



**GUSTAVO GONÇALVES DE SOUZA SALVATI**

**SUPLEMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS  
COM LEVEDURAS VIVAS DURANTE O  
VERÃO**

**LAVRAS – MG**

**2014**

**GUSTAVO GONÇALVES DE SOUZA SALVATI**

**SUPLEMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS COM LEVEDURAS  
VIVAS DURANTE O VERÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de Ruminantes, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador

Dr. Marcos Neves Pereira

**LAVRAS – MG**

**2014**

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Coordenadoria de Produtos e  
Serviços da Biblioteca Universitária da UFLA**

Salvati, Gustavo Gonçalves de Souza.

Suplementação de vacas leiteiras com leveduras vivas durante o verão / Gustavo Gonçalves de Souza Salvati. – Lavras : UFLA, 2014.

150 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2014.

Orientador: Marcos Neves Pereira.

Bibliografia.

1. Estresse térmico. 2. Levedura viva. 3. *Saccharomyces cerevisiae*. 4. Niacina. 5. Digestibilidade. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 636.208557

**GUSTAVO GONÇALVES DE SOUZA SALVATI**

**SUPLEMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS COM LEVEDURAS  
VIVAS DURANTE O VERÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de Ruminantes, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 14 de Agosto de 2014.

Dr. Fernando César Ferraz Lopes	EMBRAPA GADO DE LEITE
Dr. Gustavo Augusto de Andrade	IFESULDEMINAS - Campus Machado
Dr. Marcos Aronovich	PESAGRO-RJ

Dr. Marcos Neves Pereira  
Orientador

**LAVRAS – MG**

**2014**

Aos meus pais, José Augusto e Ceyla, cujo apoio foi essencial. Aos meus irmãos, Priscila e Igor.

Em especial, à minha avó Nadyr, pois foi em sua propriedade que aprendi a gostar de vacas.

À minha avó Zenilda, bisavó Idete e a tia-bisavó Hilda pelas orações.

Ao meu avô José (Kako) pelo exemplo de trabalho, força e dedicação.

Ao meu avô José Salvato (*in memoriam*) que, infelizmente, o destino não permitiu que o conhecesse, mas seus bons exemplos sempre perpetuaram em meu pai e foram transmitidos a mim.

Ao meu tio-avô João Salvato (*in memoriam*), pessoa esplêndida e correta, que, com suas histórias engraçadas, contagiava todos ao seu redor.

Por último, ao meu amigo Diego Albino Lopes (*in memoriam*), que sempre será lembrado por seu exemplo de perseverança e pela amizade.

E a todos familiares e amigos que compartilharam este desafio do mestrado.

**DEDICO**

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Zootecnia (DZO), pela oportunidade concedida para realização do mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

Aos professores do Departamento de Zootecnia da UFLA, pelos ensinamentos transmitidos e harmoniosa convivência.

Ao professor Dr. Marcos Neves Pereira pela orientação e ensinamentos transmitidos.

Ao grupo do leite, onde tive a oportunidade de aprimorar meus conhecimentos sobre gado de leite e fazer grandes amizades.

“A sorte favorece o espírito preparado.”

Louis Pasteur

“Seja você quem for, seja qual for a posição social que você tenha na vida, a mais alta ou a mais baixa, tenha sempre como meta muita força, muita determinação e sempre faça tudo com amor e fé em Deus, que um dia você chega lá. De alguma maneira você chega lá.”

Ayrton Senna

## RESUMO GERAL

Vacas leiteiras submetidas a estresse térmico reduzem o consumo e aumentam a dependência de glicose, fazendo com que estratégias de alimentação capazes de melhorar a digestibilidade sejam plausíveis para a melhoria do fluxo de nutrientes pós-rúmen e do desempenho. O efeito da levedura sobre a digestão e desempenho de vacas leiteiras, durante os meses quentes de verão do Sudeste do Brasil, foi avaliado. As vacas foram alimentadas, individualmente, em *tie stall*, o THI foi superior 75,6% do tempo. Vinte e oito vacas da raça Holandesa ( $207 \pm 87$  DEL) receberam uma dieta de padronização por 14 dias e, em seguida, o tratamento por 70 dias, com ajuste de covariável em delineamento em blocos ao acaso com medidas repetidas ao longo do tempo. Os tratamentos foram: levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) ou controle. Cápsulas contendo 10 g de levedura foram dadas oralmente a cada vaca, uma vez por dia, o equivalente a  $25 \times 10^{10}$  UFC de células vivas e  $5 \times 10^{10}$  UFC de células mortas. A dieta continha (%MS): silagem de milho (37,7%), silagem de Tifton (7,1%), soja crua (4,1%), farelo de soja (16,5%), milho (20,7%), polpa cítrica (11,9%). A levedura aumentou a produção de leite (26,7 vs. 25,4 kg/d) e de sólidos (3,06 vs. 2,92 kg/d), especialmente lactose. A resposta na produção de leite foi consistente ao longo do tempo e começou a partir do quinto dia. O consumo de matéria orgânica digestível, a digestibilidade total dos nutrientes, a excreção urinária de alantoína, a atividade mastigatória e o consumo de matéria seca não responderam à suplementação. Houve tendência para o aumento da glicose plasmática (62,9 vs. 57,3 mg/dL), redução na frequência respiratória (48 vs. 56 respirações/min), aumento no teor de niacina plasmática (1,31 vs. 1,22 µg/mL) com a levedura, enquanto a temperatura retal foi semelhante. Lactato e butirato ruminal como proporção dos ácidos orgânicos ruminais foram reduzidos pela levedura, mas não foi detectado efeito sobre os demais ácidos orgânicos, no pH e na concentração de protozoários do fluido ruminal. O nitrogênio ureico plasmático, ao longo de 24 h, foi aumentado pela levedura. Entre os dias 71 e 73, a polpa cítrica foi abruptamente substituída pela mesma quantidade de milho para induzir acidose. O aumento do teor de amido dietético aumentou o consumo entre 7 h e 13 h, a  $pCO_2$ , o excesso de bases,  $HCO_3^-$  e reduziu o pH sanguíneo em ambos os tratamentos. A levedura aumentou o pH do sangue de 7,31 para 7,34. A suplementação de levedura melhorou a produção de leite de vacas sob estresse calórico, o mecanismo, aparentemente, envolveu a regulação da homeotermia do corpo e a disponibilidade de glicose para a glândula mamária.

Palavras-chave: Estresse térmico. Levedura viva. *Saccharomyces cerevisiae*. niacina e digestibilidade.



## GENERAL ABSTRACT

Dairy cows submitted to heat stress reduce intake and increase dependency of glucose, making plausible the feeding strategies capable of improving digestibility to improve post-rumen nutrient flow and performance. The effect of yeast over the digestion and performance of dairy cows, during the hot months in Southeastern Brazil, was evaluated. The cows were individually fed in tie stall, with superior THI 75,6% of the time. Twenty-eight Holstein cows ( $207 \pm 87$  DEL) received a standardized diet for 14 days and, subsequently, the treatment for 70 days, with co-variable adjustment in randomized blocks design with measurements repeated over time. The treatments were: yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) or control. Capsules containing 10 g of yeast were orally given to each cow, once a day, the equivalent of  $25 \times 10^{10}$  UFC of live cells and  $5 \times 10^{10}$  UFC of dead cells. The diet contained (%MS): corn silage (37.7%), Tifton silage (7.1%), raw soybean (4.1%), soybean meal (16.5%), corn (20.7%), citric pulp (11.9%). The yeast increased milk production (26.7 vs. 25.4 kg/d) and of solids (3.06 vs. 2.92 kg/d), specially lactose. The response on milk production was consistent over time and began in the fifth day. Digestible organic matter intake, total digestibility of the nutrients, urine excretion of allantoin, masticatory activity and dry matter intake did not respond to supplementation. There was a tendency to increase plasmatic glucose (62.9 vs. 57.3 mg/dL), reduce respiratory frequency (48 vs. 56 respirations/min), increase the content of plasmatic niacin (1.31 vs. 1.22  $\mu\text{g/mL}$ ) with yeast, while rectal temperature was similar. Ruminal lactate and butyrate as a proportion of ruminal organic acids were reduced by yeast, but no effect was detected over the remaining organic acids, pH and concentration of protozoa in the ruminal fluid. The plasmatic urea nitrogen, over 24 h, was increased by the yeast. Between days 71 and 73, the citric pulp was abruptly substituted by the same amount of corn to induce acidosis. The increase in the content of dietary starch increased intake between 7 h and 13 h, the  $\text{pCO}_2$ , excessive bases,  $\text{HCO}_3^-$  and reduced blood pH in both treatments. The yeast increased the blood pH from 7.31 to 7.34. The supplementation of yeast improved milk production of cows undergoing heat stress, with the mechanism, apparently involving homoeothermic regulation of the body and the availability of glucose for the mammary gland.

Keywords: Heat stress. Live yeast. *Saccharomyces cerevisiae*. Niacin and digestibility.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figure 1.</b>	Temperature Humidity Index (THI) along the experiment .....	139
<b>Figure 2.</b>	Milk yield of dairy cows along the experiment on treatments Control (◆) or Yeast (○) ( $P$ treat = 0.03; $P$ day < 0.01; $P$ treat*day = 0.40) .....	139
<b>Figure 4.</b>	Milk fat percentage of dairy cows on treatments Control (◆) or Yeast (○) ( $P$ treat = 0.22; $P$ week < 0.01; $P$ treat*week = 0.02)..	141
<b>Figure 5.</b>	Respiratory frequency of dairy cows along the experiment on treatments Control (◆) or Yeast (○) ( $P$ treat = 0.02; $P$ week < 0.01; $P$ treat*week = 0.14) .....	141
<b>Figure 6.</b>	Rectal temperature of dairy cows on week 5 on treatments Control (■) or Yeast (□) ( $P$ treat = 0.75; $P$ hour < 0.01; $P$ treat*hour = 0.02).....	142
<b>Figure 7.</b>	Plasma niacin content 6 h post-feeding on week 5 (hot day, THI = 75.0) and week 9 (cool day, THI = 70.4) on treatments Control (■) or Yeast (□) ( $P$ treat = 0.05; $P$ day = 0.05; $P$ treat*day = 0.99) .....	143
<b>Figura 8.</b>	Plasma urea nitrogen (PUN) of dairy cows on treatments Control (◆) or Yeast (○) ( $P$ treat = 0.05; $P$ hour < 0.01; $P$ treat*hour = 0.12).....	144

## LISTA DE TABELAS

<b>Table 1.</b>	Composition of the consumed diets on treatments Control or Yeast.....	145
<b>Table 2.</b>	Temperature Humidity Index (THI), temperature and humidity in the center of the tie stall.....	146
<b>Table 3.</b>	Performance of dairy cows on treatments Control or Yeast .....	147
<b>Table 4.</b>	Plasma glucose, niacin and urea-N content, respiratory frequency, and rectal temperature of dairy cows on treatments Control or Yeast .....	148
<b>Table 5.</b>	Urinary allantoin excretion and total tract apparent digestibility of nutrients of dairy cows on treatments Control or Yeast .....	148
<b>Table 6.</b>	Ruminal VFA, lactate, pH, and protozoa of dairy cows on treatments Control or Yeast.....	149
<b>Table 7.</b>	Chewing activity and intake pattern of dairy cows on treatments Control or Yeast.....	149
<b>Table 8.</b>	Dry matter intake, milk yield, as fed intake from 7 AM to 1PM (7-1 Intake), and acid-base balance of the jugular blood 6 h post-feeding on the last two days of week 10 (Per = Before) and during the three days of increased dietary starch content (Per = After), on treatments Control or Yeast .....	150

## SUMÁRIO

	<b>PRIMEIRA PARTE</b>	
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>15</b>
<b>2.1</b>	<b>Zona termoneutra e Índice de Temperatura e Umidade</b> .....	<b>15</b>
<b>2.2</b>	<b>Metabolismo de vacas em estresse calórico</b> .....	<b>17</b>
<b>2.3</b>	<b>Parâmetros gasométricos durante estresse térmico</b> .....	<b>21</b>
<b>2.4</b>	<b>Leveduras</b> .....	<b>23</b>
<b>2.4.1</b>	<b>Redução na concentração de oxigênio (O<sub>2</sub>)</b> .....	<b>24</b>
<b>2.4.2</b>	<b>Concentração de lactato e pH ruminal</b> .....	<b>27</b>
<b>2.4.3</b>	<b>Perfil de fermentação ruminal</b> .....	<b>33</b>
<b>2.4.4</b>	<b>Proteólise e concentração ruminal de amônia (N-NH<sub>3</sub>)</b> .....	<b>36</b>
<b>2.4.5</b>	<b>Digestibilidade de fibra</b> .....	<b>38</b>
<b>2.4.6</b>	<b>Fluxo de proteína microbiana do rúmen</b> .....	<b>40</b>
<b>2.4.7</b>	<b>Metabólitos sanguíneos</b> .....	<b>41</b>
<b>2.4.8</b>	<b>Consumo de matéria seca</b> .....	<b>43</b>
<b>2.4.9</b>	<b>Produção de leite</b> .....	<b>46</b>
<b>2.4.10</b>	<b>Eficiência alimentar</b> .....	<b>47</b>
<b>2.4.11</b>	<b>Produção de sólidos</b> .....	<b>48</b>
<b>2.4.12</b>	<b>Suplementação de vacas de leite em estresse calórico com leveduras</b> .....	<b>52</b>
<b>2.5</b>	<b>Niacina</b> .....	<b>57</b>
<b>2.5.1</b>	<b>Síntese de niacina no rúmen</b> .....	<b>57</b>
<b>2.5.2</b>	<b>Função da niacina na dissipação de calor</b> .....	<b>61</b>
<b>2.5.3</b>	<b>Efeitos da niacina na concentração de glicose no plasma</b> .....	<b>64</b>
<b>2.6</b>	<b>Equilíbrio ácido-básico e parâmetros gasométricos</b> .....	<b>67</b>
<b>2.7</b>	<b>Parâmetros gasométricos de vacas em acidose ruminal subclínica</b> .....	<b>74</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>79</b>
	<b>SEGUNDA PARTE – ARTIGO</b> .....	<b>111</b>
	<b>ARTIGO 1 Yeast suplementation of dairy cows during summer</b>	<b>111</b>

## **PRIMEIRA PARTE**

### **1 INTRODUÇÃO**

O estresse térmico pode afetar, negativamente, a produtividade e a longevidade de vacas leiteiras, especialmente, daquelas com alta capacidade produtiva (KADZERE et al., 2002). Avanços no manejo como a adoção de sistemas de resfriamento (ARMSTRONG, 1994) e manipulações nutricionais (WEST, 2003) podem atenuar o efeito negativo do estresse térmico sobre a produtividade animal; entretanto, mesmo assim, o calor, durante os meses de verão, causa prejuízo à indústria leiteira em decorrência de quedas na produção de leite, na eficiência reprodutiva e na saúde animal (SAINT-PIERRE; COBANOV; SCHNITKEY, 2003).

Um mecanismo pelo qual o estresse calórico reduz a produção de leite é por queda no consumo de matéria seca (CMS) (BEEDE; COLLIER, 1986). Entretanto, foi evidenciado que a queda no CMS explica de 35 a 50% da redução na produção leiteira em vacas submetidas a estresse térmico, enquanto alterações endócrinas e no metabolismo energético seriam as principais causas do menor desempenho destes animais (RHOADS et al., 2009; WHEELLOCK et al., 2010). Vacas em estresse térmico podem entrar em balanço energético negativo (BEN) (MOORE et al., 2005) e têm maior exigência de energia de manutenção (FOX; TYLUTKI, 1998), sendo esta despendida em mecanismos para regulação da temperatura corporal (FUQUAY, 1981), induzindo queda na eficiência alimentar (BRITT et al., 2003). Nestes animais ocorre aumento na dependência de glicose como fonte de energia (RHOADS et al., 2009) e, apesar do BEN, ocorre menor mobilização de tecido adiposo do que em vacas em conforto térmico submetidas a BEN (RHOADS et al., 2009; SHWARTZ et al., 2009). Estas mudanças fisiológicas parecem ser mediadas pelo aumento da

concentração plasmática de insulina em resposta ao estresse por calor (WHEELOCK et al., 2010), o que aparentemente aumenta a utilização de glicose pelos tecidos periféricos e faz com que menos glicose seja direcionada para síntese de lactose no leite.

Além das alterações endócrinas, vacas em estresse calórico, mesmo com menor CMS, estão propensas a apresentarem baixo pH e queda na função ruminal (MISHRA et al., 1970). Em vacas submetidas a estresse por calor, a hiperventilação induz maior perda de CO<sub>2</sub> e induz alcalose metabólica (SCHNEIDER; BEEDE; WILCOX, 1988; SCHNEIDER et al., 1984), podendo reduzir a concentração de HCO<sub>3</sub> na saliva (SCHNEIDER et al., 1984). Ademais, ocorre redução na motilidade reticular (SILANIKOVE; TADMORE, 1989) e ruminal (SILANIKOVE, 1992) na taxa de passagem (BERNABUCCI et al., 1999; CHRISTOPHERSON; KENEDY, 1983; SCHNEIDER; BEEDE; WILCOX, 1988), no tempo de ruminação (SORIANI; PANELLA; CALLAMARI, 2013), no fluxo de sangue para o epitélio ruminal (HALES et al., 1984) e para o restante do trato gastrintestinal (MCGUIRE et al., 1989). Estes fatores em conjunto comprometem a absorção de nutrientes e podem induzir acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGV) com consequente queda no pH ruminal.

A suplementação dietética com leveduras pode aumentar a digestibilidade da fibra em detergente neutro (BITENCOURT et al., 2011) e auxiliar no controle do pH ruminal (BACH; IGLESIAS; DEVANT, 2007) em vacas em lactação, podendo induzir ganho na função ruminal e na produção leiteira (DESNOYER et al., 2009; WALLACE, 1994). A levedura mais utilizada na nutrição de ruminantes é a *Saccharomyces cerevisiae*, na forma de células vivas e/ou mortas (ERASMUS; BOTHA; KISTNER, 1992). A suplementação com leveduras pode ser benéfica em condições de estresse fisiológico, como no início da lactação (DANN et al., 2000; WOHLT; FINKELSTEIN; CHUNG,

1991), ou durante estresse térmico (BRUNO et al., 2009; MOALLEM et al., 2009). Shwartz et al. (2009) observaram que a suplementação de uma mistura de enzimas fibrolíticas com cultura de leveduras foi capaz de reduzir a temperatura retal de vacas leiteiras, sugerindo um mecanismo de ação sobre a função termorregulatória. A suplementação com leveduras pode ser benéfica para vacas em estresse por calor, mas o mecanismo de ação envolvido na resposta não foi totalmente elucidado.

Objetivou-se neste trabalho avaliar o efeito da suplementação com leveduras vivas sobre a eficiência digestiva, indicadores de estresse calórico e o desempenho de vacas leiteiras durante os meses quentes de verão da Região Sudeste do Brasil.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Zona termoneutra e Índice de Temperatura e Umidade**

Segundo o National Research Council- NRC (1981), zona termoneutra pode ser entendida como a variação da temperatura ambiental onde a produção de calor de manutenção e das funções produtivas se iguala à perda de calor para o ambiente sem exigir um aumento na taxa metabólica de produção de calor. Esta mesma publicação sugere o intervalo de temperatura entre 5 e 25 °C como a amplitude de temperatura que não afeta o consumo de alimentos por vacas de leite e, ainda, menciona que ela pode variar de acordo com a genética e o nível de produção dos animais. Kadzere et al. (2002) conceituaram a zona termoneutra como a zona de produção mínima de calor com a manutenção da temperatura retal normal. Nesta revisão de literatura os autores mencionam que a zona termoneutra é delimitada pela temperatura crítica superior e inferior. A temperatura crítica superior pode ser definida como a temperatura ambiental em que a taxa metabólica, a perda de calor por evaporação aumentam e o isolamento térmico do tecido é mínimo. A inferior é a temperatura ambiente abaixo da qual a taxa de produção de calor de um homeotérmico em repouso aumenta para manter o equilíbrio térmico (SILANIKOVE, 2000).

O estresse térmico e a temperatura de conforto têm sido avaliados pela mensuração da temperatura retal (FUQUAY et al., 1979) sendo este parâmetro um bom indicador da temperatura corporal de vacas de leite e com grande sensibilidade a climas quentes (ARAKI et al., 1984). Igono e Johnson (1990) demonstraram que vacas de alta produção, no início da lactação, são mais sensíveis ao estresse térmico, e houve queda na produção de leite quando a temperatura retal excedeu 39°C por mais de 16 horas. Berman et al. (1985), trabalhando com vacas com média de 30 kg/d, observaram que vacas



mantiveram a temperatura corporal estável até uma temperatura ambiente de 25-26°C. Recentemente, Collier et al. (2012) reportaram que amplitude de variação na temperatura ambiente de - 5 a 23,9°C não impacta a produção e a composição do leite de vacas.

Contudo, o estresse calórico não é causado apenas pelo efeito da temperatura, mas por uma combinação de fatores ambientais, como a umidade relativa do ar, radiação solar, velocidade do vento e precipitação (BIANCA, 1962; BOHMANOVA; MISZTAL; COLE, 2007). Sendo assim, Thom (1958) desenvolveu um índice que combina temperatura e umidade para descrever condições climáticas, o Índice de Temperatura e Umidade (THI), posteriormente, este conceito foi aplicado para vacas de leite por Berry, Shanklin e Johnson (1964). Berry, Shanklin e Johnson (1964) propuseram o valor de THI de 72 como sendo o limite máximo entre a zona termoneutra e o ambiente de estresse térmico. Porém, este limiar foi baseado em estudos que usaram a equação de THI de Thom (1958) e, em experimentos com vacas da década de 1950 e início da de 1960 na University of Missouri, com produção de leite média de 15 kg/d e amplitude de variação na produção de leite de 2,7 a 31,8 kg/d. Armstrong et al. (1994) reportaram que abaixo do THI de 72 as vacas estão em conforto, de 73-77 ocorre estresse térmico mediano, de 78-88 moderado e acima de 88 severo. Berman (2005) sugeriu que, para vacas mais produtivas, o valor de THI limite entre a zona de conforto e o estresse poderia ser mais baixo que o proposto por Berry, Shanklin e Johnson (1964). Segundo esses autores, com a produção de leite aumentando de 35 para 45 kg/d, a temperatura do ar necessária para que o animal entre em estresse térmico reduz em 5°C. Isto está relacionado ao fato de ocorrer aumento na produção de calor metabólico com a elevação na produção de leite (PURWANTO et al., 1990; SPIERS et al., 2004).

Dando continuidade a esta linha de pesquisa, pesquisadores da University of Arizona (ZIMBELMAN et al., 2009) realizaram oito experimentos

ao longo de três anos em câmaras climáticas, utilizando 100 vacas multíparas em lactação, com média de produção de 35 kg/d. A conclusão destes trabalhos foi que valor de THI mínimo diário igual ou maior a 65 e THI acima de 68 por mais de 17 h/d podem trazer redução na produção de leite de até 2,2 kg/d. Além disto, o THI foi correlacionado à temperatura retal ( $r = 0,52$ ) e à produção de leite ( $r = -0,12$ ). Aumento na temperatura retal, também, foi acompanhado de elevação na frequência respiratória ( $r = 0,75$ ) e na perda evaporativa de calor pela pele ( $r = 0,24$ ) e de queda na produção diária de leite ( $r = -0,22$ ). Cook et al. (2007) relataram aumento no tempo em pé de vacas leiteiras quando o THI estava em torno de 68. Estudo recente realizado no Brasil (NERI, 2013) revelou uma alta frequência diária de THI superior a 68 e 72 em estábulos de fazendas leiteiras adotando sistemas de confinamento total nos Estados de Minas Gerais, São Paulo e Paraná. Isto sugere que existe propensão a estresse calórico, demonstrando que as construções e os sistemas de resfriamento por ventilação e aspersão não conseguiram manter os parâmetros ambientais do verão abaixo dos limites recomendados.

## **2.2 Metabolismo de vacas em estresse calórico**

Em vacas leiteiras, o aumento da produção de leite e o consequente maior consumo de alimentos, aumenta a produção de calor em razão do maior metabolismo ruminal e pós-absortivo de nutrientes, fazendo com que vacas de alta produção sejam mais vulneráveis a ambientes com temperatura e umidade altas do que vacas de baixa produção (KADZERE et al., 2002). O progresso genético contínuo sugere que as produções de leite irão aumentar e, então, os efeitos prejudiciais do estresse calórico na vaca moderna serão cada vez mais intensos. O estresse calórico aumenta a perda de fluidos corporais pela sudorese e respiração. Esta perda de fluidos pode alcançar um nível crítico, tornando-se

uma ameaça à termorregulação e para a função cardiovascular (SILANIKOVE, 1994). As respostas ao estresse calórico em mamíferos incluem redução nas perdas fecais e urinárias de água, redução no consumo de alimentos e na produção, aumento da sudorese, aumento na frequência respiratória e nos batimentos cardíacos e este último é reduzido caso o estresse térmico persista (KADZERE et al., 2002).

O mecanismo biológico pelo qual o estresse calórico afeta a produção e a reprodução é, parcialmente, explicado pela redução da ingestão alimentar; porém, inclui alterações no estado endócrino, queda na ruminação e na absorção de nutrientes e aumento nas exigências nutricionais de manutenção (BEEDE; COLLIER, 1986), levando à redução na energia líquida e em outros nutrientes disponíveis para atender à demanda nutricional da produção. A queda no consumo de energia, durante o estresse calórico, faz com que as vacas de leite entrem em BEN, independentemente do estágio de lactação (MOORE et al., 2005). Basicamente, em função do menor consumo de energia, a vaca em estresse calórico entra em estado bioenergético semelhante, contudo, não na mesma proporção ao BEN observado no início da lactação. O BEN associado ao início do período pós-parto está associado ao maior risco de distúrbios metabólicos e problemas de saúde (DRACKLEY, 1999), diminuição da produção de leite e queda do desempenho reprodutivo (BAUMGARD et al., 2006; BAUMGARD; MOORE; BAUMAN, 2002; BEAM; BUTLER, 1999; LUCY et al., 1992). É provável que muitos dos efeitos negativos do estresse calórico na produção, na saúde animal e nos índices reprodutivos sejam mediados pela redução no balanço de energia, assim como ocorre no período de transição em torno do parto.

Fuquay (1981), em uma revisão de literatura de vinte anos, inferiu que a queda no CMS foi identificada como a maior causa na redução da produção do leite na maioria dos estudos avaliando o efeito do estresse calórico em vacas de

leite. Resultado semelhante foi encontrado por Morrison (1983), que, ao compilar trabalhos com vacas em lactação, observou queda no CMS e produção de leite quando a temperatura do ar ultrapassou 25°C.

Rhoads et al. (2009) avaliaram o impacto da queda no CMS sobre a resposta de vacas leiteiras submetidas a estresse calórico. Foram usadas 12 vacas multíparas com 140±13 dias em lactação, alocadas em câmaras climáticas. As vacas foram submetidas por sete dias a condições termoneutras (20°C, 20% de umidade; THI = 64; 12 h de luminosidade) e consumo *ad libitum* por nove dias durante o período experimental 1 (P1). No período experimental 2 (P2), as vacas foram submetidas a estresse calórico com consumo *ad libitum* (HS) ou foram alimentadas em conforto térmico com restrição alimentar por nove dias (*pair feed* - PF). O estresse calórico foi simulado por temperaturas variando de 29,4 a 38,9°C, com umidade constante de 20% e 12 h de luminosidade. Entre 24 h e 7 h o THI permaneceu em 73, chegou ao pico de 82 entre 13 h e 15 h, e foi, gradualmente, reduzido até atingir o THI 73 às 23 horas. A queda no CMS das vacas submetidas a estresse calórico no P2 foi definida como porcentagem do CMS no P1. As vacas em conforto térmico foram alimentadas de forma restrita para obter o mesmo nível de consumo das vacas alimentadas *ad libitum* e em estresse calórico. Apesar de CMS igual, a produção de leite das vacas PF foi, aproximadamente, maior em 7,5 kg do que as do tratamento HS e foi contabilizado que a redução no CMS explicou apenas 35% desta diferença, sendo outras alterações induzidas pela hipertermia determinantes para o menor desempenho. Shwartz (2009) e Wheelock et al. (2010) usaram esta mesma metodologia de estudo e atribuíram a redução no CMS como 50% da perda em produção de leite.

O menor CMS e a maior exigência nutricional de manutenção (FOX; TYLUTKI, 1998) induzem a ocorrência de BEN (MOORE et al., 2005; WHEELOCK et al., 2006) e queda na eficiência alimentar (BRITT et al., 2003)

de vacas em estresse por calor, mesmo com menor produção de leite. Entretanto, ao contrário do BEN que ocorre em condições de termoneutralidade, o BEN induzido por estresse calórico não elevou os níveis plasmáticos de AGNE (RHOADS et al., 2009; SHWARTZ et al., 2009), o que chama atenção, pois o nível AGNE circulante é considerado um bom indicador do BEN calculado (BAUMAN et al., 1988) para vacas em ambiente termoneutro. Por meio de um teste de tolerância à glicose, foi demonstrado que a taxa de captação de glicose pela célula é maior nas vacas com estresse calórico do que nas vacas mantidas em termoneutralidade (RHOADS et al., 2009). A menor mobilização do tecido adiposo e a maior taxa de captação de glicose por vacas com hipertemia foram, aparentemente, mediadas pela maior concentração de insulina no plasma (WHEELLOCK et al., 2010). E este aumento na concentração deste hormônio, também, tem sido reportado para novilhos de corte em crescimento durante estresse calórico (O'BRIEN et al., 2010).

Ovelhas submetidas a estresse calórico tiveram queda no tempo de ruminação (AGANGA et al., 1990). Outros autores, também, observaram redução na motilidade reticular e na ruminação em vacas de corte sob estresse calórico (SILANIKOVE; TADMORE, 1989), além disso, ocorre redução na taxa de passagem da digesta (SILANIKOVE, 1992). Durante a hipertermia, também, ocorre redução no fluxo de sangue para o epitélio ruminal (HALES et al., 1984) e para o restante do trato gastrointestinal (MCGUIRE et al., 1989), o que pode comprometer a absorção de nutrientes e pode induzir acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGV) e queda no pH ruminal. Vacas em estresse térmico aumentam a frequência respiratória para dissipar calor e entram em estado de alcalose respiratória, o que leva à redução da pressão de  $\text{CO}_2$  e aumento na excreção de  $\text{HCO}_3^-$  nos rins podendo afetar a concentração de  $\text{HCO}_3^-$  na saliva (SCHNEIDER et al., 1984). Outra questão é a relação negativa existente entre tempo de ruminação e frequência respiratória em vacas de leite (SORIANI;

PANELLA; CALLAMARI, 2013), o que impactará na produção de saliva. Além disso, Mishra et al. (1970) relataram concentrações mais elevadas de ácido láctico e menor pH ruminal em bovinos estressados pelo calor, o que pode estar envolvido na inibição da motilidade do rúmen durante o estresse térmico e pode acarretar um quadro de acidose clínica ou subclínica. A função ruminal durante o estresse térmico pode, possivelmente, estar sendo alterada pela redução da secreção hormônios da tireoide (BEEDE; COLLIER, 1986), visto que já foi demonstrado que o hipotireoidismo reduz a motilidade intestinal (LEVIN, 1969). Em suma, vacas leiteiras submetidas a estresse por calor podem estar mais propensas a desenvolver acidose ruminal (KADZERE et al., 2002).

As mudanças no metabolismo de lipídeos e carboidratos das vacas de leite em estresse calórico podem reduzir a disponibilidade de glicose necessária à síntese de lactose do leite. Conseqüentemente, o rendimento leiteiro cairá, haja vista que a produção de leite depende da secreção de lactose em termos quantitativos e poderá equivaler à glicose adicional utilizada pelos tecidos periféricos (WHEELLOCK et al., 2010). Estratégias alimentares capazes de aumentar a produção de propionato ruminal, o principal precursor gliconeogênico, sem reduzir o pH do fluido, podem aumentar a produção de leite de vacas em estresse calórico.

### **2.3 Parâmetros gasométricos durante estresse térmico**

A manutenção do pH sanguíneo é uma prioridade homeostática para os animais e depende, principalmente, das concentrações de ácido carbônico e de bicarbonato no sangue (COPPOCK et al., 1982). As vacas em estresse calórico apresentam uma alteração no equilíbrio ácido básico do sangue em razão da na forma de dissipação do calor de condução, convecção e radiação para resfriamento evaporativo (KIBLER; BRODY, 1950). Logo, ocorre aumento da

sudorese e na frequência respiratória (WEST, 2003). Em estresse térmico, quatro situações podem ocorrer: acidose e alcalose metabólica, que envolvem o metabolismo do bicarbonato, ou acidose e alcalose respiratória, que estão relacionadas com a pressão parcial de dióxido de carbono ( $p\text{CO}_2$ ) (DALE; BRODY, 1954). O pH abaixo de 7,4 estimula a respiração (DIVEN, 1975), e inibe se estiver acima deste valor. Quando a  $p\text{CO}_2$  está maior que 40 mm Hg, ocorre estimulação da respiração, sendo que abaixo deste valor ocorre inibição (KADZERE et al., 2002). Berman et al. (1985) observaram que a frequência respiratória ultrapassa 50-60 respirações/min quando a temperatura ambiental ultrapassa 25°C.

Em experimentos conduzidos em câmaras climáticas, vacas submetidas ao estresse calórico tiveram maior pH sanguíneo que vacas em ambiente termoneutro (SCHNEIDER; BEEDE; WILCOX, 1988). Bianca e Findlay (1962) descreveram redução na capacidade de reter  $\text{CO}_2$  no sangue, o que resultou em aumento do pH sanguíneo em razão da alcalose respiratória. Schneider, Beede e Wilcox (1988) relataram que ocorreu compensação renal à alcalose induzida por estresse calórico, o que foi indicado pelo aumento do pH urinário em vacas em ambiente quente comparado com vacas em ambiente termoneutro. Bianca (1965) atribuiu este aumento no pH urinário ao aumento na excreção de bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) na urina. Masero e Siegel (1977) descreveram o mecanismo tamponante do  $\text{HCO}_3^-$ , no qual o  $\text{HCO}_3^-$  e  $p\text{CO}_2$  são, relativamente, constantes na proporção 20:1, sendo este o sistema mais importante de tamponamento do sangue. A hiperventilação induzida pelo calor reduz a  $p\text{CO}_2$  e, para manter a proporção 20:1,  $\text{HCO}_3^-$  é excretado pelos rins (COLLIER et al., 1982). Como resultado, os pesquisadores observaram redução no  $\text{HCO}_3^-$  sanguíneo e consequente elevação no pH urinário.

O estresse calórico, também, eleva a pressão parcial de oxigênio ( $p\text{O}_2$ ) em virtude do aumento da ventilação alveolar (HALES; FINDLAY, 1968) e

aumenta as concentrações de creatinina no plasma sanguíneo (SCHNEIDER; BEEDE; WILCOX, 1988) e na urina (THOMPSON, 1973), além de aumentar o nitrogênio ureico no plasma (WHELLOCK et al., 2010) sugerindo catabolismo muscular. Durante períodos de estresse calórico, há, também, grandes perdas de  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  pelo suor em bovinos, sendo estes dois minerais os principais cátions envolvidos na regulação do equilíbrio ácido básico em mamíferos (KADZERE et al., 2002).

## 2.4 Leveduras

Leveduras são microrganismos eucariotos unicelulares pertencentes ao reino *Fungi*, as quais fermentam carboidratos e se reproduzem assexuadamente por gemulação ou bipartição. Podem sobreviver tanto na presença como na ausência de oxigênio, reproduzindo, rapidamente, quando o meio é rico em oxigênio (TORTORA; FUNKE; CASE, 2000). As leveduras estão presentes em baixa concentração no fluido ruminal e nenhuma das espécies isoladas é de *S. cerevisiae* (CLARKE; DI MENNA, 1961; LUND, 1974). A limitada reprodução deste microrganismo dentro do rúmen (MARTIN; NISBET, 1992) sugere que o crescimento de *S. cerevisiae* no fluido ruminal seja improvável (CHAUCHEYRAS-DURAND et al., 1998), fazendo-se necessária a introdução constante com a dieta ingerida. Apesar de não se reproduzirem no ambiente ruminal, as leveduras possuem atividade metabólica no rúmen e mantêm sua viabilidade por algum tempo (NEWBOLD; WALLACE; MCINTOSH, 1996).

A levedura mais utilizada na nutrição de ruminantes é a *S. cerevisiae* (MARTIN; NISBET, 1992). De forma geral, os produtos comerciais que contêm leveduras podem ser compostos com uma alta concentração de leveduras vivas em relação às mortas ou mistura em distintas proporções de leveduras vivas e mortas na presença de meio de cultivo, o que é chamado de cultura de leveduras



(CHAUCHEYRAS-DURAND; WALKER; BACH, 2008). Apesar de a cultura de levedura conter leveduras viáveis, os produtos com leveduras vivas apresentam maior quantidade de células metabolicamente ativas (LYNCH; MARTIN, 2002). O primeiro trabalho científico de suplementação de leveduras para vacas de leite data de 1925 (ECKLES; WILLIAMS, 1925) e, já no ano de 1992, um questionário realizado com grandes produtores de leite dos EUA apontava que 50,8% das fazendas utilizavam algum tipo de produto que continha leveduras (JORDAN; FOUORAINE, 1993).

#### **2.4.1 Redução na concentração de oxigênio (O<sub>2</sub>)**

O rúmen é considerado um ambiente anaeróbico, mas o fluido ruminal não é isento de O<sub>2</sub> (MCARTHUR; MILTIMORE, 1962). Autores relataram uma concentração de O<sub>2</sub> de 4,5 a 6,7  $\mu M$  no gás ruminal e de 0,3  $\mu M$  no conteúdo ruminal de vacas alimentadas com feno (SCOTT et al., 1983). Hilman, Loyd e Williams (1985), trabalhando com ovinos, observaram que a variação no teor de O<sub>2</sub> no fluido ruminal foi de 1-3,2  $\mu M$ , a qual pode ser nociva a muitos microrganismos ruminais (LOESCHE, 1969), principalmente, quando ultrapassa a concentração de 7  $\mu M$  (ELLIS; WILLIAMS; LOYD, 1989). Oxigênio adsorvido às partículas alimentares pode prejudicar a adesão de bactérias celulolíticas à celulose (ROGER et al., 1990). Segundo Rose (1987), as leveduras podem consumir O<sub>2</sub> ruminal e, assim, estimular o crescimento de bactérias anaeróbicas. Isto faz sentido, pois a maioria das células de leveduras se encontra associada à fração sólida do conteúdo ruminal, que é a região, juntamente com a parede ruminal, onde se encontra a maior parte do O<sub>2</sub> presente no rúmen (JOUANY, 1991).

Newbold, Wallace e McIntosh (1996) estudaram o efeito da suplementação com leveduras sobre o consumo de O<sub>2</sub> no rúmen *in vitro*. Foram

avaliadas diferentes cepas de *S. cerevisiae*: NCYC 240, NCYC 1026 e seus mutantes NCYC 694 e NCYC 1088, com capacidade respiratória deficiente, os quais foram isolados por repetidas culturas na presença de 20 µg de brometo de etídio. Também, foi avaliado um produto comercial Yea-Sac<sup>®</sup> (Alltech Biotechnology, Nicholasville, Kentucky, EUA) e um tratamento controle. A concentração de leveduras foi de 1,3 mg/mL de líquido ruminal. As cepas NCYC 240, NCYC 1026 e Yea-Sac<sup>®</sup> reduziram a concentração de O<sub>2</sub> em 85,3, 43,1 e 60,8% em relação ao controle, respectivamente. Os mutantes NCYC 694 e NCYC 1088 não afetaram na concentração do gás no fluido ruminal. Aumento na anaerobiose do fluido ruminal foi acompanhado por aumento na população de microrganismos celulolíticos e totais. A levedura comercial (Yea-Sac<sup>®</sup>) foi a que proporcionou maior contagem total de bactérias, 4,3 x 10<sup>8</sup> células/mL, porém este número é menor que o da população bacteriana comumente encontrada no rúmen (STEWART; FLINT; BRYANT, 1997). Ellis, Williams e Loyd (1989) observaram, em experimento *in vitro*, que o consumo de O<sub>2</sub> por bactérias, protozoários e uma mistura destas duas populações foi 3.430, 3.240 e 4.440 nmol de O<sub>2</sub>/min/mL, respectivamente. Estes valores são maiores do que os observados no experimento de Newbold, Wallace e Mcintosh (1996), que foi de 189 nmol de O<sub>2</sub>/min/mL para a levedura que mais consumiu O<sub>2</sub>, significando que a população microbiana do rúmen por si só pode ter um impacto maior no consumo de O<sub>2</sub> do que as leveduras vivas.

Prins e Prast (1973) mensuraram o consumo de O<sub>2</sub> por protozoários do gênero *Isotricha* e observaram uma variação de 3.040 até 4.660 nmol de O<sub>2</sub>/min/mL. Hilman, Loyd e Williams (1985), trabalhando com ovinos faunados e defaunados, demonstraram que houve queda rápida na concentração de O<sub>2</sub> no fluido ruminal dos animais faunados, imediatamente, após a alimentação (1,9 vs. 1,0 mM). Williams (1986) estimou que a população de protozoários do gênero *Holotricha* pode utilizar até 7% do O<sub>2</sub> ruminal. A capacidade de consumo de O<sub>2</sub>

pelos protozoários ciliados dos gêneros *Entodinium* e *Holotricha* tem sido atribuída à presença de uma organela respiratória, o hidrogenossomo (YARLETT et al., 1981, 1984), o qual é responsável pelo uso de O<sub>2</sub>. A suplementação com cultura de *S. cerevisiae* pode aumentar a população de protozoários no rúmen tanto *in vitro* (CARRO; LEBZIEN; ROHR, 1992), como em novilhas (PLATA et al., 1994) e vacas leiteiras (AL IBRAHIM et al., 2010).

É difícil atribuir a resposta positiva em contagem de bactérias totais e celulolíticas no rúmen à redução da concentração de O<sub>2</sub> induzida por leveduras. A concentração de leveduras no fluido ruminal é baixa, relativamente, à população de bactérias e protozoários, e, mesmo assim, leveduras têm menor capacidade de consumo de oxigênio. Lee (2003) demonstrou *in vitro* que outra espécie de levedura, *Issatchenkia orientalis* DY 252, foi capaz de consumir oxigênio presente no fluido ruminal apenas quando o teor AGV no fluido foi abaixo de 40 mM, quando a concentração de AGV atingiu 100 mM não houve mais consumo de O<sub>2</sub>. O teor de AGV no fluido ruminal de vacas leiteiras, normalmente, alcança 100 mM; logo o papel de leveduras no consumo de O<sub>2</sub> ruminal pode não ser um mecanismo plausível. Entretanto, como uma parte da população microbiana do rúmen é capaz de utilizar O<sub>2</sub> e as leveduras estimulam o crescimento microbiano (NEWBOLD; MCINTOSH; WALLACE, 1998), é mais provável que um possível aumento no consumo de oxigênio se dê por um efeito indireto por meio de estímulo do crescimento de populações capazes de metabolizar este gás do que uma ação direta da levedura. Trabalhos recentes demonstraram a capacidade da suplementação com levedura de reduzir o potencial redox (E<sub>h</sub>) (MARDEN et al., 2008; PINLOSCHE et al., 2013) do fluido ruminal, sendo este parâmetro influenciado pela concentração de O<sub>2</sub> no rúmen (MARDEN et al., 2005); contudo, os trabalhos não foram elaborados para determinar qual população de microrganismos promove este efeito.

#### 2.4.2 Concentração de lactato e pH ruminal

Bach, Iglesias e Devant (2007) estudaram a influência da suplementação com leveduras sobre o pH ruminal de vacas leiteiras. Três vacas com cânula ruminal foram suplementadas ou não com 5 g/d de leveduras vivas (Levucell<sup>®</sup>,  $1 \times 10^{10}$  ufc/g de *S. cerevisiae* Lallemand, Toulouse, França). As vacas consumiam dieta completa e três quilos adicionais de concentrado durante a retirada do leite em ordenha robotizada. O pH ruminal foi avaliado a cada quinze minutos por oito dias consecutivos. A suplementação com levedura aumentou o pH médio de 5,49 para 6,05 ( $P = 0,01$ ), o pH mínimo de 5,11 para 5,44 ( $P = 0,04$ ) e o pH máximo de 6,22 para 6,77 ( $P < 0,01$ ). Houve, também, redução no tempo de pH abaixo de 5,6 (4,0 vs. 1,3 h/d;  $P = 0,02$ ) e de 5,8 (9,5 vs. 4,1 h/d;  $P < 0,01$ ) em resposta à levedura, o que permite concluir que o aditivo foi eficaz em amenizar a ocorrência de acidose subclínica. Neste estudo, também, foi observado que a levedura reduziu o intervalo entre as refeições (4,03 vs. 3,32 h;  $P = 0,02$ ), induzindo maior frequência diária de refeições, o que pode ter contribuído para a maior estabilização do pH ao longo do dia.

Marden et al. (2008) compararam a capacidade do bicarbonato de sódio e de leveduras vivas de atuar sobre o pH ruminal. Três vacas Holandesas com cânula ruminal foram alocadas a uma sequência de três tratamentos em delineamento do tipo Quadrado Latino 3 x 3. Os tratamentos foram Controle, 150 g/d de bicarbonato de sódio ou 5 g/d de leveduras vivas (Biosaf<sup>®</sup>,  $1 \times 10^{10}$  ufc/g de *S. cerevisiae*. Lesaffre Feed Additives, Marquette-Lez-Lille, França). As dietas experimentais continham (% da MS): 51,5% de silagem de milho, 5,7% de alfafa desidratada, 6% de milho moído, 18,0% de um concentrado com 46% de PB e 18,0% de concentrado com 20% de PB. Para avaliação da fermentação ruminal, foram coletadas amostras de fluido a cada duas horas por oito horas após a primeira alimentação do dia. A concentração de lactato variou

de 4,9 a 32 mM no tratamento Controle, de 3,0 a 30,1 mM para o bicarbonato e de 1,1 a 11,9 mM nas vacas suplementadas com levedura. A suplementação com leveduras vivas reduziu a concentração média de lactato de 16,5 e 12,2 para 5,4 mM ( $P < 0,05$ ), em relação ao Controle e ao bicarbonato, respectivamente. A resposta em pH ruminal condissse com a resposta em concentração de lactato, mas houve diferença apenas numérica entre levedura e bicarbonato, 6,14 vs. 6,21 ( $P > 0,10$ ), respectivamente. No entanto, o valor de pH ruminal para os animais recebendo aditivos foi superior ao tratamento Controle, cujo valor foi 5,94 ( $P = 0,03$ ).

Em estudo recente, Vyas et al. (2014) avaliaram a importância da viabilidade das leveduras na redução da incidência de acidose ruminal subclínica e na melhoria da digestibilidade dos nutrientes. Seis novilhas de corte com cânula ruminal foram alocadas em Quadrado Latino 3 x 3. As dietas continham (% da MS): 40% de cevada, 10% de feno de gramínea picado, 42,5% de grãos de cevada e 4,1% de farelo de canola. Os tratamentos foram: Controle, 4 g/d de leveduras vivas (Vistacell<sup>®</sup>,  $1 \times 10^{10}$  ufc/g de *S. cerevisiae*. AB Vista, Marlborough, Reino Unido) ou 4 g/d de levedura autoclavada da mesma cepa, fornecidos via cânula ruminal. A suplementação com leveduras vivas ou mortas elevou o pH mínimo do fluido ruminal de 5,48 para 5,65 e 5,67 ( $P < 0,01$ ) e a média do pH de 6,06 para 6,28 e 6,26 ( $P = 0,02$ ), respectivamente. O tempo de pH abaixo de 5,8 foi 7,03, 3,55 e 3,66 h/d ( $P < 0,01$ ) e o tempo abaixo de 5,6 foram 4,41, 2,47 e 1,91 h/d ( $P < 0,01$ ), nos tratamentos Controle, levedura viva e levedura autoclavada, respectivamente. A viabilidade das leveduras não determinou seu efeito positivo sobre o pH ruminal. Não houve diferença na concentração ruminal de lactato entre tratamentos, apesar de valor numérico superior para o Controle em relação aos tratamentos com levedura (0,17 vs. 0,06 e 0,08 mM,  $P = 0,46$ ). O uso de leveduras vivas em vacas em estresse calórico

tem demonstrado ser uma forma efetiva de controle do pH ruminal (MARSOLA et al., 2010; MOALLEM et al., 2009).

Devries e Chevaux (2014) avaliaram o efeito da suplementação de leveduras vivas sobre o comportamento alimentar. Doze vacas holandesas foram alocadas em delineamento *cross over* durante períodos experimentais de 35 dias. As dietas consistiam nos tratamentos e foram: Controle (sem suplementação) ou Levedura viva ( $1 \times 10^{10}$  ufc de *S. cerevisiae* CNCM I-1077, Levucell SC20, Lallemand Animal Nutrition, Montreal, Canadá) misturada à dieta completa. A média da temperatura ambiental foi de  $0.2 \pm 10,2^{\circ}\text{C}$  durante todo experimento. A suplementação com leveduras vivas tendeu a aumentar o número de refeições (9.0 vs. 7.8 refeições/d,  $P = 0.07$ ) o que proporcionou uma tendência em reduzir o tamanho da refeição (3,4 vs. 3,8 kg MS/refeição;  $P = 0,09$ ). Outro dado interessante mensurado neste experimento foi a temperatura do fluido ruminal, durante os últimos 7 dias de cada período, por um sistema de telemetria, onde uma cápsula telemétrica foi inserida dentro do rúmen dos animais. A levedura reduziu a temperatura média ruminal em  $0,1^{\circ}\text{C}$  ( $P = 0,02$ ), o tempo de temperatura ruminal acima de  $39^{\circ}\text{C}$  (353,1 vs. 366,9 min/d;  $P < 0,01$ ) e tendeu a reduzir o tempo de temperatura acima de  $38^{\circ}\text{C}$  (693,9 vs. 780,0 min/d;  $P = 0,06$ ) em relação ao tratamento controle. Esta variável foi selecionada pelos autores como uma medida de saúde ruminal, pois sua associação com o pH ruminal foi validada recentemente (ALZAHAL et al., 2008, 2009). Os autores supuseram, pois não mediram que em razão do aumento na frequência de refeições pode ter havido aumento no consumo de água que promoveu o efeito na temperatura ruminal. Ou ao efeito já bem relatado na literatura sobre o pH ruminal, contudo esta variável não foi mensurada no experimento.

Pinlosche et al. (2013) avaliaram o impacto da suplementação de leveduras vivas sobre a população bacteriana e parâmetros ruminais de vacas leiteiras. Três vacas com cânula ruminal receberam três tratamentos em

delineamento Quadrado Latino 3 x 3. Os tratamentos foram o Controle, 0,5 e 5 g/d de levedura viva (BIOSAF SC 47.  $1 \times 10^{10}$  ufc/g de *S. cerevisiae*. Lesaffre Feed Additives, Marquette-Lez-Lille, França). A dieta experimental continha (% da MS): 61% de silagem de milho, 30% de concentrado, 9% de alfafa desidratada e 1% de minerais e vitaminas. Para avaliação da população microbiana, amostras do conteúdo ruminal, da fração sólida e da fração líquida foram coletadas por dois dias consecutivos, quatro horas após a primeira alimentação diária. A população bacteriana foi avaliada por dois métodos: análise em série da sequência ribossomal V1 (*Serial Analysis of V1 Ribosomal Sequence Tag* - SARST-V1) e pirosequenciamento 454 (*454 pyrosequencing*) baseado na análise genética do RNA ribossomal 16S. Observou-se, com relação ao controle, que as leveduras aumentaram o pH ruminal (5,81, 5,99, e 6,23.  $P < 0,05$ ), e reduziram a concentração de DL-lactato (13,2, 9,6, 4,0 mM.  $P < 0,05$ ) e o  $E_h$  (-134, -150,5, -184,4 mV.  $P < 0,05$ ). Sendo a redução no  $E_h$  diretamente relacionada à redução na concentração de  $O_2$  no fluido ruminal (MARDEN et al., 2005). Para a maior dose suplementada observou-se aumento na produção de AGV em relação ao controle (86,3 vs. 101,7 mM.  $P < 0,05$ ) e induziu aumento significativo na abundância relativa (%) das bactérias degradadoras de fibra e consumidoras de lactato quanto à população microbiana avaliada. O gênero *Ruminococcus* aumentou de 2,56 para 7,03% ( $P < 0,01$ ), *Fibrobacter* de 0,23 para 1,02% ( $P < 0,10$ ), *Megasphaera* de 0,81 para 2,49% ( $P < 0,01$ ) e não houve mudança detectável na proporção de *Selenomonas* ( $P < 0,05$ ). Quando se empregou o método pirosequenciamento 454 (*454 pyrosequencing*), observou-se apenas tendência de aumento na população de *Ruminococcus* (1,91 vs. 2,94%.  $P < 0,10$ ) e na de *Selenomonas* (0,24 vs. 0,66%;  $P < 0,10$ ).

Vários mecanismos têm sido descritos para explicar o efeito positivo da suplementação com leveduras sobre o pH ruminal. Um mecanismo plausível é a capacidade de *S. cerevisiae* de competir com *Streptococcus bovis* por açúcares

no fluido ruminal (CHAUCHEYRAS et al., 1996). Contudo, este mecanismo foi demonstrado apenas para uma cepa de *S. cerevisiae* (Levucell®.  $1 \times 10^7$  ufc de *S. cerevisiae*, Lallemand, Tollouse, França). O segundo mecanismo é a capacidade de leveduras de estimular o crescimento de populações de bactérias consumidoras de lactato, como *Selenomonas ruminantium* (CALLAWAY; MARTIN, 1997; NISBET; MARTIN, 1991) e *Megasphaera elsdenii* (CALLAWAY; MARTIN, 1997; ROSSI et al., 2004). A bactéria *Selenomonas ruminantium* é estimulada pelos ácidos dicarboxíclicos aspartato, fumarato e malato (NISBET; MARTIN, 1990). Enquanto *Megasphaera elsdenii*, o principal microrganismo fermentador de lactato no rúmen (COUNOTTE et al., 1981), é estimulada por aminoácidos e vitaminas do complexo B, mas não por ácidos dicarboxíclicos (CHAUCHEYRAS et al., 1996). Isto é em virtude da fermentação do lactato ser realizada pela via do acrilato, a qual não exige estes ácidos (COUNOTTE et al., 1981). Leveduras mortas atuam como pré-bióticos (OEZTUERK et al., 2005, 2009) podendo estimular o crescimento de *Megasphaera elsdenii* (CHAUCHEYRAS et al., 1995, 1996) por fornecimento de fatores de crescimento, pró-vitaminas e micronutrientes.

Brossard et al. (2004) sugeriram que o efeito estabilizador do pH ruminal de *S. cerevisiae*, também, poderia ser mediado por estímulo do crescimento de protozoários ruminais capazes de fagocitar grânulos de amido (ABOU AKADDA; HOWARD, 1960), competindo com bactérias amilolíticas por substrato e tornando a degradação deste substrato mais lenta no rúmen (BONHOMME, 1990). Mathieu (1996) não observou efeito sobre o pH ruminal quando leveduras foram suplementadas a ovelhas defaunadas, mas aumento de 5,79 para 5,99 no pH ( $P < 0,05$ ) quando protozoários foram inoculados no rúmen dos animais. O aumento na população de protozoários no rúmen em resposta à suplementação com cultura de *S. cerevisiae* tem sido observado *in vitro* (CARRO; LEBZIEN; ROHR, 1992), em novilhas (PLATA et al., 1994) e



em vacas leiteiras (AL IBRAHIM et al., 2010). No entanto, Doreau e Jouany (1998), em estudo com vacas no início da lactação, suplementadas com 50 g de premix contendo 0,5 g de *S. cerevisiae* cepa CNCM I-1077 ( $6 \times 10^8$  ufc/g de premix) não encontraram efeito da suplementação sobre a concentração de protozoários no fluido ruminal. Trabalhos realizados no Brasil com suplementação de leveduras vivas (BITENCOURT et al., 2011) ou autolisadas (GOMIDE, 2012), também, não observaram nenhuma diferença na contagem de protozoários.

No entanto, recentemente, Gomide (2012) avaliou a suplementação de leveduras autolisadas (Levabon<sup>®</sup> Rumen. Biomin Nutrição Animal, Piracicaba, SP) em nove novilhas ( $451 \pm 31$  kg) com cânulas ruminais em doses crescentes de 0 (T0), 10 (T10) e 30 (T30) g/d fornecidos por meio da cânula duas vezes por dia, juntamente com a dieta basal. O delineamento experimental foi em Quadrado Latino 3x3 com períodos de 35 dias. A dieta experimental continha (% MS): 51,8% de silagem de milho, 48,2% de concentrado, 15% de proteína bruta (PB), 34% de fibra em detergente neutro (FDN) e 39% de carboidratos não fibrosos (CNF). Foi induzida queda no pH ruminal, no dia 34 de cada período por remoção da alimentação, seis horas após o fornecimento e alimentação *ad libitum*, no dia 35. O pH ruminal foi avaliado no dia 28 e 35 de cada período e os ácidos graxos de cadeia ímpar apenas no dia 28. Além disso, foi realizada incubação *in situ* do feno de tifton nos dias 30 e 33. Não houve efeito no pH ruminal, contudo houve aumento da população microbiana celulolítica em T10 e T30 evidenciado pela maior concentração dos ácidos graxos de cadeia ímpar *iso* C17:0 e tendência de aumento em *iso* C17:0 + *iso* C15:0 ( $P = 0,06$ ), os quais são considerados marcadores do crescimento deste tipo de população (VLAEMINCK et al., 2006). Foi, também, reportada tendência de aumento na taxa fracional de degradação da FDN ( $P = 0,06$ ) para T30, sugerindo maior digestibilidade ruminal da fibra. O interessante deste trabalho é que o efeito na

ecologia ruminal e na degradabilidade da FDN não foi modulado pelo pH ruminal. E aumento na digestibilidade de fibra sem efeito no pH ruminal, também, tem sido reportado para suplementação de leveduras vivas (BITENCOURT et al., 2011; FERRARETTO; SHAVER; BERTICS, 2012), porém o mecanismo, ainda, não está elucidado.

### 2.4.3 Perfil de fermentação ruminal

Harrison et al. (1988) avaliaram o perfil de fermentação ruminal em vacas com cânula ruminal suplementadas ou não com 114 g/d de cultura de leveduras (Diamond V XP™.  $2,4 \times 10^6$  ufc/g de *S. cerevisiae*, Diamond V Mills, Inc., Cedar Rapids, EUA). A dieta continha relação entre forragem e concentrado de 40:60 e 15% de PB e 34,3% de FDN na MS. A suplementação com levedura reduziu a concentração molar de acetato em 4,9 mol/100 mol de AGV ( $P < 0,01$ ) e aumentou a de propionato de 27,4 para 30,0 mol/100mol de AGV, ( $P < 0,01$ ), reduzindo a relação entre acetato e propionato de 2,0 para 1,7 ( $P = 0,01$ ). A concentração total de AGV no fluido ruminal não foi alterada (172,2 vs. 184,5 mM), apesar do aumento numérico. Erasmus et al. (2005) avaliaram a suplementação de cultura de leveduras, monensina ou ambos durante o período pré e pós-parto. As dietas foram similares para ambos os períodos (pré e pós-parto) e consistiam em 38,3% da MS de feno de alfafa, 16,2% de grãos de cevada laminados, 10,6% de milho floculado, 9,4% de caroço de algodão, 8,1% de milho, 6,6% de farelo de trigo e 3,6% de polpa cítrica. Contudo, durante o pré-parto eram fornecidos apenas 12 kg MN desta dieta divididas em duas porções e as vacas tinham livre acesso a feno de alfafa. A dose de cultura levedura foi de 2.550 mg/kg MS (Diamond V XP™. Diamond V Mills, Inc., Cedar Rapids, EUA). A proporção molar de acetato no total de AGV não foi alterada pelos tratamentos; no entanto, houve tendência de aumento na

concentração de propionato (29,6 vs. 35,1 mM;  $P = 0,09$ ), ocorrendo queda na relação entre acetato e propionato de 2,35 para 2,10 ( $P = 0,11$ ). Marden et al. (2008) observaram redução de lactato com aumento de propionato no fluido ruminal e supuseram haver estímulo de bactérias que convertem lactato em propionato. Outros autores observaram resultados similares tanto *in vitro* (MILLER-WEBSTER et al., 2002) como em novilhas alimentadas com dieta à base de palha de aveia (PLATA et al., 1994).

Contudo, Piva et al. (1993), trabalhando com dieta com 30% de silagem de milho, 22% de feno de alfafa e 48% de concentrado, suplementando 10 g/d de cultura de leveduras (Thepax Dry<sup>®</sup>. Dox-Al, Correzana, Itália) para vacas durante o meio da lactação, observaram apenas aumento numérico na concentração de acetato de 60,2 para 63,7 mol/100mol de AGV ( $P = 0,17$ ) e na relação entre acetato e propionato (2,55 vs. 2,82;  $P = 0,17$ ). Já, Al Ibrahim et al. (2010) estudaram o efeito da suplementação de cultura de leveduras vivas (Yea Sac<sup>1026®</sup>.  $1,0 \times 10^9$  ufc de *S. cerevisiae*/g, cepa 1026, Altech, Inc., Nashville, EUA) nas dosagens 2,5 g e 10 g/d durante o pré e pós-parto, respectivamente, misturado ao concentrado. A dieta pós-parto consistia em fornecimento *ad libitum* a uma mistura de 50% de silagem de gramínea e 50% de silagem de milho. Além disto, oito quilos de concentrado eram fornecidos na sala de ordenha, o qual era composto por (% MS) 34,2% de farelo de soja, 30,3% de trigo, 10,1% de colza, 9,8% de casca de soja, 5,1% de extrato de sólidos de leite, 4,9% de polpa cítrica e 1,2% de óleo de palma. O experimento foi delineado em blocos ao acaso com arranjo fatorial 2 x 2, estudando, concomitantemente com a suplementação de cultura de leveduras, o escore de condição corporal (ECC) ao parto (ECC baixo  $\leq 3,5$  ou alto  $\geq 3,75$ ). A suplementação tendeu a aumentar a concentração de acetato no rúmen de 58,20 para 61,35 mol/100 mol ( $P < 0,10$ ), mas isso não foi suficiente para alterar a relação entre acetato e propionato (2,67 vs. 2,93;  $P > 0,10$ ). Outros autores observaram respostas similares

(WIEDMEIER; ARAMBEL; WALTERS, 1987; ZELENÁK et al., 1994) e tem sido sugerido (CHAUCHEYRAS-DURAND; MASSÉGLIA; FONTY, 1995; WIEDMEIER; ARAMBEL; WALTERS, 1987) que este aumento na proporção molar de acetato pode estar relacionado ao efeito provocado por leveduras vivas em estimular atividade e crescimento das bactérias celulolíticas.

Throne et al. (2009) reportaram aumento na concentração de butirato (9,7 vs. 10,4 mol/100 mol;  $P < 0,05$ ) e tendência de redução na concentração total de AGV (122,4 vs. 107,3 mM;  $P < 0,10$ ) para oito vacas fistuladas no final de lactação suplementadas com 0,5 g/d de leveduras vivas (Levucell SC 20.  $1 \times 10^{10}$  ufc de *S. cerevisiae*/g, cepa CNCM I – 1077, Lallemand, Tollouse, França). Efeito da suplementação de leveduras em outros ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) tem sido reportado e os resultados são inconsistentes. Redução na concentração de isoácidos – isovalerato e isobutirato (CARRO; LEBZIEN; ROHR, 1992) foi observada em experimento com quatro vacas fistuladas suplementadas com 10 g/d de cultura de leveduras (Yea-Sacc<sup>®</sup>.  $5 \times 10^9$  ufc de *S. cerevisiae*/g, cepa 1026, Alltech Biothecnology Center, Nicholasville, EUA) em dieta com 50% (% MS) de silagem de gramínea e 50% de concentrados. Redução de valerato foi observada em fermentador contínuo (KUNG JUNIOR et al., 1997), contudo já foi demonstrado aumento de isobutirato (ERASMUS et al., 2005) e de valerato (HRISTOV et al., 2010) por outros autores. Outros estudos não observaram nenhuma mudança no perfil de fermentação (ALLEN; YING, 2012; BITENCOURT et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2010; ROBINSON; GARRETT; 1999; VYAS et al., 2014).

#### 2.4.4 Proteólise e concentração ruminal de amônia (N-NH<sub>3</sub>)

Kung Junior et al. (1997) usaram doses crescentes (0, 20 e 200 mg/10 g de dieta - MS) de cultura de leveduras (Biomate Yeast<sup>®</sup>. Chr. Hansen BioSystems, Inc. Milwaukee, EUA) em fermentador contínuo. A concentração de leveduras vivas no fluido ruminal dentro do fermentador foi de  $4 \times 10^5$  ufc e  $4 \times 10^6$  ufc/ml, respectivamente, para menor e maior dose. Os autores observaram aumento na concentração de N-NH<sub>3</sub> ruminal para a dose de 200 mg em relação ao controle de 10,39 para 12,44 mg/dL ( $P < 0,05$ ). Vyas et al. (2014) estudaram a suplementação de 4 g/d de leveduras vivas (LY) (Vistacell<sup>®</sup>.  $1 \times 10^{10}$  ufc de *S. cerevisiae*/g, AB Vista, Marlborough, UK) ou 4 g/d de levedura autoclavada (KY) e compararam com um tratamento controle. Foram usadas seis novilhas de corte, pesando  $690 \pm 50$  kg com cânulas ruminais alocadas em Quadrado Latino 3 x 3 e alimentadas com dietas contendo (% MS): 12,4% PB, 39,9% FDN e 33,8% amido. Observou-se tendência de aumento na concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>), respectivamente, para os tratamentos Controle, LY e KY: 6,66; 8,39 e 7,55 mM ( $P = 0,08$ ).

No entanto, Harrison et al. (1988) observaram uma redução numérica de N-NH<sub>3</sub> ruminal de 125,8 para 87,5 mg/L ( $P = 0,15$ ) para vacas suplementadas com 114 g/dia de cultura de leveduras (Diamond V XP<sup>™</sup>.  $2,4 \times 10^6$  ufc de *S. cerevisiae*/g, Diamond V Mills, Inc., Cedar Rapids, EUA) em relação ao tratamento Controle. Resposta similar tem sido observada em búfalos (KOUL et al., 1998), em que foi testado o fornecimento de 5 g/dia de cultura de leveduras vivas (Yea-Sacc<sup>®</sup>.  $5,0 \times 10^9$  ufc de *S. cerevisiae*/g, cepa 1026, Altech, Nicholasville, EUA), 30 g de NaHCO<sub>3</sub>, 5 g de sobrenadante de cultura leveduras desta mesma cepa ou nenhuma suplementação em 12 búfalos (250 kg de PV). Os aditivos foram diretamente colocados dentro do rúmen por meio da fístula e apenas o tratamento com leveduras vivas foi capaz de reduzir a concentração N-

NH<sub>3</sub> ruminal de 167,7; 163,5 e 154,9; respectivamente, para os tratamentos Controle, sobrenadante de cultura leveduras e NaHCO<sub>3</sub>, para 142,7 mg/L ( $P = 0,01$ ). E os autores atribuíram este resultado ao aumento de 49,5% na contagem bacteriana total e de 53,9% na contagem de bactérias cululolíticas ( $P < 0,01$ ) em relação ao tratamento Controle.

As bactérias pertencentes às espécies *Prevotella albensis*, *Streptococcus bovis* e *Butyrivibrio fibrisolvens* são consideradas a principal comunidade bacteriana responsável pela atividade proteolítica no rúmen (RUSSELL; BOTTJE; COTTA, 1981; WALLACE; ONODERA; COTTA, 1997). Sendo assim, Chaucheyras-Durand, Masségli e Fonty (2005) avaliaram a atividade proteolítica de *Prevotella albensis* M384, *Streptococcus bovis* 20480 e *Butyrivibrio fibrisolvens* 3071 em cultivo simultâneo com leveduras vivas (*S. cerevisiae* cepa CNCM I-1077, Lallemand, Tollouse, França) em experimento *in vitro*. Houve redução apenas na população de *Streptococcus bovis* 20480 em cocultura com leveduras vivas, provavelmente, resultado da competição por substrato, contudo não houve efeito nas outras duas espécies. Os autores, também, testaram neste mesmo experimento a inclusão desta mesma levedura morta após autoclavagem (120°C, por 20 min) e foi observado aumento na população *Prevotella albensis* M384, porém houve redução da atividade das peptidases desta mesma espécie e da *Butyrivibrio fibrisolvens* 3071. Pinlosche et al. (2013), em experimento *in vivo*, reportaram uma redução na população de bactérias pertencentes ao gênero *Prevotella* quando se suplementou 0,5 ou 5 g de levedura viva (BIOSAF SC 47.  $1 \times 10^{10}$  ufc/g de *S. cerevisiae*, Lesaffre Feed Additives, Marquette-Lez-Lille, França) para vacas no início de lactação.

Outros trabalhos reportaram redução na concentração de N-NH<sub>3</sub> ruminal (ERASMUS; BOTHA; KISTNER, 1992; HRISTOV et al., 2010), com respectivo aumento no fluxo de aminoácidos (ERASMUS; BOTHA; KISTNER, 1992) ou na síntese de proteína microbiana (HRISTOV et al., 2010). O aumento

do N-NH<sub>3</sub> ruminal em estudos *in vitro* (MILLER-WEBSTER et al., 2002; OEZTUERK, 2009) tem sido atribuído à degradação microbiana das células de levedura, as quais contêm alto teor de proteína. E *in vivo* foi observada estimulação do crescimento de bactérias proteolíticas (YOON; STERN, 1996); no entanto, apesar do estímulo ao crescimento deste grupo de microrganismos, não houve efeito no teor de N-NH<sub>3</sub> ruminal.

#### 2.4.5 Digestibilidade de fibra

Bitencourt et al. (2011), trabalhando com vacas leiteiras no terço médio da lactação suplementando 10g/d de leveduras vivas (Natucell<sup>®</sup>. 1 x 10<sup>10</sup> ufc de *S. cerevisiae*/g, cepa CNCM I – 1077, Ouro Fino Saúde Animal, Cravinhos, SP, Lallemand, Tollouse, França), em dietas com 30% de FDN oriundo majoritariamente de silagem de milho, capim-tifton e polpa cítrica, observaram aumento na digestibilidade total da fibra em detergente neutro em 4,9% ( $P = 0,08$ ). Ferraretto, Shaver e Bertics (2012) testaram a suplementação de leveduras vivas (Procreatin-7<sup>®</sup>. Lesaffre Feed Additives, Milwaukee, EUA) em dietas com teor de amido de 30% MS em dosagens crescentes da levedura (0, 2 e 4g/vaca/d) usando vacas de alta produção (44,5 kg/d de média) e compararam com dieta de baixo teor de amido (20% MS). Ambas as dietas continham (% MS) 37,5% de silagem de milho, 12,5% de silagem de alfafa e 5,2% de grãos de destilaria. Entretanto, havia diferença na inclusão de milho (% MS) 25,1% e 10,2%, casca de soja 1,9% e 17,3% e farelo de soja 14,6 e 13,1%, respectivamente, para as dietas de alto e baixo amido. Houve melhora na digestibilidade total de FDN em, aproximadamente, 6% ( $P < 0,05$ ) para a dosagem de 4g/d. Alguns trabalhos corroboram com resultado positivo em digestibilidade de FDN (HARRIS JUNIOR et al., 1992; PLATA et al., 1994), e outros mostram ganhos, também, na digestibilidade da fibra em detergente ácido

(FDA) (COOKE; BERNARD; WEST, 2007; ERASMUS; BOTHA; KISTNER, 1992; WOHLT; CORCIONE; ZAJAC, 1998).

O mecanismo sugerido para este ganho em digestibilidade está vinculado ao aumento na população de bactérias celulolíticas (HARRISON et al., 1988; WIEDMEIER; ARAMBEL; WALTERS, 1987), sendo este fato ligado à influência da suplementação de cultura de leveduras ou leveduras vivas em controlar o pH ruminal (BACH; IGLESIAS; DEVANT, 2007; WILLIAMS et al., 1991) pela redução da concentração de lactato (WILLIAMS et al., 1991) no fluido ruminal, considerando que baixo pH pode limitar o crescimento destes microrganismos degradadores de fibra (RUSSELL; DOMBRWONSKI, 1980). Outros autores reportaram aumento nesta mesma população de bactérias, mas sem efeito no pH ruminal e atribuíram o ganho em crescimento ao consumo de oxigênio das leveduras (NEWBOLD; WALLACE; MCINTOSH, 1996), haja vista que este gás tem mostrado efeito em interferir na adesão das bactérias celulolíticas *Rumminococcus flavefaciens* e *Fibrobacter succinogenes* à celulose (ROGER et al., 1990). Callaway e Martin (1997) observaram maiores taxas iniciais de degradação de celulose com adição de cultura de leveduras e atribuíram isto a seu efeito em reduzir o potencial redox ( $E_h$ ).

Outro mecanismo da levedura é seu efeito no aumento da colonização por fungos *Neocallimastix frontalis* na parede celular (CHAUCHEYRAS-DURAND et al., 1995). E já é bem descrito que estes microrganismos, por meio de suas hifas, possuem a capacidade de penetrar na cutícula das plantas e com isso reduzir a resistência do tecido ao processo de digestão microbiana, criando pontos de adesão celular para bactérias (MCALLISTER et al., 1994).



#### 2.4.6 Fluxo de proteína microbiana do rúmen

Erasmus, Botha e Kistner (1992) observaram apenas aumentos numéricos de 9,4% no fluxo de N não amoniacal e de 14,9% de N microbiano para as vacas suplementadas com 10 g/dia de cultura de leveduras (Yea-Sacc<sup>®</sup>. Cepa 1026, Alltech Biotechnology Center, Nicholasville, EUA). No entanto, houve aumento na concentração duodenal dos aminoácidos cisteína, treonina, metionina e serina ( $P < 0,05$ ). E aumento no fluxo duodenal de metionina (41 vs. 58 g/d;  $P < 0,05$ ). Putnam et al. (1997) estudaram os efeitos da suplementação de cultura de leveduras na dose de 3,3 g na refeição da manhã e 6,7 g na da tarde por *top dressing* totalizando 10 g/d (Yea-Sacc<sup>®</sup>.  $5 \times 10^9$  ufc de *S. cerevisiae*, cepa 1026, Alltech Biotechnology Center, Nicholasville, EUA). No estudo foram utilizadas oito vacas primíparas com cânulas ruminais e duodenais, no início de lactação, em delineamento em Quadrado Latino 4 x 4 com arranjo fatorial dos tratamentos, estudando a suplementação de leveduras (0 vs. 10 g/dia) em dois níveis de PB na dieta (16,1 vs. 18,8% MS). Ao contrário do trabalho de Erasmus, Botha e Kistner (1992), não foi encontrada diferença no fluxo de aminoácidos para o duodeno (exceto para glicina) tampouco no perfil de aminoácido na digesta duodenal. Ademais, o tratamento com levedura tendeu a aumentar o consumo de N e o fluxo de N alimentar não degradado no rúmen em ambos os teores de PB, mas sem impacto no fluxo de N microbiano.

Hristov et al. (2010), em estudo com oito vacas da raça Holandesa com cânulas ruminais, avaliaram o impacto da suplementação de 56 g/d de cultura de leveduras (Diamond XP<sup>™</sup>. Diamond V Mills, Inc., Cedar Rapids, EUA) na fermentação ruminal. A dieta continha (% MS): 15,9% de PB, 31% de FDN e 45,2% de CNF. Observou-se tendência de aumento na excreção de alantoína na urina de 597 para 654 mmol/dia ( $P = 0,08$ ), acompanhada por redução na concentração de N-NH<sub>3</sub> no rúmen (3,6 vs. 3,0 mM;  $P = 0,08$ ) nas vacas

suplementadas. Os autores sugerem que o maior crescimento microbiano levou ao aumento na incorporação de N-NH<sub>3</sub> na proteína microbiana. Gomide (2012), apesar de reportar aumento na excreção de alantoína de 53,3 para 77,6 m moles/d ( $P = 0,04$ ), quando se suplementou a dose diária de 30 g de levedura autolizada comparada ao tratamento Controle (sem suplementação), não houve efeito na concentração de N-NH<sub>3</sub> (28,5 vs. 28,9 mg/dL;  $P = 0,77$ ).

O aumento na síntese de proteína microbiana pela adição de produtos contendo leveduras tem sido reportado na literatura (CHAUCHEYRAS-DURAND; WALKER; BACH, 2008) e dentre os mecanismos propostos estão aumento na anaerobiose do fluido ruminal (NEWBOLD; WALLACE; MCINTOSH, 1996), fornecimento de vitaminas do complexo B (CHAUCHEYRAS et al., 1996; CHEN et al., 2011), peptídeos e aminoácidos (CHAUCHEYRAS et al., 1996) e, ainda, ácidos dicarboxílicos (NISBET; MARTIN, 1990).

Outra teoria para o aumento na síntese de proteína microbiana observada com produtos contendo leveduras é a inibição do crescimento de protozoários e de suas atividades (NEWBOLD; MCINTOSH; WALLACE, 1998) e estes autores atribuíram a este mecanismo o aumento de 25% no crescimento bacteriano *in vitro*. No entanto, assim como Hristov et al. (2010), alguns autores não reportam efeito das leveduras na contagem de protozoários (BITENCOURT et al., 2011; BROSSARD et al., 2004; GOMIDE, 2012; LILA et al., 2004) e, em alguns casos, apontam até aumento da população (AL IBRAHIM et al., 2010; PLATA et al., 1994).

#### **2.4.7 Metabólitos sanguíneos**

Piva et al. (1993) observaram aumento numérico na concentração de glicose (3,95 vs. 4,20 mmol/L;  $P = 0,18$ ) e de zinco (13,3 vs. 15,2 mmol/L;  $P =$

0,14) no plasma sanguíneo de vacas *Fresian* (DEL =  $105 \pm 2$ ) com 10 g de cultura de leveduras (Thepax Dry<sup>®</sup>. Dox-Al, Correzana, Itália) em dieta com 30% de silagem de milho, 22% de feno de alfafa e 48% de concentrado. Williams (1988) reportou que culturas de leveduras podem apresentar alta concentração de zinco quelatado em suas células, o que poderia justificar o aumento na concentração de zinco plasmático; todavia, o autor não conseguiu elucidar o mecanismo para o aumento de glicose. Um aumento numérico de 2,6 mg/dL ( $P = 0,14$ ) na concentração da glicose plasmática, também, foi demonstrado em estudo recente (HRISTOV et al., 2010). Dehghan-Banadaky et al. (2013) reportaram aumento na concentração de glicose em 10,1 mg/dL ( $P < 0,05$ ) para vacas em estresse calórico suplementadas com leveduras vivas.

Wohlt, Corcione e Zajac (1998) estudaram o efeito da suplementação de 0 ou 10 g/d de leveduras vivas (Biomate Yeast Plus<sup>®</sup>.  $5 \times 10^9$  ufc de *S. cerevisiae*/g, Chr. Hansen's, Inc., Milwaukee, EUA) no pré-parto e 0, 10 ou 20 g/d no pós-parto em 36 vacas multíparas em dietas à base de silagem de milho 44,3% (% MS). Entre as semanas 5 e 18 de lactação, houve aumento no nitrogênio ureico plasmático (NUP) após duas horas da alimentação da manhã, 21,0 vs. 18,4 mg/100 mL ( $P < 0,05$ ) e menor hematócrito sanguíneo, 29,3 vs. 32,1% ( $P < 0,01$ ) para as vacas suplementadas em ambas as doses em comparação ao controle. Os autores atribuíram este resultado ao aumento na exigência de proteína em virtude dos incrementos na produção de leite ( $P < 0,08$ ) e no aumento numérico da secreção de proteína ( $P = 0,18$ ) observado nessas semanas. Wohlt, Evans e Trout (1984) reportaram efeitos similares no hematócrito e no nitrogênio ureico plasmático com aumento na exigência de proteína. Aumento numérico no NUP em 0,6 mg/dL ( $P > 0,10$ ) em dieta de alta proteína (18,8% MS) para vacas em lactação suplementadas com leveduras tem sido observado (PUTNAM et al., 1997). Gomide (2012) reportou aumento na

concentração de NUP em novilhas suplementadas com 30g/d de levedura autolisada, porém não houve efeito na concentração ruminal de N-NH<sub>3</sub>.

Wohlt, Finkelstein e Chung (1991) estudaram o efeito da suplementação de leveduras de 10 g/d (Biomate Yeast Plus<sup>®</sup>. 5 x 10<sup>9</sup> ufc de *S. cerevisiae*/g, Chr. Hansen, Inc., Milwaukee, EUA), durante o pré-parto (30 dias antes do parto) e no pós-parto (18 semanas) em 24 vacas primíparas alimentadas com dieta que continha (% MS) 50% de forragem e 50% de grãos. Amostras de sangue foram coletadas em três dias (d 35,70 e 105) durante o experimento na veia jugular. Não foi observado efeito no NUP em nenhum dos dias ( $P > 0,38$ ) e no hematócrito houve redução apenas no d 35 no grupo suplementado (33,4 vs. 31,4%;  $P = 0,05$ ). Contudo, redução no NUP (HARRIS JUNIOR et al., 1992), inclusive, em condições de estresse térmico (BRUNO et al., 2009; DEGHAN-BANADAKY et al., 2013) tem sido, também, reportado na literatura.

#### 2.4.8 Consumo de matéria seca

Desnoyers et al. (2009), pela meta-análise de 110 estudos e 157 experimentos, que suplementaram produtos à base de leveduras, reportaram uma resposta em aumento de 44 g no CMS/100 kg de peso corpóreo. Já Poppy et al. (2012) em outra meta-análise, esta mais recente, observaram aumento no CMS de 0,62 kg/d (IC 95% = 0,21 a 1,02 kg/d;  $P < 0,01$ ) apenas para vacas no início da lactação (< 70 dias em lactação). Ramsing et al. (2009) testaram a suplementação de cultura de leveduras (Diamond V XP<sup>™</sup>. Diamond V Mills, Inc., Cedar Rapids, EUA) no periparto em dosagens crescentes por *top dress* (0, 57 e 227 g/d), em experimento com 40 vacas múltiparas e 26 primíparas. O estudo demonstrou efeito para dosagem de 57 g/d, aumentando o número de refeições em relação ao controle (11,4 vs. 12,3 refeições/d;  $P = 0,07$ ) e o CMS em 1,4 kg durante o pré-parto ( $P < 0,01$ ), cuja dieta consistia (% MS) em 34%

de silagem de milho, 17% de silagem de gramínea, 13,6% de feno de alfafa, 33,8% de milho e 8,5% de farelo de soja. Já, a dosagem de 227g/d tendeu a aumentar o tempo de ingestão em, aproximadamente, 15 min ( $P = 0,10$ ) e aumentou a duração das refeições ( $P = 0,05$ ) no pós-parto. E no pré-parto houve aumento no número de refeições. Ambas as dosagens tiveram efeito na produção de leite ( $P < 0,01$ ), com aumento médio de 2,7 kg.

Dann et al. (2000), testando a suplementação com 60 g/d de cultura de leveduras em *top dress* (Diamond V XP™. Diamond V Mills, Inc., Cedar Rapids, EUA), trabalharam com 39 vacas Jersey no pré e pós-parto. Após o parto, os animais receberam dieta contendo (% MS) 21,7% de silagem de milho, 21,6% de feno de alfafa e 31,2% de milho laminado, 13,1% de farelo de soja, 8,7% de casca de soja e 2,2% de farinha de carne e ossos. Foi demonstrado aumento em 2,1 kg no CMS, durante os últimos sete dias do pré-parto e 1,8 kg durante os primeiros 42 dias de lactação. Este impacto teve efeito evidente no peso corporal, em que as vacas suplementadas perderam apenas 32,1 kg e as do tratamento controle, 55,5 kg ( $P = 0,04$ ), durante as primeiras seis semanas de lactação, com aumento numérico de 1,3 kg na produção diária de leite ( $P = 0,31$ ) neste mesmo período. O impacto em menor perda de peso e condição corporal no pós-parto em resposta à suplementação de leveduras tem sido relatado (ROBINSON, 1997), assim como o efeito no aumento da ingestão de MS (ADAMS et al., 1995; ERASMUS; BOTHA; KISTNER, 1992; MOALLEM et al., 2009; ROBINSON; GARRETT, 1999; WANG; EASTRIDGE; QIU, 2001; WOHLT; CORCIONE; ZAJAC, 1998).

No entanto, Rabiee et al. (2008), em outra meta-análise, analisaram 32 estudos que suplementaram apenas produtos da marca Diamond V Mills que contêm cultura de leveduras (YC™, XP™ e XPC™) em vacas em lactação. Os autores não observaram efeito significativo no CMS (84 g/d; IC 95% = -25 a 190 g/d;  $P = 0,63$ ), apesar do aumento no início da lactação (310 g/d; IC 95% =

84 a 530 g/d;  $P < 0,05$ ). Além disso, foi realizada uma análise de metarregressão que possibilitou concluir que a resposta em consumo foi influenciada pela forma de fornecimento do produto (misturado à dieta vs. *top dress*). E o maior CMS foi observado quando o produto foi fornecido na forma *top dress* (440 g/dia; IC 95% = 180 a 700 g/d;  $P < 0,01$ ). A grande maioria dos trabalhos revisados não demonstrou diferença significativa em consumo de matéria seca (AL IBRAHIM et al., 2010; ALLEN; YING, 2012; ARAMBEL; KENT, 1990; BRUNO et al., 2009; COOKE; BERNARD; WEST, 2007; ERASMUS et al., 2005; ERDMAN; SHARMA, 1989; FERRARETO; SHAVER; BERTICS, 2012; HARRISON et al., 1988; HIPPEN et al., 2010; HRISTOV et al., 2010; KAMALAMMA; KRISHNAMOORTHY; KRISHNAPPA, 1996; KUNG JUNIOR et al., 1997; LOGUNSKI; YING; ALLEN, 2009; MARSOLA et al., 2010; PIVA et al., 1993; PUTNAM et al., 1997; ROBINSON, 1997; SODER; HOLDEN, 1999; SWARTZ et al., 1994; WOHLT; FINKELSTEIN; CHUNG, 1991).

Existem alguns experimentos que reportam queda de consumo em resposta à suplementação de produtos à base de leveduras. Harris Junior et al. (1992), em experimento com 36 vacas no início e no meio da lactação, consumindo dieta com (% MS) 50% de silagem de milho, 27% de milho, 11% de farelo de soja e 8% de casca de soja, observaram queda no consumo de matéria seca de 22,9 para 22,0 kg/d, quando foi suplementada com 57 g/d de cultura de leveduras (Diamond V XP™. Diamond V Mills, Inc., Cedar Rapids, EUA). Contudo, este efeito em redução no consumo tem sido observado raramente (OLIVEIRA et al., 2010; SHINGOETHE et al., 2004; SHWARTZ et al., 2009).

#### 2.4.9 Produção de leite

Na última década foram realizadas diversas meta-análises para quantificar e elucidar os efeitos da suplementação de leveduras (vivas ou em cultura). Dentre estas, a de Rabiee et al. (2008) reportou aumento de 0,93 kg/dia (IC95% = 0,70 a 1,15 kg/dia;  $P < 0,01$ ) quando se analisaram estudos que suplementaram apenas produtos da marca Diamond V (YC<sup>TM</sup>, XP<sup>TM</sup> e XPC<sup>TM</sup>) em vacas em lactação. Desnoyers et al. (2009) observaram incremento na produção diária de 0,8 kg e atribuíram este efeito ao aumento na digestibilidade da matéria orgânica. Poppy et al. (2012) relataram ganho médio de 1,2 kg na produção de leite (IC95% = 0,55 a 1,81kg/dia;  $P < 0,01$ ) apenas com estudos que suplementaram cultura de leveduras. Robinson e Erasmus (2009) avaliaram o desempenho lactacional de vacas leiteiras suplementadas com distintos produtos comerciais à base de *S. cerevisiae* em uma revisão sistemática da literatura (Altech<sup>1026®</sup>, Chr. Hansen Biomate<sup>®</sup>, Diamond V YC<sup>TM</sup>, Diamond V XP<sup>TM</sup>, Thepax Dry<sup>®</sup> e Vi-cor A-Max<sup>®</sup>). No total foram avaliados 22 estudos publicados na literatura. Quando os dados dos três produtos avaliados em maior frequência foram isolados (Altech<sup>1026®</sup>, Chr. Hansen Biomate<sup>®</sup> e Diamond V XP<sup>TM</sup>), foi observado aumento de 3% (0,89 kg/dia) na produção de leite em resposta à suplementação.

Hippen et al. (2010) avaliaram as interações da inclusão de 0 ou 14 g/dia de cultura de leveduras (Diamond V XPC<sup>TM</sup>, Diamond V Mills, Inc., Cedar Rapids, Iowa, EUA) com 0 ou 20% MS de grãos secos de destilaria solúveis (DDGS) em delineamento Quadrado Latino 4 x 4 com arranjo fatorial 2 x 2 dos tratamentos. A dieta continha (% MS): 18% de feno de alfafa, 27% de silagem de milho e 29% de milho floculado. Os demais ingredientes variavam de acordo com a inclusão de 0 ou 20% (MS) de DDGS; sendo o farelo de soja 13,0 ou 6,7%, o bagaço de farelo de soja 4,74 ou 0%, a casca de soja 4,6 ou 0% e uma

fonte de gordura inerte no rúmen 1,23 ou 0%, respectivamente. Houve aumento de 1,6 kg na produção de leite ( $P = 0,05$ ) e na concentração de nitrogênio ureico no leite, de 10,9 para 12,4 mg/dL com interação da levedura com DDGS ( $P < 0,01$ ). Diversos trabalhos na literatura corroboram com aumento na produção de leite com suplementação de leveduras (ADAMS et al., 1995; AL IBRAHIM et al., 2010; BRUNO et al., 2009; EVANS; PATTERSON; CLARK, 2012; HRISTOV et al., 2010; KAMALAMMA; KRISHNAMOORTHY; KRISHNAPPA, 1996; KUNG JUNIOR et al., 1997; MOALLEM et al., 2008; PIVA et al., 1993; PUTNAM et al., 1997; RAMSING et al., 2009; ROBINSON; GARRETT, 1999; WOHLT; CORCIONE; ZAJAC, 1998; WHOLT; FINKELSTEIN; CHUNG, 1991).

Soder e Holden (1999), em estudo com 36 vacas multíparas e 12 primíparas em *tie stall*, testaram a suplementação com 15g/d de cultura de leveduras (Biomate Yeast Plus<sup>®</sup>.  $5,0 \times 10^9$  ufc de *S. cerevisiae*/g, Chr. Hansen BioSystems, Inc., Milwaukee, EUA) e 10 g/d de uma mistura de enzimas (110 U/g de protease, 9 U/g de lipase e 110 U/g de  $\alpha$ -amilase). Não se observou resposta em produção de leite e este efeito vem sendo reportado com frequência na literatura (ALLEN; YING, 2012; ARAMBEL; KENT, 1990; DANN et al., 2000; ERASMUS; BOTHA; KISTNER, 1992; ERASMUS et al., 2005; ERDMAN; SHARMA, 1989; HARRIS JUNIOR et al., 1992; LOGUNSKI; YING; ALLEN, 2009; MARDEN et al., 2008; MARSOLA et al., 2010; NOCEK; HOLT; OPPY, 2011; ROBINSON, 1997; SWARTZ et al., 1994; WANG; EASTRIDGE; QIU, 2001).

#### **2.4.10 Eficiência alimentar**

Cooke, Bernard e West (2007) estudaram a suplementação de 56 g/d de cultura de leveduras (Diamond V XP<sup>™</sup>. Diamond V Mills, Inc., Cedar Rapids,



EUA) em dietas com inclusão de 12,6% MS de caroço de algodão coberto com amido gelatinizado. Além disso, havia na dieta (% MS) 38,4% de silagem de milho, 5,9% de feno de alfafa, 11% de grãos de cevada, 20,3% de milho floculado e 7,7% de farelo de soja. Houve melhora na eficiência alimentar em kg de leite corrigido, para energia por kg de consumo de matéria seca, 1,50 vs. 1,60 ( $P = 0,02$ ). Os autores atribuem este resultado à tendência de ganho em produção de gordura (1,45 vs. 1,57 kg;  $P = 0,10$ ) e no aumento numérico da produção de leite corrigido para energia (39,2 vs. 41,0 kg;  $P = 0,10$ ). Oliveira et al. (2010) avaliaram a suplementação de 10g/d de levedura viva (Levumilk<sup>®</sup>. 2 x 10<sup>10</sup> ufc de *S. cerevisiae*/g cepa KA500, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil) em vacas com 144 ± 70 dias em lactação em dietas (% MS) com 45,0% de silagem de milho, 4,1% de feno de tifton, 18% de farelo de soja, 17% de polpa cítrica e 13,8% de milho maduro moído fino. Houve melhora na eficiência alimentar ( $P = 0,05$ ) por causa da redução no CMS em 0,5 kg ( $P = 0,01$ ) e à manutenção da produção de leite. Foram descritos acima os únicos trabalhos que demonstraram efeito nesta variável, a literatura como um todo não relata ganho em eficiência alimentar. Ganho na eficiência alimentar, também, tem sido observado durante o estresse térmico (MARSOLA et al., 2010; SCHINGOETHE et al., 2004).

#### **2.4.11 Produção de sólidos**

Wang, Eastridge e Qiu (2001) alocaram 60 vacas holandesas no início da lactação a um dos cinco tratamentos possíveis por período experimental de 140 dias. Os tratamentos foram: 1) 21% de FDN de forragem (FDNF) sem leveduras; 2) 21% de FDNF com leveduras; 3) 17% de FDNF sem leveduras; 4) 17% de FDNF com leveduras e 5) 25% de FDNF com leveduras por 30 dias e em seguida 17% de FDNF com leveduras por 110 dias. A cultura de leveduras

(Diamond V XP™. Diamond V Mills, Cedar Rapids, Inc., EUA) foi suplementada na dosagem de 60g/d. Houve aumento no teor de gordura do leite apenas na dieta com 21% de FDNF, havendo interação entre leveduras e % FDNF. A composição das dietas 17 e 21% de FDNF foram, respectivamente, 23,4 e 29,1% de silagem de milho, 15,6 e 19,1% de silagem de alfafa, 17,8 e 25% de milho inteiro, 20,8 e 2,8% de casca de soja, 13,6 e 17,2% de farelo de soja, 2,3 e 0,3% de glúten de milho e 1,9% de farinha de sangue em ambos os teores de FDNF. As dietas com 21% de FDNF continham maiores teores de CNF do que as dietas com 17% de FDNF (42,0 e 37,6%, respectivamente), o que poderia resultar em efeito negativo associativo sobre a digestão de fibra, sugerindo que o efeito positivo das leveduras parece ser mais pronunciado em dietas ou sistema de alimentação com alta inclusão de alimentos concentrados. Piva et al. (1993) reportaram aumento numérico no teor de gordura de 3,25 para 3,54% ( $P = 0,16$ ) e, em razão do ganho em 0,8 kg na produção de leite ( $P < 0,01$ ), houve aumento de 0,12 kg na produção diária de gordura ( $P < 0,04$ ) em resposta à suplementação diária de 10g de cultura de leveduras (Thepax Dry®, Dox-Al, Correzana, Itália).

Longuski, Ying e Allen (2009) testaram suplementação de cultura de leveduras em dietas desafiadoras, com amido de alta fermentabilidade. Oito vacas holandesas múltiparas com  $96 \pm 14$  dias em lactação e com cânulas ruminais foram utilizadas. Os tratamentos foram 56g/d de cultura de leveduras (Diamond V XP™. Diamond V Mills, Inc., Cedar Rapids, EUA) na forma *top dress* ou controle (56g/d de mistura de milho seco moído e farelo de soja). A dieta continha (% MS) 23,5% de silagem de milho, 11,8% de silagem de alfafa, 36,2% de milho moído, 8,2% de farelo de soja, 6,0% de grãos de destilaria e 4,6% de SoyPlus® (West Central Soy, Iowa, EUA). As vacas recebiam esta dieta por 26 dias e, nos últimos dois dias de cada período, o milho moído era substituído por grão úmido na mesma proporção (MS). Observou-se aumento da

produção de leite corrigido para 3,5% de gordura (39,8 vs. 43,0 kg;  $P < 0,01$ ), durante o desafio de amido, assim como aumento na produção em quilos de gordura por dia (1,30 vs. 1,47 kg/d;  $P < 0,01$ ), o que foi atribuído à capacidade da levedura conseguir manter o teor de gordura mesmo durante o desafio de amido (3,03 vs. 3,31%;  $P = 0,11$ ). Contudo, os autores não atribuem o efeito na gordura do leite ao pH ruminal, o qual não se modificou com a suplementação (5,90 vs. 5,91;  $P = 0,83$ ).

Em estudo recente, Ferrareto, Shaver e Bertics (2012) reportaram tendência no aumento do teor de gordura com suplementação de 4g/d de leveduras vivas (Procreatin-7<sup>®</sup>. Lesaffre Feed Additives, Milwaukee, EUA) de 3,27 para 3,57% ( $P = 0,06$ ) em relação ao tratamento Controle. O aumento no teor tem sido observado (ADAMS et al., 1995; MOALLEM et al., 2009), assim como na secreção diária de gordura no leite (COOKE; BERNARD; WEST, 2007; NOCEK; HOLT; OPPY, 2011; PUTNAM et al., 1997). No entanto, alguns estudos reportam até queda na concentração de gordura do leite (SHAVER; GARRETT, 1997) ou nenhum efeito (AL HIBRAHIM et al., 2010; ARAMBEL; KENT, 1990; HARRIS JUNIOR et al., 1992; ROBINSON, 1997; SWARTZ et al., 1994).

Shaver e Garrett (1997), em experimento de campo com onze fazendas do Estado de Wisconsin, concluíram que a adição de 57g/d de cultura de leveduras (Diamond V XP<sup>™</sup>. Diamond V Mills, Inc., Cedar Rapids, EUA) reduziu o teor de proteína em 0,02 pontos percentuais ( $P < 0,05$ ), contudo observou-se ganho na secreção de proteína (1,14 vs. 1,17 kg/d;  $P < 0,01$ ), em razão do respectivo aumento na produção de leite, em oito dos 11 rebanhos avaliados ( $P < 0,01$ ). Resultado similar foi observado por Cooke, Bernard e West (2007), estudando a suplementação de 56 g/d de cultura de leveduras (Diamond V XP<sup>™</sup>. Diamond V Mills, Inc., Cedar Rapids, EUA) em dietas com inclusão de 12,6% MS de caroço de algodão coberto com amido gelatinizado. A

dieta continha, também, (% MS), 38,4% de silagem de milho, 5,9% de feno de alfafa, 11% de grãos de cevada, 20,3% de milho floculado e 7,7% de farelo de soja. Houve tendência de redução na porcentagem de proteína do leite de 3,19 para 3,11% ( $P = 0,06$ ), contudo não houve efeito na produção (1,19 vs. 1,19 kg/d), em função do aumento numérico de 0,8 kg ( $P = 0,48$ ) observado na produção de leite.

Nocek, Holt e Oppy (2011) realizaram um estudo com 150 vacas multíparas, durante 14 semanas, avaliando a suplementação de 56 g/d de cultura de leveduras (YC) (A-Max<sup>®</sup>. Vi-COR, Mason City, EUA) e YC mais 28 g/d de levedura hidrolisada enzimaticamente (YC+EHY) (Celmanax<sup>®</sup>. Vi-COR, Mason, EUA) em relação a uma dieta sem aditivo (controle). A dieta consistia de (% MS) 58,6% de silagem de milho, 7,7% de pré-secado, 5,8% de feno de alfafa, 10,6% de milho, 6,1% de polpa de beterraba, 5% de farelo de soja e 1,8% de soja tostada. Houve aumento no teor de proteína do leite de 2,91, 2,93 e 2,98%, respectivamente, para os tratamentos Controle, YC e YC+EHY, bem como para secreção diária 1,17, 1,21 e 1,24 kg. Entretanto, só houve diferença estatística entre controle vs. YC+EHY ( $P < 0,01$ ) para as variáveis citadas. Respostas em secreção diária de proteína acompanhada com aumento em produção de leite, contudo sem alteração no teor, têm sido encontradas na literatura (HIPPEN et al., 2010). Aumento em teor foi observado (DANN et al., 2000; ERDMAN; SHARMA, 1989) mas sem ganho em produção. A maioria dos estudos não demonstra efeito em proteína (AL IBRAHIM et al., 2010; ERASMUS et al., 2005; HARRIS JUNIOR et al., 1992; KUNG JUNIOR et al., 1997; LOGUNSKI; YING; ALLEN, 2009; PIVA et al., 1993; ROBINSON, 1997; SWATZ et al., 1994).

#### 2.4.12 Suplementação de vacas de leite em estresse calórico com leveduras

Tem sido sugerido que suplementação de culturas de fungos para vacas de leite expostas às condições ambientais de altas temperaturas e umidade pode reduzir sinais de estresse térmico, tais como temperatura retal, frequência respiratória e, ainda, melhorar o desempenho durante a lactação (HUBER et al., 1994). Inicialmente, as pesquisas foram realizadas com fungos, no entanto, muitos dos efeitos observados para cultura de *Aspergillus oryzae*, também, têm sido demonstrados para cultura de leveduras (HUBER, 1990; WILLIAMS; NEWBOLD, 1990). Atualmente existe maior número de trabalhos estudando culturas de leveduras do que leveduras vivas (MOALLEM et al., 2009).

Gomes-Alarcon et al. (1991), trabalhando com suplementação de cultura de *Aspergillus oryzae* na dosagem de 3g/d em dois experimentos contínuos com vacas no início (n=46) e no meio de lactação (DEL=145, n=24), em período de estresse calórico, observaram redução na temperatura retal ( $P < 0,05$ ) em quatro das dez leituras realizadas, além de ganho em produção de leite de 2,5 kg ( $P < 0,05$ ) e eficiência alimentar (1,49 vs. 1,57;  $P < 0,05$ ) nas vacas no início de lactação. Ademais, não houve diferença na frequência respiratória (63 vs. 67 respirações/min;  $P > 0,10$ ). Já, em estudo com suplementação de cultura de leveduras (HUBER, 1990), houve redução significativa da temperatura retal nos estágios iniciais do estudo, entretanto, o efeito não persistiu ao longo do experimento.

De acordo com estudos realizados com vacas em estresse térmico no Estado do Arizona (HUBER; HIGGINBOTHAM, 1985; MARCUS; HUBER; CRAMER, 1986), houve redução na temperatura retal e na frequência respiratória em resposta à suplementação com extrato de *Aspergillus oryzae* (Amaferm<sup>®</sup>. BioZyme Enterprises, St. Joseph, Missouri, EUA). O mesmo efeito em temperatura retal, também, foi observado por Higginbotham, Bath e Butler

(1993) testando a suplementação com 3g/d de *Aspergillus oryzae* (Diamond V Mills, Inc., Cedar Rapids, EUA), em experimento em rebanho comercial (n = 110), com redução de 0,1°C às 13 h e às 15 horas ( $P < 0,01$ ). Houve, também, queda acentuada no nitrogênio ureico plasmático de 18,1 para 13,4 mg% ( $P < 0,01$ ). Contudo, a frequência respiratória não foi alterada, assim como a produção de leite. Higgibotham et al. (1994), em rebanho comercial na Califórnia (n = 521), avaliaram o efeito da suplementação de 3g/d de *Aspergillus oryzae* (Diamond V Mills, Inc., Cedar Rapids, EUA) com adição de 56g/d de cultura de leveduras (Diamond V XP™.  $3,0 \times 10^7$  ufc de *S. cerevisiae*/g, Diamond V Mills, Inc., Cedar Rapids, EUA). Não foram observadas diferenças em desempenho, todavia houve tendência de queda na temperatura retal em sete das 17 mensurações realizadas ( $P < 0,10$ ).

Segundo Huber et al. (1994), os mecanismos de ação da cultura de fungos na temperatura retal e na frequência respiratória não são claros. No entanto, Meyers (1974) reportou vários compostos elaborados por fungos que afetam o centro de controle da temperatura em animais. E um efeito típico observado é a redução da temperatura corporal quando vacas foram alimentadas com aflatoxina oriunda de *Aspergillus flavus* (MERTENS, 1979).

Vacas em estresse calórico pioram a eficiência alimentar (BRITT et al., 2003), por causa da maior exigência de energia despendida para manutenção (FOX; TYLUTKI, 1998; NRC, 1981) em mecanismos de dissipação de calor (FUQUAY, 1981). No entanto, Schingoethe et al. (2004) observaram aumento na eficiência alimentar de kg de leite corrigido para 4% de gordura por kg de MS consumida (1,39 vs. 1,49;  $P = 0,04$ ), assim como na eficiência de kg de leite corrigido para energia por kg de MS consumida (1,49 vs. 1,59;  $P = 0,04$ ) para vacas suplementadas com 60g/d cultura de leveduras (Diamond V XP™. Diamond V Mills, Inc., Cedar Rapids, EUA) com 105±28 de lactação durante 12 semanas no verão. Apesar disso, não houve respostas positivas em produção de

leite corrigida para energia (33,4 vs. 34,2 kg;  $P = 0,62$ ) e nem em CMS (23,1 vs. 22,1 kg;  $P = 0,38$ ), porém, diferenças numéricas. As dietas experimentais continham (% MS) 28% de silagem de milho, 21% de feno de alfafa, 19,3% de milho laminado, 8,0% de caroço de algodão, 8,8% de farelo de soja e 7,7% de grãos de destilaria.

Bruno et al. (2009), também, trabalhando com cultura de leveduras, testaram o efeito da suplementação de 30g/d (A-Max XTRA<sup>®</sup>. Varied Industry Co., Mason City, Iowa, EUA), em experimento em duas fazendas comerciais com setecentos e vinte três vacas multíparas, durante os meses de verão na Califórnia, obtiveram um incremento de 1,2 kg na produção de leite ( $P = 0,02$ ) e aumento na secreção de sólidos não gordurosos ( $P = 0,05$ ). Houve redução no nitrogênio ureico plasmático ( $n = 120$ ,  $P = 0,05$ ) e uma redução apenas numérica na temperatura retal (38,52° vs. 38,44°C,  $n = 88$ ;  $P = 0,21$ ). Huber et al. (1989) supõe que o efeito da suplementação de cultura de leveduras na temperatura retal pode ser um efeito direto na fisiologia do animal do que uma consequência da fermentação ruminal, considerando que a fermentação no rúmen representa apenas de 3-8% do total da produção de calor (CZERKAWSKI, 1980).

No entanto, Shwartz et al. (2009), trabalhando com 23 vacas holandesas (DEL = 120 ± 30), em câmaras climáticas, visando simular ambiente com estresse térmico, testaram a suplementação de 10 g/d de uma mistura de enzimas fibrolíticas com cultura de leveduras (Altech, Inc., Lexington, EUA) em dietas à base de feno de alfafa e milho floculado. Houve redução na temperatura retal às 12 (40,39 vs. 40,02°C;  $P < 0,05$ ) e às 18 horas (40,35° vs. 40,12°C;  $P < 0,05$ ), sem efeito nenhum na taxa de sudorese. Contudo, houve efeito negativo em desempenho com queda de 1,0 kg no CMS ( $P = 0,03$ ) e de 2,8 kg na produção de leite ( $P = 0,02$ ). Moallem et al. (2009), suplementando leveduras vivas (Biosaf<sup>®</sup>. Lessafre Feed Additives, Lille, France) na dosagem de 1g para cada 4 kg de MS consumida (aproximadamente 6g/d) para 42 vacas, durante o verão

em Israel, reportaram incremento de 0,6 kg no CMS ( $P < 0,01$ ) e de 1,5 kg na produção de leite ( $P < 0,01$ ) com resposta consistente com base na quinta semana de suplementação. Além de aumento numérico na eficiência alimentar de kg de leite produzido por kg de CMS (1,53 vs. 1,56;  $P = 0,15$ ), houve ganho consistente na eficiência alimentar de kg de leite corrigido para 4% de gordura por kg de MS (1,36 vs. 1,41,  $P = 0,03$ ), o que é condizente ao aumento numérico do teor de gordura (3,49 vs. 3,63%;  $P = 0,15$ ), em produção de gordura de 1,27 para 1,36 kg/d ( $P = 0,03$ ) e no pH ruminal (6,67 vs. 6,54;  $P < 0,01$ ).

Marsola et al. (2010) avaliaram o efeito da suplementação de três doses (0, 0,5 e 1 g/d) de levedura viva (Levucell<sup>®</sup>.  $2,0 \times 10^{10}$  ufc de *S. cerevisiae*/g, cepa CNCM I-1077, Lallemand Animal Nutrition, Milwaukee, EUA) para 60 vacas (27 multíparas e 33 primíparas) em estresse calórico começando no 30<sup>o</sup> dia de lactação e persistindo até o 107<sup>o</sup> dia. Houve um aumento linear na eficiência alimentar (kg de leite corrigido para energia/kg CMS) ( $P = 0,03$ ), aumento na produção de proteína do leite ( $P = 0,03$ ) e efeito quadrático na digestibilidade da matéria orgânica, com valores de 70,9, 72,3 e 69,5% para as respectivas doses em ordem crescente ( $P = 0,06$ ). O pH ruminal aumentou linearmente ( $P = 0,03$ ) atingindo o valor máximo de 6,30 para dose de 1 g/dia. Uma observação interessante foi com relação ao tempo de pH menor que 5,8, o qual foi reduzido, também, linearmente. Isto permitiu os autores concluir redução do risco de acidose subclínica. Houve aumento na concentração de ácidos graxos não esterificados (AGNE) no sangue ( $P = 0,04$ ), no entanto, este efeito da suplementação de leveduras não tem sido observado durante o pós-parto (AL IBRAHIM et al., 2010; RAMSING et al., 2009) e não é condizente com trabalhos recentes que demonstraram não haver aumento na concentração de AGNE durante o estresse térmico (RHOADS et al., 2009; SHWARTZ et al., 2009).



Dehghan-Bnadacky et al. (2013) avaliaram a suplementação de 4 g/d de leveduras vivas (Probio-Sacc<sup>®</sup>.15 x 10<sup>9</sup> ufc de *S. cerevisiae*/g, Biochem, Germany) por *top dress*, durante a alimentação da manhã, comparado a um tratamento controle em experimento com 56 vacas holandesas (145 ± 23) durante os meses quentes no Irã. Foi observado aumento no teor de gordura de 3,02 para 3,18% ( $P = 0,02$ ), assim como na digestibilidade do FDN (49,3 vs. 53,50%;  $P = 0,04$ ) e tendência em aumentar a concentração de acetato no rúmen (55,12 vs. 59,44;  $P = 0,12$ ). Um dado interessante foi o aumento na concentração da glicose plasmática de 66,50 para 76,60 mg/dL ( $P < 0,05$ ) sem respectivo aumento na concentração de propionato no fluido ruminal (19,0 vs. 18,91 mmol/L;  $P = 0,97$ ). Além disso, houve redução no NUP em 2,0 mg/dL ( $P < 0,05$ ) e nenhuma diferença na concentração plasmática de NEFA entre os tratamentos.

Finck et al. (2014) estudaram a suplementação de leveduras vivas e parede de leveduras em 184 novilhas cruzadas desmamadas (203 ± 1 kg PV) durante o período de adaptação do confinamento. Os animais foram blocados por peso vivo e aleatoriamente designados a uma baía, sendo quatro baias por bloco e 5-6 novilhas por baía. Os tratamentos foram: 1) Controle (CON, sem suplementação) 2) Levedura viva (LY, 5g/novilha/d de BIOSAF, Lesaffre Feed Additives, Milwaukee, EUA) 3) Parede de levedura (YCW, 5g/novilha/d de Pronady 500, Lesaffre Feed Additives, Milwaukee, EUA) 4) Levedura viva + parede de levedura (LY+ YCW, 5g/novilha/d de leveduras vivas e 5g/novilha/d de parede de leveduras). No 38º dia experimental foi realizado um desafio lipopolissacarídeo (LPS) em um subgrupo com 24 animais, o qual consistiu na infusão de 0,5 µg de LPS/kg de PV. A temperatura retal foi mensurada em intervalos de 1 min por 24 horas antes e após o desafio LPS. A temperatura retal reduziu nas novilhas dos tratamentos LY ( $P < 0,01$ ) e LY + YCW ( $P < 0,01$ ) quando comparada ao tratamento controle antes do desafio. E aumentou em

todos os tratamentos uma hora após a infusão de LPS ( $P < 0,01$ ) atingindo seu valor máximo após duas horas. As novilhas do tratamento Controle permaneceram com temperatura retal mais elevada ( $P \leq 0,05$ ) que as dos demais tratamentos mesmo após o desafio. Apesar deste experimento não ter acontecido em ambiente que induzisse o estresse térmico, é interessante notar que, mesmo assim, as leveduras vivas reduziram temperatura retal.

## **2.5 Niacina**

A niacina é uma vitamina hidrossolúvel do complexo B que pode ser encontrada na forma de ácido nicotínico (NA) ou nicotinoamida (NAM). A conversão da forma ácido livre para a forma amida ocorre dentro do corpo (SCHWAB; CARAVIELLO; SHAVER, 2005), assim como no rúmen (HARMEYER; KOLLENKIRCHEN, 1989). Ambas as formas são precursores das coenzimas Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo (NAD) e Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato (NADP), as quais agem como aceptores de elétrons ou doadores de hidrogênio em muitas reações de oxirredução. Estas coenzimas estão envolvidas no ciclo de Krebs, glicólise, síntese e quebra do glicerol, síntese e oxidação de ácidos graxos, biossíntese de esteroides, síntese e degradação de aminoácidos e na síntese de deoxiribonucleotídeos (MCDOWELL, 2000). Contudo, apenas NA é a forma ativa que modula o metabolismo do tecido adiposo (PIRES; GRUMMER, 2007).

### **2.5.1 Síntese de niacina no rúmen**

A síntese de vitaminas do complexo B foi primeiramente demonstrada *in vitro* com incubação de fluido ruminal (BECHDEL et al., 1928) e posteriormente comprovada em experimentação com ovelhas, mesmo em dietas

carentes destas vitaminas (HEAD, 1953). A síntese de niacina foi evidenciada em trabalho com bezerros, em que Agrawala et al. (1953) forneceram rações purificadas contendo baixos níveis de vitaminas, tendo observado síntese desta vitamina, além da riboflavina e do ácido pantotênico. Este mesmo efeito, com dietas deficientes em vitaminas, foi observado em vacas em lactação (VIRTANEM, 1963). As pesquisas com vitaminas do complexo B demonstram que mudanças na relação entre forragens e concentrados da dieta (CONRAD; HIBBS, 1954), no teor (HOLLIS et al., 1954) e fonte de proteína (RIDDELL; BARTLEY; DAYTON, 1981), no processamento do milho (HAYES et al., 1966) e na suplementação com vitaminas (RIDDELL et al., 1985) podem alterar sua concentração no fluido ruminal. Outros estudos com ovinos (SUTTON; ELLIOT, 1972) e novilhas (MILLER; MEISKE; GOODRICH, 1986; ZINN et al., 1987) indicam este mesmo efeito.

No passado, as pesquisas com vitaminas do complexo B levavam a acreditar que o teor de vitaminas presente na dieta e a síntese ruminal eram suficientes para atender à exigência nutricional de vacas leiteiras (NRC, 2001). Embora a síntese ruminal pareça ser suficiente para prevenir deficiências clínicas na maioria das situações; tem sido demonstrado que a suplementação niacina pode aumentar a produção de leite (FRENCH, 2004). Contudo, este ganho nem sempre é observado (NRC, 2001). Esta falta de consistência nos resultados pode ser atribuída à variação da quantidade sintetizada no rúmen (SCHWAB et al., 2006).

O NRC (2001) estima a síntese ruminal de vitaminas do complexo B para vacas leiteiras por meio de estudos realizados com novilhas (MILLER; MEISKE; GOODRICH, 1986; ZINN et al., 1987), pois os dados com vacas de leite não existiam até então. Recentemente, Schwab et al. (2006) avaliaram a síntese ruminal de vitaminas do complexo B em experimento com arranjo fatorial 2x2 de tratamentos em dietas com diferentes teores de forragem (35% ou

60%MS) e de CNF (30% ou 40% MS). A síntese aparente de niacina no rúmen variou de 446 a 1.547 mg/kg de CMS, sendo maior nas dietas com 40% de CNF.

A niacina é a vitamina sintetizada em maior quantidade no rúmen de vacas de leite (SCHWAB et al., 2006). As bactérias podem sintetizá-la por meio do aminoácido triptofano (FOSTER; MOAT, 1980), algo não realizado por protozoários ciliados (JONES, 1974). Contudo, a síntese, com base no triptofano, é plausível apenas numa situação de excesso de aminoácidos na dieta (FLACHOWSKY, 1993). Em condições normais a concentração deste aminoácido na dieta não é capaz de prover quantidade suficiente para ser convertido em niacina, uma vez que são necessários de 50 a 60 mg de triptofano para formar 1 mg de niacina (HARMON et al., 1969). Há indícios de que as bactérias preferem usar niacina a sintetizá-la (BUZIASSY; TRIBE, 1960). Este fato foi demonstrado em experimento *in vitro* com adição de 0 ou 100 mg de niacina/kg MS dietética, o que resultou em síntese líquida de + 2,01 e - 2,54 mg/d, respectivamente (HANNAH; STERN, 1985). Riddell et al. (1985), em experimento *in vitro*, também, observaram maior síntese ruminal de niacina quando não houve adição, redução na síntese, quando se adicionaram pequenas quantidades (0,5 µg de niacina /mL de fluido ruminal) e degradação com quantidades elevadas de suplementação (2 até 8 µg de niacina/mL de fluido ruminal). Neste mesmo trabalho, foi avaliada a suplementação de bovinos com niacina na dose de 6 g/d e se observou aumento na concentração de niacina na digesta ruminal e duodenal, apesar de ter ocorrido redução na síntese ruminal. Riddell, Bartley e Dayton (1981) observaram menor síntese de niacina ruminal em dietas que continham somente ureia como fonte de nitrogênio. Pesquisas em que se avaliou a suplementação com niacina não protegida detectaram grande metabolização pelos microrganismos do rúmen (CAMPBELL et al., 1993) e apenas 3-10% da niacina escapa da degradação ruminal (SANTSCHI et al., 2005; ZINN et al., 1987).

A maioria das espécies de microrganismos do rúmen requer um ou mais tipos de vitaminas do complexo B, sendo a exigência específica de cada espécie diferente e nem todos os microrganismos conseguem sintetizar todas as vitaminas B (WOLIN; MILLER; STEWART, 1997). Pouco se conhece sobre as bactérias que requerem niacina para o crescimento (ABDOULI; SCHAEFER, 1985). Dentre elas se encontram as bactérias lácticas *Lactobacillus fermenti*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus liquefaciens*, *Streptococcus faecalis* (FORD; PENNY; BRIGGS, 1958) e *Streptococcus bovis* (HUNGATE, 1966), além da bactéria *Treponema bryantii* (STANTON; CANALE-PEROLA, 1980). As concentrações presentes no fluido ruminal, normalmente, variam de 0,05 a 0,8 µm/L, que é considerado suficiente para atender à exigência das bactérias (ABDOULI; SCHAEFER, 1986). Contudo, a suplementação com niacina aumenta a síntese microbiana (BRENT; BARTLEY, 1984), indicando que, talvez, a quantidade de niacina no fluido ruminal não seja suficiente e que pode haver mais espécies de microrganismos que requerem niacina além das mencionadas. Este resultado, também, foi observado *in vitro*, em que Riddell, Bartley e Dayton (1980) relataram efeito da dieta na síntese de proteína microbiana, tendo a síntese aumentado em 19%, 146% e 40% com a adição de 100 ppm de niacina em dietas à base de milho, milho mais feno ou apenas feno, respectivamente. O aumento no número de protozoários, após a adição de niacina, tem sido descrito por alguns autores (DENNIS et al., 1992; ERICKSON; TRUSK; MUROHY, 1990).

A principal rota de absorção da niacina é no intestino delgado (RÉRAT; CHAMPIGNY; JACQUOT, 1959), contudo existe absorção da forma de nicotinamida pela parede ruminal. Embora a absorção direta no rúmen seja possível, ela é limitada, pois somente uma pequena porção (3 a 7%) das vitaminas está na fração sobrenadante do fluido ruminal e grande parte se encontra incorporada aos microrganismos (ERICKSON et al., 1991).

### 2.5.2 Função da niacina na dissipação de calor

Zimbelman, Baumgard e Collier (2010) avaliaram o efeito da suplementação de niacina protegida (Niashure. Balchem Corp., New Hampton, EUA) na dose de 0 ou 12 g/dia para vacas em lactação em câmaras climáticas. Este produto continha 65% de niacina, correspondendo a uma suplementação de 7,8 g de niacina/vaca/d. Doze vacas multíparas ( $145 \pm 9$  DEL) foram alocadas em uma de duas câmaras climáticas. O primeiro período foi numa condição de termoneutralidade ( $THI < 72$  durante 24 h/d) e no segundo simulou-se um ambiente termicamente estressante ( $THI > 72$  durante 12 h/d). Houve elevação da concentração de niacina plasmática em ambos os períodos (1,70 vs. 1,47  $\mu\text{g/mL}$ ). Foi observada redução na temperatura retal (38,2 vs. 38,3°C) e vaginal (38,0 vs. 38,4°C) das vacas suplementadas com niacina. No entanto, não houve diferença significativa na frequência respiratória, apesar de ter ocorrido aumento numérico nas vacas suplementadas durante o período de indução de estresse calórico (54,5 vs. 50,8 respirações/min). A perda de calor por evaporação nas áreas depiladas e não depiladas foi maior para as vacas que ingeriram niacina (106,9 vs. 94,4  $\text{g/m}^2/\text{h}$ ). Zimbelman, Collier e Bilby (2013) testaram esta mesma dose de niacina encapsulada (Niashure. Balchem Corp., New Hampton, EUA) em 198 vacas primíparas e 229 multíparas em rebanho comercial no Estado do Arizona. Notou-se uma redução numérica na temperatura vaginal nas vacas suplementadas de 38,53 para 38,38°C, a qual foi mais proeminente e, estatisticamente, validada entre 13 e 16 horas, quando a redução foi de 38,95 para 38,50°C ( $P < 0,05$ ). Todavia, Yuan et al. (2011), em experimento com 80 vacas em lactação no Estado de Wisconsin, testando, também, este mesmo produto (Niashure. Balchem Corp., New Hampton, EUA) com dose similar, não observaram efeito na temperatura retal. Wrinkle, Robinson e Garrett (2012) observaram, em experimento com 180 vacas no início de lactação em rebanho

comercial na Califórnia, redução na frequência respiratória de 54.1 para 48.9 respirações/min às 9 h ( $P = 0,02$ ). A dose suplementar avaliada foi de 15 g/d de niacina protegida produzida pela Quali Tech Inc. (Chaska, EUA), porém não foi verificada diferença na temperatura superficial do úbere.

A redução na temperatura superficial tem sido observada como resposta à suplementação com niacina em condições de estresse calórico moderado a severo, mesmo quando niacina não protegida é suplementada (DI COSTANZO; SPAIN; SPIERS, 1997). Estes autores avaliaram a suplementação com doses crescentes de niacina de 12, 24 e 36 g/d dadas aos mesmos animais em comparação a uma dieta sem niacina suplementar. Os THIs mínimos e máximos dos períodos 1, 2 e 3 de suplementação foram, respectivamente: 68,2 e 79,6; 73,2 e 85,1; 63,1 e 75,0. A dose diária de 12 g/d reduziu a temperatura na cauda às 8 h (34,0 vs. 33,7°C) e 16 h (35,1 vs. 34,8°C), e na garupa às 8 h (34,1 vs. 33,7°C) e 16 h (35,3 vs. 35,0°C). O período 2 foi o mais desafiador, em termos de condições ambientais, a redução da temperatura na cauda às 8 h (35,3 vs. 35,0°C) ocorreu novamente e apenas uma redução numérica na frequência respiratória às 8 h (72 vs. 68 respirações/min,  $P = 0,14$ ), 16 h (96 vs. 91 respirações/min,  $P = 0,22$ ) e 22 h (84 vs. 79 respirações/min,  $P = 0,15$ ) foi observada. No entanto, não houve efeito do tratamento sobre a temperatura retal em nenhum dos períodos experimentais avaliados. A falta de efeito da suplementação, durante o período 3 (36 g/d), pode ter sido influenciada pelo fato de o ambiente estar mais frio em relação aos outros períodos. Os autores atribuíram a redução na temperatura corpórea aos efeitos vasodilatadores da niacina.

O efeito vasodilatador da niacina foi observado em humanos (GILLE et al., 2008) e tem sido atribuído à prostaglandina D (PGD) produzida pelas células de Langerhans (BENYÓ et al., 2006; MACIEJEWSKI-LENOIR et al., 2006) agindo nos receptores endoteliais de prostaglandina (PGD<sub>2</sub>) (CHENG et al.,

2006). O aumento no fluxo sanguíneo foi associado com aumento na taxa de sudorese e quando se inibiu o fluxo sanguíneo pela inibição da enzima óxido nítrico sintetase, houve redução da taxa de sudorese em humanos durante o exercício (WELCH et al., 2009).

Recentemente, Rungruang et al. (2014) estudaram a suplementação de doses crescentes (0, 4, 8 ou 12 g/d) de niacina protegida (Niashure. Balchem Corp., New Hampton, EUA), com 65% de niacina no produto, em vinte e quatro vacas holandesas (DEL =  $95 \pm 3$ ) de alta produção ( $40,0 \pm 1,4$  kg/d) em ambiente termoneutro (THI < 68 durante 24h/d) e de estresse térmico (THI > 68 durante 24h/d) proporcionados por câmaras climáticas. A suplementação com niacina protegida aumentou a concentração de niacina plasmática e no leite de forma linear para as doses fornecidas. Um efeito interessante observado foi que as vacas submetidas a ambiente termicamente estressante apresentaram concentração menor de niacina no sangue total em relação às em condições de termoneutralidade (7.86 vs. 6.89  $\mu\text{g/mL}$ ;  $P < 0,01$ ), o mesmo, também, foi reportado na concentração plasmática, hemácias e nos leucócitos, mas não no leite. A niacina no sangue total corresponde à soma da niacina armazenada nas hemácias e a que está presente no plasma (NIEHOFF; HÜTHER; LEBZIEN, 2009); sendo assim os autores estimaram que a redução na niacina plasmática justifica apenas 11% da redução observada no sangue total e atribuíram os 89% restantes à redução da niacina presente nas hemácias e leucócitos, sugerindo uma metabolização da niacina presente nos glóbulos vermelhos e brancos do sangue durante o estresse calórico. Não houve efeito da suplementação na frequência respiratória, na taxa de sudorese, na temperatura retal e nem na vaginal. No entanto, houve aumento linear no consumo de água, em ambos os ambientes, para as vacas suplementadas, variando de 76,7 para 99,7 L/d no ambiente termoneutro e de 93,9 para 140,4 L/d ( $P = 0,03$ ) no termicamente estressante, respectivamente, da dose menor (0 g/d) para maior (12 g/d). Além



disso, durante o estresse térmico houve uma tendência de redução linear na produção de leite com o aumento da dose suplementada de niacina encapsulada (0 - 38,6; 4 - 37,4; 8 - 37,2; 12 g/d - 36,7 kg/d;  $P = 0,07$ ), o que pode estar relacionado à redução linear no teor de lactose no leite de 4,8 para 4,7% ( $P < 0,01$ ) que ocorreu nesta mesma condição ambiental.

Dos seis experimentos reportados nesta revisão que testaram a suplementação de niacina em condições termicamente estressantes, apenas um relatou ganho estatístico na produção de leite (ZIMBELMAN; COLLIER; BILBY, 2013), durante um período experimental; contudo, efeito positivo em desempenho, durante o verão, em resposta à suplementação desta vitamina já foi relatado na literatura (MULLER et al., 1986).

### **2.5.3 Efeitos da niacina na concentração de glicose no plasma**

A suplementação com niacina, na maioria dos estudos, não se mostrou eficaz em aumentar a concentração de glicose plasmática (LANHAM et al., 1992; MADISON-ANDERSON et al., 1997). No entanto já se observou aumento em condições de estresse calórico (DI COSTANZO; SPAIN; SPIERS, 1997), de balanço energético negativo (DUFVA et al., 1983; PIRES; GRUMMER, 2007), e entre as semanas 4 e 6 de lactação (JASTER; YARD, 1990), sendo neste último experimento avaliada a suplementação de NAM.

Pires e Grummer (2007) avaliaram o efeito da niacina nos metabólitos sanguíneos (Experimento 1) e se doses sucessivas de NA podem manter-se a níveis baixos de ácidos graxos não esterificados (AGNE) no sangue (Experimento 2). No primeiro experimento foi realizada a infusão abomasal de 0, 6, 30 ou 60 mg de NA/kg de PV em vacas após restrição alimentar de 48 horas. Esta restrição teve o intuito de simular uma condição de balanço energético negativo. A concentração de AGNE reduziu de 546 para 208  $\mu\text{Eq/L}$

uma hora após a infusão de 6 mg/kg de PV e para menos de 100  $\mu\text{Eq/L}$  três horas após a infusão das doses mais altas (30 e 60 mg de NA/kg de PV). Houve um aumento expressivo na concentração de AGNE logo após seus níveis plasmáticos terem atingido o valor mínimo; este efeito foi relatado pelos autores como efeito “rebote”. Para as doses de 30 e 60 mg de NA/kg de PV as concentrações de AGNE atingiram valores máximos próximos a 1800  $\mu\text{Eq/L}$  durante o efeito rebote. Este efeito durou por nove horas para a dose de 30 mg de NA e seis para dose de 6 mg, sendo neste período evidenciado aumento na concentração de glicose e insulina. No experimento 2, foram realizadas nove infusões abomasais sucessivas a cada hora nas dosagens 0, 6 ou 10 mg de NA/kg de PV, após 48 horas de restrição alimentar em seis vacas holandesas em experimento com delineamento em blocos ao acaso. A concentração de AGNE reduziu 553 para menos de 100  $\mu\text{Eq/L}$  com as infusões a cada hora das doses de 6 ou 10 mg de NA/kg de PV. Os dados sugerem que a máxima resposta antilipolítica é alcançada com a menor dose de NA. O efeito rebote aconteceu de duas a três horas depois de finalizada a última infusão de NA e foi acompanhado com aumento na concentração de insulina. Em ambos os experimentos, o efeito rebote dos AGNE coincidiu com aumento na insulina e nenhuma mudança ou até aumento na glicose plasmática, sugerindo um estado de resistência à insulina pela elevação de AGNE. Este efeito antilipolítico da NA já é bem descrito na literatura (CARLSON, 2005) e o fenômeno do efeito rebote já foi reportado (KARPE; FRAYN, 2004), contudo seu mecanismo, ainda, é pouco entendido. Aumento na concentração de glicose em resposta à suplementação de niacina já foi observado em vacas de leite (DUFVA et al., 1983) e, também, demonstrado em outros modelos animais (PETERSEN; SHULMAN, 2006).

Pires, Pescara e Grummer (2007) infundiram no abomaso 6 mg/h por kg de peso vivo de NA por 11 horas em vacas não lactantes e não gestantes após restrição alimentar de 48 horas. Foi observada uma redução de AGNE no plasma

sanguíneo de 545  $\mu\text{Eq/L}$  para, aproximadamente, 100  $\mu\text{Eq/L}$ , após duas horas de iniciado o tratamento, sendo a diferença consistente ao longo do período de infusão. Esta redução na concentração de AGNE no plasma levou a um aumento na taxa de uso da glicose (1,9 vs. 1.2%/min), reduziu à meia-vida (37 vs. 58 min) o tempo para alcançar a concentração basal (81 vs. 114 min) e a área de resposta da glicose ficou abaixo da curva, durante 180 min de amostragem [6942 vs. 10085 ( $\mu\text{IU/mL}$ ) x 180 min]. Contudo, não houve diferença na concentração de glicose plasmática. O aumento no desaparecimento da glicose foi alcançado quando a concentração de AGNE no plasma foi reduzida pela NA, apesar da redução na concentração de insulina (70,0 vs.  $97,9 \pm 13,4$   $\mu\text{IU/mL}$ ) e uma tendência para reduzir a área de resposta da insulina abaixo da curva durante 180 min de amostragem [7646 vs. 12104 ( $\mu\text{IU/ml}$ ) x 180 min], refletindo um aumento na resposta endógena à insulina. Os autores, baseados na literatura, reportam que não esperavam uma ação direta da niacina no metabolismo de glicose, assim este experimento demonstrou uma relação de causa e efeito entre a alta concentração plasmática de AGNE e a resistência à insulina em vacas holandesas.

Thornton e Schultz (1980) testaram a suplementação de 6.5 a 17.0 g de NA/d em caprinos e observaram aumento tanto da glicose como da insulina plasmática e na resistência a este hormônio. Di Costanzo, Spain e Spiers (1997) observaram aumento na concentração de glicose plasmática (64,3 vs. 66,4 mg/dL) quando a dose suplementada foi de 36 g de NA/d em vacas durante estresse térmico. O aumento da concentração de propionato no fluido ruminal poderia ser uma via plausível de aumento da concentração de glicose no sangue (FLACHOWSKY, 1993). Tem sido reportado um pequeno aumento na concentração de propionato (RIDDELL; BARTLEY; DAYTON, 1980), no entanto, este efeito nem sempre é observado (ERICKSON; TRUSK; MUROHY, 1990).

## 2.6 Equilíbrio ácido-básico e parâmetros gasométricos

A manutenção do pH constante nos líquidos biológicos é parte dos mecanismos responsáveis pela estabilidade do meio interno e, também, dos líquidos no interior das células. A regulação precisa do íon hidrogênio é essencial, pois quase todas as atividades enzimáticas do corpo são influenciadas pela concentração dele (GUYTON; HALL, 2000). Outros tampões, sobretudo o tampão bicarbonato, responsabilizam-se, também, pela manutenção do pH no líquido extracelular dentro de limites estreitos. Duas equações, ambas referentes ao tampão bicarbonato, uma química e outra matemática, são fundamentais para a compreensão dos mecanismos que regulam o pH do organismo. A química é a seguinte: 1)  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}_2\text{CO}_3 \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$  sendo a hemoglobina responsável pelo tamponamento dos  $\text{H}^+$  produzidos por esta reação (FIGUEIREDO, 1995). Já, a equação matemática, chamada equação de Henderson-Hasselbalch, é: 2)  $\text{pH} = \text{pK} + \log [\text{HCO}_3^-]/[\text{H}_2\text{CO}_3]$ .

A segunda equação apresenta três variáveis: pH, concentração do íon bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) e concentração do ácido carbônico ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ), pK representa o logaritmo inverso da constante de dissociação do ácido carbônico, cujo valor é 6,105; sendo este determinado em plasma sanguíneo humano a 37 °C e com força iônica de 0,16 mol/L. Pela primeira equação deduz-se que a concentração de  $\text{H}_2\text{CO}_3$  é diretamente proporcional à pressão parcial de  $\text{CO}_2$ . Portanto, a equação de Henderson-Hasselbalch pode ser escrita assim: 3)  $\text{pH} = \text{pK} + \log [\text{HCO}_3^-]/k \times \text{pCO}_2$ , onde k é a constante 0,0307; fator derivado da solubilidade de  $\text{CO}_2$  no plasma a 37 °C e força iônica de 0,16 mol/L (CONSTABLE, 2014). Fisiologicamente, a concentração do  $\text{HCO}_3^-$  é controlada pelos rins, enquanto a pressão de  $\text{CO}_2$  pelos pulmões (FIGUEIREDO, 1995). Parte do  $\text{HCO}_3^-$  é oriundo da ionização de sais de bicarbonato, predominantemente, o bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ) no fluido extracelular. O  $\text{NaHCO}_3$  se ioniza quase que

completamente para formar os íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{HCO}_3^-$ , como segue a equação:  $\text{NaHCO}_3 \leftrightarrow \text{Na}^+ + \text{HCO}_3^-$  (GUYTON; HALL, 2000).

Constable (2014) menciona em sua revisão que a concentração de  $\text{HCO}_3^-$  (mmol/L) é calculada pela equação de Henderson-Hasselbalch, mensurando os valores de pH e  $\text{pCO}_2$  por gasômetro; e usando os valores já descritos na literatura de  $\text{pK}$  e  $k$ . Desta forma, a equação é descrita assim:  $\text{HCO}_3^-$  (mmol/L) =  $k \times \text{pCO}_2 \times 10^{(\text{pH} - \text{pk})}$  ou  $\text{HCO}_3^-$  (mmol/L) =  $0,0307 \times \text{pCO}_2 \times 10^{(\text{pH} - 6,105)}$ . Já, o excesso de bases (BE) é calculado usando os resultados de rotina do gasômetro e o pH calculado pela equação de Van Slyke com as concentrações de hemoglobina ([Hb]) e  $\text{HCO}_3^-$  dadas em mmol/L (WOOTEN, 2003):  $\text{BE} = (1 - 0,023 \times [\text{Hb}]) \times \{\text{HCO}_3^- - 24,4 + (7,7 + 2,3 \times [\text{Hb}]) \times (\text{pH} - 7,40)\}$ . O excesso de bases pode ser padronizado (SBE) para uma concentração padrão de hemoglobina de 3,1 mmol/L ou 5g/dL, o qual é chamado de excesso de bases do fluido extracelular (OH; CARROLL, 1997), sendo a equação representada desta forma:  $\text{SBE} = 0,93 \times (\text{HCO}_3^- - 24,4) + [14,83 \times (\text{pH} - 7,40)]$ . O SBE é, facilmente, calculado pelos resultados da gasometria e pode indicar a direção e a magnitude do distúrbio ácido-básico (CONSTABLE, 2014), contudo não provém compreensão exata do mecanismo envolvido do distúrbio (OMRON; OMRON, 2010).

O pH é o logaritmo inverso da concentração de  $\text{H}^+$ ; logo, é importante salientar que, como o pH é uma função logarítmica, mudanças aparentemente pequenas de pH, na realidade, correspondem a variações grandes na concentração de  $\text{H}^+$ . Assim, quando o pH abaixa de 7,40 para 7,10 (variação de apenas 0,3 unidades de pH), a concentração de  $\text{H}^+$  tornou-se duas vezes maior, pois 0,3 é o logaritmo de 2. Os animais superiores dispõem de dois mecanismos para a manutenção da constância dos pHs de seus líquidos: mecanismos fisicoquímicos, representados por seus sistemas tampões e mecanismos fisiológicos desempenhados pelos rins e pulmões. Os líquidos extracelulares têm

sistemas tampões que diferem qualitativa e quantitativamente dos existentes nos líquidos intracelulares. Os principais sistemas tampões do plasma e dos glóbulos vermelhos em ordem de importância são: bicarbonato, hemoglobina, proteínas do plasma e fosfato (FIGUEIREDO, 1995). O fosfato tem um papel menor no controle do equilíbrio ácido-básico em decorrência de sua baixa e constante concentração no sangue, contudo exerce um papel importante no controle do pH dos fluidos intracelulares (GUYTON; HALL, 2000). Logo, o bicarbonato é o principal tamponante sanguíneo (COUNOTTE et al., 1979).

A adição de íons  $H^+$  a um líquido biológico ou a sua retirada dele influi sobre as concentrações relativas de todos os sistemas tampões. Assim, o estudo do tampão bicarbonato/ácido carbônico revela-nos o que se passa, também, com outros sistemas tampões e com o equilíbrio ácido-básico do organismo em geral.

O principal tampão para os ácidos fixos é o bicarbonato, pois embora o pK do  $H_2CO_3$  (pH = 6,105) seja bastante afastado do pH fisiológico dos líquidos biológicos em geral, o  $CO_2$  ( $H_2CO_3$ ) é de extrema mobilidade; basta aumentar ou diminuir o ritmo e a profundidade dos movimentos respiratórios para haver diminuição ou aumento do  $H_2CO_3$  e, conseqüentemente, aumento ou diminuição do pH do líquido que contém o sistema tampão (FIGUEIREDO, 1995). Por causa desta facilidade do  $CO_2$  ser eliminado ou retido nos pulmões, o sistema  $HCO_3^-/H_2CO_3$  pode ser considerado um sistema aberto, o que torna mais eficiente que outros que têm pK mais próximo da neutralidade.

O aumento ou a diminuição da ventilação pulmonar é realizado/a pela influência da concentração de  $H^+$ , de  $pCO_2$  e de  $pO_2$  sobre o centro respiratório e sobre as formações altamente vascularizadas e inervadas, localizadas no arco aórtico e no seio carotídeo. Para os  $H^+$  gerados pela hidratação do  $CO_2$  e posterior dissociação de  $H_2CO_3$  em  $H^+$  e  $HCO_3^-$ , o principal tampão é a hemoglobina (FIGUEIREDO, 1995). Os sistemas tampões servem como a primeira linha de defesa contra variações no pH. Devem, entretanto, ser

regenerados para seus valores normais, a fim de continuar funcionando como tampões. Na realidade os sistemas tampões e os pulmões não eliminam  $H^+$  presentes no organismo, eles apenas fazem uma regulação rápida, mas o trabalho definitivo é dos rins (GUYTON; HALL, 2000).

Os pulmões são os órgãos encarregados da manutenção da  $pCO_2$ . Os principais responsáveis pela amplitude e a frequência dos movimentos respiratórios, que determinam as variações de  $pCO_2$  alveolar, são o centro respiratório, localizado no bulbo e os quimiorreceptores, encontrados no arco aórtico e seio carotídeo (FIGUEIREDO, 1995). O centro respiratório é excitado ou inibido diretamente pela elevação ou redução da  $pCO_2$ . Os quimiorreceptores, formações altamente vascularizadas e inervadas, também, são sensíveis a estas variações e excitam ou deprimem o centro respiratório por via nervosa (DEVENPORT, 1974). A  $pO_2$  baixa, também, excita estes receptores, contudo é um mecanismo muito menos sensível do que o controle pela influência do aumento ou redução da  $pCO_2$ . Outra observação pertinente é que o centro respiratório é, aproximadamente, 100 vezes mais sensível às variações na  $pCO_2$  do que os quimiorreceptores presentes no aórtico e seio carotídeo (FIGUEIREDO, 1995).

Os pulmões podem, primeiramente, levar à alteração do pH sanguíneo em casos de depressão ou excitação do centro respiratório por narcóticos ou salicilatos. No primeiro caso, se tem uma elevação da  $pCO_2$  e, conseqüentemente, uma redução da relação  $[HCO_3^-]/[H_2CO_3]$  normal em virtude da redução na frequência e amplitude dos movimentos respiratórios, o que redundará em pH abaixado. No segundo caso, ocorre excitação do centro respiratório, há redução na  $pCO_2$ , queda no  $H_2CO_3$ , aumento da relação  $[HCO_3^-]/[H_2CO_3]$  e, conseqüentemente, elevação do pH sanguíneo (FIGUEIREDO, 1995). Em ambos os casos, os pulmões foram os agentes desencadeadores do desequilíbrio ácido-básico.

Secundariamente, os pulmões são utilizados pelo organismo para compensar as variações não respiratórias, chamadas metabólicas, do equilíbrio ácido-básico. Isso acontece, por exemplo, na produção de ácidos fixos acima da capacidade do organismo metabolizá-los, como é o caso do ácido acetoacético e  $\beta$ -OH-butírico, produzidos em excesso no diabetes *melitus*. Como  $pK$  destes ácidos é muito abaixo daquele do  $H_2CO_3$ , logo o  $HCO_3^-$  é deslocado por eles e se transforma em  $H_2CO_3$  produzindo  $H_2O$  e  $CO_2$  (JONES, 2010). Como a quantidade de  $HCO_3^-$  diminui, o pH do sangue estará abaixado. O excesso de  $CO_2$  e a diminuição de pH excitarão o centro respiratório que, por hiperventilação, eliminará  $CO_2$ , normalizando o pH (DEVENPORT, 1974).

Os rins são responsáveis pela manutenção dos constituintes não voláteis dos líquidos do organismo, inclusive, o  $HCO_3^-$ . Excretando por meio das células dos túbulos renais maiores ou menores quantidades de  $H^+$ , os rins permitem maior ou menor reabsorção de  $HCO_3^-$  e  $Na^+$  filtrados no glomérulo (GUYTON; HALL, 2000). A amônia ( $NH_3$ ), também, secretada pelas células tubulares, é um poderoso auxiliar, quando necessário para permitir que o rim excrete maiores quantidades de  $H^+$ . Os mecanismos pelos quais o rim regula o equilíbrio ácido-básico do organismo são, portanto, principalmente dois: secreção de  $H^+$ , a qual é acompanhada da reabsorção de  $HCO_3^-$  e  $Na^+$ , e a secreção de  $NH_3$  (FIGUEIREDO, 1995).

As células dos túbulos renais, as parietais do estômago, os eritrócitos (FIGUEIREDO, 1995), bem como as paredes dos alvéolos pulmonares, (GUYTON; HALL, 2000) são ricas na enzima anidrase carbônica, enzima esta que faz com que a reação  $CO_2 + H_2O \leftrightarrow H_2CO_3$  atinja o ponto de equilíbrio com extrema rapidez. A reabsorção de  $HCO_3^-$  do filtrado está condicionada à troca de  $H^+$  por  $Na^+$ , o qual, também, é reabsorvido. O  $HCO_3^-$  do filtrado transforma-se em  $H_2CO_3$  e difunde-se para os tecidos na forma de  $CO_2$ , que pode ser eliminado pelos pulmões ou voltar a ser reidratado nas células dos túbulos renais, indo



provocar maior reabsorção de  $\text{HCO}_3^-$  e  $\text{Na}^+$ , conseqüentemente, acidificando o filtrado. A secreção de  $\text{H}^+$  está na dependência do pH sanguíneo.

A secreção de  $\text{H}^+$  pelo rim é limitada. O rim não consegue acidificar a urina para pH abaixo de 4,4. A reação catalisada pela anidrase carbônica é reversível e atinge, então, seu equilíbrio. Os túbulos distais são capazes de secretar  $\text{H}^+$  e  $\text{NH}_3$ , reabsorvendo  $\text{HCO}_3^-$  e  $\text{Na}^+$ . A amônia, passando para a luz tubular, combina-se com o  $\text{H}^+$ , diminuindo a acidez do filtrado e elevando seu pH. Esta elevação do pH cria condições para a continuação da hidratação de  $\text{CO}_2$  e, conseqüentemente, maior excreção de  $\text{H}^+$ . Aproximadamente, 60% da amônia se originam da glutamina pela ação da glutaminase:  $\text{Glutamina} \leftrightarrow \text{Glutamato} + \text{NH}_3$ . O restante provém da desaminação de outros aminoácidos. A quantidade de  $\text{NH}_3$  secretada pelo rim depende do pH do filtrado, sendo tanto maior quanto mais baixo for o pH deste. A secreção de  $\text{NH}_3$  pode cessar quando o pH do filtrado estiver muito elevado em consequência de uma elevação do pH do sangue. A secreção de  $\text{NH}_3$  é um processo que se instala mais lentamente do que a secreção de  $\text{H}^+$  e perdura por mais tempo. Dependendo da duração do abaixamento do pH do filtrado, há indução de síntese de glutaminase nas células renais, cujo mecanismo desencadeante não está bem elucidado (FIGUEIREDO, 1995). Normalmente, há necessidade de excreção de ácidos pela urina. Os pulmões eliminam  $\text{H}_2\text{CO}_3$ , mas ácidos fixos, resultantes do metabolismo, como  $\text{H}_2\text{SO}_4$  e  $\text{H}_3\text{PO}_4$  e ácidos orgânicos são eliminados pelos rins.

Por meio do uso da equação de Handerson-Hasselbalch quatro distúrbios primários podem ser bem definidos. Sendo eles: 1) Acidose respiratória – caracterizada pelo aumento da  $\text{pCO}_2$ , 2) Alcalose respiratória – onde ocorre redução da  $\text{pCO}_2$ , 3) Acidose metabólica - redução de  $\text{HCO}_3^-$  ou BE e 4) Alcalose metabólica – aumento  $\text{HCO}_3^-$  ou BE (SLYKE, 1921). Alguns gasômetros calculam a concentração de  $\text{HCO}_3^-$  usando o valor 6,10 ou 6,95 para pK em vez do recomendado 6,105 quando se analisa amostra de sangue. Outro

problema é que alguns gasômetros calculam o BE e SBE, usando equações diferentes das aqui mencionadas e, com isso, apesar de valores similares de pH,  $p\text{CO}_2$  e [Hb], os valores são diferentes. O cálculo do BE e SBE assume que a concentração de proteína plasmática está dentro de variação normal, o que nem sempre ocorre em animais doentes (CONSTABLE, 2014).

Constable (2014) descreveu três situações clínicas em que a equação de Handerson-Hasselbalch não explica as alterações no equilíbrio ácido-básico. A primeira seria que a equação não consegue explicar o porquê das concentrações anormais de proteínas no plasma alterarem o pH sanguíneo. A segunda é em virtude da não explicação da acidificação do sangue de bovinos adultos após a ingestão de  $\text{CaCl}_2$ . E, por último, a equação não explica por que rápidas administrações intravenosas de NaCl 0,9%, gluconato de sódio, glicose 5% ou solução Ringer acidifica o sangue. Sendo solução Ringer uma solução isotônica ao plasma sanguíneo, onde em cada 100 ml de solução há, normalmente, 600 mg de cloreto de sódio, 20 mg de cloreto de cálcio, 30 mg de cloreto de potássio e 310 mg de lactato de sódio. No entanto, segundo este mesmo autor, todas estas situações relatadas podem ser pelo modelo da diferença de íons fortes (*Strong Ion Difference* – SID).

Stewart (1981), físico canadense, observou que, embora o excesso de base fornecesse a magnitude do distúrbio ácido-básico, o modelo tradicional não oferecia informações sobre o mecanismo da disfunção. De acordo com essa teoria, três variáveis independentes determinam a concentração do íon hidrogênio: a SID, concentração total de ácidos fracos não voláteis ( $A_{\text{tot}}$ ), principalmente albumina, globulina e fosfato, e a  $p\text{CO}_2$  (CONSTABLE, 2000).

O princípio e fórmula básica, utilizada pelo método de Stewart, é a diferença de íons forte aparente (SIDa), que é calculada pela subtração dos cátions abundantes no organismo ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  e  $\text{Ca}^{2+}$ ) pelos ânions ( $\text{Cl}^-$ , lactato<sup>-</sup>) (DORJE et al., 1997). A fórmula para o cálculo do SIDa (mEq/L), cujo

valor normal varia entre 40 e 42 mEq/L é:  $SIDa = [(Na^+ + K^+ + Mg^{2+} + Ca^{2+}) - (Cl^- + lactato)]$ . Esse SID é chamado de aparente porque não leva em consideração a  $A_{tot}$  que, também, podem estar presentes influenciando o valor do SID. Existem mais ânions que estão presentes no plasma sanguíneo, tais como, sulfatos, corpos cetônicos, ácidos graxos não esterificados e muitos outros. Uma observação interessante que todos os cátions e ânions fortes encontram-se na forma dissociada em pH fisiológico (CONSTABLE, 2014). Stewart (1981) reportou que a adição do íon lactato ( $Lactato^-$ ) aumenta a concentração de  $H^+$  no sangue.

## 2.7 Parâmetros gasométricos de vacas em acidose ruminal subclínica

A definição de acidose subclínica na literatura é inconsistente, mas pode ser entendida como períodos de moderada queda no pH ruminal em que ele atinge valores entre 5,0 e 5,5 (OETZEL, 2000). A depressão do pH durante a acidose subclínica em vacas em lactação é aparentemente em razão de um acúmulo de AGVs e não de ácido láctico (OETZEL; NORLUND; GARRET, 1999). Já, a acidose láctica ou clínica ocorre quando o pH está abaixo de 5,0 e ocorre aumento significativo nas concentrações de lactato (OWENS et al., 1998).

Morgante et al. (2009) realizaram um estudo com dez rebanhos de produção de leite intensiva na Itália, no intuito de estudar a relação entre a acidose subclínica e os parâmetros gasométricos sanguíneos. Foi realizada, primeiramente, uma triagem em que se realizou uma coleta de fluido ruminal em 12 vacas de cada rebanho para determinação do pH ruminal e dividiram-se os rebanhos em dois grupos. O grupo A (seis fazendas com  $pH > 5,8$ ) e Grupo B (quatro fazendas com  $pH < 5,8$ ). Os rebanhos do grupo B apresentaram maior pressão de dióxido de carbono ( $pCO_2$ ; 50,11 vs. 44,33 mmHg;  $P < 0,01$ ),

bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ; 32,39 vs. 29,8 mmol/L;  $P < 0,01$ ) e excesso de bases (7,66 vs. 5,65 mmol/L;  $P < 0,01$ ). Ocorreu redução no pH sanguíneo (7,41 vs. 7,42;  $P < 0,0$ ), na pressão de oxigênio ( $\text{pO}_2$ ; 36,60 vs. 39,76 mmHg;  $P = 0,03$ ) e na concentração de oxigênio total ( $\text{O}_2\text{ct}$ ; 10,21 vs. 11,05 ml/dL;  $P = 0,02$ ).

Gianesella et al. (2010), em um estudo similar com 20 rebanhos da raça Holandesa, também, na Itália, selecionaram 216 vacas de forma aleatória no início da lactação (até 60 DEL) e as dividiram em três grupos. Foram coletadas amostras de fluido ruminal entre quatro e seis horas, após a primeira alimentação, assim como amostras de sangue para determinação dos parâmetros gasométricos. O pH ruminal foi, respectivamente, para o grupo A, B e C: 6,10; 5,96 e 5,80 ( $P < 0,001$ ). Houve redução no pH sanguíneo (7,44; 7,43 e 7,42;  $P < 0,05$ ) e na  $\text{pO}_2$  (38,03; 37,06 e 34,03 mmHg;  $P < 0,001$ ). E aumento na  $\text{pCO}_2$  (44,10; 44,69 e 45,60 mmHg;  $P < 0,05$ ) e na oxihemoglobina ( $\text{O}_2 \text{HB}$ ; 67,72; 68,55 e 63,79 mmHg;  $P < 0,001$ ). Os autores propuseram que a análise de gasometria do sangue pode ser uma ferramenta versátil e menos invasiva no diagnóstico de acidose subclínica. Brown et al. (2000) demonstraram redução do excesso de bases, da concentração de bicarbonato e no pH sanguíneo de novilhas em acidose subclínica. Resultados similares foram reportados por Goad, Goad e Nagaraja (1998) e Horn et al. (1979). Contudo, Krause e Oetzel (2006) reportaram que acidose subclínica, normalmente, não afeta o pH sanguíneo.

O efeito do estresse calórico (HS) e de uma dieta de alta concentração de grãos (GC) no equilíbrio ácido-base foi avaliado em 24 cordeiros ( $58 \pm 4,5$  kg de PV) em experimento contínuo com arranjo fatorial 2x2 dos tratamentos (ODONGO et al., 2006). Os fatores estudados foram: ambiente (Termoneutro – TN vs. HS) e dieta (controle vs. GC). Os tratamentos foram: 1) TN (temperature = 18 a 20°C, umidade relativa = 30%); 2) TN + GC; 3) HS (temperature = 35°C durante 9 h/d e 25°C por 15 h/d, umidade relativa = 40%) e 4) HS + GC. As amostras de sangue foram coletadas às 18 horas na veia jugular

para determinação da gasometria no 10<sup>o</sup>, 14<sup>o</sup> e 17<sup>o</sup> dia experimental. A dieta controle consistia (% MS) em 90% de feno e 10% de Mazuri ADF16 pellets (ADF16. Purina Mills, St. Louis, EUA). Já, na dieta GC houve uma redução na proporção de feno para 35%, aumento de 55% para Mazuri ADF16 pellets e a inclusão de 10% de pellets de trigo e cevada (WBP; 50% de trigo moído e 50% de cevada moída; Floradale Feed Mill Ltd., Guelph, Canadá). A composição em nutrientes do Mazuri ADF16 pellets (88,2% MS) e do WBP (86,9% MS), respectivamente, foi a seguinte (% MS): 18,9% e 15,4 de PB, 35,4% e 18,9 de FDN, 32,8% e 61,7% de CNF. A dieta GC foi validada, antes de começar o experimento, em dois cordeiros fistulados que, após a ingestão, apresentaram pH < 6,0 durante 5 a 6 h/d. Esta começou a ser fornecida no dia 10 e continuou até 17. Os cordeiros no tratamento HS+GC apresentaram um aumento linear na frequência respiratória em resposta à inclusão da dieta GC (145, 168 e 173 respirações/min;  $P = 0,04$ ), contudo sem efeito no pH do plasma sanguíneo. Respectivamente, nos dias 10, 14 e 17, para o tratamento HS+GC houve efeito ou tendência de efeito quadrático na pCO<sub>2</sub> (42,8; 39,4 e 40,2 mmHg;  $P = 0,02$ ), na saturação de oxigênio da hemoglobina (71,9; 77,4 e 73,9%;  $P = 0,02$ ), no O<sub>2</sub>ct (11,2; 11,5 e 11,4 ml/dL;  $P = 0,08$ ), no excesso de bases (5,0; 4,2 e 6,7 mmol/L;  $P = 0,15$ ), no HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (29,0; 27,6 e 30,0 mmol/L;  $P = 0,02$ ) e no total de CO<sub>2</sub> (TCO<sub>2</sub>; 30,3; 28,8 e 31,3 mmol/L;  $P = 0,02$ ). A conclusão do trabalho foi que, durante o estresse calórico, os efeitos acidificantes da dieta de alto grão no equilíbrio ácido-base foram neutralizados em curto prazo pela adaptação respiratória.

O pH sanguíneo é uma das variáveis mais vigorosamente reguladas do organismo. A variação normal do pH no sangue é de 7,36 a 7,44 e o pH médio de 7,4 e valores abaixo de 7,35 são tidos como diagnóstico de acidose metabólica. Um excesso de bases, normalmente, é encontrado no sangue, todavia um aumento na concentração de ácidos pode reduzir este excesso de

bases e suprimir a capacidade tamponante do bicarbonato. Os ácidos de interesse incluem aqueles que são absorvidos pelo trato digestivo mais o L-lactato produzido pela atividade muscular. Dos ácidos graxos voláteis (AGVs), produzidos no rúmen, somente o acetato é encontrado na circulação periférica, grande parte do butirato é convertido a  $\beta$ -OH-butirato na parede do rúmen, durante a absorção e todo propionato é convertido à glicose no fígado. O ácido láctico não é considerado um AGV, mas é um ácido orgânico que, em razão de seu baixo pKa de 3,8, detém grande capacidade de redução no pH ruminal. Aparentemente, os AGVs não se acumulam na corrente sanguínea a um nível que possa reduzir o pH, mas, ainda, não foi determinado como, especificamente, se a concentração de AGVs no sangue muda sob condições de acidose (OWENS et al., 1998). Todavia, durante a acidose o metabolismo do fígado e da parede ruminal pode estar comprometido, uma vez que o acúmulo de lactato no sangue pode sobrecarregar a capacidade do fígado em catabolizá-lo (NAYLOR et al., 1984).

Os cátions (sódio, potássio, cálcio, magnésio) aumentam a concentração de bases, uma vez que os ânions (cloro, L-lactato, D-lactato, cetoácidos e sulfatos) aumentam a concentração de ácidos (CONSTABLE, 2014). A manipulação do balanço de cátions e ânions na dieta pode ajudar a aumentar o consumo e a prevenir a acidose sanguínea (BLOCK, 1994). Aproximadamente metade do bicarbonato que entra no rúmen vem da saliva durante a ingestão e ruminação; a outra metade entra na absorção dos ácidos ionizados sendo absorvidos (ASCHENBACH et al., 2011). Em dietas com alta proporção de concentrado e redução de saliva, uma alta proporção do bicarbonato virá da corrente sanguínea. Essa redução no excesso de bases do sangue, se não for compensada pelos mecanismos respiratórios e renais, causará uma acidose metabólica (OWENS et al., 1998). Segundo este mesmo grupo de pesquisadores,

o pH depende, relativamente, das concentrações de bases, ácidos e tamponantes presentes na solução.

## REFERÊNCIAS

ABDOULI, H.; SCHAEFER, D. M. Effects of two dietary niacin concentrations on ruminal fluid free niacin concentration, and of supplemental niacin and source of inoculum on in vitro microbial growth, fermentative activity and nicotinamide adenine dinucleotide pool size. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 62, n. 1, p. 254-262, Jan. 1986.

ABDOULI, H.; SCHAEFER, D. M. Niacin saturation constants for *Lactobacillus plantarum* and *Treponema bryantii*. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 68, n. 9, p. 2372-2376, Sept. 1985.

ABOU AKADDA, A. R.; HOWARD, B. H. The biochemistry of rumen protozoa: 3., the carbohydrate metabolism of *Entodinium*. **Biochemical Journal**, London, v. 76, p. 445-451, 1960.

ADAMS, A. L. et al. Effects of varying forage types on milk production responses to whole cottonseed, tallow, and yeast. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 78, n. 3, p. 573-581, Mar. 1995.

AGANGA, A. A. et al. Response to water deprivation by Yankasa ewes under different physiological states. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 3, n. 2, p. 109-115, Mar. 1990.

AGRAWALA, I. P. et al. A quantitative study of rumen synthesis in the bovine on natural and purified rations: III., riboflavin, pantothenic acid and niacin. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 49, n. 4, p. 631-638, Apr. 1953.

AL IBRAHIM, R. M. et al. The effect of body condition score at calving and supplementation with *Saccharomyces cerevisiae* on milk production, metabolic status, and rumen fermentation of dairy cows in early lactation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, n. 11, p. 5318-5328, Nov. 2010.



ALLEN, M. S.; YING, Y. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on ruminal starch digestion are dependent upon dry matter for lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 95, n. 11, p. 6591-6605, Nov. 2012.

ALZAHAL, O. et al. Ruminal temperature may aid in the detection of subacute ruminal acidosis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, n. 1, p. 202-207, Jan. 2008.

ALZAHAL, O. et al. The use of a telemetric system to continuously monitor ruminal temperature and to predict ruminal pH in cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 11, p. 5697-5701, Nov. 2009.

ARAKI, C. T. et al. Effect of lactation on diurnal temperature patterns of dairy cattle in hot environments. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 67, n. 8, p. 1752-1760, Aug. 1984.

ARAMBEL, M. J.; KENT, B. A. Effect of yeast culture on nutrient digestibility and milk yield response in early-to midlactation dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 73, n. 6, p. 1560-1563, June 1990.

ARMSTRONG, D. V. Heat stress interaction with shade and cooling. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, n. 7, p. 2044-2050, July 1994.

ASCHENBACH, J. R. et al. Ruminant nutrition symposium: role of fermentation acid absorption in the regulation of ruminal pH. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 89, n. 4, p. 1092-1107, Apr. 2011.

BACH, A.; IGLESIAS, C.; DEVANT, M. Daily rumen pH pattern of loose-housed dairy cattle as affected by feeding pattern and live yeast supplementation. **Animal Feed Science Technology**, Shannon, v. 136, n. 1/2, p. 146-153, July 2007.

BAUMAN, D. E. et al. Effect of bovine somatotropin on metabolism of lactating dairy cows: influence on rates of irreversible loss and oxidation of

glucose and nonesterified fatty acids. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 118, n. 8, p. 1031-1040, Aug. 1988.

BAUMGARD, L. H. et al. Does negative energy balance (NEBAL) limit milk synthesis in early lactation? In: ANNUAL SOUTHWEST NUTRITION & MANAGEMENT CONFERENCE, 21.,2006, Tucson. **Proceedings...** Tucson: University of Arizona; New Mexico: New Mexico State University, 2006. p. 181-187.

BAUMGARD, L. H.; MOORE, C. E.; BAUMAN, D. E. Potential application of conjugated linoleic acids in nutrient partitioning. In: SOUTHWEST NUTRITION CONFERENCE, 17., 2002, Tucson. **Proceedings...** Tucson: University of Arizona, 2002. p. 127-141.

BEAM, S. W.; BUTLER, W. R. Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 54, p. 411-424, 1999. Supplement.

BECHDEL, S. I. et al. Synthesis of vitamin B by bacteria in the rumen of cattle. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 80, p. 231-238, Nov. 1928.

BEEDE, D. K.; COLLIER, R. J. Potential nutritional strategies for intensively managed cattle during thermal stress. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 62, n. 2, p. 543-554, Feb. 1986.

BENYÓ, Z. et al. Nicotinic acid-induced flushing is mediated by activation of epidermal Langerhans cells. **Molecular Pharmacology**, New York, v. 70, n. 6, p. 1844-1849, Dec. 2006.

BERMAN, A. et al. Upper critical-temperatures and forced ventilation effects for high-yielding dairy-cows in a sub-tropical climate. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 68, n. 6, p. 1488-1495, June 1985.

BERMAN, A. J. Estimates of heat stress relief needs for Holstein dairy cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 83, n. 6, p. 1377-1384, June 2005.

BERNABUCCI, U. et al. Influence of short-and long-term exposure to a hot environment on rumen passage rate and diet digestibility by Friesian heifers. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 82, n. 5, p. 967-973, May 1999.

BERRY, I. L.; SHANKLIN, M. D.; JOHNSON, H. D. Dairy shelter design based on milk production decline as affected by temperature and humidity. **Transactions of the American Society of Agricultural Engineers**, Bethesda, v. 7, p. 329-331, 1964.

BIANCA, W. Relative importance of dry-and wet-bulb temperatures in causing heat stress in cattle. **Nature**, London, v. 195, p. 251-252, 1962.

BIANCA, W. Reviews of the progress in dairy science: section A, physiology: cattle in a hot environment. **Journal of Dairy Research**, Champaign, v. 32, p. 291, 1965.

BIANCA, W.; FINDLAY, J. D. The effect of thermally induced hyperpnea on the acid-base status of the blood of calves. **Research in Veterinary Science**, London, v. 3, p. 38, 1962.

BITENCOURT, L. L. et al. Diet digestibility and performance of dairy cows supplemented with live yeast. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 68, n. 3, p. 301-307, May/June 2011.

BLOCK, E. Manipulation of dietary cation-anion difference of nutritionally related production diseases, productivity, and metabolic responses of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, n. 5, p. 1437-1450, May 1994.

BOHMANOVA, J.; MISZTAL, I.; COLE, J. B. Temperature-humidity indices as indicators of milk production losses due to heat stress. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 4, p. 1947-1956, Apr. 2007.

BONHOMME, A. Rumen ciliates: their metabolism and relationships with bacteria and their hosts. **Animal Feed Science Technology**, Shannon, v. 30, n. 3, p. 203-266, Aug. 1990.

BRENT, B. E.; BARTLEY, E. E. Thiamin and niacin in the rumen. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 59, n. 3, p. 813-822, Sept. 1984.

BRITT, J. S. et al. Efficiency of converting nutrient dry matter to milk in Holstein dairy herds. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, n. 11, p. 3796-3801, Nov. 2003.

BROSSARD, L. et al. Protozoa involved in butyric rather than lactic fermentative pattern during latent acidosis in sheep. **Reproduction Nutrition Development**, Paris, v. 44, n. 3, p. 195-206, Feb. 2004.

BROWN, M. S. et al. Evaluation of models of acute and subacute acidosis on dry matter intake, ruminal fermentation, blood chemistry, and endocrine profiles of beef steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, n. 12, p. 3155-3168, Dec. 2000.

BRUNO, R. G. S. et al. Effect of feeding *Saccharomyces cerevisiae* on performance of dairy cows during summer heat stress. **Animal Feed Science Technology**, Shannon, v. 150, n. 3/4, p. 175-186, Apr. 2009.

BUZIASSY, C.; TRIBE, D. E. The synthesis of vitamins in the rumen of sheep: I., the effect of diet on the synthesis of thiamine, riboflavin and nicotinic acid. **Australian Journal of Agricultural and Research**, Melbourne, v. 11, n. 6, p. 989-1001, Apr. 1960.

CALLAWAY, E. S.; MARTIN, S. A. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on ruminal bacteria that utilize lactate and digest cellulose. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 9, p. 2035-2044, Sept. 1997.

CAMPBELL, J. M. et al. Kinetics of niacin supplements in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, n. 2, p. 566-575, Feb. 1993.

CARLSON, L. A. Nicotinic acid: the broad-spectrum lipid drug: a 50<sup>th</sup> anniversary review. **Journal of Internal Medicine**, Oxford, v. 258, n. 2, p. 94-114, 2005.

CARRO, M. D.; LEBZIEN, P.; ROHR, K. Influence of yeast culture on the in vitro fermentation (Rusitec) of diets containing variable portions of concentrates. **Animal Feed Science Technology**, Amsterdam, v. 37, n. 3/4, p. 209-220, June 1992.

CHAUCHEYRAS, F. et al. Effects of live *Saccharomyces cerevisiae* cells on zoospore germination, growth, and cellulolytic activity of the rumen anaerobic fungus, *Neocallimastix frontalis* MCH3. **Current Microbiology**, New York, v. 31, n. 4, p. 201-205, 1995.

CHAUCHEYRAS, F. et al. Effects of a strain of *Saccharomyces cerevisiae* (Levucell<sup>®</sup> SC), a microbial additive for ruminants, on lactate metabolism in vitro. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 42, n. 9, p. 927-933, May 1996.

CHAUCHEYRAS-DURAND, F. et al. Fate of Levucell<sup>®</sup> SC I-1077 yeast additive during digestive transit in lambs. **Reproduction Nutrition Review**, London, v. 38, p. 275-280, Mar. 1998.

CHAUCHEYRAS-DURAND, F.; MASSÉGLIA, S.; FONTY, G. Effect of the microbial feed additive *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-1077 on protein and peptide degrading activities of rumen bacteria grown in vitro. **Current Microbiology**, New York, v. 50, n. 2, p. 96-101, Feb. 2005.

CHAUCHEYRAS-DURAND, F.; WALKER, N. D.; BACH, A. Effects of active dry yeasts on rumen microbial ecosystem: past, present and future. **Animal Feed Science Technology**, Shannon, v. 145, n. 1, p. 5-26, Aug. 2008.

CHEN, B. et al. Effect of biotin on milk performance of dairy cattle: a meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, n. 7, p. 3537-3546, July 2011.

CHENG, K. et al. Antagonism of the prostaglandin D<sub>2</sub> suppresses nicotinic acid-induced vasodilation in mice and humans. **Proceedings National Academy of Science**, Washington, v. 103, p. 6682-6687, Apr. 2006.

CHRISTOPHERSON, R. J.; KENNEDY, P. M. Effect of the thermal environment on digestion in ruminants. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 63, n. 3, p. 477-496, Sept. 1983.

CLARKE, R. T. J.; DI MENNA, M. E. Yeasts from the bovine rumen. **Journal of General Microbiology**, London, v. 25, n. 1, p. 113-117, May 1961.

COLLIER, R. J. et al. Effects of heat-stress during pregnancy on maternal hormone concentrations, calf birth-weight and postpartum milk-yield of holstein cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 54, n. 2, p. 309-319, Feb. 1982.

COLLIER, R. J. et al. **Quantifying heat stress and its impact on metabolism and performance**. Tucson: University of Arizona, 2012. 84 p.

CONRAD, H. R.; HIBBS, J. W. A high roughage system for raising calves based on early rumen development: IV., synthesis of thiamin and riboflavin in rumen as influenced by the ratio of hay to grain and initiation of dry feed consumption. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 37, n. 5, p. 512-522, May 1954.

CONSTABLE, P. D. Acid-base assessment: when and how to apply the henderson-hasselbalch equation and strong ion difference theory. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 30, n. 2, p. 295-316, July 2014.

CONSTABLE, P. D. Clinical assessment of acid-base status: comparison of the henderson-hasselbalch and strong ion approaches. **Veterinary Clinical Pathology**, New York, v. 29, n. 4, p. 115-128, 2000.

COOKE, K. M.; BERNARD, J. K.; WEST, J. W. Performance of lactating dairy cows fed whole cottonseed coated with gelatinized starch plus urea or yeast culture. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 1, p. 360-364, Jan. 2007.

COOK, N. B. et al. The effect of heat stress and lameness on time budgets of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 4, p. 1674-1682, Apr. 2007.

COPPOCK, C. E. et al. Lactating dairy cow responses to dietary sodium, chloride, and bicarbonate during hot weather. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 65, n. 4, p. 566-576, Apr. 1982.

COUNOTTE, G. H. M. et al. An analysis of the buffer system in the rumen of dairy cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 49, n. 6, p. 1536-1544, Dec. 1979.

COUNOTTE, G. H. M. et al. Role of *Megasphaera elsdenii* in fermentation of DL-[2-<sup>13</sup>C]lactate in the rumen of dairy cattle. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 42, n. 4, p. 649-655, Oct. 1981.

CZERKAWSKI, J. W. Novel estimate of the magnitude of heat produced in the rumen. **British Journal of Nutrition**, Oxford, v. 43, n. 1, p. 239-243, Jan. 1980.

DALE, H. E.; BRODY, S. **Thermal stress and acid-base balance in dairy cattle**. Columbia: University of Missouri, 1954. (Agriculture Experimental Station Research Bulletin, 562).

DANN, H. M. et al. Effects of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on prepartum intake and postpartum intake and milk production of jersey cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, n. 1, p. 123-127, Jan. 2000.

DENNIS, S. M. et al. Effect on heated or unheated soybean meal with or without niacin on rumen protozoa. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 65, n. 8, p. 1643-1646, Aug. 1982.

DESNOYERS, M. et al. Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 4, p. 1620-1632, Apr. 2009.

DEVENPORT, H. W. **The ABC of acid-base chemistry**. 6<sup>th</sup> ed. Chicago: University of Chicago, 1974. 162 p.

DEVRIES, T. J.; CHEVAUX, E. Modification of the feeding behavior of dairy cows through live yeast supplementation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, 2014. In press.

DEHGHAN-BANADAKY, M. et al. Effects of live yeast supplementation on mid-lactation dairy cows performances, milk composition, rumen digestion and plasma metabolites during hot season. **Journal of Applied Animal Research**, Izatnagar, v. 41, n. 2, p. 137-142, 2013.

DI COSTANZO, A.; SPAIN, J. N.; SPIERS, D. E. Supplementation of nicotinic acid for lactating Holstein cows under heat stress conditions. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 6, p. 1200-1206, June 1997.

DIVEN, R. H. Bicarbonate in ruminant nutrition and physiology. **Feedstuffs**, Minnetonka, v. 4, p. 21, Aug. 1975.

DOREAU, M.; JOUANY, J. P. Effect of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on nutrient digestion in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 12, p. 3214-3221, Dec. 1998.

DORJE, P. et al. Dilutional acidosis or altered strong ion difference. **Anesthesiology**, Philadelphia, v. 87, n. 4, p. 1011-1012, Oct. 1997.

DRACKLEY, J. K. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 82, n. 11, p. 2259-2273, Nov. 1999.

DUFVA, G. V. et al. Effect of niacin supplementation on milk production and ketosis of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 66, n. 11, p. 2329-2336, Nov. 1983.



ECKLES, C. H.; WILLIAMS, V. M. Yeast as a supplementary feed for lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 8, n. 2, p. 89-93, Mar. 1925.

ELLIS, J. E.; WILLIAMS, G. M.; LLOYD, D. Oxygen consumption by ruminal microorganisms: protozoal and bacterial contributions. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 55, n. 10, p. 2583-2587, Oct. 1989.

ERASMUS, L. J.; BOTHA, P. M.; KISTNER, A. Effect of yeast culture supplement on production, rumen fermentation, and duodenal nitrogen flow in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, n. 11, p. 3056-3065, Nov. 1992.

ERASMUS, L. J. et al. Influence of prepartum and postpartum supplementation of a yeast culture and monensin, or both, on ruminal fermentation and performance of multiparous dairy cows. **Animal Feed Science Technology**, Shannon, v. 122, n. 3/4, p. 219-239, Sept. 2005.

ERDMAN, R. A.; SHARMA, B. K. Effect of yeast culture and sodium bicarbonate on milk yield and composition in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 72, n. 7, p. 1929-1932, July 1989.

ERICKSON, P. S. et al. Niacin absorption from the rumen. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 10, p. 3492-3495, Oct. 1991.

ERICKSON, P. S.; TRUSK, A. M.; MUROHY, M. R. Effects of niacin source on epinephrine stimulation of plasma nonesterified fatty acid and glucose concentrations, on diet digestibility and on rumen protozoal numbers in lactating dairy cows. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 120, n. 12, p. 1648-1653, Dec. 1990.

EVANS, E.; PATTERSON, R. J.; CLARK, N. Case study: effects of a supplemental enhanced yeast product on digestion and milk production in dairy cows. **Professional Animal Scientist**, Illinois, v. 28, n. 6, p. 682-688, Dec. 2012.

FERRARETTO, L. F.; SHAVER, R. D.; BERTICS, S. J. Effect of dietary supplementation with live-cell yeast at two dosages on lactation performance, ruminal fermentation, and total-tract nutrient digestibility in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 95, n. 7, p. 4017-4028, July 2012.

FIGUEIREDO, E. A. Equilíbrio ácido-básico. In: VIEIRA, E. C. et al. (Ed.). **Química fisiológica**. São Paulo: Atheneu, 1995. p. 87-105.

FINCK, D. N. et al. Yeast supplementation alters the performance and health status of receiving cattle. **The Professional Animal Scientist**, Illinois, v. 30, n. 3, p. 333-341, June 2014.

FLACHOWSKY, G. Niacin in dairy and beef cattle nutrition. **Archives of Animal Nutrition**, Montreux, v. 43, n. 3, p. 195-213, 1993.

FORD, J. E.; PENNY, K. D.; BRIGGS, C. A. E. Nutrition of lactic acid bacteria isolated from the rumen. **Journal of General Microbiology**, London, v. 18, n. 1, p. 273-284, Feb. 1958.

FOSTER, J. W.; MOAT, A. G. Nicotinamide adenine dinucleotide biosynthesis and pyridine nucleotide cycle metabolism in microbial systems. **Microbiology Reviews**, Washington, v. 44, n. 1, p. 83-105, Mar. 1980.

FOX, D. G.; TYLUTKI, T. P. Accounting for the effects of environment on the nutrient requirements of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 11, p. 3085-3095, Nov. 1998.

FRENCH, P. D. Nicotinic acid supplemented at a therapeutic level minimizes prepartum feed intake depression in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, p. 347, 2004. Abstract.

FUQUAY, J. W. Heat stress as it affects animal production. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 52, n. 1, p. 164-174, Jan. 1981.

FUQUAY, J. W. et al. Modifications in free stall housing for dairy cows during the summer. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 62, n. 4, p. 577-583, Apr. 1979.

GIANESELLA, M. et al. Subacute ruminal acidosis and evaluation of blood gas analysis in dairy cow. **Veterinary Medicine International**, New York, v. 1, n. 1, p. 1-4, Sept. 2010.

GILLE, A. et al. Nicotinic acid: pharmacological effects and mechanisms of action. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, Palo Alto, v. 48, p. 79-106, 2008.

GOAD, D. W.; GOAD, C. L.; NAGARAJA, T. G. Ruminal microbial and fermentative changes associated with experimentally induced subacute acidosis in steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 76, n. 1, p. 234-241, Jan. 1998.

GOMES-ALARCON, R. A. et al. Influence of feeding *Aspergillus oryzae* fermentation extract on the milk yields, eating patterns, and body temperatures of lactating cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, n. 4, p. 1733-1740, Apr. 1991.

GOMIDE, D. **Resposta digestiva de bovinos a doses de levedura autolisada**. 2012. 59 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Regulation of acid-base balance. In: \_\_\_\_\_. **Textbook of medical physiology**. 10<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2000. p. 346-363.

HALES, J. R. S. et al. Redistribution of cardiac output and skin AVA activity in sheep during exercise and heat stress. **Journal of Thermal Biology**, Oxford, v. 9, p. 113-116, 1984.

HALES, J. R. S.; FINDLAY, J. D. The oxygen cost of thermally induced and CO<sub>2</sub> induced hyperventilation in the ox. **Respiratory Physiology**, New York, v. 4, p. 353-356, 1968.

HANNAH, S. M.; STERN, M. D. Effect of supplemental niacin or niacinamide and soybean source on ruminal bacterial fermentation in continuous culture. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 61, n. 5, p. 1253-1263, Nov. 1985.

HARMEYER, J.; KOLLENKIRCHEN, U. Thiamin and niacin in ruminant nutrition. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v. 2, p. 201-225, 1989.

HARMON, B. G. et al. Nicotinic acid: tryptophan relationship in the nutrition the weanling pig. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 28, n. 6, p. 848-852, June 1969.

HARRISON, G. A. et al. Influence of addition of yeast culture supplement to diets of lactating cows on ruminal fermentation and microbial populations. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 71, n. 11, p. 2967-2975, Nov. 1988.

HARRIS JUNIOR, B. et al. Effects of feather meal at two protein concentrations and yeast culture on production parameters in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, n. 12, p. 3524-3530, Dec. 1992.

HAYES, B. W. et al. Concentrations of B-vitamins in ruminal fluid of steers fed different levels and physical forms of hay and grain. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 25, n. 2, p. 539-542, May 1966.

HEAD, M. J. The effect of quality and quantity of carbohydrate and protein in the ration of the sheep on the digestibility of cellulose and other constituents of the ration, with a note on the effect of adding vitamins of the B-complex on the digestibility and retention of the nutrients of a hay ration. **The Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 43, n. 3, p. 281-293, July 1953.

HIGGINBOTHAM, G. E.; BATH, D. L.; BUTLER, L. J. Effect of feeding an *Aspergillus oryzae* extract on milk production and related responses in a commercial dairy herd. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, n. 5, p. 1484-1489, May 1993.

HIGGINBOTHAM, G. E. et al. Effect of yeast culture and *Aspergillus oryzae* extract on milk yield in a commercial dairy herd. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, n. 1, p. 343-348, Jan. 1994.

HILMAN, K.; LOYD, D.; WILLIAMS, A. G. Use of portable quadrupole mass spectrometer for the measurement of dissolved gas concentrations in ovine rumen liquor in situ. **Current Microbiology**, New York, v. 12, p. 335-340, 1985.

HIPPEN, A. R. et al. *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product in dairy cow diets containing dried distillers grains plus solubles. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, n. 6, p. 2661-2669, June 2010.

HOLLIS, L. et al. Effect of ration on vitamin synthesis in rumen of sheep. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 13, n. 4, p. 732-738, Nov. 1954.

HORN, G. H. et al. Dietary buffers and ruminal and blood parameters of subclinical lactic acidosis in steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 48, n. 3, p. 683-691, 1979.

HRISTOV, A. N. et al. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on ruminal fermentation and nutrient utilization in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, n. 2, p. 682-692, Feb. 2010.

HUBER, J. T. The fungal and yeast story in lactating dairy cows. In: SOUTHWEST NUTRITION & MANAGEMENT CONFERENCE, 1., 1990, Tucson. **Proceedings...** Tucson: University of Arizona, 1990. p. 87.

HUBER, J. T. et al. Effect of feeding Yea-sacc<sup>1026</sup> on milk production and related responses in a commercial dairy herd in Arizona. In: LYONS, T. P.(Ed.). **Biotechnology in the feed industry**. Nicholasville: Altech Technical, 1989. p. 35-38.

HUBER, J. T. et al. Heat stress interactions with protein, supplemental fat, and fungal cultures. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, n. 7, p. 2080-2090, July 1994.

HUBER, J. T.; HIGGINBOTHAM, G. E. Influence of feeding Vitaferm, containing an enzyme-producing culture from *Aspergillus oryzae*, on performance of lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 68, n. 1, p. 122, 1985. Abstract.

HUNGATE, R. E. **The rumen and its microbes**. New York: Academic, 1966. 533 p.

IGONO, M. O.; JOHNSON, H. D. Physiological stress index of lactating dairy cows based on diurnal pattern of rectal temperature. **Journal of Interdisciplinary Cycle Research**, Lisse, v. 21, n. 4, p. 303-320, Sept. 1990.

JASTER, E. H.; WARD, N. E. Supplemental nicotinic acid or nicotinamide for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 73, n. 10, p. 2880-2887, Oct. 1990.

JONES, A. R. **The ciliates**. London: Hutchinson, 1974. 207 p.

JONES, M. B. Basic interpretation of metabolic acidosis. **Critical Care Nurse**, London, v. 30, n. 5, p. 63-69, Oct. 2010.

JORDAN, E. R.; FOURDRAINE, R. H. Characterization of the management practices of the top milk producing herds in the country. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, n. 10, p. 3247-3256, Oct. 1993.

JOUANY, J. P. Defaunation of the rumen. In: \_\_\_\_\_. **Rumen microbial metabolism and ruminant digestion**. Versailles: INRA, 1991. p. 239-261.

KADZERE, C. T. et al. Heat stress in lactating dairy cows: a review. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 77, n. 1, p. 59-91, Oct. 2002.

KAMALAMMA, A.; KRISHNAMOORTHY, U.; KRISHNAPPA, A. Effect of feeding yeast culture (Yea-sacc<sup>1026</sup>) on rumen fermentation in vitro and production performance in crossbred dairy cows. **Animal Feed Science Technology**, Shannon, v. 57, n. 3, p. 247-256, Feb. 1996.

KARPE, F.; FRAYN, P. K. N. The nicotinic acid receptor: a new mechanism for an old drug. **Lancet**, London, v. 363, n. 9424, p. 1892-1894, June 2004.

KIBLER, H. H.; BRODY, S. **Environmental physiology with special reference to domestic animals: X.**, influence of temperature, 5° to 95°F, on evaporative cooling from the respiratory and exterior surfaces in Jersey and Holstein cows. Columbia: University of Missouri, 1950. (Missouri Agricultural Experimental Station Research Bulletin, 461).

KOUL, V. et al. Mode of action of yeast culture (YEA-SACC<sup>1026</sup>) for stimulation of rumen fermentation in buffalo calves. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 77, n. 3, p. 407-413, July 1998.

KRAUSE, K. M.; OETZEL, G. R. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: a review. **Animal Feed Science Technology**, Shannon, v. 126, n. 3, p. 215-236, Mar. 2006.

KUNG JUNIOR, L. Effects of a live yeast culture and enzymes on in vitro ruminal fermentation and milk production of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 9, p. 2045-2051, Sept. 1997.

LANHAM, J. K. et al. Effects of whole cottonseed or niacin or both on casein synthesis by lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, n. 1, p. 184-192, Jan. 1992.

LEE, J. H. Factors affecting oxygen uptake by yeasts *Issatenchia orientalis* as microbial feed additive for ruminants. **Asian-Australasian Journal Animal Science**, Seoul, v. 16, n. 7, p. 1011-1014, 2003.

LEVIN, R. J. The effects of hormones on the absorptive, metabolic and digestive functions of the small intestine. **Journal of Endocrinology**, Bristol, v. 45, n. 2, p. 315-348, Oct. 1969.

LILA, Z. A. et al. Effects of a twin strain of *Saccharomyces cerevisiae* live cells on mixed ruminal microorganism fermentation in vitro. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, n. 6, p. 1847-1854, June 2004.

LOESCHE, W. J. Oxygen sensitivity of various anaerobic bacteria. **Applied Microbiology**, Oxford, v. 18, n. 5, p. 723-727, Nov. 1969.

LOGUNSKI, R. A.; YING, Y.; ALLEN, M. S. Yeast culture supplementation prevented milk fat depression by a short-term dietary challenge with fermentable starch. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 1, p. 160-167, Jan. 2009.

LUCY, M. C. et al. Influence of diet composition, dry matter intake, milk production and energy balance on time of postpartum ovulation and fertility in dairy cows. **Animal Production**, Edinburgh, v. 54, p. 323-331, June 1992.

LUND, A. Yeasts and moulds in the bovine rumen. **Journal of General Microbiology**, London, v. 81, n. 2, p. 453-462, Apr. 1974.

LYNCH, H. A.; MARTIN, S. A. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* culture and *Saccharomyces cerevisiae* live cells on in vitro mixed ruminal microorganism fermentation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 10, p. 2603-2608, Oct. 2002.

MACIEJEWSKI-LENOIR, D. et al. Langerhans cells release prostaglandin D<sub>2</sub> in response to nicotinic acid. **Journal of Investigative Dermatology**, Baltimore, v. 126, p. 2637-2646, Sept. 2006.



MADISON-ANDERSON, R. J. et al. Response of lactating cows of supplemental unsaturated fat and niacin. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 7, p. 1329-1338, July 1997.

MARCUS, K. M.; HUBER, J. T.; CRAMER, S. Influence of feeding Vitaferm during hot weather on performance of lactating cows in large dairy herd. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 69, n. 1, p. 188, 1986. Abstract.

MARDEN, J. P. et al. How does live yeast differ from sodium bicarbonate to stabilize ruminal pH in high-yielding dairy cows? **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, n. 9, p. 3528-3535, Sept. 2008.

MARDEN, J. P. et al. A new device for measuring kinetics of ruminal pH and redox potential in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, n. 1, p. 277-281, Jan. 2005.

MARSOLA, A. et al. Effect of feeding live yeast on performance of Holstein cows during summer. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, n. 1, p. 432, 2010. Abstract.

MARTIN, C.; BROSSARD, L.; DOREAU, M. Mechanisms of appearance of ruminal acidosis and consequences on physiopathology and performances. **Production Animal**, Cambridge, v. 19, n. 2, p. 93-107, 2006.

MARTIN, S. A.; NISBET, A. Effect of direct-fed microbials on rumen microbials fermentation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, n. 6, p. 1736-1744, June 1992.

MASERO, E. J.; SIEGEL, P. D. **Acid-base regulation: its physiology and pathophysiology and the interpretation of blood-gas analysis.** 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1977. 169 p.

MATHIEU, F. The effect of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* on fermentations in the rumen of faunated and defaunated sheep; protozoal and probiotic interactions. **Reproduction Nutrition Development**, Paris, v. 36, n. 3, p. 271-287, 1996.

MCALLISTER, T. A. et al. Microbial attachment and feed digestion in the rumen. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, n. 11, p. 3004-3018, Nov. 1994.

MARTHUR, J. M.; MILTIMORE, J. E. Rumen gas analysis by gas solid chromatography. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 41, p. 187-192, Dec. 1961.

MCDOWELL, L. R. **Vitamins in animal and human nutrition**. 2<sup>nd</sup> ed. Ames: Iowa State University, 2000. 793 p.

MCGUIRE, M. A. et al. Effects of thermal stress and level of feed intake on portal plasma flow and net fluxes of metabolites in lactating Holstein cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 67, n. 4, p. 1050-1060, Apr. 1989.

MERTENS, D. R. Biological effects of mycotoxins upon rumen function and lactating cows. In: \_\_\_\_\_. **Interaction of mycotoxins in animal production**. Washington: National Academy of Science, 1979. p. 118.

MEYERS, R. D. **Handbook of drug and chemical stimulation of the brain**. New York: V. N. Reinhold, 1974. 759 p.

MILLER, B. L.; MEISKE, J. C.; GOODRICH, R. D. Effects of grain and concentrate level on B vitamin production and absorption in steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 62, n. 2, p. 473-483, Feb. 1986.

MILLER-WEBSTER, T. et al. Influence of yeast culture on ruminal microbial metabolism in continuous culture. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 8, p. 2009-2014, Aug. 2002.

MISHRA, A. et al. Effect of diet and ambient temperature-humidity on ruminal pH, oxidation reduction potential, ammonia and lactic acid in lactation cow. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 30, n. 6, p. 1023-1028, June 1970.

MOALLEM, U. et al. The effects of live yeast supplementation to dairy cows during the hot season on production, feed efficiency, and digestibility. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 1, p. 343-351, Jan. 2009.

MOORE, C. E. et al. Effect of supplemental conjugated linoleic acids on heat-stressed Brown Swiss and Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, n. 5, p. 1732-1740, May 2005.

MORGANTE, M. et al. Blood gas analyses, ruminal and blood pH, urine and faecal pH in dairy cows during subacute ruminal acidosis. **Comparative Clinical Pathology**, New York, v. 18, n. 3, p. 229-232, Aug. 2009.

MORRISON, S. R. Ruminant heat stress: effect on production and means of alleviation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 57, n. 6, p. 1594-1600, June 1983.

MULLER, L. D. et al. Supplemental niacin for lactating cows during summer feeding. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 69, n. 5, p. 1416-1420, May 1986.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Effect of environment on nutrient requirements of domestic animals**. Washington: National Academy of Sciences, 1981. 152 p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7<sup>th</sup> ed. Washington: National Academic, 2001. 381 p.

NAYLOR, J. M. et al. The saturable nature of hepatic lactate metabolism in sheep. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 64, n. 5, p. 271-272, 1984.

NERI, J. **Ambiente térmico em confinamentos de gado leiteiro no Brasil**. 2013. 78 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

NEWBOLD, C. J.; MCINTOSH, F. M.; WALLACE, R. J. Changes in the microbial population of a rumen-simulating fermenter in response to yeast culture. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 78, n. 2, p. 241-244, June 1998.

NEWBOLD, C. J.; WALLACE, R. J.; MCINTOSH, F. Mode of action of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a feed additive for ruminants. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 76, n. 2, p. 249-261, Aug. 1996.

NIEHOFF, I. D.; HÜTHER, L.; LEBZIEN, P. Niacin for dairy cattle: a review. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 101, n. 1, p. 5-19, 2009.

NISBET, D. J.; MARTIN, S. A. Effect of dicarboxylic acids and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on lactate uptake by the ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. **Applied and Environmental Microbiology**, New York, v. 56, n. 11, p. 3515-3518, Nov. 1990.

NISBET, D. J.; MARTIN, S. A. Effect of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on lactate utilization by the ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, n. 11, p. 4628-4633, Nov. 1991.

NOCEK, J. E.; HOLT, M. G.; OPPY, J. Effects of supplementation with yeast culture and enzymatically hydrolyzed yeast on performance of early lactation dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, n. 8, p. 4046-4056, Aug. 2011.

O'BRIEN, M. D. et al. Metabolic adaptations to heat stress in growing cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, Auburn, v. 38, n. 2, p. 86-94, Feb. 2010.

ODONGO, N. E. et al. Effects of mild heat stress and grain challenge on acid-base balance and rumen tissue histology in lambs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, n. 2, p. 447-455, Feb. 2006.

OETZEL, G. R. Clinical aspects of ruminal acidosis in dairy cattle. In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF BOVINE PRACTITIONER, 33., 2000, Rapid City. **Proceedings...** Rapid City: AABP, 2000. p. 46-53.

OETZEL, G. R.; NORDLUND, K. V.; GARRETT, E. F. Effect of ruminal pH and stage of lactation on ruminal lactate concentrations in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 82, n. 1, p. 38, 1999. Abstract.

OEZTUERK, H. et al. Effects of live and autoclaved yeast cultures on ruminal fermentation in vitro. **Journal of Animal and Feed Sciences**, Cambridge, v. 18, n. 1, p. 142-150, Jan. 2009.

OEZTUERK, H. et al. Influence of living and autoclaved yeasts of *Saccharomyces boulardii* on in vitro ruminal microbial metabolism. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, n. 7, p. 2594-2600, July 2005.

OH, M. S.; CARROLL, H. J. Current concepts: the anion gap. **New England Journal of Medicine**, Boston, v. 297, p. 814-817, 1977.

OLIVEIRA, B. M. L. et al. Suplementação de vacas leiteiras com *Saccharomyces cerevisiae* cepa KA500. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 62, n. 5, p. 1174-1182, out. 2010.

OMRON, E. M.; OMRON, R. M. A physicochemical model of crystalloid infusion on acidbase status. **Journal of Intensive Care Medicine**, London, v. 25, n. 5, p. 271-280, Sept. 2010.

OWENS, F. N. et al. Acidosis in cattle: a review. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 76, n. 1, p. 275-286, Jan. 1998.

PETERSEN, F. K.; SHULMAN, G. I. New insights into the pathogenesis of insulin resistance in humans using magnetic resonance spectroscopy. **Obesity**, Silver Spring, v. 14, p. 34S-40S, 2006. Supplement.

PINLOSCHÉ, E. et al. The effects of a probiotic yeast on the bacterial diversity and population structure in the rumen of cattle. **Plos One**, San Francisco, v. 8, n. 7, p. 1-10, July 2013.

PIRES, J. A. A.; GRUMMER, R. R. The use of nicotinic acid to induce sustained low plasma nonesterified fatty acids in feed-restricted Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 8, p. 3725-3732, Aug. 2007.

PIRES, J. A. A.; PESCARA, J. B.; GRUMMER, R. R. Reduction of plasma NEFA concentration by nicotinic acid enhances the response to insulin in feed-restricted Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 10, p. 4635-4642, Oct. 2007.

PIVA, G. et al. Effects of yeast on dairy cow performance, ruminal fermentation, blood components, and milking manufacturing properties. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, n. 9, p. 2717-2722, Sept. 1993.

PLATA, F. P. et al. Effect of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on neutral detergent fiber digestion in steers fed oat straw based diets. **Animal Feed Science Technology**, Amsterdam, v. 49, n. 3/4, p. 203-210, Oct. 1994.

POPPY, G. D. et al. A meta-analysis of the effects of feeding yeast culture produced by anaerobic fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* on milk production of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 95, n. 10, p. 6027-6041, Oct. 2012.

PRINS, R. A.; PRAST, E. R. Oxidation of NADH in coupled oxidase-peroxidase reaction and its significance for the fermentation in rumen protozoa of the genus *Isostricha*. **Journal of Protozoology**, New York, v. 20, n. 3, p. 471-477, 1973.

PURWANTO, B. P. et al. Diurnal patterns of heat production and HR under thermoneutral conditions in Holstein Friesian cows differing in milk production. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 114, n. 2, p. 139-142, Apr. 1990.

PUTNAM, D. E. et al. 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. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 2, p. 374-384, Feb. 1997.

RABIEE, A. R. et al. Effect of feeding diamond V yeast culture™ on milk production and dry matter intake in lactating dairy cows: a meta-analysis. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 86, p. 589, 2008. Supplement.

RAMSING, E. M. et al. Effects of yeast culture on peripartum intake and milk production of primiparous and multiparous Holstein cows. **Professional Animal Scientist**, Illinois, v. 25, n. 4, p. 487-495, Aug. 2009.

RÉRAT, A.; CHAMPIGNY, O.; JACQUOT, R. Modalités de l'absorption vitaminique chez les bol alimentaire aux différents niveaux digestifs. **Compts Rendus Hebdomadaires des Seances de l'Academie Sciences**, San Francisco, v. 249, p. 1274-1276, 1959.

RHOADS, M. L. et al. Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I., production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. **Journal of Dairy Science**, Champaing, v. 92, n. 5, p. 1986-1997, May 2009.

RIDDELL, D. O.; BEARTLEY, E. E.; DAYTON, A. D. Effect of nicotinic acid on microbial synthesis in vitro and on dairy cattle growth and milk production. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 64, n. 5, p. 782-791, May 1981.

RIDDELL, D. O.; BEARTLEY, E. E.; DAYTON, A. D. Effect of nicotinic acid on ruminal fermentation in vitro and in vivo. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 63, n. 9, p. 1429-1436, Sept. 1980.

RIDDELL, D. O. et al. Effect of niacin supplementation on ruminal niacin synthesis and degradation in cattle. **Nutrition Reports International**, Los Altos, v. 31, n. 2, p. 407-413, Feb. 1985.

ROBINSON, P. H. Effect of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on adaptation of cows to diets postpartum. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 6, p. 1119-1125, June 1997.

ROBINSON, P. H.; ERASMUS, L. J. Effects of analyzable diet components on responses of lactating dairy cows to *Saccharomyces cerevisiae* based yeast products: a systematic review of the literature. **Animal Feed Science Technology**, Shannon, v. 149, n. 3, p. 185-198, Mar. 2009.

ROBINSON, P. H.; GARRETT, J. E. Effect of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on adaptation of cows to postpartum diets and on lactational performance. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 77, n. 4, p. 988-999, Apr. 1999.

ROGER, V. et al. Effects of physicochemical factors on the adhesion to cellulose avicel of the ruminal bacteria *Ruminococcus flavefaciens* and *Fibrobacter succinogenes* subsp. *succinogenes*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 56, n. 10, p. 3081-3087, Oct. 1990.

ROSE, A. H. Yeast culture, a microorganism for all species: theoretical look at its mode of action. In: LYONS, T. P. (Ed.). **Biotechnology in the feed industry**. Nicholasville: Altech Technical, 1987. p. 113-118.

ROSSI, F. et al. Effects of peptidic fractions from *Saccharomyces cerevisiae* culture on growth and metabolism of the ruminal bacteria *Megasphaera elsdenii*. **Animal Research**, Les Ulis, v. 53, n. 3, p. 177-186, May/June 2004.

RUNGRUANG, S. et al. A dose-response evaluation of rumen-protected niacin in thermoneutral or heat stress lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, n. 8, p. 1-12, Aug. 2014.

RUSSELL, J. B.; BOTTJE, W. G.; COTTA, M. A. Degradation of protein by mixed cultures of rumen bacteria: identification of *Streptococcus bovis* as an actively proteolytic rumen bacterium. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 53, n. 1, p. 242-252, Jan. 1981.



RUSSELL, J. B.; DOMBROWSKI, D. B. Effect of pH on the efficiency of growth by pure cultures of rumen bacteria in continuous culture. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 39, n. 3, p. 604-610, Mar. 1980.

SAINT-PIERRE, N. R.; COBANOV, B.; SCHNITKEY, G. Economic losses from heat stress by US livestock industries. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, p. E52-E77, 2003.

SANTSCHI, D. E. et al. Fate of supplementary B-vitamins in the gastrointestinal tract of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, n. 6, p. 2043-2054, June 2005.

SCHINGOETHE, D. J. et al. Feed efficiency of mid-lactation dairy cows fed yeast culture during summer. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, n. 12, p. 4178-4181, Dec. 2004.

SCHNEIDER, P. L.; BEEDE, D. K.; WILCOX, C. J. Effects of supplemental potassium and sodium chloride salts on ruminal turnover rates, acid-base and mineral status of lactating dairy cows during heat stress. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 66, n. 1, p. 126-135, Jan. 1988.

SCHNEIDER, P. L. et al. Influence of dietary sodium and potassium bicarbonate and total potassium on heat-stressed lactating dairy cow. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 67, n. 11, p. 2546-2553, Nov. 1984.

SCHWAB, E. B.; CARAVIELLO, D. Z.; SHAVER, R. D. Review: a meta-analysis of lactation responses to supplemental dietary niacin in dairy cows. **Professional Animal Scientist**, Illinois, v. 21, n. 4, p. 239-247, Aug. 2005.

SCHWAB, E. B. et al. Dietary forage and nonfiber carbohydrate contents influence B-vitamin intake, duodenal flow, and apparent ruminal synthesis in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 1, p. 174-177, Jan. 2006.

SCOTT, R. I. et al. The presence of oxygen in rumen liquor and its effects on methanogenesis. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 55, n. 1, p. 143-149, Jan. 1983.

SHAVER, R. D.; GARRET, J. E. Effect of dietary yeast culture on milk yield, composition and component yields at commercial dairies. **Professional Animal Scientist**, Illinois, v. 13, n. 4, p. 204-207, Dec. 1997.

SHWARTZ, G. et al. Effects of a supplemental yeast culture on heat-stressed cows lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 3, p. 935-942, Mar. 2009.

SILANIKOVE, N. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 67, n. 1, p. 1-18, Dec. 2000.

SILANIKOVE, N. Effects of water scarcity and hot environment on appetite and digestion in ruminants: a review. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 30, n. 3, p. 175-194, 1992.

SILANIKOVE, N. The struggle to maintain hydration and osmoregulation in animals experiencing severe dehydration and rapid rehydration: the story of ruminants. **Experimental Physiology**, New York, v. 79, n. 1, p. 281-300, May 1994.

SILANIKOVE, N.; TADMOR, A. Rumen volume, saliva flow rate, and systemic fluid homeostasis in dehydrated cattle. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v. 256, p. R809-R815, 1989.

SLYKE, D. D. van. Studies of acidosis: XVII., the normal and abnormal variations in the acid-base balance of the blood. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 48, p. 153-176, 1921.

SODER, K. J.; HOLDEN, L. A. Dry matter intake and milk yield and composition of cows fed yeast prepartum and postpartum. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 82, n. 3, p. 605-610, Mar. 1999.

SORIANI, N.; PANELLA, G.; CALAMARI, L. Rumination time during the summer season and its relationships with metabolic conditions and milk production. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 96, n. 8, p. 5082-5094, Aug. 2013.

SPIERS, D. E. et al. Use of physiological parameters to predict milk yield and feed intake in heat-stressed dairy cows. **Journal of Thermal Biology**, Oxford, v. 29, n. 7, p. 759-764, 2004.

STANTON, T. B.; CANALE-PEROLA, E. *Treponema bryantii* sp. nov., a rumen spirochete that interacts with cellulolytic bacteria. **Archives of Microbiology**, New York, v. 127, n. 2, p. 145-156, Sept. 1980.

STEWART, C. S.; FLINT, H. J.; BRYANT, M. P. The rumen bacteria. In: HOBSON, P. N.; STEWART, C. S. (Ed.). **The rumen microbial ecosystem**. 2<sup>nd</sup> ed. London: Blackie Academic & Professional, 1997. p. 10-72.

STEWART, P. A. How to understand acid-base. In: \_\_\_\_\_. **A quantitative acid-base primer for biology and medicine**. New York: Elsevier, 1981. p. 1-186.

SUTTON, A. L.; ELLIOT, J. M. Effect of ratio roughage to concentrate and level of feed intake on ovine ruminal vitamin B12 production. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 102, n. 10, p. 1341-1346, Oct. 1972.

SWARTZ, D. L. et al. Effect of yeast cultures on performance of lactating dairy cows: a field study. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, n. 10, p. 3073-3080, Oct. 1994.

THOM, E. C. Cooling degree days. **Air Conditioning, Heating and Ventilating**, New York, v. 55, p. 65-69, 1958.

THOMPSON, G. E. Review of the progress of dairy science: climate physiology of cattle. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 40, p. 441-473, 1973.

THORNTON, J. H.; SCHULTZ, L. H. Effects of administration of nicotinic acid on glucose, insulin, and glucose-tolerance in ruminants. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 63, n. 2, p. 262-268, Feb. 1980.

THRUNE, M. et al. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* on ruminal pH and microbial fermentation in dairy cows: Yeast supplementation on rumen fermentation. **Livestock Science**, New York, v. 124, n. 1, p. 261-265, Sept. 2009.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2000. 827 p.

VIRTANEM, A. I. Produktion der kubmilch ohne protein mit harnstoff und ammoniumsalzem als stickstoffquelle und gereinigten kohlenhydraten als energiequelle. **Biochemische Zeitschrift**, Berlin, v. 338, p. 443-453, June 1963.

VLAEMINCK, B. et al. Factors affecting odd- and branched-chain fatty acids in milk: a review. **Animal Feed Science Technology**, Shannon, v. 131, n. 3/4, p. 389-417, Dec. 2006.

VYAS, D. et al. The effects of active dried and killed dried yeast on subacute ruminal acidosis, ruminal fermentation, and nutrient digestibility in beef heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 92, n. 2, p. 724-732, Feb. 2014.

WALLACE, R. J. Ruminal microbiology, biotechnology, and ruminant nutrition: progress and problems. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, n. 11, p. 2992-3003, Nov. 1994.

WALLACE, R. J.; ONODERA, R.; COTTA, M. A. Metabolism of nitrogen-containing compounds. In: HOBSON, P. N.; STEWART, C. S. (Ed.). **The rumen microbial ecosystem**. 2<sup>nd</sup> ed. London: Blackie Academic & Professional, 1997. p. 283-328.

WANG, Z.; EASTRIDGE, M. L.; QIU, X. Effects of forage neutral detergent fiber and yeast culture on performance of cows during early lactation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, n. 1, p. 204-212, Jan. 2001.

WELCH, G. et al. Nonselective NOS inhibition blunts the sweat response to exercise in a warm environment. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 106, n. 3, p. 796-803, Mar. 2009.

WEST, J. W. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, n. 6, p. 2131-2144, June 2003.

WHEELOCK, J. B. et al. Effects of heat stress and rBST on production parameters and glucose homeostasis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 1, p. 290-291, 2006. Supplement.

WHEELOCK, J. B. et al. Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, n. 2, p. 644-655, Feb. 2010.

WIEDMEIER, R. D.; ARAMBEL, M. J.; WALTERS, J. L. Effect of yeast culture and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on ruminal characteristics and nutrient digestibility. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 70, n. 10, p. 2063-2068, Oct. 1987.

WILLIAMS, A. G. Rumen holotrich ciliate protozoa. **Microbiology Reviews**, Haren, v. 50, n. 1, p. 25-49, Mar. 1986.

WILLIAMS, P. E. et al. 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. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, n. 7, p. 3016-3026, July 1991.

WILLIAMS, P. E.; NEWBOLD, C. J. Rumen probiosis: the effects of novel microorganisms on rumen fermentation and ruminant productivity. In: HARESIGN, W.; COLE, D. J. A. (Ed.). **Recent advances in animal nutrition**. London: Butterworths, 1990. p. 211.

WILLIAMS, P. E. V. The action of yeast cultures in the rumen. **Feed Compounder**, Whitland, v. 8, n. 9, p. 14-15, 1988.

WOHLT, J. E.; CORCIONE, T. T.; ZAJAC, P. K. Effect of yeast on feed intake and performance of cows fed diets based on corn silage during early lactation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 5, p. 1345-1352, May 1998.

WOHLT, J. E.; EVANS, J. L.; TROUT, J. R. Blood constituents in lactating holstein cows influenced by hematocrit, sampling site, and diet protein and calcium. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 67, n. 10, p. 2236-2246, Oct. 1984.

WOHLT, J. E.; FINKELSTEIN, A. D.; CHUNG, C. H. Yeast culture to improve intake, nutrient digestibility, and performance by dairy cattle during early lactation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 4, p. 1395-1400, Apr. 1991.

WOLIN, M. J.; MILLER, T. L.; STEWART, C. S. Microbe-microbe interactions. In: HOBSON, P. N.; STEWART, C. S. (Ed.). **The rumen microbial ecosystem**. 2<sup>nd</sup> ed. London: Blackie Academic & Professional, 1997. p. 467-491.

WOOTEN, E. W. Calculation of physiological acid-base parameters in multicompartments systems with application to human blood. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 95, n. 6, p. 2333-2344, Dec. 2003.

WRINKLE, S. R.; ROBINSON, P. H.; GARRETT, J. E. Niacin delivery to intestinal absorptive site impacts heat stress and productivity responses of high producing dairy cows during hot conditions. **Animal Feed Science Technology**, Shannon, v. 175, n. 1/2, p. 33-47, July 2012.

YARLETT, N. et al. Hydrogenosomes in known species of rumen entodiniomorphid protozoa. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 21, n. 1, p. 15-19, Jan. 1984.

YARLETT, N. et al. Hydrogenosomes in the rumen protozoon *Dasytricha ruminantium*. **Biochemical Journal**, London, v. 200, n. 2, p. 365-372, Nov. 1981.

YOON, I. K.; STERN, M. D. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* cultures on ruminal fermentation in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 79, n. 3, p. 411-417, Mar. 1996.

YUAN, K. et al. Effect of a rumen-protected niacin product on lactation performance by dairy cows during summer in Wisconsin. **Professional Animal Scientist**, Illinois, v. 27, n. 3, p. 190-194, June 2011.

ZELENÁK, L. et al. Influence of diet and yeast supplement on in vitro ruminal characteristics. **Animal Feed Science Technology**, Shannon, v. 49, n. 3, p. 211-221, Oct. 1994.

ZIMBELMAN, R. B.; BAUMGARD, L. H.; COLLIER, R. J. Effects of encapsulated niacin on evaporative heat loss and body temperature in moderately heat-stressed lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, n. 6, p. 2387-2394, June 2010.

ZIMBELMAN, R. B.; COLLIER, R. J.; BILBY, T. R. Effects of utilizing rumen protected niacin on core body temperature as well as milk production and composition in lactating dairy cows during heat stress. **Animal Feed Science Technology**, Shannon, v. 180, n. 1/4, p. 26-33, Mar. 2013.

ZIMBELMAN, R. B. et al. **A re-evaluation of the impact of Temperature Humidity Index (THI) and Black Globe Humidity Index (BGHI) on milk production in high producing dairy cows.** Savoy: ARPAS, 2009. Disponível em:  
<[http://animal.cals.arizona.edu/swnmc/Proceedings/2009/14Collier\\_09.pdf](http://animal.cals.arizona.edu/swnmc/Proceedings/2009/14Collier_09.pdf)>. Acesso em: 29 set. 2013.

ZINN, R. A. et al. B-vitamin supplementation of diets for feedlot calves. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 65, n. 1, p. 267-277, July 1987.

**SEGUNDA PARTE – ARTIGO**

**ARTIGO 1    Yeast suplementantion of dairy cows during summer**

**Artigo formatado de acordo com as normas para submissão ao periódico**  
*Journal of Dairy Science*



## YEAST SUPPLEMENTATION OF DAIRY COWS DURING SUMMER

### ABSTRACT

Dairy cows experiencing heat stress have reduced intake and increased reliance on glucose, making feeding strategies capable of improving diet digestibility plausible for improving post rumen nutrient flow and performance. The effect of yeast on digestion and performance of lactating cows during the warm summer months of Southeast Brazil was evaluated. Cows were individually fed in tie stalls; THI was above 68 during 75.6% of the days. Twenty-eight Holstein cows ( $207 \pm 87$  DIM) received a standardization diet for 14 d and then a treatment for 70 days, in a covariate adjusted, randomized block design with repeated measures over time. Treatments were: Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) or Control. Capsules containing 10 g of yeast were orally dosed to each cow daily, equivalent to  $25 \times 10^{10}$  CFU of live cells and  $5 \times 10^{10}$  CFU of dead cells. The diet contained corn silage (37.7%), Tifton silage (7.1%), raw soybeans (4.1%), soybean meal (16.5%), finely ground corn (20.7%), and citrus pulp (11.9%). Yeast increased milk (26.7 vs. 25.4 kg/d) and solids yield (3.06 vs. 2.92 kg/d), especially lactose. Response in milk yield was consistent over time and started at the 5<sup>th</sup> day. The daily intake of digestible OM, total tract digestibility of nutrients, urinary allantoin excretion, chewing pattern along the day, and DMI did not respond to Yeast. There was a trend for

increased plasma glucose with Yeast (62.9 vs. 57.3 mg/dL), coupled to lowered respiratory frequency (48 vs. 56 breaths /min) and increased plasma niacin content (1.31 vs. 1.22  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), at similar rectal temperature. Ruminal lactate and butyrate as proportions of ruminal organic acids were reduced by Yeast, but no effects on other organic acids, ruminal pH, or protozoa content were detected. Plasma urea-N over 24 h was increased by Yeast. On d 71 to 73, citrus pulp was abruptly replaced with finely ground corn to induce acidosis. The increased load of starch increased DMI between 7 AM and 1 PM, jugular blood  $\text{pCO}_2$ ,  $\text{HCO}_3^-$ , and base excess, and decreased blood pH for both treatments. Yeast increased blood pH from 7.31 to 7.34. Yeast supplementation improved lactation performance of dairy cows under heat stress. Improvement in lactation performance apparently involved the regulation of body homeothermia and glucose availability to the mammary gland, rather than improved digestibility.

**Key Words:** Heat stress, live yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, niacin, and digestibility.

## INTRODUCTION

Heat stress negatively affects productivity and longevity of dairy cows (Kadzere et al., 2002). Advances in management, such as cooling systems (Armstrong, 1994) and nutritional strategies (West, 2003), may attenuate the negative effects of heat stress, but the economic loss due to reduced milk production, reproductive efficiency, and animal health during warm seasons is a major issue to the dairy industry worldwide (St. Pierre et al., 2003)

Reduced milk production during heat stress has been attributed to the reduction of DMI of heat stressed cows (Beede and Collier, 1986). However, recent studies suggest that decreased DMI accounts for 35 to 50% of the reduction in milk yield under heat stress, whereas the remainder would result from alterations in endocrine profiles and energy metabolism of heat stressed cows (Rhoads et al., 2009; Weehloock et al., 2010). Heat stressed cows may be in negative energy balance (**NEB**; Moore et al., 2005) and have increased energy demand for maintenance, due to energy expenditure in homoeothermic regulation (Fuquay, 1981), capable of decreasing feed efficiency (Britt et al., 2003). During heat stress, cows are more dependent on glucose as energy source (Rhoads et al., 2009) and despite the NEB, the mobilization of adipose tissue seems to be reduced in comparison to cows experiencing NEB in thermoneutral temperature (Schwartz et al., 2009). The response may be related to increased

plasma insulin levels during heat stress, apparently to spare glucose usage by peripheral tissues (Weehloock et al., 2010).

Heat stress may also decrease rumen pH and disturb ruminal function (Mishra et al., 1970). Cows in heat stress are more prone to respiratory alkalosis (Schneider et al., 1988), which may reduce  $\text{HCO}_3^-$  concentration in saliva (Schneider et al., 1984). In addition, there is reduction in daily rumination time (Soriani et al., 2013), capable of reducing saliva production. Ruminal motility and blood flow to the digestive tract are also reduced in heat stressed cows (Mcguire et al., 1989), as well as digesta fractional passage rate (Schneider et al., 1988), increasing the propensity for VFA accumulation and ruminal acidosis.

Supplementation of live yeast may improve nutrient digestibility (Bitencourt et al., 2011; Ferraretto et al., 2012) and control ruminal pH (Bach et al., 2007). Improvements in DMI, lactation performance and feed efficiency have been reported in response to yeast supplementation of heat stressed cows (Bruno et al., 2009; Moallem et al., 2009; Marsola et al., 2010). Schwartz et al. (2009) observed that the supplementation of yeast culture reduced rectal temperature of heat stressed dairy cows, suggesting action on thermoregulatory functions. Under heat stress, feeding strategies capable of increasing digestive efficiency, such as live yeast supplementation, may increase nutrient flow to the small intestine and dairy cow performance.

The objective of the present study was to evaluate the effects of live yeast supplementation on digestion, lactation performance, and physiological variables of dairy cows during the hot summer months of Southeast Brazil.

### MATERIALS AND METHODS

The experiment was conducted from January 9<sup>th</sup> to April 1<sup>st</sup>, 2012, in a sand bedded tie stall barn with fans and high pressure sprinklers at the Better Nature Research Center, located at Ijaci, Minas Gerais, Brazil. The trial was approved by the Institutional Animal Care and Use Committee of the University of Lavras. The barn was located at 846 m of altitude, 21° 09' 52.41" latitude south and 44° 55' 52.40" longitude west. Environmental temperature and humidity at the center of the barn was measured continuously at 30-min intervals with a digital thermometer (EasyLog-USB-2-LCD. Lascar Eletronics, Salisbury, United Kingdom) at 2.5 m from the floor. Temperature Humidity Index (THI) was calculated according to Yousef (1985):  $THI = T + 0.36 \times DP + 41.2$ ; T=temperature (°C) and DP = Dew point (°C).

Twenty-eight Holsteins ( $207 \pm 87$  DIM) received a standardization diet for 14 d (covariate period). At the end of the covariate period, cows were paired blocked based on calving order and milk yield, and assigned to one of two treatments for 10 weeks. Treatments were: Yeast (*Sacharomyces cerevisiae*, strain NCYC 996. Procreatin7. Lesaffre Feed Additives, Toluca, Mexico) or

Control. Capsules containing 10 g of the yeast product were orally dosed to each cow once per day in the morning, Control received empty capsules. The daily dose of yeast per cow was:  $25 \times 10^{10}$  CFU of live cells and  $5 \times 10^{10}$  CFU of dead cells. The composition of the yeast product was: 92.3% DM, 45.7% CP and 4.4% ash. The amino acid yeast composition (g/100g) as fed basis was: aspartate (3.90), glutamate (3.85), serine (1.38), glycine (1.62), histidine (0.85), arginine (1.54), threonine (2.00), alanine (2.30), proline (1.04), tyrosine (1.33), valine (2.10), methionine (0.54), cysteine (0.51), isoleucine (1.18), leucine (2.09), phenylalanine (1.64), and lysine (3.63). The amino acids were analyzed by HPLC. The niacin content of the yeast product was 45.12 mg/100g when analyzed with a niacin microbiological assay (VitaFast. R-Biopharm, Dharmstadt, Germany).

Cows were individually fed in sand bedded tie stalls. The TMR was mixed in a stationary mixer (Unimix 1200. Casale Equipamentos Ltda, São Carlos, Brazil) and offered twice daily at approximately 6 AM and 2 PM. Individual cow intake was assessed throughout the experiment, by daily registering amounts of feed offered and orts (as fed basis). Samples of ingredients were collected daily and composite samples made per week. Likewise, ort samples were collected daily and composited per cow per week. Composite samples were dried in forced-air oven at 55°C for 72 h and ground through a 1-mm screen in a Thomas-Willey mill. The DM content was

determined by drying at 100°C for 24 h and CP was by micro-Kjeldahl analysis (AOAC, 1990). The EE was analyzed according to AOAC (1990) after hydrolysis with hydrochloric acid. Ash was analyzed by incineration at 550°C for 8 h. The NDF was analyzed using a TE-149 fiber analyzer (TECNAL Equipamentos para Laboratórios, Piracicaba, Brazil) with amylase and sodium sulfide. Starch was analyzed according to Hall et al. (2009). The non-fibrous carbohydrate fraction was calculated:  $NFC = 100 - (CP + EE + ash + NDF)$ . Composition of feedstuffs and consumed diets is reported in Table 1.

Cows were milked twice daily, at 4:30 AM and 4 PM, milk yield was recorded daily. Milk samples were obtained weekly on the same two days of four consecutive milkings. Solids and MUN content were measured (Laboratório Centralizado da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa, Curitiba, Brazil) by infrared analysis (Bentley 2000. Bentley Instruments Inc., Chaska, MN). Milk energy secretion (**Milk E**, Mcal/d) was calculated as:  $[(0.0929 \times \% \text{ fat}) + (0.0547 \times \% \text{ protein}) + (0.0395 \times \% \text{ lactose})] \times \text{kg of milk}$  (NRC, 2001). ECM was calculated as:  $\text{Milk E}/0.70$  (Assumes 0.70 Mcal/kg for milk with 3.7% fat, 3.2% protein, and 4.6% lactose).4% FCM was calculated as:  $(0.4 + 15 \times \% \text{ fat} / 100) \times \text{kg of milk}$  (NRC, 2001). After the morning milking, on d 35, body weight was measured. AndBCS (scale of 1 to 5, with 1 being thin and 5 being obese; Wildman et al., 1982) was measured by

three trained evaluators biweekly and the average was used to describe the experimental units.

Total tract apparent digestibility of DM, OM, NDF, and non-NDF OM was determined on d 68 to 70 (wk 10) by total collection of feces by trained personal. Feces were collected concurrent to defecation during three 8-hour sampling periods and weighed. The second and third sampling periods were each delayed by 8 h to avoid a major disturbance to the animals while still representing a 24-h collection period. Fecal aliquots (equal fresh weight basis) were immediately frozen along the collection period and a composite sample was formed. Total urinary output was collected in buckets, simultaneously to fecal sampling, to estimate rumen microbial synthesis based on purine derivate excretion. A 10% sulfuric acid solution was immediately added to the urine samples (1:9) before refrigeration at 4°C. Composite urine samples were diluted 1:3 with distilled water and frozen at -20°C. Allantoin was analyzed as in Chen and Gomes(1992).

Simultaneously to fecal and urinary collection, chewing activity was measured by continuous observation of buccal activity of each cow at 5 min intervals for 24 h. Buccal activities recorded were: water ingestion, feed ingestion, rumination, and idle. Chewing time, in min per d, was the sum of ingestion and rumination time. Chewing, ingestion, and rumination per unit of DMI were calculated using DMI of the day of chewing evaluation.



Blood samples from the coccygeal vessels were obtained on d 64 (wk 10) to determine plasma urea-N (**PUN**). Samples were obtained immediately before the first daily feeding and 1, 2, 3, 6, 9, 12, 15, and 21 h after feeding. The blood, collected with EDTA, was immediately refrigerated, centrifuged at 1,000 x g for 15 min, and the plasma was frozen at -20°C. The PUN content was analyzed with a laboratory kit (Labtest Diagnóstica SA, Lagoa Santa, Brazil). Plasma glucose content 12 h post-feeding was analyzed with a laboratory kit (Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda, Goiânia, Brazil).

Respiratory frequency was measured weekly at 2 PM, and recorded as the average of three consecutive measurements of 30 sec per cow. Rectal temperature was measured at 7 AM, 1 PM, and 7 PM on wk 5 (hot day) and wk 9 (cool day) with digital thermometers (G-Tech TH186. Onbo Eletronics, Shenzhen, China). On wk 5 (d 34) and wk 9 (d 59), blood samples from the coccygeal vessels were obtained 6 h after the morning feeding to determine plasma niacin content. Blood was immediately refrigerated, centrifuged at 1000 x g for 15 min, and the plasma frozen at -20°C for analysis of niacin. Niacin was analyzed with VitaFast niacin microbiological assay (R-Biopharm, Dharmstadt, Germany).

On d 71, rumen fluid samples were collected through a flexible oro-gastric tube. Samples were collected  $12 \pm 0.25$  h after the morning feeding. Animals were randomly sampled within block. Ruminant pH was measured

immediately. Total protozoa count was performed according to recommendations of Dehority (1984) and Warner (1962). A rumen sample had its fermentation suppressed by instantaneous freezing in liquid nitrogen at -196°C and was kept frozen until preparation and analysis of organic acids by HPLC (LC-10Ai, Shimadzu Corp., Tokyo, Japan).

After intensive sampling procedures were concluded in wk10, citrus pulp in the diet was abruptly substituted by the same amount of finely ground corn (d 71). This diet was fed for three days to evaluate the response to yeast supplementation under increased ruminal acid load. Jugular blood acid-base balance at 1 PM, intake, milk yield, and the proportion of daily intake occurring from 7 AM to 1 PM were measured on days -2, -1, 1, 2 and 3 relative to diet change. Jugular blood acid-base balance was analyzed with an AGS 22 blood gas analyzer (Drake Eletrônica e Comércio Ltda, São José do Rio Preto, Brazil) less than 1 h after sampling.

### **Statistical analysis**

Data obtained over time, including data when citrus pulp was substituted by finely ground corn, was analyzed as repeated measures with the MIXED procedure of SAS. Model contained a continuous covariate effect (measure of the same variable at the end of the covariate period), random block effect (1 to 14), and the fixed effects of treatment (Yeast or Control), time (experimental wk

or d), and the interaction of treatment and time. The mean square for cow nested within treatment was used as the error term to test the treatment effect. The best covariance structure was defined by the Akaike's information criterion among autoregressive, compound symmetry or unstructured. For variables measures once model was block and treatment. Statistical significance and trends were considered at  $P \leq 0.05$  and  $P \geq 0.06$  to  $P < 0.10$ , respectively.

## RESULTS

The confinement housing system did not eliminate the occurrence of summer heat stress. Throughout the experiment, THI values ranged from 60.5 to 85.1, with a mean of 71.8 (Table 2). Cows were subjected to THI of 68 or greater for 75.6% of the time. Figure 1 illustrates the occurrence of THI values along the experiment.

Yeast supplementation increased milk yield by 1.3 kg/d and milk solids by 0.14 kg/d, the positive response in lactation performance was apparently driven by increased lactose secretion (Table 3). Milk yield response to yeast supplementation was consistent along the duration of the experiment (Figure 2), and started at five days of supplementation (Figure 3). Increases in ECM and 4% FCM were also observed in response to Yeast, protein and fat secretions also tended to respond positively (Table 3). Cows fed Yeast had increased milk fat content at weeks 7, 9, and 10 (Figure 4). Daily DMI was only numerically

increased by Yeast (Table 3). Measures of feed efficiency, body weight, BCS and SCC were similar in both treatments. Yeast improved lactation performance without changing intake or body tissue deposition.

Cows on Yeast had lower respiratory frequency than Control (Table 4). Respiratory frequency of yeast supplemented cows was consistently lower along the experiment (Figure 5). Body temperature was not affected by treatment, although during rectal temperature measurement in hot day (wk 5), a treatment by time interaction was detected. Body temperature of yeast supplemented cows was higher than Control during the day, but lower at evening (Figure 6). Yeast supplementation apparently facilitated heat dissipation, since similar body temperature was observed at lower respiratory frequency. Plasma niacin content was increased in cows supplemented with Yeast, as well as glucose content (Table 4).

Digestion variables did not respond to Yeast (Table 5). The daily intake of digestible organic matter (Table 3) and total-tract digestibility of nutrients (Table 5) were only numerically increased by Yeast. Rumen microbial yield, estimated by urinary allantoin excretion, and protozoa content were similar (Table 5). Rumen fermentation profile was altered by Yeast (Table 6). Yeast reduced lactate and butyrate as proportions of ruminal organic acids. The acetate to propionate ratio did not differ. Rumen pH was increased only numerically by the supplement.

Concentration of PUN (Table 4) was increased on yeast supplemented cows. Yeast supplementation increased PUN along the day (Figure 8). Chewing activity and intake pattern were not affected by treatment (Table 7).

The abrupt increase in dietary starch content tended to increase milk yield, had no effect on DMI, and increased the proportion of the daily intake from 7 AM to 1 PM (Table 8). Yeast increased blood pH before and after the starch challenge. Increased starch content decreased blood pH and increased blood pCO<sub>2</sub>, pO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, total CO<sub>2</sub>, SatO<sub>2</sub>, and base-excess.

## DISCUSSION

The increase in plasma niacin content in response to yeast supplementation has not been described in the literature. The increase in plasma niacin content of cows supplemented with live yeast approached similar magnitude to the increase of cows supplemented with rumen-protected niacin (Zinbeman et al., 2010; Rungruang et al., 2014). Considering that the niacin content of the yeast product was 45 mg/100g, the daily supplementation of niacin from yeast was 4.5 mg/cow, supposedly low to induce a biologically meaningful increase in plasma niacin content. Yeast supplementation may have stimulated the synthesis of niacin in the rumen. Ruminal synthesis of niacin ranged from 446 to 1,547 mg/kg of DMI in dairy cows (Schwab et al., 2006). The diet in this experiment had unpredicted high CP content (18.3% of DM) and

may have supplied enough tryptophan to be significantly converted to niacin by bacteria (Foster and Moat, 1980; Flachowsky, 1993). Niacin addition to rumen fluid can increase microbial yield (Riddell et al. 1980; Brent and Bartley, 1984), the positive effect of yeast on rumen niacin content may be an additional mechanism for the effect of yeast on rumen function.

The beneficial effects of niacin supplementation to cows under heat stress have been described (Muller et al., 1986). Cows under heat stress had decreased niacin content in plasma (Rungruang et al., 2014), suggesting that niacin supplementation may be required. Niacin can stimulate skin vasodilation (Benyó et al., 2006; Maciejewski-Lenoir et al., 2006) and increase peripheral heat loss in dairy cows (Di Constanzo et al., 1997; Zimbelman et al., 2010). Wrinkle et al. (2012) observed a decrease in respiratory frequency of dairy cows in response to niacin supplementation. Niacin apparently mediated the thermoregulatory action of the yeast supplement in this experiment.

Yeast supplemented cows had lower respiratory frequency, at similar body temperature than Control, suggesting they were more efficient to dissipate heat. Improved heat dissipation in response to yeast supplementation may have decreased the maintenance energy required for thermoregulation. It may explain the trend for increased plasma glucose content in response to Yeast. Di Constanzo et al. (1997) reported an increase in plasma glucose content of dairy cows when niacin was fed during heat stress. Cows in heat stress have increased

reliance on glucose as energy source (Rhoads et al., 2009). Increased glucose availability to the mammary gland in response to Yeast apparently increased lactose synthesis, resulting in a positive milk yield response.

The +1.3 kg/d milk yield response to yeast supplementation may be considered of large magnitude. Desnoyers et al. (2009), in a meta-analysis on *S. cerevisiae* supplementation to ruminants, estimated a mean milk yield response to yeast of +0.78 kg/d, for a 650 kg cow-equivalent. Moallem et al. (2009) detected a +1.5 kg/d increase in milk yield when dairy cows were fed live yeast during summer. Bruno et al. (2009) evaluated the supplementation of dairy cows with yeast culture in summer (723 cows from 2 farms). Yeast supplementation increased milk yield (+1.2 kg/d) during the first 130 days of lactation. It seems that the milk yield response to yeast supplementation during summer has good chance of having a large income to cost ratio, although the lack of positive response to the supplemented has been reported by others as well (Al Ibrahim et al., 2010; Allen and Ying, 2012; Dehghan-Banadaky et al., 2013).

Although positive effects of yeast supplementation on rumen function (Wallace, 1994) and fiber digestibility (Bitencourt et al., 2011; Ferraretto et al., 2012) were expected, this mode of action did not mediate animal responses in this experiment. Total tract digestibility of nutrients and rumen microbial yield did not respond to Yeast, although rumen fermentation profile was modified. Yeast reduced butyrate and lactate as proportions of total organic acids in rumen

fluid, but was not capable of increasing pH. *S. cerevisiae* can compete with *S. bovis* for sugars (Chaucheyras et al., 1996) and stimulate lactate consumers in the rumen (Nisbet and Martin, 1991; Callaway and Martin, 1997; Rossi et al., 2004). Pinlosche et al. (2013) observed increased ruminal abundance of *Megasphaera* and *Selenomonas* when live yeast was fed to cows. The response in rumen fermentation profile to yeast supplements lacks consistency. Pinlosche et al. (2013) reported increased proportions of propionate and butyrate in rumen fluid in response to yeast. Increased proportions of propionate (Eramus et al., 2005), acetate (Al Ibrahim et al., 2010), and butyrate (Throne et al., 2009) have been reported, as well the absence of the effect of yeast on rumen fermentation profile (Bitencourt et al. 2011; Ferraretto et al., 2012). Yeast supplemented cows had higher PUN than Control, suggesting increased proteolytic activity in the rumen (Yoon and Stern, 1996). Milk fat content of yeast supplemented cows also increased during the final weeks of the experiment. For these finely chopped corn silage diets formulated without sodium bicarbonate, yeast supplementation reduced lactate and butyrate in rumen fluid, suggesting beneficial action on ruminal acidosis.

Yeast could not modulate the response in intake and milk yield during the acidosis induction protocol. The induction of acidosis resulted in detectable changes in intake pattern and blood acid-base indicators. Live yeast supplementation increased blood pH before and during the dietary starch



challenge. Blood Base Excess was also less negative for yeast-supplemented cows when dietary starch content was abruptly increased. Yeast supplementation apparently had beneficial effects on metabolic acidosis, a plausible additional mode of action to explain the positive response in lactation performance.

It has been suggested that yeast supplements can modulate the pattern of intake in dairy cows, capable of promoting stabilization of ruminal pH. Bach et al. (2007) reported an increase in the frequency of daily meals for cows supplemented with live yeast. DeVries and Chevaux (2014) observed that cows supplemented with yeast had shorter intermeal intervals, translating to cows tending to have more meals, which tended to be smaller in size. Yeast-supplemented cows also tended to ruminate longer, had lower mean ruminal temperature, and spent less time with rumen temperature above 39.0°C. In theory, a more stable ruminal temperature can facilitate heat dissipation under heat stress. We did not detect responses in chewing and eating behaviour of heat stressed dairy cows to yeast supplementation.

## CONCLUSIONS

Yeast supplementation improved lactation performance of dairy cows under heat stress. The mechanism apparently involved the regulation of body homeothermia and increased glucose availability for the synthesis of lactose by the mammary gland. Increased plasma niacin content in yeast-supplemented

cows was a plausible mediator. Yeast also attenuated metabolic acidosis during a starch challenge and reduced lactate and butyrate proportions in rumen fluid, suggesting positive action on acidosis control.

#### ACKNOWLEDGMENTS

Appreciation is extended to all members from Dairy Group (Lavras, Brazil) and Igor Gonçalves de Souza Salvati for help during the trial; Rafael Caputo Oliveira and Willian Pereira dos Santos for assistance during plasma niacin analysis.

#### LITERATURE CITED

- Allen, M. S., and 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.* 95:6591-6605.
- Al Ibrahim, R. M., A. K. Kelly, L. O'Grady, V. P. Gath, C. McCarney, and F. J. Mulligan. 2010. The effect of body condition score at calving and supplementation with *Saccharomyces cerevisiae* on milk production, metabolic status, and rumen fermentation of dairy cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 93:5318-5328.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15<sup>th</sup> ed. Assoc. Off. Anal. Chem. Arlington, VA.

- Armstrong, D. V. 1994. Heat stress interaction with shade and cooling. *J. Dairy Sci.* 77:2044-2050.
- Bach, A., C. Iglesias, and 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.* 136:146-153.
- Beede, D. K., and R. J. Collier. 1986. Potential nutritional strategies for intensively managed cattle during thermal stress. *J. Anim. Sci.* 62:543-554.
- Benyó, Z., A. Gille, C. L. Bennett, B. E. Clausen, and S. Offermanns. 2006. Nicotinic acid-induced flushing is mediated by activation of epidermal Langerhans cells. *Mol. Pharmacol.* 70:1844-1849.
- Bitencourt, L. L., J. R. M. Silva, B. M. L. Oliveira, G. S. Dias Júnior, F. Lopes, S. Siécola Júnior, O. F. Zacaroni, and M. N. Pereira. 2011. Diet digestibility and performance of dairy cows supplemented with live yeast. *Sci. Agric.* 68:301-307.
- Brent, B. E., E. E. Bartley. 1984. Thiamin and niacin in the rumen. *J. Anim. Sci.* 59:813-822.
- Britt, J. S., R. C. Thomas, N. C. Spear, and M. B. Hall. 2003. Efficiency of converting nutrient dry matter to milk in Holstein herds. *J. Dairy Sci.* 86:3796-3801.
- Bruno, R. G. S., H. M. Rutigliano, R. L. Cerri, P. H. Robinson, J. E. P. Santos. 2009. Effect of feeding *Saccharomyces cerevisiae* on performance of dairy

- cows during summer heat stress. *Anim. Feed Sci. and Technol.* 150:175-186.
- Callaway, E. S., and S. A. Martin. 1997. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on ruminal bacteria that utilize lactate and digest cellulose. *J. Dairy Sci.* 80:2035-2044.
- Chaucheyras, F., G. Fonty, P. Gouet, G. Bertin, and J.-M. Salmon. 1996. Effects of a strain of *Saccharomyces cerevisiae* (Levucell® SC), a microbial additive for ruminants, on lactate metabolism in vitro. *Can. J. Microbiol.* 42:927-933.
- Chen, X. B., and M. J. Gomes. 1992. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives: An overview of technical details. *Int. Feed Res. Unit, Occasional Publ.* Rowett Research Institute, Aberdeen, United Kingdom.
- Dehghan-Banadaky, M., M. Ebrahimi, R. Motameny, and S.R. Heidaria. 2013. Effects of live yeast supplementation on mid-lactation dairy cows performances, milk composition, rumen digestion and plasma metabolites during hot season. *Journal of Applied Animal Research.* 41:137-142.
- Dehority, B. A. 1984. Evaluation of subsampling and fixation procedures used for counting rumen protozoa. *Appl. Environ. Microbiol.* 48:182-185.

- Desnoyers, M., S. Giger-Reverdin, G. Bertin, C. Duvaux-Ponter, and D. Sauvant. 2009. Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. *J. Dairy Sci.* 92:1620-1632.
- Di Costanzo, A., J. N. Spain, and D. E. Spiers. 1997. Supplementation of nicotinic acid for lactating Holstein cows under heat stress conditions. *J. Dairy Sci.* 80:1200-1206.
- DeVries, T. J., E. Chevaux. 2014. Modification of the feeding behavior of dairy cows through live yeast supplementation. *J. Dairy Sci.* (*in press*).
- Erasmus, L. J., P. H. Robinson, A. Ahmadi, R. Hinders, 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.* 122:219-239.
- Ferraretto, L. F., R. D. Shaver, and S. J. Bertics. 2012. Effect of dietary supplementation with live-cell yeast at two dosages on lactation performance, ruminal fermentation, and total tract nutrient digestibility in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95:4017-4028.
- Flachowsky, G. 1993. Niacin in dairy and beef cattle nutrition. *Archives of Animal Nutrition* 43:195-213.

- Foster, J. W., Moat, A. G. 1980. Nicotinamide adenine dinucleotide biosynthesis and pyridine nucleotide cycle metabolism in microbial systems. *Microbiological reviews* 44:83-105.
- Fuquay, J. W. 1981. Heat stress as it affects production. *J. Anim. Sci.* 52:167-174.
- Hall, M. B. 2009. Analysis of starch, including maltooligosaccharides in animal feeds: a comparison of methods and a recommended method for AOAC collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 92:42-49.
- Kadzere, C. T., M. R. Murphy, N. Silanikove, and E. Maltz. 2002. Heat stress in lactating dairy cows: A review. *Livest. Prod. Sci.* 77:59-91.
- Maciejewski-Lenoir D., J. G. Richman, Y. Hakak, I. Gaidarov, D. P. Behan, D. T. Connolly. 2006. Langerhans cells release prostaglandin D2 in response to nicotinic acid. *J. Invest. Dermatol.* 126:2637-2646.
- Marsola R. S., M. G. Favoreto, F. T. Silvestre, J. C. Shin, N. Walker, A. Adesogan, C. R. Staples, J. E. P. Santos. Effect of feeding live yeast on performance of holstein dairy cows during summer. 2010. *J. Dairy Sci.* 93(E-Suppl 1):432. (Abstr.).

- McGuire, M. A., D. K. Beede, R. J. Collier, F. C. Buonomo, M. A. DeLorenzo, C. J. Wilcox, C. K. Reynolds. 1991. Effects of acute thermal stress and amount of feed intake on concentrations of somatotropin, insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-II, and thyroid hormones in plasma of lactating Holstein cows. *J. Anim. Sci.* 69:2050-2056.
- Moallem, U., H. Lehrer, L. Livshitz, M. Zachut, and S. Yakoby. 2009. The effects of live yeast supplementation to dairy cows during the hot season on production, feed efficiency, and digestibility. *J. Dairy Sci.* 92:343-351.
- Moore, C. E., J. K. Kay, M. J. VanBaale, R. J. Collier, and L. H. Baumgard. 2005. Effect of conjugated linoleic acid on heat stressed Brown Swiss and Holstein cattle. *J. Dairy Sci.* 88:1732-1740.
- Mishra, M., F. A. Martz, R. W. Stanley, H. D. Johnson, J. R. Campbell, and E. Hilderbrand. 1970. Effect of diet and ambient temperature-humidity on ruminal pH, oxidation reduction potential, ammonia and lactic acid in lactating cows. *J. Anim. Sci.* 30:1023-1028.
- Muller, L. D., A. J. Heinrichs, J. B. Cooper, Y. H. Atkin. 1986. Supplemental niacin for lactating cows during summer feeding. *J. Dairy Sci.* 69:1416-1420.
- National Research Council. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7<sup>th</sup> rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington D.C.

- Nisbet, D. J. and S. A. Martin. 1991. Effect of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on lactate utilization by the ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. J. Anim. Sci. 69:4628-4633.
- Pinloche, E., N. McEwan, J-P.Marden, C. Bayourthe, E. Auclair, and C. J. Newbold. 2013. The effects of a probiotic yeast on the bacterial diversity and population structure in the rumen of cattle. PLoS one 8:e67824.
- Rhoads, M. L., R. P. Rhoads, M. J. VanBaale, R. J. Collier, S. R. Sanders, W. J. Weber, B. A. Crooker, and L. H. Baumgard. 2009. Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: 1. Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. J. Dairy Sci. 92:1986-1997.
- Riddell, D. O., E.E. Bartley, and A. D. Dayton. 1980. Effect of nicotinic acid on rumen fermentation in vitro and in vivo. J. Dairy Sci. 63:1429-1436.
- Rossi, F., A. D. Luccia, D. Vincenti, and P. S. Cocconcelli. 2004. Effects of peptide fractions from *Saccharomyces cerevisiae* on growth and metabolism of the ruminal bacteria *Megasphaera elsdenii*. Anim. Res. 53:177-186.
- Rungruang, S., J. L. Collier, R. P. Rhoads, L. H. Baumgard, M. J. Veth, and R. J. Collier. 2014. A dose-response evaluation of rumen-protected niacin in thermoneutral or heat stress lactating Holstein cows. J. Dairy Sci. 97:1-12.
- SAS Institute. 2004. SAS/STAT 9.1 User's Guide. Version 9.1 ed, Cary, NC.



- Schneider, P. L., D. K. Beede, and C. J. Wilcox. 1988. Nycterohemeral patterns of acid-base status, mineral concentrations and digestive function of lactating cows in natural or chamber heat stress environments. *J. Anim. Sci.* 66:112-125.
- Schneider, P. L., D. K. Beede, C. J. Wilcox, and R. J. Collier. 1984. Influence of dietary sodium and potassium bicarbonate and total potassium on heat-stressed lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 67:2546-2553.
- Schwab, E. C., C. G. Schwab, R. D., Shaver, C. L. Girard, D. E. Putnam, and N. L. Whitehouse. 2006. Dietary forage and nonfiber carbohydrate contents influence B-vitamin intake, duodenal flow, and apparent ruminal synthesis in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89:174-187.
- Shwartz, G., M. L. Rhoads, K. A. Dawson, M. J. VanBaale, R. P. Rhoads, and L. H. Baumgard. 2009. Effects of a supplemental yeast culture on heat stressed lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 92:935-942.
- Soriani, N., G. Panella, and L. Calamari. 2013. Rumination time during the summer season and its relationships with metabolic conditions and milk production. *J. Dairy Sci.* 96:5082-5094.
- St. Pierre, N. R., B. Cobanov, and G. Schnitkey. 2003. Economic losses from heat stress by US livestock industries. *J. Dairy Sci.* 86 (E Suppl.):E52-E77.

- Throne, M., A. Bach, M. Ruiz-Moreno, M. D. Stern, and J. G. Linn. 2009. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* on ruminal pH and microbial fermentation in dairy cows. *Livest. Sci.* 124:261-265.
- Wallace, R. J. 1994. Ruminal microbiology, biotechnology, and ruminant nutrition: progress and problems. *J. Anim. Sci.* 72:2992-3003.
- Warner, A. C. 1962. Enumeration of rumen microorganisms. *J. Gen. Microbiol.* 28: 119-128.
- West, J. W. 2003. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86:2131-2144.
- Wheelock, J. B., R. P. Rhoads, M. J. VanBaale, S. R. Sanders, and L. H. Baumgard. 2010. Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 93:644-655.
- Wildman, E. E., G. M. Jones, P. E. Wagner, R. L. Boman, H. F. Troutt, and T. N. Lesch. 1982. A dairy-cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. *J. Dairy Sci.* 65:495-501.
- Wrinkle, S. R., P. H. Robinson, J. E. Garrett. 2012. Niacin delivery to the intestinal absorptive site impacts heat stress and productivity responses of high producing dairy cows during hot conditions. *Anim. Feed Sci. Technol.* 175:33-47.

- Yoon, I. K., and M. D. Stern. 1996. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* on ruminal fermentation in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 79:411.
- Yousef, M. K. 1985. *Stress Physiology in Livestock*. 1st ed. CRC Press Inc., Boca Raton, FL.
- Zimbelman, R. B., L. H. Baumgard, and R. J. Collier. 2010. Effects of encapsulated niacin on evaporative heat loss and body temperature in moderately heat-stressed lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 93:2387-2394.

## FIGURES AND TABLES

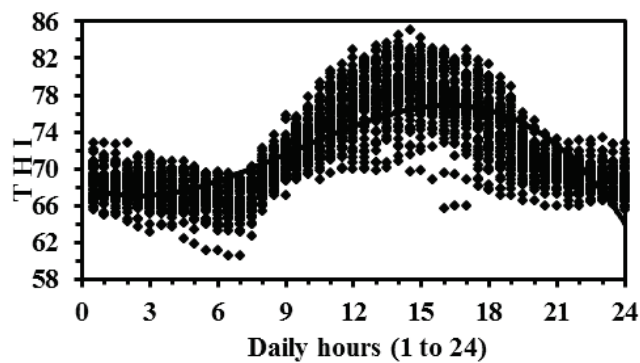


Figure 1. Temperature Humidity Index (THI) along the experiment

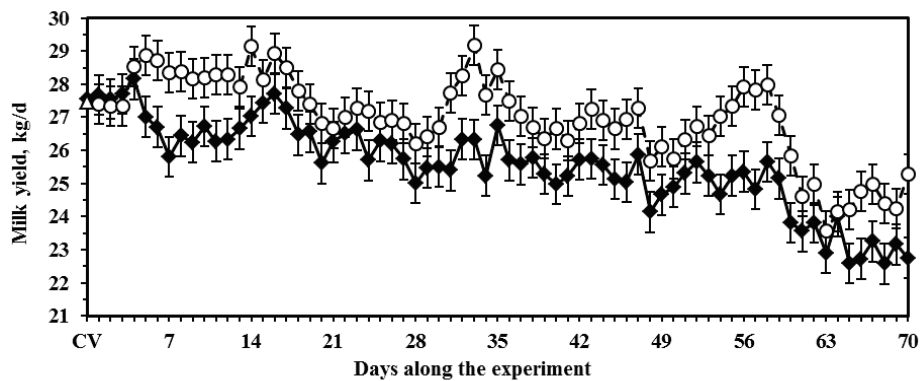
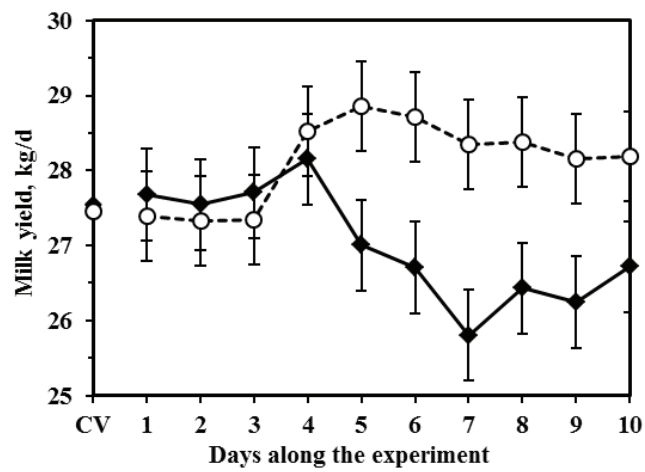
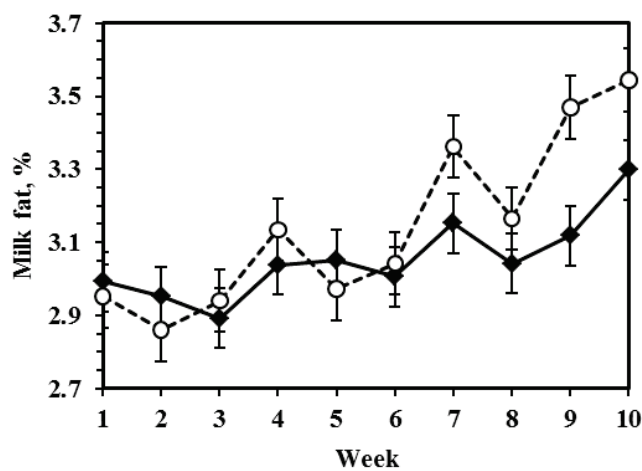


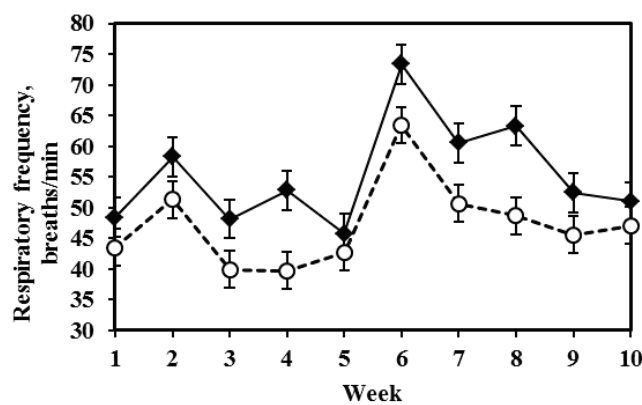
Figure 2. Milk yield of dairy cows along the experiment on treatments Control ( $\blacklozenge$ ) or Yeast ( $\circ$ ) ( $P$  treat = 0.03;  $P$  day < 0.01;  $P$  treat\*day = 0.40)



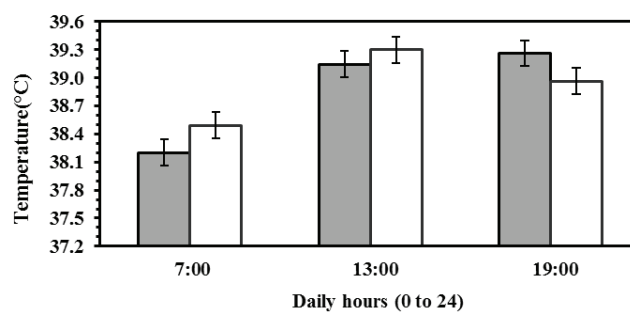
**Figure 3.** Milk yield of dairy cows during the first ten days of the experiment on treatments Control (♦) or Yeast (○) ( $P$  treat = 0.03;  $P$  day < 0.01;  $P$  treat\*day = 0.40)



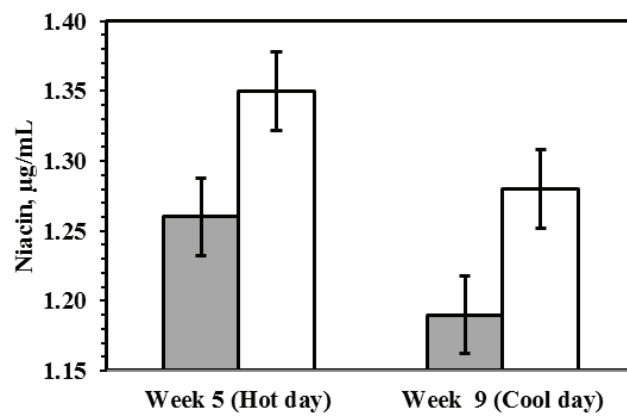
**Figure 3.** Milk fat percentage of dairy cows on treatments Control (♦) or Yeast (○) ( $P$  treat = 0.22;  $P$  week < 0.01;  $P$  treat\*week = 0.02)



**Figure 4.** Respiratory frequency of dairy cows along the experiment on treatments Control (♦) or Yeast (○) ( $P$  treat = 0.02;  $P$  week < 0.01;  $P$  treat\*week = 0.14)

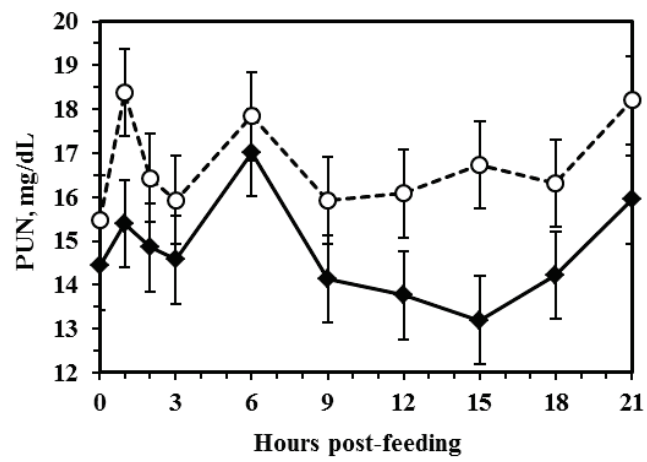


**Figure 5.** Rectal temperature of dairy cows on week 5 on treatments Control (■) or Yeast (□) ( $P$  treat = 0.75;  $P$  hour < 0.01;  $P$  treat\*hour = 0.02)



**Figure 6.** Plasma niacin content 6 h post-feeding on week 5 (hot day, THI = 75.0) and week 9 (cool day, THI = 70.4) on treatments Control (■) or Yeast (□) ( $P$  treat = 0.05;  $P$  day = 0.05;  $P$  treat\*day = 0.99)





**Figura 7.** Plasma urea nitrogen (PUN) of dairy cows on treatments Control (◆) or Yeast (○) ( $P_{\text{treat}} = 0.05$ ;  $P_{\text{hour}} < 0.01$ ;  $P_{\text{treat*hour}} = 0.12$ )

**Table 1.** Composition of the consumed diets on treatments Control or Yeast

Item		
Diet ingredient, % of DM		
Corn silage		37.7
Tifton hay		7.1
Raw soybeans		4.1
Soybean meal		16.5
Slow release urea		0.2
Finely ground corn		20.7
Citrus pulp		11.9
Magnesium oxide		0.3
Salt		0.2
Limestone		0.9
Minerals and vitamins <sup>1</sup>		0.4
Nutrient composition, % of DM		
Crude protein	18.3	18.4
RDP <sup>2</sup>	12.0	12.0
RUP <sup>3</sup>	6.3	6.4
Neutral detergent fiber	38.0	38.1
Ether extract	4.5	4.5
Ash	6.2	6.2
Non-fiber carbohydrates	32.9	33.1
Starch	26.8	26.6
Dry matter, % of as fed	43.2	43.1
Particle size distribution, % of diet		
Feed particles > 19mm, DM basis		19.7
Feed particles 8-19mm, DM basis		26.0
Feed particles < 8mm, DM basis		54.3
Feed particles > 19mm, as fed basis		13.9
Feed particles 8-19mm, as fed basis		20.0
Feed particles < 8mm, as fed basis		66.1

<sup>1</sup> 20.0% Ca; 15.0% P; 30.0% S; 30.0% Mg; 100 mg/kg Co; 3,000 mg/kg Cu; 180 mg/kg I; 3,000 mg/kg Mn; 12,000 mg/kg Zn; 100,000 UI/kg Vitamin A; 250,000 UI/kg Vitamin D3; 6,250 UI/kg Vitamin E.

<sup>2</sup> Rumen degradable protein.

<sup>3</sup> Rumen undegradable protein.

**Table 2.** Temperature Humidity Index (THI), temperature and humidity in the center of the tie stall

Item	Entire experiment <sup>1</sup>	Week 5 <sup>2</sup>	Week 9 <sup>2</sup>
THI $\geq$ 68, % of time	75.6	95.8	52.1
THI $\geq$ 72, % of time	39.6	60.4	37.5
THI mean	71.8	75.0	70.4
THI maximum	85.1	83.2	79.8
THI minimum	60.5	67.5	63.4
Temperature mean	23.6	26.0	22.4
Temperature maximum	36.0	33.5	31.0
Temperature minimum	14.5	19.5	16.5
Humidity mean	79.4	78.2	82.2
Humidity maximum	98.5	97.0	97.5
Humidity minimum	33.0	51.0	55.5

<sup>1</sup>3408 recordings for the entire experiment at 30-min intervals.

<sup>2</sup>Day of weeks 5 and 9 of rectal temperature recording.

**Table 3.** Performance of dairy cows on treatments Control or Yeast

Item	Control	Yeast	SEM	<i>P</i> treat <sup>1</sup>	<i>P</i> time	<i>P</i> int
DMI, kg/d	19.0	19.5	0.51	0.53	< 0.01	0.96
Milk, kg/d	25.4	26.7	0.39	0.03	< 0.01	0.40
ECM, kg/d	23.0	24.4	0.45	0.05	0.02	0.70
4% FCM, kg/d	21.7	23.1	0.47	0.05	0.04	0.65
Fat, kg/d	0.777	0.824	0.0178	0.09	0.07	0.48
Fat, %	3.06	3.17	0.057	0.22	< 0.01	0.02
Protein, kg/d	0.801	0.828	0.0091	0.06	< 0.01	0.53
Protein, %	3.21	3.17	0.030	0.39	< 0.01	0.74
Lactose, kg/d	1.135	1.187	0.0146	0.03	< 0.01	0.80
Lactose, %	4.52	4.51	0.025	0.76	< 0.01	0.98
Solids, kg/d	2.921	3.062	0.0450	0.05	< 0.01	0.80
Solids, %	11.67	11.72	0.078	0.64	< 0.01	0.19
MUN, mg/dL	15.3	15.8	0.21	0.12	< 0.01	0.19
Milk/DMI, kg/kg	1.34	1.37	0.054	0.77	< 0.01	0.91
ECM/DMI, kg/kg	1.23	1.25	0.043	0.76	< 0.01	0.94
Body weight, kg	630	641	5.6	0.21	0.08	0.63
BCS, 1 to 5	3.3	3.2	0.06	0.14	0.07	0.30
DOMI, kg/d <sup>2</sup>	13.6	14.2	0.59	0.53	< 0.01	0.17
Linear SCC, 1 to 9	4.7	4.3	0.33	0.41	0.70	0.87

<sup>1</sup>Probability values for treatment, time and interaction.

<sup>2</sup>Digestible organic matter intake.

**Table 4.** Plasma glucose, niacin and urea-N content, respiratory frequency, and rectal temperature of dairy cows on treatments Control or Yeast

Item	Control	Yeast	SEM	<i>P</i> treat <sup>1</sup>	<i>P</i> time	<i>P</i> int
Glucose, mg/dL	57.3	62.9	1.13	0.09		
Niacin, µg/mL <sup>2</sup>	1.22	1.31	0.028	0.05	0.05	0.99
PUN, mg/dL	14.8	16.7	0.67	0.05	< 0.01	0.12
Breaths, min <sup>-1</sup>	56	48	2.2	0.02	< 0.01	0.14
Temp week 5, °C <sup>3</sup>	38.9	38.9	0.11	0.75	< 0.01	0.02
Temp week 9, °C <sup>3</sup>	38.2	38.1	0.08	0.51	< 0.01	0.97

<sup>1</sup>Probability values for treatment, time and interaction.

<sup>2</sup>Plasma niacin content 6 h post-feeding on days of weeks 5 and 9.

<sup>3</sup>Rectal temperature at 7 AM, 1 PM, and 7 PM during hot day (week 5) and cool day (week 9).

**Table 5.** Urinary allantoin excretion and total tract apparent digestibility of nutrients of dairy cows on treatments Control or Yeast

Item	Control	Yeast	SEM	<i>P</i>
Allantoin, mmoles/d	255	257	13.3	0.93
DMD, % of intake <sup>1</sup>	67.7	69.2	1.38	0.45
OMD, % of intake <sup>2</sup>	71.8	72.8	1.01	0.50
NDFD, % of intake <sup>3</sup>	44.0	44.7	2.37	0.83
Non-NDFOMD, % of intake <sup>4</sup>	90.2	91.3	0.88	0.41
StarchD, % of intake <sup>5</sup>	97.4	97.1	0.18	0.39

<sup>1</sup>Dry matter digestibility.

<sup>2</sup>Organic matter digestibility.

<sup>3</sup>Neutral detergent fiber (NDF) digestibility.

<sup>4</sup>Non-NDF organic matter digestibility.

<sup>5</sup>Starch digestibility.

**Table 6.** Ruminal VFA, lactate, pH, and protozoa of dairy cows on treatments Control or Yeast

Item	Control	Yeast	SEM	<i>P</i>
	% of total organic acids			
Acetate	58.4	63.6	3.28	0.28
Propionate	24.0	23.3	2.20	0.84
Butyrate	12.6	10.5	0.99	0.05
Isobutyrate	1.0	1.5	0.43	0.51
Lactate	4.1	2.2	0.44	0.02
Acetate/Propionate	2.75	2.95	0.27	0.61
pH	6.35	6.44	0.093	0.48
Protozoa, x 10 <sup>4</sup> /mL	17.6	18.0	0.72	0.62

**Table 7.** Chewing activity and intake pattern of dairy cows on treatments Control or Yeast

Item	Control	Yeast	SEM	<i>P</i>
Ingestion, min/d	284	286	24.9	0.97
Rumination, min/d	440	424	26.1	0.67
Chewing, min/d <sup>1</sup>	725	710	33.0	0.76
Ingestion, min/kg DMI	17.0	16.0	1.86	0.73
Rumination, min/kg DMI	25.4	23.7	1.27	0.35
Chewing, min/kg DMI	42.4	39.7	2.33	0.43
Meal size, min	24.3	26.6	1.44	0.27
Meals per day	11.7	10.7	0.54	0.21

<sup>1</sup>Chewing = Ingestion + Rumination.

**Table 8.** Dry matter intake, milk yield, as fed intake from 7 AM to 1PM (7-1 Intake), and acid-base balance of the jugular blood 6 h post-feeding on the last two days of week 10 (Per = Before) and during the three days of increased dietary starch content (Per = After), on treatments Control or Yeast

Item	Control		Yeast		SEM	P	P per	P int
	Before	After	Before	After				
DMI, kg/d	19.2	19.4	18.6	18.1	0.72	0.36	0.64	0.17
Milk, kg/d	22.7	23.1	24.7	25.3	1.08	0.19	0.13	0.84
7-1 Intake, kg	16.7	19.4	15.9	17.6	0.88	0.26	< 0.01	0.41
7-1 Intake, % <sup>2</sup>	32.3	39.2	30.8	37.9	1.49	0.43	< 0.01	0.90
pCO <sub>2</sub> , mm Hg	17.7	28.7	17.3	28.6	0.56	0.69	< 0.01	0.83
pO <sub>2</sub> , mm Hg	32.1	35.2	33.9	36.4	1.29	0.27	0.04	0.80
pH	7.34	7.31	7.36	7.34	0.008	< 0.01	0.03	0.80
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , mmol/L	9.6	14.7	9.7	15.2	0.35	0.42	< 0.01	0.58
Total CO <sub>2</sub> , mmol/L	10.2	15.4	10.2	16.1	0.36	0.37	< 0.01	0.42
Base excess, mmo/L <sup>3</sup>	-11.8 <sup>a</sup>	-9.6 <sup>b</sup>	-12.2 <sup>a</sup>	-7.5 <sup>c</sup>	0.66	0.15	< 0.01	0.09
SatO <sub>2</sub> , % <sup>4</sup>	57.7	61.4	59.8	66.2	2.13	0.14	0.02	0.51
O <sub>2</sub> ct, % <sup>5</sup>	13.2	14.1	14.1	14.9	0.52	0.13	0.11	0.99

<sup>1</sup> Probability value for treatment, period and interaction.

<sup>2</sup> % daily intake.

<sup>3</sup> Means were separated by pairwise t-test ( $P < 0.05$  for PDIFF option of PROC MIXED).

<sup>4</sup> % oxygen saturation of hemoglobin.

<sup>5</sup> % oxygen of the total volume.

(VERSÃO PRELIMINAR)