruminal. O fornecimento diário de PFL na dieta proporciona aumento na produção de leite e na produção de gordura, proteína e lactose no leite.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agle, M., A. N. Hristov, S. Zaman, C. Schneider, P. M. Ndegwa, e V. K. Vaddella. 2010. Effect of dietary concentrate on rumen fermentation, digestibility, and nitrogen losses in dairy cows. *J Dairy Sci.* 93(9):4211-4222.
- Allen, M. S. e Y. Ying. 2012. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on ruminal starch digestion are dependent upon dry matter intake for lactating cows. *J Dairy Sci.* 95(11):6591-6605.

- AlZahal, O., L. Dionissopoulos, A. H. Laarman, N. Walker, e B. W. McBride. 2014. Active dry *Saccharomyces cerevisiae* can alleviate the effect of subacute ruminal acidosis in lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 97:1-13.
- Bruno, R.G.S., H.M. Rutigliano, R.L. Cerri, P.H. Robinson, e J.E.P. Santos. 2009. Effect of feeding *Saccharomyces Cerevisiae* on performance of dairy cows during summer heat stress. *Anim Feed Sci Technol.* 150:175-186.
- Callaway, E. S. e S. A. Martin. 1997. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on ruminal bacteria that utilize lactate and digest cellulose. *J Dairy Sci.* 80(9):2035-2044.
- Chaucheyras, F., G. Fonty, G. Bertin, J. M. Salmon, e P. Gouet. 1996. Effects of a strain of *Saccharomyces cerevisiae* (Levucell SC1), a microbial additive for ruminants, on lactate metabolism in vitro. *Can J Microbiol.* 42(9):927-933.
- Chaucheyras-Durand, F. e H. Durand. 2010. Probiotics in animal nutrition and health. *Benef Microb.* 1(1):3-9.
- Chen, X. B. e J. Gomez. 1995. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives - an overview of the technical details. *Internat Feed Resour Unit.*
- Desnoyers, M., S. Giger-Reverdin, G. Bertin, C. Duvaux-Ponter, e D. Sauvant. 2009. Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. *J Dairy Sci.* 92(4):1620-1632.
- Erasmus, L. J., P. M. Botha, e A. Kistner. 1992. Effect of yeast culture supplement on production, rumen fermentation, and duodenal nitrogen flow in dairy cows. *J Dairy Sci.* 75(11):3056-3065.
- Fortina, R., L. M. Battaglini, F. Opsi, S. Tassone, M. Renna, e A. Mimosi. 2011. Effects of inactivated yeast culture on rumen fermentation and performance of mid-lactation dairy cows. *J Anim Vet Advan.* 10(5):577-580.

- Hippen, A. R., D. J. Schingoethe, K. F. Kalscheur, P. L. Linke, D. R. Rennich, M. M. Abdelqader, e I. Yoon. 2010. *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product in dairy cow diets containing dried distillers grains plus solubles. *J Dairy Sci.* 93:2661-2669.
- Hristov, A. N., J. K. Ropp, K. L. Grandeem, S. Abedi, R. P. Etter, A. Melgar, e A. E. Foley. 2005. Effect of carbohydrate source on ammonia utilization in lactating dairy cows. *J Anim Sci.* 83(2):408-421.
- Hristov, A. N., G. Varga, T. Cassidy, M. Long, K. Heyler, S. K. Karnati, B. Corl, C. J. Hovde, e I. Yoon. 2010. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on ruminal fermentation and nutrient utilization in dairy cows. *J Dairy Sci.* 93(2):682-692.
- Kozloski, G. V. 2009. *Bioquímica dos Ruminantes*. 2a Edição ed. Editora UFSM.
- Lomborg, S. R., L. R. Nielsen, P. M. Heegaard, e S. Jacobsen. 2008. Acute phase proteins in cattle after exposure to complex stress. *Vet Res Commun.* 32(7):575-582.
- Miller-Webster, T., W. H. Hoover, M. Holt, e J. E. Nocek. 2002. influence of yeast culture on ruminal microbial metabolism in continuous culture. *J Dairy Sci.* 85(8):2009-2014.
- Mullins, C. R., L. K. Mamedova, A. J. Carpenter, Y. Ying, M. S. Allen, I. Yoon, e B. J. Bradford. 2013. Analysis of rumen microbial populations in lactating dairy cattle fed diets varying in carbohydrate profiles and *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product. *J Dairy Sci.* 96(9):5872-5881.
- Murata, H., N. Shimada, e M. Yoshioka. 2004. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *Vet J.* 168(1):28-40.
- Nisbet, D. J. e S. A. Martin. 1991. Effect of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on lactate utilization by the ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. *J Anim Sci.* 69(11):4628-4633.

- Nocek, J. E., M. G. Holt, e J. Oppy. 2011. Effects of supplementation with yeast culture and enzymatically hydrolyzed yeast on performance of early lactation dairy cattle. *J Dairy Sci.* 94(8):4046-4056.
- National Research Council, 2001. Nutrient requirements of dairy cattle, 7th revised ed. National Academic Science, Washington, DC, USA.
- Putnam, D. E., C. G. Schwab, M. T. Socha, N. L. Whitehouse, N. A. Kierstead, e B. D. Garthwaite. 1997. Effect of yeast culture in the diets of early lactation dairy cows on ruminal fermentation and passage of nitrogen fractions and amino acids to the small intestine. *J Dairy Sci.* 80(2):374-384.
- Poppy, G. D., A. R. Rabiee, I. J. Lean, W. K. Sanchez, K. L. Dorton, e P. S. Morley. 2012. A meta-analysis of the effects of feeding yeast culture produced by anaerobic fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* on milk production of lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 95:6027-6041.
- Rossi, F., A. D. Luccia, D. Vincenti, e P. S. Cocconcelli. 2004. Effects of peptidic fractions from *Saccharomyces cerevisiae* culture on growth and metabolism of the ruminal bacteria *Megasphaera elsdenii*. *Anim Res.* 53(3):177-186.
- Sarwar, M., J. L. Firkins, e M. L. Eastridge. 1992. Effects of Varying Forage and Concentrate Carbohydrates on Nutrient Digestibilities and Milk Production by Dairy Cows^{1,2}. *J Dairy Sci.* 75(6):1533-1542.
- Schneider, B. H. e W. P. Flatt. 1975. The evaluation of feeds through digestibility experiments. University of Georgia Press.
- Throne, M., A. Bach, M. Ruiz-Moreno, M. D. Stern, e J. G. Linn. 2009. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* on ruminal pH and microbial fermentation in dairy cows: Yeast supplementation on rumen fermentation. *Livest Sci.* 124(13):261-265.

- Valadares, R. F., G. A. Broderick, S. C. Valadares Filho, e M. K. Clayton. 1999. Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. *J Dairy Sci.* 82(12):2686-2696.
- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, e B. A. Lewis. 1991. methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci.* 74(10):3583-3597.
- Zaworski, E. M., C. M. Shriver-Munsch, N. A. Fadden, W. K. Sanchez, I. Yoon, e G. Bobe. 2014. Effects of feeding various dosages of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product in transition dairy cows. *J Dairy Sci.* 97:3081-3098.
- Williams, C. H., D. J. David, e O. Iismaa. 1962. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. *J Agricult Sci.* 59(03):381-385.

Tabela 1. Composição dos ingredientes das rações completas e composição nutricional das dietas de alto e baixo amido

	Dieta	
	Baixo Amido	Alto Amido
Ingrediente, % MS		
Silagem de milho	39,1	32,7
Silagem de triticales	10,9	9,1
Milho moído fino	11,7	21,7
Casca de soja	12,0	11,6
Polpa cítrica	4,4	3,6
Semente de girassol integral	4,4	3,6
Farelo de soja, extração com solvente	8,7	9,7
Farelo de soja, processo térmico	4,4	3,6
Premix mineral-vitamínico-proteico	4,4	4,4
Nutrientes, Base na MS		
EL _L , Mcal/kg	1,56	1,59
Matéria orgânica, %	93,2 ± 0,3	93,5 ± 0,3
Proteína bruta, %	14,6 ± 0,6	14,6 ± 0,5
Amido, %	23,2 ± 1,7	29,0 ± 1,2
Carboidratos não fibrosos, %	36,6 ± 1,3	40,3 ± 1,1
Fibra em detergente ácido, %	21,7 ± 0,7	19,5 ± 0,6
Fibra em detergente neutro, %		
Total	38,1 ± 1,0	32,9 ± 0,8
Forragem	21,0 ± 0,1	17,0 ± 0,9
Extrato etéreo, %	3,9 ± 0,1	3,7 ± 0,1

EL_L = Energia líquida de lactação

Tabela 2. Composição nutricional e elementos ativos do produto da fermentação de levedura (Rumen Yeast)

Nitrogênio não proteico	%		0,2
Extrato etéreo	%		0,1
Fibra bruta	%		0,9
Carboidratos	%		40,0
Cinzas	%		7,0
Nutrientes digestíveis totais	%		77,9
Energia digestível	kcal/kg		3.432
Densidade	g/L		500,0
<u>Análise Bromatológica</u>			
Contagem de cél. Inativas	Bilhões de cél/g	Mínimo	15
Umidade	%	Máximo	8,0
Proteína bruta	%	Mínimo	35,0
Mananoligossacarídeos	%	Mínimo	15,0
β -glucanos	%	Mínimo	25,0
<u>Análise Microbiológica</u>			
Contagem total de placa	UFC/g	Máximo	15.000
Coliformes totais	NMP/g	Máximo	10
Coliformes fecais	NMP/g	-	Ausente
<i>E. coli</i>	UFC/g	-	Ausente
Leveduras e fungos	UFC/g	Máximo	100
<i>Salmonella</i>	/25g	-	Ausente

UFC/g – Unidades formadoras de colônia por grama

NMP/g – Número mais provável por grama

Tabela 3. Efeito da inclusão do produto da fermentação de levedura em dietas de baixo e alto teor de amido sobre o desempenho produtivo, peso corporal e composição do leite de vacas lactantes

	Tratamento				SEM	P		
	Controle		PFL ¹			PFL ¹	Amido ²	PFL x A ³
	Baixo	Alto	Baixo	Alto				
Ingestão MS, kg/d	22,6	22,7	22,9	22,8	0,7	0,71	0,99	0,99
Leite, kg/d	26,5	26,2	28,4	30,9	0,9	0,01	0,28	0,20
LCG 3,5%, kg/d	26,4	26,8	30,1	30,5	1,3	0,03	0,77	0,98
LCG/IMS	1,17	1,19	1,32	1,34	0,04	0,01	0,63	0,99
Peso corporal, kg	583,0	588,8	590,3	606,3	5,7	0,07	0,10	0,41
Gordura do leite								
%	3,54	3,65	3,93	3,46	0,12	0,45	0,19	0,05
Produção, kg/d	0,92	0,95	1,10	1,06	0,06	0,04	0,92	0,57
Proteína do leite								
%	3,17	3,27	3,19	3,35	0,03	0,15	0,05	0,29
Produção, kg/d	0,83	0,85	0,90	1,03	0,02	0,01	0,02	0,08
Lactose do leite								
%	4,79	4,75	4,78	4,79	0,05	0,74	0,70	0,67
Produção, kg/d	1,27	1,25	1,36	1,48	0,05	0,02	0,38	0,20
EL _L do leite								
Mcal/kg	0,70	0,71	0,73	0,70	0,01	0,28	0,37	0,06
Mcal/d	18,3	18,6	20,7	21,4	0,8	0,02	0,54	0,79

¹PFL. = Efeito do produto da fermentação de levedura

²Amido = Efeito do teor de amido

³PFL x A = Efeito da interação entre o produto da fermentação de levedura e o teor de amido

LCG 3,5% = Leite corrigido para 3,5% de gordura; calculado segundo NRC (2001)

EL_L = Energia líquida de lactação; calculado segundo NRC (2001)

Tabela 4. Efeito da inclusão do produto da fermentação de levedura em dietas de baixo e alto teor de amido sobre a digestibilidade total e ruminal e fluxo omasal de nitrogênio dos elementos alimentares em vacas lactantes

	Tratamento				SEM	P		
	Controle		PFL ¹			PFL ¹	Amido ²	PFL x A ³
	Baixo	Alto	Baixo	Alto				
Digestibilidade total, %								
MS	71,7	70,2	72,5	70,7	0,7	0,38	0,06	0,77
MO	73,5	72,0	74,3	72,7	0,5	0,16	0,02	0,96
PB	68,7	67,1	69,3	70,6	0,01	0,03	0,86	0,09
FDN	60,6	55,9	61,8	57,5	1,7	0,45	0,04	0,92
FDA	57,2	52,8	58,0	50,5	2,2	0,74	0,04	0,50
Amido	95,8	97,1	94,8	95,3	0,8	0,11	0,30	0,65
Digestibilidade ruminal, %								
MO	53,2	53,8	56,5	56,0	0,02	0,18	0,96	0,77
FDN	60,5	46,2	56,7	56,0	0,02	0,21	0,01	0,02
Fluxo omasal de PB, kg/d								
Total	3,23	3,28	3,40	3,65	0,30	0,39	0,63	0,75
Microbiano	1,89	1,83	1,72	2,01	0,09	0,96	0,24	0,09

¹ PFL = Efeito do produto da fermentação de levedura

² Amido = Efeito do teor de amido

³ PFL x A = Efeito da interação entre o produto da fermentação de levedura e o teor de amido

MS = Matéria seca

MO = Matéria orgânica

PB = Proteína bruta

FDN = Fibra em detergente neutro

FDA = Fibra em detergente ácido

Tabela 5. Efeito da inclusão do produto da fermentação de levedura em dietas de baixo e alto teor de amido sobre o nitrogênio amoniacal e o pH do rúmen

	Tratamento				SEM	<i>P</i>		
	Controle		PFL ¹			PFL ¹	Amido ²	PFL x A ³
	Baixo	Alto	Baixo	Alto				
Rúmen								
N amoniacal, mg/dL	8,82	6,54	7,84	6,76	0,74	0,63	0,06	0,45
pH	6,34	6,02	6,22	6,41	0,12	0,17	0,44	0,04

¹PFL= Efeito do produto da fermentação de levedura

²Amido = Efeito do teor de amido

³ PFL x A = Efeito da interação entre o produto da fermentação de levedura e o teor de amido

Tabela 6. Efeito da inclusão do produto da fermentação de levedura em dietas de baixo e alto teor de amido sobre os metabólitos plasmáticos em vacas lactantes

	Tratamento				SEM	<i>P</i>		
	Controle		PFL ¹			PFL ¹	Amido ²	PFL x A ³
	Baixo	Alto	Baixo	Alto				
Glicose, mg/dL	62,4	64,1	65,3	67,0	1,99	0,17	0,40	0,99
AGNE, mM	0,123	0,101	0,120	0,125	18,6	0,55	0,64	0,47
N ureico, mg/dL	8,83	9,18	9,45	9,95	5,29	0,07	0,24	0,82
Haptoglobina, DO	0,039	0,081	0,039	0,035	0,01	0,08	0,14	0,08

¹ PFL = Efeito do produto da fermentação de levedura

² Amido = Efeito do teor de amido

³ PFL x A = Efeito da interação entre o produto da fermentação de levedura e o teor de amido

AGNE = Ácidos graxos não esterificados

DO = Densidade óptica

Tabela 7. Efeito da inclusão do produto da fermentação de levedura em dietas de baixo e alto teor de amido sobre o desempenho produtivo, peso corporal e composição do leite de vacas lactantes após o desafio a ácido ruminal subclínica

	Tratamento				SEM	P		
	Controle		PFL ¹			PFL ¹	Amido ²	PFL x A ³
	Baixo	Alto	Baixo	Alto				
Ingestão MS, kg/d	22,8	22,1	22,5	24,0	0,81	0,20	0,51	0,10
Leite, kg/d	27,4	27,2	29,1	31,1	1,47	0,004	0,18	0,11
LCG 3,5%, kg/d	27,6	26,4	29,6	30,7	0,63	0,001	0,88	0,11
LCG/IMS	1,21	1,20	1,32	1,28	0,04	0,03	0,47	0,68
Peso corporal, kg	585,8	594,3	594,3	604,3	23,0	0,22	0,22	0,92
Gordura do leite								
%	3,58	3,36	3,67	3,43	0,33	0,55	0,14	0,93
Produção, kg/d	0,97	0,90	1,05	1,06	0,05	0,01	0,43	0,32
Proteína do leite								
%	3,19	3,26	3,22	3,34	0,21	0,42	0,21	0,72
Produção, kg/d	0,87	0,88	0,93	1,03	0,04	0,02	0,12	0,21
Lactose do leite								
%	4,85	4,78	4,81	4,84	0,05	0,77	0,64	0,27
Produção, kg/d	1,33	1,30	1,40	1,50	0,08	0,008	0,34	0,09
EL _L do leite								
Mcal/kg	0,70	0,68	0,71	0,70	0,04	0,37	0,19	0,86
Mcal/d	19,2	18,4	20,6	21,6	0,52	0,003	0,78	0,11

¹ PFL = Efeito do produto da fermentação de levedura

² Amido = Efeito do teor de amido

³ PFL x A = Efeito da interação entre o produto da fermentação de levedura e o teor de amido

LCG 3,5% = Leite corrigido para 3,5% de gordura

EL_L = Energia líquida de lactação

Tabela 8. Efeito da inclusão do produto da fermentação de levedura em dietas de baixo e alto teor de amido sobre o nitrogênio amoniacal e o pH do rúmen após o desafio a ácido ruminal subclínica

	Tratamento				SEM	<i>P</i>		
	Controle		PFL ¹			PFL ¹	Amido ²	PFL x A ³
	Baixo	Alto	Baixo	Alto				
Dia do desafio								
N amoniacal, mg/dL	6,11	4,59	6,65	4,21	0,71	0,92	0,02	0,57
pH	6,28	6,04	6,36	6,08	0,11	0,58	0,03	0,84
Dias seguintes ao desafio								
N amoniacal, mg/dL	6,76	4,91	6,33	4,70	0,79	0,69	0,06	0,90

¹ PFL = Efeito do produto da fermentação de levedura

² Amido = Efeito do teor de amido

³ PFL x A = Efeito da interação entre o produto da fermentação de levedura e o teor de amido

Tabela 9. Efeito da inclusão do produto da fermentação de levedura em dietas de baixo e alto teor de amido sobre os metabólitos plasmáticos em vacas lactantes antes do desafio a acidose ruminal subclínica

	Tratamento				SEM	<i>P</i>		
	Controle		PFL ¹			PFL ¹	Amido ²	PFL x A ³
	Baixo	Alto	Baixo	Alto				
Glicose, mg/dL	62,0	62,1	62,8	64,7	1,66	0,34	0,57	0,61
AGNE, mM	0,098	0,092	0,094	0,096	7,88	0,96	0,77	0,65
N ureico, mg/dL	8,9	8,2	8,7	8,6	0,67	0,82	0,46	0,56
Haptoglobina, DO	0,032	0,064	0,029	0,035	0,01	0,15	0,10	0,22

¹ PFL¹ = Efeito do produto da fermentação de levedura

² Amido = Efeito do teor de amido

³ PFL x A = Efeito da interação entre o produto da fermentação de levedura e o teor de amido

AGNE = Ácidos graxos não esterificados

DO = Densidade óptica

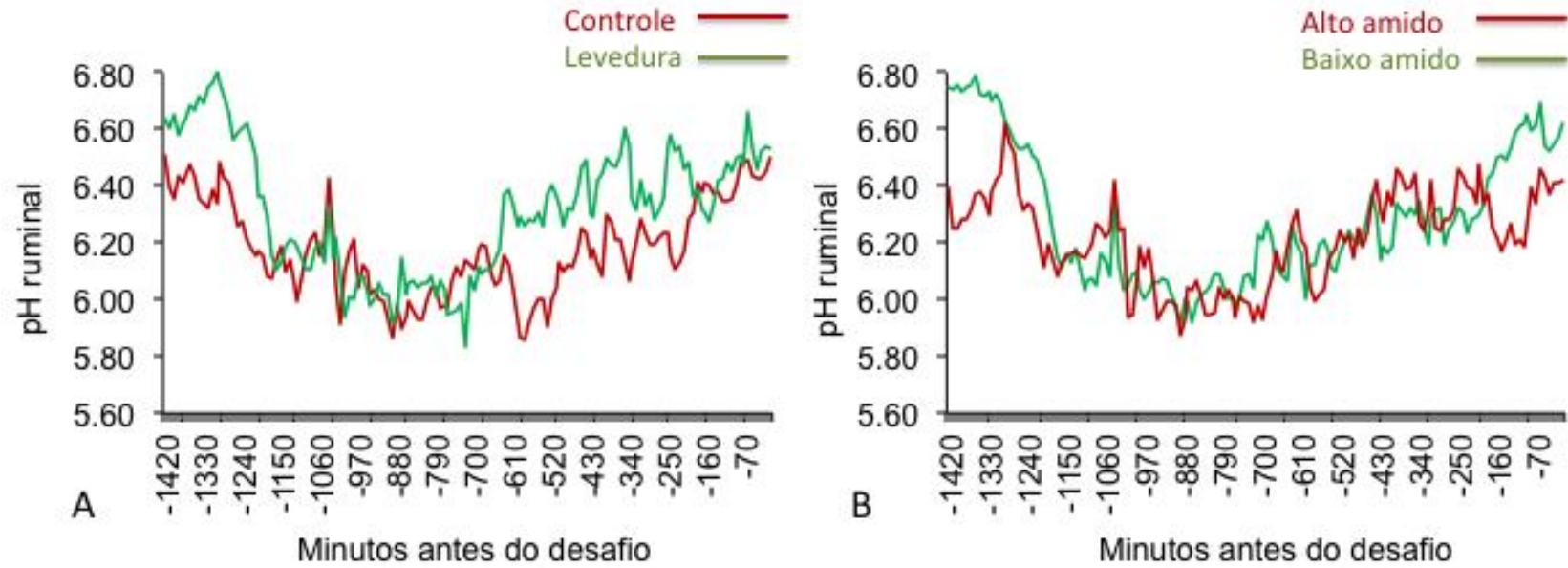


Figura 1. Variação do pH ruminal durante 24 h de vacas em lactação com inclusão do produto da fermentação de levedura ou não (A) em dietas de baixo e alto teor de amido (B).

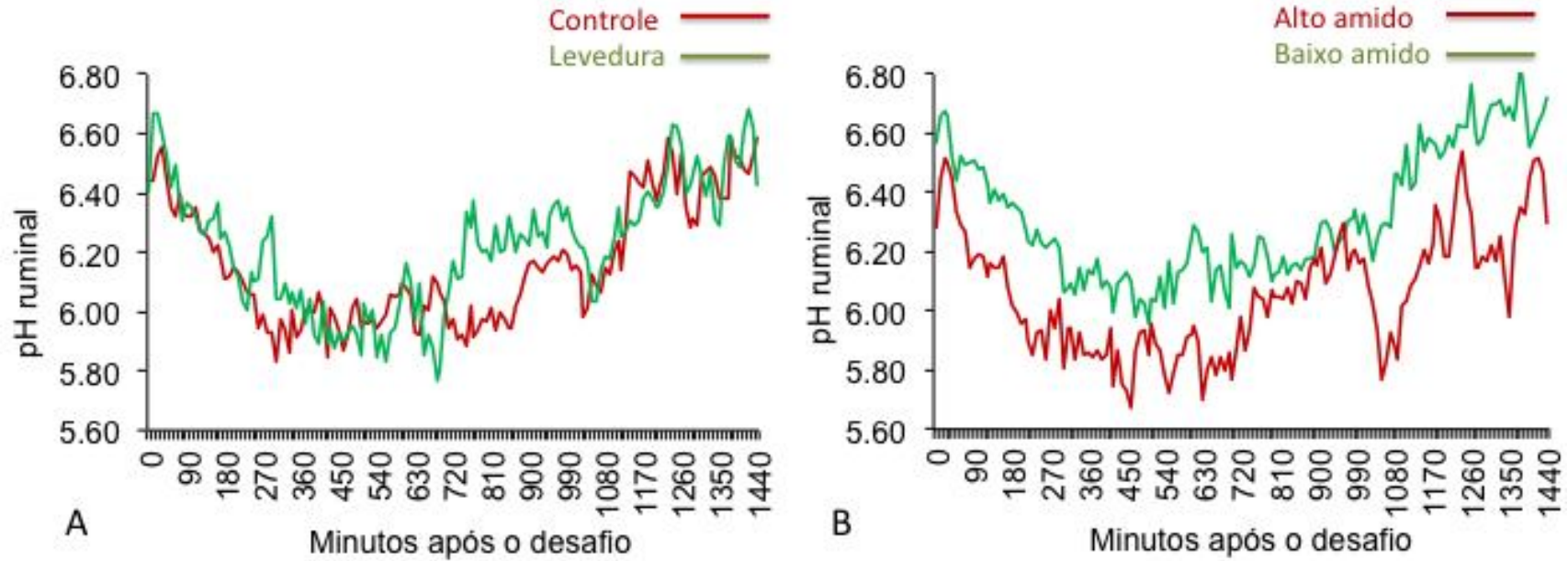


Figura 2. Variação do pH ruminal durante 24 h de vacas em lactação com inclusão do produto da fermentação de levedura ou não (A) em dietas de baixo e alto teor de amido (B) após o desafio a acidose ruminal subclínica.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A alimentação com dietas com altas proporções de ração concentrada é muito utilizada em rebanhos com animais de alto teor de produção de leite. O fornecimento deste tipo de dieta, aumenta muito o risco de acidose ruminal subclínica, o que pode provocar inúmeros problemas como redução na ingestão de alimento, da produção de leite e depressão da gordura do leite.

Produtos da fermentação de leveduras (PFL) são fornecidos na dieta de vacas leiteiras e têm sido eficientes na redução dos efeitos provocados pela acidose ruminal, segundo diversos trabalhos encontrados na literatura.

A inclusão do produto da fermentação da *Saccharomyces cerevisiae* mantém o pH ruminal mais elevado em vacas que recebem alta quantidade de amido na dieta. Esse efeito sobre o pH ruminal é responsável pela melhoria do ambiente ruminal, que torna o rúmen mais favorável ao crescimento e fermentação das bactérias ruminais.

Este efeito sobre o pH ruminal ocorre em razão do aumento no número de bactérias que utilizam o ácido láctico do rúmen como substrato. Com maior número dessas bactérias presente no rúmen, maior será a captura do ácido láctico livre no ambiente e maior o pH ruminal. Com um pH mais alto, ocorre também aumento das bactérias celulolíticas e com isso, aumento da digestão da FDN e da proteína bruta alimentar o que aumenta a utilização dos nutrientes alimentares tanto pelos microrganismos no rúmen quanto pelo ruminante.

Como ocorre aumento no número de bactérias do rúmen dos animais que recebem o PFL na dieta, isso implica em maior quantidade de proteína microbiana que é absorvida pelo animal a nível intestinal. A interação entre o fornecimento de PFL para vacas alimentadas com dietas com alto teor de amido proporciona melhor efeito nesta

produção de proteína microbiana, pois as bactérias também precisam que energia disponível para aumentar a taxa de crescimento em uma condição favorável de crescimento que é ocasionada pelos efeitos da inclusão de PFL.

Com a maior digestibilidade da FND, maior produção de ácidos graxos voláteis, maior produção de proteína de origem microbiana e um pH ruminal mais elevado e favorável à fermentação microbiana, a produção de leite e dos componentes do leite como proteína, gordura e lactose também aumentam nas vacas que recebem PFL na dieta.

A inclusão do produto da fermentação da *Saccharomyces cerevisiae* na alimentação das vacas leiteiras em lactação é eficiente para atenuar os efeitos deletérios do fornecimento de dietas com alto teor de amido e aumenta o desempenho produtivo destes animais.