

**SUPLEMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS
COM *Saccharomyces cerevisiae* CEPA KA500**

BRUNO MENEZES LOPES DE OLIVEIRA

2008

BRUNO MENEZES LOPES DE OLIVEIRA

SUPLEMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS COM *Saccharomyces cerevisiae* CEPA KA500

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Mestrado em Ciências Veterinárias, área de concentração em Medicina da Produção de Bovinos Leiteiros, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof. Dr. Marcos Neves Pereira

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2008

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Oliveira, Bruno Menezes Lopes de.

Suplementação de vacas leiteiras com *Saccharomyces cerevisiae*
cepa KA500 / Bruno Menezes Lopes de Oliveira. – Lavras : UFLA,
2008.

52 p. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2008.

Orientador: Marcos Neves Pereira.

Bibliografia.

1. *Saccharomyces cerevisiae*. 2. Consumo. 3. Contagem de células
somáticas do leite. 4. Eficiência alimentar. I. Universidade Federal de
Lavras. II. Título.

CDD – 636.2342085

BRUNO MENEZES LOPES DE OLIVEIRA

SUPLEMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS COM *Saccharomyces cerevisiae* CEPA KA500

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Mestrado em Ciências Veterinárias, área de concentração em Medicina da Produção de Bovinos Leiteiros, para a obtenção do título de “Mestre”

APROVADA em 3 de agosto de 2008

Prof. Dr. Sandro César Salvador UFLA

Profa. Dra. Nadja Gomes Alves UFLA

Dra. Renata Apocalypse Nogueira Pereira Fazenda São Francisco

Prof. Dr. Marcos Neves Pereira
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

Aos meus pais, minha avó e minha irmã,

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida.

A minha mãe, Carmen Sylvia, pela educação, amor, paciência, carinho, companheirismo, compreensão, alegria e amizade.

Ao meu pai, Fernando, pelos ensinamentos de vida.

A minha avó, Maria Sylvia e minha irmã, Maria Fernanda, mulheres da minha vida.

Ao meu padrinho Carlos Reinaldo, minha tia Danielle e ao tio Fernando, por todo o carinho.

Ao meu orientador, professor Marcos Neves Pereira, pela valiosa orientação e pelo exemplo de profissional.

Aos membros da banca e amigos, Sandro, Nadja e Renata, pelos ensinamentos e atenção.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Medicina Veterinária, pela oportunidade de cursar o mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pelo apoio financeiro.

À Kera Nutrição Animal, pelo financiamento deste projeto.

Ao Flávio Neves Pereira e ao Prota, por estarem sempre dispostos a ajudar.

Ao Flávio Junqueira e ao Gustavo Andrade, pela amizade e exemplo profissional.

Aos integrantes do Grupo do Leite, pela colaboração na condução do experimento e pelas grandes amizades construídas.

Às vacas, do experimento e do mundo.

Aos colegas de pós-graduação, José Ricardo, Luciene, Flávio, Junio e Leandra, pela convivência ao longo desses anos e apoio nos estudos.

À Fazenda São Francisco, por meio de Renata Nogueira Pereira, pela ajuda e acolhimento.

Aos funcionários da Fazenda São Francisco, César, Alexandre, José Carlos e Daniel, pela amizade e parceria ao longo dos anos de residência na fazenda.

Ao amigo Marcos José dos Anjos, pelo exemplo de sinceridade e capacidade.

Aos amigos fazendeiros de Barbacena, por depositarem confiança em mim e pela amizade pessoal.

Aos meus amigos do peito, Gabriel, Marcelo e Sânzio.

Ao José Renato Monteiro pelas valiosas informações sobre leveduras.

A todos aqueles que torceram por mim.

MUITO OBRIGADO!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	i
ABSTRACT	ii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1 Mecanismos de ação.....	3
2.1.1 Contagem bacteriana ruminal	3
2.1.2 Anaerobiose ruminal	5
2.1.3 Concentração de lactato	6
2.1.4 pH ruminal.....	7
2.1.5 Digestibilidade	7
2.1.6 Perfil de fermentação ruminal.....	9
2.1.7 Concentração ruminal de amônia e fluxo de proteína para o intestino	11
2.2 Desempenho animal.....	12
2.2.1 Produção de leite.....	12
2.2.2 Consumo	13
2.2.3 Secreção de sólidos do leite.....	15
2.2.4 Efeitos sobre o sistema imune.....	16
2.2.5 Eficiência energética	24
3 MATERIAL E MÉTODOS	27
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
5 CONCLUSÕES	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42

RESUMO

OLIVEIRA, Bruno Menezes Lopes. **Suplementação de vacas leiteiras com *Saccharomyces cerevisiae* cepa KA500**. 2008. 52 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.¹

O desempenho e a eficiência digestiva de vacas leiteiras suplementadas com levedura viva cepa KA500 (Levumilk[®], Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, RS) foram avaliados. Vinte vacas Holandesas, com 144±70 dias, em lactação, formaram dez blocos, com base na produção diária de leite e foram aleatoriamente alocadas a uma seqüência de dois tratamentos, em delineamento de reversão simples, com períodos de 28 dias. Os tratamentos foram 10 g de levedura (2×10^{10} ufc/g) ou controle. Mensurações foram realizadas na quarta semana de cada período experimental. A composição das dietas foi (% da matéria seca): silagem de milho (45,0), feno de tifton (4,1) e concentrado a base de milho, polpa cítrica e farelo de soja (50,9). O teor de PB na dieta foi de 17,3% e o de FDN, 35,6%. O consumo diário de matéria seca foi de 21,3 kg, com levedura e 21,8 kg, no controle ($P=0,01$) e a produção de leite foi de 29,6 e de 29,3 kg, respectivamente ($P=0,45$). A eficiência de conversão do alimento consumido em leite foi de 1,37, com levedura e de 1,32, no controle ($P=0,05$). Não houve efeito da suplementação sobre as variáveis descrevendo a função ruminal ou a digestibilidade de nutrientes no trato digestivo total. A suplementação de levedura reduziu a contagem de células somáticas do leite de 302 para 190 mil células por mL ($P=0,02$). A levedura aumentou a eficiência alimentar e reduziu a contagem de células somáticas do leite.

¹**Comitê Orientador:** Prof. Marcos Neves Pereira – UFLA (Orientador), Prof. Sandro César Salvador – UFLA, Profa. Adriana de Souza Coutinho – UFLA.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Bruno Menezes Lopes. **Supplementation of dairy cows with *Saccharomyces cerevisiae* strain KA500**. 2008. 52 p. Dissertation (Master in Veterinary Science) – Federal University of Lavras, Lavras, MG.¹

The performance and digestive efficiency of dairy cows supplemented with live yeast strain KA500 (Levumilk[®], Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil) were evaluated. Twenty Holstein cows, with 144±70 days in lactation, formed ten blocks based on daily milk production and were randomly assigned to a sequence of two treatments, in a cross-over design, with 28-day periods. Treatments were: 10 g of yeast (2×10^{10} cfu/g) or control. Measurements were performed on the fourth week of each experimental period. The composition of the diets were (% of dry matter): corn silage (45.0), tifton hay (4.1) and a corn, citrus pulp, soybean meal based concentrate (50.9). Dietary CP content was 17.3% and NDF was 35.6%. The daily intake of dry matter was 21.3 kg with yeast and 21.8 kg for the control ($P=0.01$) and milk yield was 29.6 and 29.3 kg, respectively ($P=0.45$). The efficiency of conversion of the consumed feed into milk was 1.37 with yeast and 1.32 for the control ($P=0.05$). There was no effect of the supplementation on variables describing the rumen function or the total tract digestibility of nutrients. The supplementation of yeast reduced the milk somatic cell count from 302 to 190 thousand cells per ml ($P=0.02$). The yeast increased feed efficiency and reduced milk somatic cell count.

¹**Guidance Committee:** Prof. Marcos Neves Pereira – UFLA (Advisor), Prof. Sandro César Salvador – UFLA, Prof^a Adriana de Souza Coutinho – UFLA.

1 INTRODUÇÃO

A levedura *Saccharomyces cerevisiae*, um microrganismo muito explorado industrialmente, é amplamente utilizada na panificação, na fermentação de bebidas e na produção de álcool (Inglede, 1999). Leveduras também estão naturalmente presentes no rúmen, porém, em teor inferior a 1.000 células por ml de fluido e de maneira transitória; nenhuma das espécies isoladas é de *Saccharomyces cerevisiae* (Lund, 1974). A temperatura do ambiente ruminal não favorece o crescimento das leveduras, ótimo ao redor de 25°C, sendo estas constantemente introduzidas no rúmen com a dieta.

A utilização de leveduras como alimento para ruminantes tem o primeiro relato para vacas leiteiras em 1925, utilizada como suplemento protéico (Eckles & Williams, 1925). Entretanto, se considera que os efeitos desejáveis da suplementação com cepas de *Aspergillus* e *Saccharomyces* podem ser obtidos com baixas inclusões na dieta, não pela sua contribuição como fonte dietética de nutrientes, mas por seus efeitos benéficos sobre o metabolismo animal (Wallace, 1994). Hutjens (2005) relatou que, em 1983, cerca de 17% dos rebanhos leiteiros norte-americanos suplementavam levedura, enquanto que, em 1992, este valor era ao redor de 51%.

Leveduras podem ser consideradas promotores não químicos da utilização de nutrientes e do desempenho animal (Newbold et al., 1996; Bitencourt et al., 2008), sendo também capazes de estimular a resposta imune (Franklin et al., 2005), coerente com a tendência naturalista do mercado consumidor. A resposta à suplementação de vacas leiteiras com *Saccharomyces cerevisiae* tem sido variável, provavelmente em decorrência da diversidade nas cepas (Newbold et al., 1995) e nos níveis de suplementação, no estágio de

lactação e potencial produtivo dos animais e na composição das dietas fornecidas (Williams et al., 1991; Adams et al., 1995).

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito da suplementação de *Saccharomyces cerevisiae* cepa KA500 (Levumilk[®], Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, RS) sobre o desempenho e a eficiência alimentar de vacas leiteiras alimentadas com silagem de milho, alta inclusão de polpa cítrica peletizada e baixo teor de amido de milho oriundo do concentrado. A substituição parcial de milho por polpa cítrica no concentrado se justifica pela alta disponibilidade desse subproduto fibroso da citricultura no país e por seu impacto normalmente positivo sobre a eficiência financeira da produção de leite (Salvador et al., no prelo). A utilização da silagem de milho se justifica por ser a forrageira prevalente nas fazendas brasileiras adotando vacas de alta produção leiteira (Milkpoint, 2007).

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Mecanismos de ação

2.1.1 Contagem bacteriana ruminal

Segundo Wallace (1996), a suplementação com levedura pode afetar a fermentação ruminal, tanto *in vivo* como *in vitro*, por estimular a contagem de bactérias viáveis totais do rúmen, freqüentemente associada a aumento na contagem de bactérias celulolíticas e utilizadoras de ácido lático. A cultura de levedura poderia melhorar as condições para o crescimento das bactérias ruminais, desencadeando uma seqüência de eventos capazes de culminar em aumento do desempenho animal.

Alguns mecanismos têm sido propostos para explicar os efeitos estimulatórios da suplementação com *Saccharomyces cerevisiae* sobre as bactérias ruminais. O fornecimento de nutrientes ou cofatores presentes na levedura estimulariam a atividade microbiana (Rose, 1987). Dawson & Girard (1997) identificaram pequenos peptídeos capazes de estimular o crescimento de *Ruminococcus albus*. Segundo estes autores, esses peptídeos atuariam como desencadeadores metabólicos, iniciando a transição da fase estacionária para a fase exponencial de crescimento das bactérias ruminais, sugerindo que esses compostos seriam nutrientes limitantes ao crescimento bacteriano.

Wiedmeier et al. (1987), utilizando quatro vacas não gestantes e não lactantes com fístulas ruminais, observaram aumento de, aproximadamente, 40% na contagem de bactérias celulolíticas (25 vs. 39,8 x 10⁸/mL) no rúmen dos animais suplementados com 90 gramas de cultura de levedura morta (Diamond V XP[®], 2,4 x 10⁶ ufc de *Saccharomyces cerevisiae*; Diamond V Mills, Inc, Indianápolis, EUA).

Harrison et al. (1988) também utilizaram 114 g do mesmo produto e observaram tendência de aumento na contagem bacteriana total e aumento significativo no número de bactérias celulolíticas no rúmen dos animais suplementados. Foram utilizadas seis vacas fistuladas, recebendo dieta composta por 40% de forragem e 60% de concentrados.

Similarmente, Dawson et al. (1990) observaram que a concentração de bactérias celulolíticas *in vitro* e no rúmen de garrotes recebendo cultura de levedura viva (Yea-Sacc[®], 5×10^9 ufc de *Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026; Alltech, Nicholasville, EUA) foi de 5 a 40 vezes maior do que nos animais não suplementados. As dietas foram compostas por 77,5% de feno de baixa digestibilidade, 8,5% de farelo de soja, 7,9% de milho moído e 5,0% de melaço.

Newbold et al. (1995) compararam os efeitos das cepas 240, 694, 1026 e 1088 de *Saccharomyces cerevisiae* e do produto comercial Yea-Sacc[®] sobre a microbiota ruminal de ovelhas e, concomitantemente, avaliaram estes microrganismo *in vitro*, em um simulador de fermentação ruminal (Rusitec). As cepas 240, 1026 e Yea-Sacc[®] estimularam a população bacteriana total e celulolítica no Rusitec em mais de 35%, enquanto as cepas 694 e 1088 não exerceram efeito sobre a contagem bacteriana. As três cepas que estimularam as bactérias no simulador de fermentação foram avaliadas *in vivo*, por suplementação diária de 2 g. Foram utilizadas quatro ovelhas com fístulas ruminais, alimentadas com 1,5 kg da mesma dieta utilizada no Rusitec, composta por 50% de forragens e 50% de concentrados. Comparativamente ao grupo controle, todos os tratamentos estimularam a população total e celulolítica, entretanto, a estimulação só foi estatisticamente significativa para a contagem de bactérias totais com a cepa 1026 e, para a contagem das bactérias celulolíticas, com a cepa 240. O trabalho desses autores sugere que diferentes cepas podem diferir em seu efeito sobre a contagem de bactérias ruminais.

Além do possível efeito da *Saccharomyces cerevisiae* sobre o aumento da população de bactérias totais e celulolíticas do rúmen, existe, ainda, o relato do efeito benéfico sobre a população de bactérias proteolíticas (Yoon & Stern, 1996) e bactérias capazes de converter hidrogênio em acetato, teoricamente capazes de reduzir a perda energética na forma de metano (Chaucheyras et al., 1995). A habilidade da cultura de levedura de estimular grupos específicos de bactérias ruminais pode explicar parte dos benefícios observados nos animais suplementados.

2.1.2 Anaerobiose ruminal

Outro mecanismo proposto para explicar o efeito positivo de leveduras sobre as bactérias ruminais seria a capacidade de controlar o teor de oxigênio no ambiente ruminal. Mais de 99% das bactérias ruminais são estritamente anaeróbias, não tolerando pequenas quantidades de oxigênio. Traços de oxigênio entrando no rúmen podem ser prejudiciais à fermentação (Wallace, 1996). Apesar de o rúmen ser considerado um ambiente anaeróbico, existe a entrada de O₂ pela saliva e pela água ingerida, porém, esta é menor que 100 mL/dia, enquanto a difusão de O₂ da circulação para o rúmen é ao redor de 10-20 L/dia (Czerkawski, 1986). A presença de O₂ no rúmen também pode prejudicar a adesão de bactérias celulolíticas ao substrato (Roger et al., 1990).

A avaliação da capacidade respiratória de diferentes cepas de levedura demonstrou que existe correlação entre a atividade respiratória da cepa e a sua habilidade em estimular o aumento de bactérias ruminais totais e celulolíticas (Newbold et al., 1996). Foram avaliadas as cepas 240 e 1026 da *Saccharomyces cerevisiae* com atividade respiratória e as mesmas cepas sem a capacidade respiratória, em relação ao grupo controle, sem levedura. As cepas com atividade respiratória induziram aumento superior a 20 vezes na população de bactérias celulolíticas ruminais.

2.1.3 Concentração de lactato

A *Saccharomyces cerevisiae* não utiliza lactato (Panchal et al., 1984), mas pode reduzir o teor deste no rúmen, ao competir com bactérias produtoras de lactato por moléculas de alta fermentabilidade ruminal, ou por estímulo da população de bactérias utilizadoras de lactato (Chaucheyras et al., 1996).

Williams et al. (1991) relataram menor concentração de lactato no fluido ruminal (3,55 vs. 1,43 mM) de garrotes suplementados com 7,5 gramas de cultura de levedura (Yea-Sacc[®], 5×10^9 ufc de *Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026; Alltech, Nicholasville, EUA). Nos animais não suplementados, a concentração de lactato no rúmen atingiu 7,75 mM, duas horas após a alimentação composta por feno e cevada em iguais proporções. Já nos animais suplementados, a concentração ruminal foi uniforme ao longo do dia. A concentração de lactato no rúmen tendeu a diminuir de 1,63 para 1,40 mM quando se utilizaram 10 gramas da mesma cultura de levedura viva em outro estudo (Erasmus et al., 1992). Similarmente, foi observado menor pico no teor deste ácido no rúmen (1,93 vs. 1,73 mM). A dieta foi composta por 25% de palha de trigo, 10% de feno de alfafa, 10% de grãos de sorgo, 32,8% de grãos de milho, 10% de torta de girassol, 5% de farinha de peixe, 5% de melão e minerais.

Nisbet & Martin (1991) demonstraram que extrato de levedura autoclavado (Yea-Sacc[®], 5×10^9 ufc de *Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026; Alltech, Nicholasville, EUA) estimulou a utilização de lactato *in vitro* pela *Selenomonas ruminantium*. Quando a levedura autoclavada foi adicionada ao meio contendo lactato e na ausência da *Selenomonas ruminantium*, não houve metabolização do ácido láctico. O fator responsável pela estimulação das bactérias utilizadoras de lactato poderiam ser ácidos dicarboxílicos, particularmente o ácido málico, que seriam fornecidos pela levedura. No entanto, Newbold et al. (1996) argumentam que o mecanismo envolvendo ácidos

dicarboxílicos é pouco provável, pois a quantidade necessária desses ácidos no fluído ruminal deveria ser muitas vezes superior ao potencialmente fornecido pelas leveduras.

2.1.4 pH ruminal

Um mecanismo pelo qual as leveduras atuariam no rúmen seria por estabilização do pH. Entretanto, na maioria das vezes, o efeito da suplementação com leveduras sobre o pH ruminal é pequeno ou não ocorre (Wallace & Newbold, 1992).

Dawson et al. (1990) não detectaram resposta em pH ruminal de garrotes alimentados com dietas baseadas em feno à suplementação com levedura (Yea-Sacc[®], 5×10^9 ufc de *Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026; Alltech, Nicholasville, EUA), mas este tendeu a ser maior (6,50 vs. 6,36) em culturas *in vitro* que tiveram a adição da levedura. Em garrotes suplementados com 7,5 gramas da mesma levedura, foi observado aumento no pH ruminal, durante as 4 horas seguintes à alimentação com feno e cevada. Segundo os autores, este aumento ocorreu devido às menores concentrações de lactato observadas no rúmen dos animais suplementados (Williams et al., 1991).

Foi observada redução no pH ruminal de vacas suplementadas com 114 g de levedura (Diamond V XP[®], $2,4 \times 10^6$ ufc de *Saccharomyces cerevisiae*; Diamond V Mills, Inc, Indianápolis, EUA). Os animais foram alimentados com uma dieta composta por 40% de forragem e 60% de concentrados, mas, segundo os autores, a razão para este achado não pôde ser elucidada (Harrison et al., 1988).

2.1.5 Digestibilidade

O aumento no crescimento microbiano no rúmen induzido por leveduras seria teoricamente benéfico aos processos digestivos, refletindo em ganho na

digestibilidade dos nutrientes. Apesar da digestão total da matéria seca não ser drasticamente alterada, tem sido observado aumento na taxa inicial de digestão quando leveduras são suplementadas (Dawson, 2000).

Wiedmeier et al. (1987) relataram aumento de 6,5% na digestibilidade da hemicelulose em vacas não lactantes, com fístulas ruminais, suplementadas com 90 gramas de levedura (Diamond V XP[®], $2,4 \times 10^6$ ufc de *Saccharomyces cerevisiae*; Diamond V Mills, Inc, Indianápolis, EUA). Esta maior digestibilidade dos carboidratos fibrosos foi coerente com o aumento na quantidade de microorganismos celulolíticos no fluido ruminal dos animais que receberam a levedura.

Williams et al. (1991) demonstraram que a adição de 10 gramas de levedura (Yea-Sacc[®], 5×10^9 ufc de *Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026; Alltech, Nicholasville, EUA) aumentou a taxa inicial de digestão da fibra. Foram utilizadas dietas com relação entre forragens e concentrados de 50:50 ou 40:60. O efeito positivo da levedura sobre a digestão da fibra no rúmen foi mais marcado na dieta com maior teor de concentrados, aquela teoricamente de maior potencial acidogênico.

O benefício da suplementação com leveduras parece não se restringir a dietas com elevados teores de concentrados. Olson et al. (1994) observaram aumento na digestibilidade *in situ* da FDN em garrotes criados exclusivamente a pasto e suplementados com 28,4 gramas de cultura de levedura (Diamond V XP[®], $2,4 \times 10^6$ ufc de *Saccharomyces cerevisiae*; Diamond V Mills, Inc, Indianápolis, EUA). O impacto da levedura sobre a digestibilidade da forragem aumentou com o avançar do estágio de maturação da planta. Segundo os autores, a suplementação estaria aliviando a perda em digestibilidade dos nutrientes em estádios de maior maturidade fisiológica das forragens. Entretanto, não foi detectado ganho em digestibilidade de nutrientes com a suplementação diária de 90 g do mesmo produto para 20 vacas em início de lactação, produzindo 41 kg

de leite e consumindo dieta à base de feno e silagem de alfafa, silagem de milho e concentrados (Arambel & Kent, 1990).

2.1.6 Perfil de fermentação ruminal

Tem sido argumentado que o efeito benéfico das leveduras sobre a fermentação ruminal seria decorrente da menor variação ao longo do dia na concentração ruminal de amônia e de ácidos graxos voláteis e na contagem bacteriana (Harrison et al., 1988). Porém, Wallace (1996) enfatiza que esta é uma explicação demasiadamente simplista e de difícil quantificação.

Devido ao efeito positivo das leveduras sobre as bactérias celulolíticas do rúmen, é de se esperar aumento na relação entre acetato e propionato no fluido. Wiedmeier et al. (1987) relataram que o aumento observado na digestibilidade da fibra, em vacas não lactantes suplementadas com 90 g de cultura de levedura (Diamond V XP[®], $2,4 \times 10^6$ ufc de *Saccharomyces cerevisiae*; Diamond V Mills, Inc, Indianápolis, EUA), foi associado à tendência de aumento na relação entre acetato e propionato no fluido ruminal. Resultados semelhantes foram obtidos por Piva et al. (1993), ao detectarem tendência de aumento na concentração ruminal de acetato e na relação entre acetato e propionato (2,82 vs. 2,55), quando suplementaram vacas leiteiras com 10 g de levedura (Thepax Dry[®], 10×10^9 ufc/g de *Saccharomyces cerevisiae*; Dox-Al, Correzzana, Itália). Foram utilizadas 24 vacas em estágio intermediário da lactação, consumindo dieta com 52% de forragem e 48% de concentrados.

Entretanto, existem vários relatos de queda na relação entre acetato e propionato, quando leveduras são suplementadas. Nisbet & Martin (1991) avaliaram o efeito *in vitro* da inclusão de 2% ou 5% de extrato aquoso de cultura de levedura (Yea-Sacc[®], 5×10^9 ufc de *Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026; Alltech, Nicholasville, EUA). A inclusão da levedura aumentou a concentração de propionato e tendeu a aumentar a concentração de acetato no meio de cultura.

Como o aumento na concentração de propionato foi maior que o aumento na concentração de acetato, foi observada menor relação entre acetato e propionato nos dois níveis de inclusão da levedura.

Williams et al. (1991) trabalharam com três garrotes recebendo dieta composta por 50% de cevada, oferecida em duas alimentações diárias e 50% de feno, disponível ao longo do dia. A concentração total de AGV no rúmen dos animais suplementados com 7,5 g de cultura de levedura (Yea-Sacc[®], 5×10^9 ufc de *Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026; Alltech, Nicholasville, EUA) foi similar ao controle, mas a relação entre acetato e propionato foi reduzida de 3,3 para 2,8 com a suplementação.

Harrison et al. (1988) utilizaram seis vacas fistuladas recebendo uma dieta composta por 40% de forragem e 60% de concentrado. A suplementação com 114 g de cultura de levedura (Diamond V XP[®], $2,4 \times 10^6$ ufc de *Saccharomyces cerevisiae*; Diamond V Mills, Inc, Indianápolis, EUA) diminuiu a proporção molar de acetato e aumentou a proporção molar de propionato, resultando em menor relação entre acetato e propionato no fluido ruminal, nos animais suplementados. A concentração total de ácidos graxos voláteis não foi diferente entre os tratamentos.

Chaucheyras et al. (1995) demonstraram, *in vitro*, o efeito da adição da *Saccharomyces cerevisiae* (cepa CNCM I-1077) sobre a utilização de hidrogênio e a produção de acetato e metano pelos microrganismos ruminais. Na ausência da levedura, em uma cocultura contendo bactérias acetogênicas e metanogênicas, o hidrogênio foi utilizado principalmente para síntese de metano. Já na presença da levedura, houve estímulo da utilização de hidrogênio por bactérias acetogênicas hidrogeniotróficas, aumentando a síntese de acetato. A adição de leveduras vivas ou mesmo autoclavadas aumentou em mais de cinco vezes a utilização de hidrogênio e a produção de acetato das bactérias acetogênicas. A suplementação com leveduras pode reduzir a perda energética

na forma de metano, sem induzir queda na relação entre acetato e propionato, própria dos ionóforos (Schelling, 1984).

2.1.7 Concentração ruminal de amônia e fluxo de proteína para o intestino

A suplementação com cultura de levedura poderia atuar positivamente sobre o metabolismo do nitrogênio no rúmen. O aumento na contagem de bactérias ruminais poderia resultar em maior incorporação de compostos nitrogenados pelas bactérias, resultando em menor concentração ruminal de amônia e maior fluxo de proteína microbiana para o intestino.

Erasmus et al. (1992), trabalhando com seis vacas lactantes com fístulas ruminais e duodenais, consumindo dietas com 35% de forragem, demonstraram que a suplementação de 10 g de cultura de levedura (Yea-Sacc[®], 5×10^9 ufc de *Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026; Alltech, Nicholasville, EUA) resultou em menor concentração ruminal de amônia e aumento de 38 g no fluxo diário de nitrogênio microbiano para o intestino.

Harrison et al. (1988) relataram que vacas suplementadas com 114 g de cultura de levedura (Diamond V XP[®], $2,4 \times 10^6$ ufc de *Saccharomyces cerevisiae*; Diamond V Mills, Inc, Indianápolis, EUA) tenderam a apresentar menor concentração ruminal de amônia. As vacas receberam dieta composta por 40% de forragem e 60% de concentrado. A suplementação com levedura aumentou o número de bactérias ruminais totais e celulolíticas.

Entretanto, Putnan et al. (1997) não observaram resposta em fluxo de nitrogênio para o intestino quando oito vacas primíparas canuladas no duodeno foram suplementadas com 10 g de cultura de levedura (Yea-Sacc[®], 5×10^9 ufc de *Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026; Alltech, Nicholasville, EUA). Também não foi observada diferença na concentração de amônia *in vitro* e nem no rúmen de 12 garrotes suplementados com a mesma cultura de levedura e alimentados

com dieta composta por 77,5% de feno de baixa digestibilidade, 8,5% de farelo de soja, 7,9% de milho moído e 5,0% de melaço (Dawson et al., 1990).

2.2 Desempenho animal

2.2.1 Produção de leite

Resposta positiva em produção de leite à suplementação com leveduras tem sido observada (Gunter, 1989; Williams et al., 1991; Wohlt et al., 1991; Piva et al., 1993; Adams et al., 1995; Putnan et al., 1997; Wohlt et al., 1998; Bitencourt et al., 2008). Wohlt et al. (1998) avaliaram a suplementação diária de vacas leiteiras com 0, 10 ou 20 g de leveduras (Biomate Yeast Plus[®], 5×10^9 ufc de *Saccharomyces cerevisiae*; Chr. Hansen's Laboratory Inc., Milwaukee, EUA) e observaram aumento linear na produção de leite nas semanas 5 a 18 da lactação. A produção foi de 39,2 kg no controle, 42,0 kg nos animais suplementados com 10 g, e 43,0 kg naqueles suplementados com 20 g. O aumento na produção de leite foi condizente com o maior consumo de alimentos nos animais que receberam a suplementação. Entretanto, Piva et al. (1993) detectaram aumento de 25,4 para 26,2 kg na produção diária de leite de vacas em estágio intermediário da lactação, sem aumento simultâneo no consumo de matéria seca. Os autores suplementaram uma dieta contendo 52% de forragem e 48% de concentrados com 10 g de levedura (Thepax Dry[®], 10×10^9 ufc/g de *Saccharomyces cerevisiae*; Dox-Al, Correzzana, Itália). Estes resultados sugerem que a resposta produtiva à suplementação com leveduras poderia ser mediada por maior consumo ou por melhor utilização de nutrientes.

A suplementação de 10 g de cultura de levedura (Yea-Sacc[®], 5×10^9 ufc de *Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026; Alltech, Nicholasville, EUA) induziu aumento de 8,4% na produção de leite de vacas consumindo silagens de milho e de gramínea e concentrados (Gunter, 1989). Esta resposta foi observada quando

100 vacas receberam a suplementação nos primeiros 150 dias da lactação, induzindo aumento de 28,7 para 31,1 kg na produção diária de leite.

Adams et al. (1995) avaliaram o efeito da suplementação com leveduras (Yea-Sacc[®], 5×10^9 ufc de *Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026; Alltech, Nicholasville, EUA) em dietas que variaram quanto ao volumoso utilizado. Quatro dietas foram formuladas, uma com 45% de silagem de milho na matéria seca total e outras com 33,8% de silagem de milho e 11,2% de feno de alfafa, ou o mesmo teor dietético de feno de capim-bermuda ou caroço de algodão. Houve interação entre a levedura e a dieta. Apenas na dieta contendo alfafa os animais produziram 2,7 kg a mais de leite que o controle não suplementado, sugerindo que a resposta à suplementação pode ser determinada pelo tipo de volumoso.

Entretanto, alguns trabalhos não demonstraram efeito benéfico da utilização da *Saccharomyces cerevisiae* sobre a produção de leite (Erdman & Sharma, 1989; Arambel & Kent, 1990; Swartz et al., 1994; Soder & Holden, 1999; Dann et al., 2000). No estudo conduzido por Swartz et al. (1994), envolvendo sete fazendas comerciais e 306 vacas em estágio inicial da lactação, não foi detectada resposta em produção de leite quando duas cepas de *Saccharomyces cerevisiae* foram suplementadas (Cell-con[®] e 2x-2-2-5[®]; Western Yeast Company, Chillicothe, EUA).

2.2.2 Consumo

Existem relatos de resposta positiva em consumo de matéria seca à suplementação com *Saccharomyces cerevisiae* (Malcolm & Kiesling, 1990; Williams et al., 1991; Wohlt et al., 1991; Erasmus et al., 1992; Adams et al., 1995; Putnan et al., 1997; Dann et al., 2000; Lesmeister et al., 2004; Bitencourt et al., 2008). Williams et al. (1991) observaram que a suplementação de vacas em estágio intermediário da lactação com 10 g de levedura (Yea-Sacc[®], 5×10^9 ufc de *Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026; Alltech, Nicholasville, EUA)

aumentou o consumo diário de matéria seca em 1,2 kg. As dietas foram compostas por feno de gramínea, palha de trigo, farelo de soja, farinha de peixe e melação. Dann et al. (2000) também observaram resposta positiva em consumo, quando suplementaram leveduras para vacas leiteiras antes e após o parto (Diamond V XP[®], $2,4 \times 10^6$ ufc de *Saccharomyces cerevisiae*; Diamond V Mills, Inc, Indianápolis, EUA). Estes autores observaram aumento de 2,1 kg no consumo nos sete últimos dias de gestação e de 1,6 kg nos primeiros 42 dias da lactação. Um possível mecanismo para o maior consumo quando se suplementa leveduras seria por indução de ganho em digestão da fibra (Bitencourt et al., 2008).

Entretanto, nem sempre se observa resposta em consumo à suplementação com leveduras (Harrison et al., 1988; Erdman & Sharma, 1989; Piva et al., 1993; Swartz et al., 1994; Kung Jr. et al., 1997; Soder & Holden, 1999). Soder & Holden (1999) não detectaram resposta em consumo à suplementação de 36 vacas multíparas e 12 primíparas, por 28 dias antes do parto previsto e 13 semanas da lactação subsequente com 20 g de levedura (Biomate Yeast Plus[®], 5×10^9 ufc de *Saccharomyces cerevisiae*; Chr. Hansen's Laboratory Inc., Milwaukee, EUA). Erdman & Sharma (1989) suplementaram leveduras para vacas em estágio intermediário da lactação e consumindo dieta com 40% de silagem de milho e 60% de concentrados. A inclusão de levedura foi 1% da matéria seca dietética (Diamond V XP[®], $2,4 \times 10^6$ ufc de *Saccharomyces cerevisiae*; Diamond V Mills, Inc, Indianápolis, EUA), em arranjo fatorial de tratamentos com ou sem a adição de 0,75% de bicarbonato de sódio. Não houve efeito de qualquer dos fatores sobre o consumo dos animais.

Existem relatos em que a levedura induziu queda no consumo de matéria seca. Harris Jr. et al. (1992) trabalharam com 36 vacas em início e no meio de lactação, consumindo dieta composta por 50% de silagem de milho, 28% de milho, 11% de farelo de soja e 8% de soja grão. Foi observada queda no

consumo de matéria seca de 22,9 kg para 22,0 kg, quando foram suplementadas 57 g de cultura de levedura (Diamond V XP[®], $2,4 \times 10^6$ ufc de *Saccharomyces cerevisiae*; Diamond V Mills, Inc, Indianápolis, EUA). Entretanto, o menor consumo de matéria seca não foi acompanhado por queda na produção de leite dos animais. Schingoethe et al. (2004) também observaram redução numérica de 1 kg no consumo de matéria seca e maior eficiência de conversão do alimento consumido em energia no leite quando vacas foram suplementadas com 60 g desta mesma cultura de levedura.

2.2.3 Secreção de sólidos do leite

Apesar da resposta em sólidos ser possível à suplementação com leveduras, esta parece ser inconsistente e de difícil predição quanto à direção. Leveduras normalmente não afetam o teor ou a produção diária de sólidos no leite (Arambel & Kent, 1990; Williams et al., 1991; Wohlt et al., 1991; Smith et al., 1993; Swartz et al., 1994; Soder & Holden, 1999; Dann et al., 2000). A suplementação de vacas leiteiras com 10 gramas de levedura (*Saccharomyces cerevisiae* cepa CNCM I-1077; Lallemand, Toulouse, França) resultou em aumento na produção diária de proteína de 0,884 para 0,919 kg e na de lactose de 1,212 para 1,265 kg, e não teve efeito sobre a produção diária de gordura (Bitencourt et al., 2008). Adams et al. (1995) observaram que 10 g de cultura de levedura (Yea-Sacc[®], 5×10^9 ufc de *Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026; Alltech, Nicholasville, EUA) reduziu o teor de proteína no leite de 3,17 para 3,01 e aumentou numericamente o teor de gordura de 3,45 para 3,60. Em um ensaio posterior, envolvendo 229 vacas suplementadas por dois meses, estes mesmos autores encontraram aumento significativo no teor de gordura do leite de 3,37 para 3,51, utilizando a mesma cepa de levedura.

2.2.4 Efeitos sobre o sistema imune

Tem sido sugerido que componentes da parede celular da levedura seriam os responsáveis pela ação local e sistêmica das leveduras sobre o sistema imune. A parede celular compreende de 15% a 30% do peso seco da levedura, sendo constituída por um conjunto de oligossacarídeos denominados genericamente de mananoligossacarídeos (MOS). A composição dos MOS pode variar de acordo com a cepa, as condições de cultivo e a idade da cultura, mas, geralmente, corresponde a 30% a 50% de β -(1,3) glucanos, 10% de β -(1,6) glucanos, de 25% a 50% de mananas e de 1% a 3% de quitina (Lipke & Ovalle, 1998). As mananas são polímeros de manose e são encontradas na parte externa da parede celular; já os glucanos são polímeros de glucose e estão localizados no interior da parede celular da levedura.

Muitas bactérias enteropatogênicas apresentam sítios de ligação em sua superfície chamados de lectinas, envolvidos diretamente na infecção gastrointestinal, pois são responsáveis pela aderência destas bactérias à fração rica em açúcares das células intestinais, conhecida como glicocálix. Existem lectinas específicas para açúcares como galactose e frutose, mas as lectinas predominantes nos patógenos intestinais são específicas para manose. Os MOS atuam como uma fonte para adesão de bactérias patogênicas, que assim são divergidas da parede intestinal. Uma vez que os MOS não são degradados por enzimas digestivas de origem não microbiana, estes têm a capacidade de carrear microrganismos patogênicos ao longo das porções não fermentativas do trato digestivo (Newman, 1994).

A capacidade de ligação das lectinas bacterianas ao MOS (Bio-Mos[®]; Alltech, Nicholasville, EUA) foi mensurada em testes de aglutinação *in vitro*. Foram avaliadas 258 cepas patogênicas de quatro gêneros de bactérias (*Escherichia*, *Salmonella*, *Clostridium* e *Campylobacter*). Em média, 56% das cepas apresentaram adesão ao MOS, demonstrando a eficácia desse componente

da parede celular da levedura de se ligar a patógenos intestinais (Kogan & Kocher, 2007).

A formação de complexos entre a levedura e a bactéria também atuaria aumentando a resposta imune dos animais. Moran (2004) demonstrou que MOS foram capazes de estimular a fagocitose na superfície intestinal. Parecem existir receptores para manose expressos em células do sistema imune, como nos macrófagos na submucosa intestinal. Estes receptores para manose podem estar envolvidos no reconhecimento microbiano e na fagocitose, na ausência de uma opsonização específica, pois o macrófago não reconheceria a bactéria isolada, mas o complexo formado pela levedura e a bactéria, por meio da manose da parede celular da levedura. Portanto, a ativação de células imunes pelo MOS da levedura poderia facilitar o processamento de antígenos e serve como estímulo nos estágios iniciais da resposta imune.

Dentro dos MOS, os β -glucanos têm se destacado por terem demonstrado importante função imunoestimulatória, pois são promotores da ativação inespecífica do sistema imune, sendo efetivos na prevenção de infecções pela estimulação dos macrófagos e neutrófilos (Chagoyán et al., 2002). Por meio de citometria de fluxo das placas de Peyer, Rice et al. (2005) demonstraram que, após a sua administração oral, os β -glucanos são internalizados pelas células M do epitélio intestinal, podendo passar para a circulação sanguínea. Estes mesmos autores demonstraram a maior sobrevivência de ratos nos quais houve administração oral desses compostos e desafio com *Staphylococcus aureus* por via intravenosa. A administração oral de β -glucanos resultou em 50% de sobrevivências dos ratos, enquanto que, nos ratos do grupo controle, a mortalidade foi de 100%, ao sexto dia. A internalização dos β -glucanos pelas células gastrintestinais foi suficiente para proteger estes animais da exposição às bactérias patogênicas. Esses dados

demonstram que os derivados solúveis da levedura podem atuar sistemicamente e ser úteis na prevenção e ou no tratamento de doenças.

Os glucanos possuem a habilidade de estimular o sistema imune dos mamíferos, especialmente por meio de respostas inflamatórias. Este mecanismo de estimulação inflamatória envolve receptores específicos de glucanos presentes nos macrófagos, conhecidos como TLR2, desencadeando uma cascata de eventos imunológicos (Dawson, 2002). A ativação dos macrófagos pelos β -glucanos aumenta seu tamanho e número, estimulando a secreção de citocinas, aumentando a fagocitose de antígenos e ativando, de maneira inespecífica, o sistema imunológico (Moran, 2004).

Sabe-se que o intestino é o maior órgão imunológico do animal; pelo menos 25% da mucosa intestinal é composta por tecido linfóide. Estima-se que 70% do sistema imunológico do corpo esteja localizado no intestino (Johnson, 1987). O termo tecido linfóide, associado ao intestino (TLAI ou, GALT em inglês), é empregado, de modo geral, para definir todo o tecido linfóide, nódulos, placas de Peyer e linfócitos individuais encontrados na parede intestinal. A importância do TLAI está no fato de os intestinos constituírem uma importante via de entrada de antígenos no corpo (Tizard, 1998).

Placas de Peyer de suínos suplementados com *Saccharomyces cerevisiae* apresentaram atividade aumentada (Chagoyán et al., 2002). Isto condiz com os possíveis efeitos imunoestimulantes observados em animais suplementados com leveduras. As placas de Peyer são massas de linfócitos dispostas em folículos e cobertas por células epiteliais especializadas, chamadas de células M, que são responsáveis por absorverem os antígenos do lúmen intestinal e apresentá-los diretamente aos linfócitos intra-epiteliais (células B IgA+), que irão migrar, através dos vasos linfáticos intestinais, para os linfonodos regionais, onde alcançam o ducto torácico e a circulação sanguínea, para posterior sedimentação em outros locais (Tizard, 1998). Este mecanismo de migração de células do

sistema imune, não apenas para o órgão onde ocorreu o estímulo, mas também para outros locais, é conhecido como sistema imune comum de mucosas (Figura 1). Neste sistema, as superfícies mucosas compartilham uma ligação comum, descrita, pela primeira vez, no final da década de 1970 (McDermott & Bienenstock, 1979). O efeito mais comumente observado seria o da exposição do sistema imune intestinal aos diversos antígenos orais, com o aparecimento de células reativas em outras mucosas, como trato respiratório, urogenital e glândula mamária (Perdigón et al., 1999).

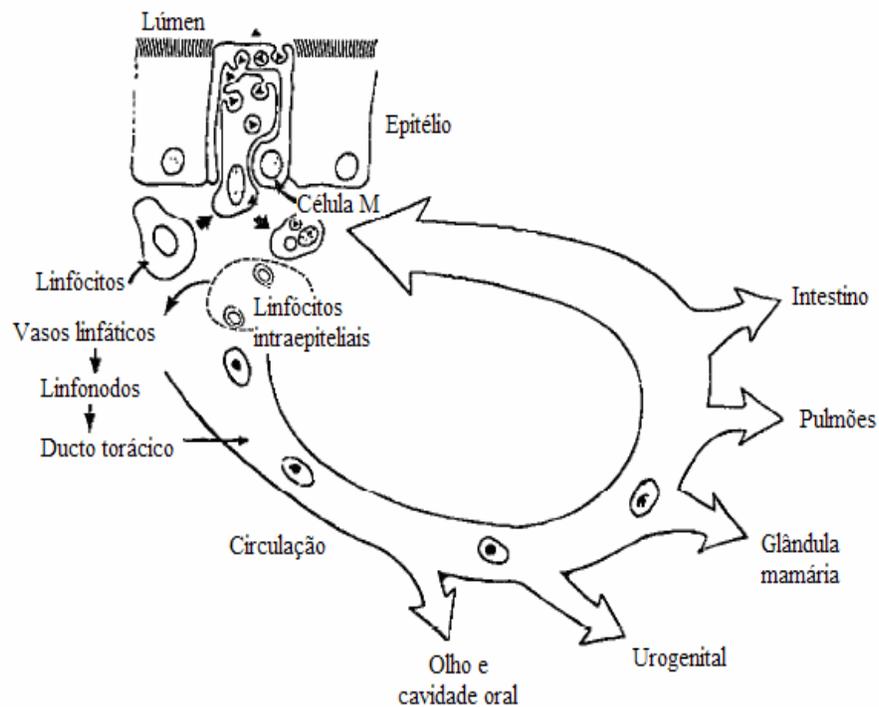


FIGURA 1. Sistema imune comum de mucosas (adaptado de Gaskins, 1996).

A administração intranasal de oligossacarídeos da parede celular de levedura para camundongos aumentou a produção de IgA, IgG1 e IgG2 no soro e de IgA local nos pulmões e em outras mucosas distantes, estando também aumentados em lágrimas, secreções vaginais e na saliva (Stambas et al., 2002). White et al. (2002) demonstraram que leveduras aumentaram os níveis de IgG, alteraram a microflora intestinal e fecal de suínos, foram capazes de adsorver vários sorovares de *Escherichia coli* e *Samonella* spp e reduziram a colonização de coliformes totais no jejuno e ceco.

Chagoyán et al. (2002) estudaram os mecanismos pelos quais uma cultura de levedura (Biosaf[®] 10 x10⁹ ufc de *Saccharomyces cerevisiae* cepa Sc47; Lesaffre Feed Aditives, Lille, França) aumentaria a resistência nos suínos. Os animais que receberam a suplementação da cultura de levedura tiveram maior ganho de peso (10,25 vs. 6,75 kg) ao longo das três últimas semanas do experimento, possivelmente associado à capacidade da levedura de reduzir a população de coliformes fecais. Todos os animais apresentaram redução na contagem dos coliformes fecais, inclusive os do grupo controle, comprovando que todos os animais eram imunocompetentes. Entretanto, a velocidade de redução na população dos coliformes foi muito maior nos animais que receberam a levedura. Estes animais passaram de um valor inicial de 200 (x10⁴) para 9,5 (x10⁴ ufc/g de fezes), enquanto os animais do grupo controle passaram de 187,5 (x10⁴) para 91,5 (x10⁴ ufc/g de fezes), após 28 dias de experimento. Resposta positiva também pôde ser observada pela suplementação da levedura sobre os parâmetros imunológicos.

No início do experimento, houve um súbito aumento na população de neutrófilos, refletindo uma inflamação do tipo aguda, a qual foi diminuindo conforme os animais foram respondendo imunologicamente. O mesmo foi observado nos linfócitos T, sendo este aumento ligeiramente mais rápido no grupo suplementado, demonstrando que os animais estavam controlando mais

rápido a infecção. Segundo os autores, este fato permitiria supor que a levedura facilitaria a resposta sistêmica aos antígenos, acelerando a resposta imune e controlando de maneira mais rápida o desafio antigênico.

A suplementação de porcas e de suas leitegadas com cultura de levedura (Biosaf[®] 10 x10⁹ ufc de *Saccharomyces cerevisiae* cepa Sc47; Lesaffre Feed Aditives, Lille, França) aumentou o teor de sólidos totais e de imunoglobulinas no leite (Jurgens et al., 1997). Este maior teor de imunoglobulinas no leite seria uma explicação plausível para o maior ganho de peso e a eficiência alimentar dos leitões de porcas suplementadas.

Foi estimado que de 17% a 34% das leveduras suplementadas permanecem vivas durante o trânsito pelo trato gastrintestinal de ruminantes funcionais (Chaucheyras-Durand et al., 1998), sugerindo que leveduras suplementadas para ruminantes funcionais sejam capazes de exercer algum efeito em porções mais distais do trato digestivo, não sendo completamente degradadas no ambiente ruminal. Existem relatos dos efeitos desejáveis da cultura de levedura e de seus constituintes da parede celular sobre parâmetros imunológicos em ruminantes, entretanto, esses efeitos pós-ruminais não parecem estar restritos necessariamente à sua apresentação na forma ativa (Magalhães et al., 2008).

Cole et al. (1992) avaliaram a suplementação de garrotes com 0,75%, 1,125% ou 1,5% de cultura de levedura morta como porcentagem da matéria seca da dieta (Diamond V XP[®], 2,4 x 10⁶ ufc de *Saccharomyces cerevisiae*; Diamond V Mills, Inc, Indianápolis, EUA). Os autores relatam menor duração de tratamentos com antibióticos após indução de estresse por transporte rodoviário de 950 km. Em outro experimento, os mesmos autores observaram que garrotes suplementados com a inclusão de 0,75% da matéria seca da dieta da mesma levedura consumiram mais alimentos após serem desafiados com o vírus

da IBR. Os animais suplementados tenderam a perder menos peso durante os 14 dias do experimento, em resposta ao maior consumo.

Heinrichs et al. (2003) avaliaram a suplementação de sucedâneos lácteos para bezerros com antibióticos (400 g/440 kg de neomicina + 200 g/440 kg de oxitetraciclina) ou MOS (4 g Bio-Mos[®]/animal), comparativamente a um sucedâneo controle não aditivado. A adição dos MOS melhorou o escore de consistência fecal de maneira similar aos antibióticos. Dentre os 24 animais recebendo cada tratamento, apenas dois suplementados com MOS receberam tratamento para diarreia clínica, enquanto três recebendo antibióticos e cinco do controle foram medicados. Quando cepas patogênicas de *Escherichia coli* foram incubadas com neutrófilos, o número de bactérias fagocitadas e mortas tendeu a aumentar quando os bezerros foram suplementados com cultura de levedura (Diamond V XP[®], $2,4 \times 10^6$ ufc de *Saccharomyces cerevisiae*; Diamond V Mills, Inc, Indianápolis, EUA) (Magalhães et al., 2008).

O efeito da suplementação com MOS (Bio-Mos[®]; Alltech, Nicholasville, EUA) sobre o sistema imune de vacas no período seco e a subsequente transferência de imunidade passiva para os bezerros foi avaliado (Franklin et al., 2005). As vacas foram submetidas à vacinação contra rotavírus, quatro e duas semanas antes do parto previsto. A suplementação com MOS aumentou a titulação de anticorpos contra rotavírus e tendeu a aumentar a transferência de anticorpos aos bezerros por meio do colostro.

Apesar dos efeitos desejáveis dos constituintes da parede celular da levedura, Martínez et al. (2003) demonstraram que a levedura na sua forma integral seria mais benéfica do que seus constituintes de forma isolada. Foi avaliado o desempenho de leitões suplementados com MOS, levedura viva (Biosaf[®] 10×10^9 ufc de *Saccharomyces cerevisiae* cepa Sc47; Lesaffre Feed Aditives, Lille, França) ou uma cepa morta de *Saccharomyces cerevisiae*, em doses similares para prover um aporte semelhante de mananoligossacarídeos. Os

animais que receberam a levedura viva tiveram maior consumo de alimento, ganho de peso e eficiência alimentar, quando comparados àqueles recebendo MOS ou levedura morta.

Higginbotham et al. (2000) observaram que vacas leiteiras suplementadas com levedura viva tiveram contagem de células somáticas (CCS) no leite de 463 mil/mL, enquanto vacas suplementadas com levedura morta tiveram CCS de 509 mil/mL. Os autores utilizaram 200 vacas em estágio inicial de lactação, recebendo dietas idênticas, compostas por silagem de milho, silagem de alfafa e concentrados em um delineamento de reversão simples, com períodos de 28 dias. As vacas foram suplementadas com 4 gramas da cultura de levedura viva (Procreatin 7[®], 10×10^9 ufc de *Saccharomyces cerevisiae* cepa L11; Lesaffre Feed Aditives, Lille, França) ou 56 gramas da cultura de levedura morta (Diamond V XP[®], $2,4 \times 10^6$ ufc de *Saccharomyces cerevisiae*; Diamond V Mills, Inc, Indianápolis, EUA).

Ugalde & Vega (2002) avaliaram a suplementação da cultura de levedura (Biocell[®] 6×10^8 ufc de *Saccharomyces cerevisiae*; Lesaffre Feed Aditives, Lille, França) em dois sistemas de produção de leite. A suplementação de 45 gramas da levedura para vacas semiconfinadas, com produção diária de leite ao redor de 35 kg e recebendo dietas compostas por silagem de gramínea e concentrado comercial, reduziu a CCS de 360 para 244 mil células por mL. Em um segundo experimento, os mesmo autores utilizaram 36 vacas a pasto, produzindo 25 kg de leite. As mesmas 45 gramas do produto foram fornecidas juntamente com o concentrado durante a ordenha e também resultou em redução na CCS de 480 para 375 mil células. Em ambos os experimentos foram utilizados delineamentos de reversão simples, com períodos de 21 dias para o semiconfinamento e 26 dias para o sistema a pasto, mostrando que o possível efeito benéfico da levedura sobre a CCS ocorre a curto prazo.

Entretanto, o efeito benéfico da suplementação nem sempre é evidenciado (Dann et al., 2000; Silva et al., 2005; Bitencourt et al., 2008), sugerindo que o efeito benéfico deste aditivo sobre a saúde da glândula mamária pode ser dependente de fatores como cepa, dosagem e os vários determinantes ambientais e animais da resposta imune.

Seymour et al. (1995) observaram tendência de redução na porcentagem de dias com diarreia clínica, na temperatura corporal e no uso de antibióticos em resposta à inclusão de 1% de levedura inativa de cervejaria (Brewer's yeast-35[®]; *Saccharomyces cerevisiae*; Emmert Grain, Cincinnati, EUA) à ração inicial de bezerros. Magalhães et al. (2008) também observaram que bezerros recebendo cultura de levedura (Diamond V XP[®], 2,4 x 10⁶ ufc de *Saccharomyces cerevisiae*; Diamond V Mills, Inc, Indianápolis, EUA), até os 70 dias de idade, tiveram melhor escore de consistência fecal, menos dias com diarreia clínica e menor proporção de morte, tendo a chance de morte sido reduzida em seis vezes após o dia 13 do experimento. Houve também redução na proporção de animais tratados com antiinflamatórios e antidiarréicos e tendência de redução nos tratados com antibióticos.

2.2.5 Eficiência energética

Leveduras podem estimular a liberação de citocinas, que são moléculas envolvidas na emissão de sinais entre as células durante o desencadeamento da resposta imune (Chagoyán et al., 2002). *Saccharomyces* podem ativar a resposta imune, sem induzir uma resposta inflamatória negativa, possivelmente pela indução de citocinas reguladoras (IL-10, TGF- β) (Cuarón, 2006). Por este mecanismo podem ocorrer alterações endócrinas, resultando em menos desvios no metabolismo e ganho na eficiência alimentar (Williams et al., 1997).

Segundo Williams et al. (1997), alterações no metabolismo, causadas por citocinas próinflamatórias, podem ser mais prejudiciais ao desempenho

animal que o efeito direto dos patógenos. Heugten et al. (1994) avaliaram o impacto da ativação do sistema imune sobre a conversão alimentar de suínos. Os animais desafiados com lipopolissacarídeo de *E. coli*, como meio de ativação antigênica aguda, apresentaram menor eficiência de conversão alimentar. Segundo os autores, a piora na conversão alimentar poderia estar sendo mediada pelo aumento na exigência de manutenção, em função da intensa atividade do sistema imune e de outros órgãos por ele acionados na resposta imunofisiológica, em que diversos nutrientes são mobilizados e deixam de atender a funções produtivas anabólicas para atender à demanda sinalizada pelo sistema imune.

Aumento na eficiência de utilização energética em resposta à suplementação com leveduras pode ser resultado da menor perda energética na forma de metano como proporção da energia digerida. Tem sido demonstrado, *in vitro*, que leveduras podem atuar favoravelmente sobre a acetogênese ruminal a partir de hidrogênio (Chaucheyras et al., 1995). Este mecanismo poderia resultar em maior eficiência energética, sem deprimir a relação entre acetato e propionato na fermentação ruminal. Entretanto, apesar de plausível teoricamente, sua importância *in vivo* não foi demonstrada.

Gunter (1989) observou que, em vacas nos 150 primeiros dias da lactação, a suplementação de 10 g de levedura (Yea-Sacc[®], 5×10^9 ufc de *Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026; Alltech, Nicholasville, EUA) aumentou a produção de leite em 320 kg, a de gordura, em 29 kg e a de proteína, em 20,7 kg. O consumo de alimentos não diferiu significativamente entre os tratamentos, ocorrendo aumento de 14,3% na eficiência alimentar dos animais que receberam a suplementação.

Schingoethe et al. (2004) detectaram aumento de 7% na eficiência alimentar de vacas leiteiras suplementadas, durante o verão, com 60 g de levedura (Diamond V XP[®], $2,4 \times 10^6$ ufc de *Saccharomyces cerevisiae*;

Diamond V Mills, Inc, Indianápolis, EUA), resultado da maior secreção mamária de energia em menor consumo de matéria seca. As vacas em estágio intermediário da lactação produziram cerca de 35 kg de leite e a dieta experimental foi constituída de 28% de silagem de milho, 21% de feno de alfafa e 51% de concentrados.

Cooke et al. (2007) também observaram aumento na eficiência alimentar de vacas leiteiras suplementadas com 56 g desta mesma levedura, resultado da maior secreção de energia no leite em um mesmo consumo de matéria seca. As vacas produziram, em média, 30 kg de leite e foram alimentadas com dieta composta por 31,5% de silagem de milho, 5,9% de feno de alfafa, 12,6% de caroço de algodão, 11,1% de resíduo úmido de cervejaria, 20,3% de milho floculado e 7,7% de farelo de soja.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Vinte vacas Holandesas, com 144 ± 70 dias, em lactação, no início do período experimental, formaram dez blocos de dois animais, com base na produção diária de leite e foram aleatoriamente alocados a uma seqüência de dois tratamentos, em delineamento de reversão simples (Cross-over). Os tratamentos foram: 10 g de levedura viva (Levumilk[®], 2×10^{10} ufc/g de *Saccharomyces cerevisiae* cepa KA500; Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil) ou controle. Cada animal recebeu um tratamento por 28 dias de cada um dos dois períodos experimentais conduzidos seqüencialmente. As mensurações foram realizadas na quarta semana de cada período experimental.

As vacas foram mantidas em confinamento total do tipo “Tie Stall” com divisórias individuais na pista de alimentação e com camas de areia, foram alimentadas com dieta completa, acesso contínuo a água e foram ordenhadas duas vezes por dia. A mistura de todos os ingredientes dietéticos foi realizada duas vezes por dia, imediatamente antes de as dietas serem oferecidas às 6 e às 13 horas, em quantidade aferida diariamente e suficiente para prover, pelo menos, 15% do oferecido como sobra diária (Tabela 1). A dose de levedura de cada vaca foi alocada sobre a dieta oferecida em quantidades iguais de 5 gramas, pela manhã e pela tarde.

TABELA 1. Composição das dietas oferecidas em ingredientes e das dietas consumidas em nutrientes

	% da MS
Silagem de milho	45,0
Feno de tifton	4,1
Farelo de soja	18,0
Uréia	0,4
Polpa de citros	17,0
Milho maduro moído fino	13,8
Calcário calcítico	0,4
NaCl	0,3
Minerais e vitaminas ¹	0,3
Bicarbonato de sódio	0,7
Proteína bruta	17,3
FDN total	35,6
FDN oriunda de silagem de milho	22,5
FDN oriunda de feno de tifton	3,0
Extrato etéreo	4,8
Cinzas	6,3
CNF ²	36,0
	% da MN
Matéria seca	51,9

¹ Minerais e vitaminas: 18,5% de Ca; 15% de P; 3,0% de Mg; 3,0% de S; 240 ppm de Co; 3000 ppm de Cu; 8000 ppm de Mn; 12000 ppm de Zn; 90 ppm de Se; 180 ppm de I; 1.000.000 UI/kg Vit. A; 250.000 UI/kg Vit. D; 6.250 UI/kg Vit E.

² CNF = 100 - (PB + FDN + EE + Cinzas)

O consumo de matéria seca, entre os dias 22 e 27 de cada período, foi utilizado para comparar tratamentos. Nesse período, amostras de silagem de milho, de cada ingrediente concentrado e das sobras alimentares de cada vaca, foram coletadas diariamente e congelados. Uma amostra composta de cada ingrediente e das sobras por vaca foi formada, por período, por união de amostras diárias e idênticas de matéria natural. As amostras compostas foram pré-secas em estufa ventilada, por 72 horas, a 55°C, trituradas em peneira de 1 mm em moinho estacionário do tipo Thomas-Willey e uma subamostra foi desidratada, a 100°C, por 24 horas para a determinação do teor de matéria seca. A proteína bruta foi analisada por um destilador a vapor do tipo Microkjeldhal (Association of Official Agricultural Chemists – AOAC, 1975). As análises de extrato etéreo foram realizadas segundo o AOAC (1990). As cinzas foram determinadas por incineração da amostra em mufla, a 550°C, por 8 horas. O teor de FDN foi determinado por um ANKON[®] Fiber Analyser (ANKON Technology Corporation, Fairport, EUA).

A produção diária de leite e sólidos, entre os dias 22 e 25 de cada período, foi utilizada para comparar tratamentos. Amostras de leite foram obtidas de seis ordenhas consecutivas, iniciando na ordenha da tarde do dia 22 e terminando na ordenha da manhã do dia 25 de cada período. Essas amostras foram preservadas em frascos contendo 2-bromo-2-nitropropano-1-3-diol e foram conjuntamente enviadas ao laboratório (Clínica do Leite, Esalq-USP, Piracicaba, SP), de modo que o intervalo máximo entre o dia da amostragem e a análise fosse inferior a cinco dias. Nessas amostras foram determinados os teores de proteína, gordura, lactose e N-uréico e realizada a contagem de células somáticas (CCS). Os valores de CCS, por não possuírem distribuição normal, foram transformados por meio da raiz quadrada para sua normalização. A secreção diária de energia no leite foi calculada: $[(0,0929 \times \% \text{ gordura}) +$

$(0,0547 \times \% \text{ de proteína}) + (0,0395 \times \% \text{ de lactose})] \times \text{kg de leite}$ (National Research Council – NRC, 2001).

A digestibilidade aparente no trato digestivo total da matéria seca, da matéria orgânica, da FDN e da matéria orgânica não-FDN foi determinada por mensuração da produção fecal por coleta total de fezes, realizada por 8 horas ininterruptas, nos dias 25 a 27 de cada período. A coleta de fezes em cada dia foi iniciada com 8 horas de atraso em relação ao dia anterior, visando obter uma amostragem representativa das 24 horas do dia, sem causar distúrbio no consumo de alimentos e na produção de leite dos animais. As amostras de fezes de cada vaca foram congeladas após cada dia de coleta e formaram uma amostra composta ao final de cada período.

O consumo de matéria orgânica digestível foi calculado multiplicando-se o consumo de matéria orgânica, mensurado entre os dias 22 a 27 de cada período, pela digestibilidade da matéria orgânica, mensurada entre os dias 25 a 27. A eficiência de utilização energética foi avaliada dividindo-se a secreção diária de energia no leite tanto pelo consumo diário de matéria orgânica digestível (Eficiência 1) quanto pelo consumo de matéria seca (Eficiência 2). A eficiência alimentar foi calculada pela produção de leite dividida pelo consumo de matéria seca (Eficiência 3).

No dia 27 de cada período foram obtidas amostras de fluido ruminal por meio de sonda flexível orogástrica, com auxílio de uma bomba de sucção a vácuo acoplada a um Kitassato (Rosemberger, 1993). As amostras foram obtidas 13 horas (± 30 min para o grupo controle e ± 33 min para os animais suplementados) após o fornecimento matinal de alimentos. O pH ruminal foi mensurado imediatamente. As amostras tiveram a fermentação inibida por congelamento imediato em nitrogênio líquido, a -196°C e foram armazenadas sob congelamento para posterior análise de ácidos graxos voláteis por

cromatografia gás-líquida (CP 3800 Gas Chromatography Varian, Varian Chromatography Systems, Califórnia, EUA).

No dia 28 de cada período foi avaliada a atividade mastigatória por observação visual da atividade bucal de cada animal a cada cinco minutos do dia, por 24 horas contínuas. As atividades bucais consideradas foram de ingestão de alimento, ingestão de água, ruminação e ócio. O tempo de mastigação, em minutos por dia, foi definido como a soma dos tempos de ingestão de alimento e de ruminação. Os tempos de mastigação, ingestão e ruminação por unidade de matéria seca consumida foram calculados utilizando-se o consumo de matéria seca, mensurado no dia da determinação da atividade mastigatória.

A concentração de derivados purínicos na urina foi mensurada para indicar a produção de proteína microbiana no rúmen. Uma amostra de urina foi coletada no início e no final de cada um dos três períodos de oito horas de coleta total de fezes, nos dias 25 a 27 de cada período. Ao volume de urina coletado foi imediatamente adicionado 10% de ácido sulfúrico a 10% e a amostra foi armazenada a 4°C. Uma amostra composta foi formada para cada vaca no final de cada período. As amostras compostas foram diluídas com água destilada na proporção 1:3 (urina:água) e congeladas, a -20°C, até a realização das análises de alantoína e creatinina. Para a análise de alantoína, o procedimento adotado foi semelhante ao sugerido por Chen & Gomes (1995). Para a análise de creatinina foi utilizado um kit de análise laboratorial (Labtest Diagnóstica S.A., Cat. 35-100 para creatinina; Lagoa Santa, MG).

Análise estatística

Os dados foram analisados pelo procedimento GLM do SAS Institute (1985), com o seguinte modelo:

$$Y_{ijklm} = \mu + B_i + V_{j(i)} + P_k + T_l + e_{ijkl}$$

em que:

μ = média geral

B_i = efeito de bloco (i = 1 a 10)

$V_{j(i)}$ = efeito de vaca dentro de bloco (j = 1 a 20)

P_k = efeito de período (k = 1 ou 2)

T_l = efeito de tratamento (l = Levumilk, Controle)

e_{ijkl} = erro experimental, assumido independente e identicamente distribuído em uma distribuição normal com média zero e variância σ^2 .

A frequência de pH ruminal acima ou abaixo de 6,2 foi avaliada pelo teste de qui-quadrado, utilizando-se o procedimento FREQ do SAS Institute (1985).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A suplementação com levedura reduziu o consumo de matéria seca, sem afetar a produção diária de leite, resultando em aumento na conversão do alimento consumido em leite (Tabela 2). Apesar de aumento no consumo ser a resposta mais frequentemente observada ao uso de leveduras para gado leiteiro (Malcolm & Kiesling, 1990; Williams et al., 1991; Wohlt et al., 1991; Erasmus et al., 1992; Adams et al., 1995; Putnan et al., 1997; Dann et al., 2000; Lesmeister et al., 2004; Bitencourt et al., 2008), possivelmente vinculado a ganho em digestão fibrosa (Williams et al., 1991; Wallace & Newbold, 1992; Bitencourt et al., 2008), existem relatos de resposta negativa em consumo (Harris Jr. et al., 1992; Schingoethe et al., 2004), similar ao aqui observado. A suplementação da cepa viva de *S. cerevisiae* KA500 para vacas leiteiras consumindo dietas baseadas em silagem de milho e alta inclusão de polpa cítrica peletizada melhorou a eficiência alimentar.

O ganho de 3,8% na eficiência alimentar (Eficiência 3, Tabela 2) é modesto, relativamente ao relatado por outros autores. Schingoethe et al. (2004) detectaram aumento de 7% na eficiência alimentar de vacas suplementadas com 60 g de uma cepa comercial de levedura morta, resultado de aumento na secreção láctea e queda no consumo. Cooke et al. (2007) também detectaram ganho em eficiência alimentar de vacas leiteiras suplementadas com 56 g de levedura comercial também morta, sendo a resposta associada à maior secreção láctea em um mesmo consumo de matéria seca. Gunter (1989) detectou aumento de 14,3% na eficiência alimentar de vacas leiteiras suplementadas com leveduras vivas, também resultado da maior produção de leite com um mesmo consumo de matéria seca.

Apesar de o ganho em eficiência alimentar ser uma resposta plausível ao uso de leveduras, os dados disponíveis são insuficientes para tecer comentários sobre tipos de dieta (Williams et al., 1991) ou cepas e produtos (Newbold et al., 1995) capazes de aumentar a probabilidade de detecção de respostas favoráveis. Também parece não existir um padrão definido de variação na produção e no consumo em que ocorre resposta favorável em eficiência alimentar.

TABELA 2. Desempenho de vacas leiteiras suplementadas (Levumilk®) ou não (controle) com leveduras vivas.

	Levumilk®	Controle	EPM ¹	P Trat
	kg/d			
CMS ²	21,3	21,8	0,14	0,01
CMOD	14,1	14,6	0,17	0,08
Leite	29,6	29,3	0,26	0,45
Gordura	1,008	1,010	0,0112	0,93
Proteína	0,931	0,930	0,0099	0,89
Lactose	1,341	1,324	0,0136	0,41
	%			
Gordura	3,44	3,48	0,026	0,26
Proteína	3,18	3,21	0,021	0,45
Lactose	4,55	4,52	0,023	0,28
	x 1.000 células/mL			
CCS	190	302	31,8	0,02
Raiz quadrada da CCS	12,0	14,0	0,65	0,02
	mg/dl			
N uréico no leite	16,6	16,2	0,34	0,40
	Mcal/d			
Energia no leite	19,88	19,76	0,192	0,65
	Mcal/kg			
Eficiência 1	1,41	1,36	0,023	0,18
Eficiência 2	0,92	0,90	0,011	0,14
Eficiência 3	1,37	1,32	0,014	0,05

¹ EPM = Erro padrão da média.

² CMS = Consumo de matéria seca. CMOD = Consumo de matéria orgânica digestível. Eficiência 1 = Energia no leite/CMOD. Eficiência 2 = Energia no leite/CMS. Eficiência 3 = Leite/CMS.

Um mecanismo para o ganho em eficiência alimentar com o uso de leveduras seria pelo efeito favorável sobre a acetogênese ruminal a partir de hidrogênio (Wood, 1991; Chaucheyras et al., 1995). O uso de leveduras poderia estimular as bactérias acetogênicas hidrogenotróficas (Leedle & Greening, 1988), reduzindo a perda de energia na forma de metano (Lynch & Martin, 2002; Lila et al., 2004; McGinn et al., 2004). O aumento numérico na Eficiência 1 (Tabela 2) é coerente com este mecanismo. Entretanto, seria esperado aumento na relação entre acetato e propionato no fluido ruminal, não observado experimentalmente (Tabela 3). Apesar de este mecanismo ser teoricamente plausível, sua importância *in vivo* não tem sido convincentemente demonstrada em animais consumindo leveduras comerciais.

TABELA 3. Perfil de fermentação ruminal de vacas leiteiras suplementadas (Levumilk[®]) ou não (Controle) com leveduras vivas.

	Levumilk [®]	Controle	EPM ¹	P Trat
	Mm			
Acetato	117,8	115,5	5,03	0,75
Propionato	37,5	36,6	1,88	0,74
Butirato	22,1	21,2	1,52	0,71
AGV total ²	177,4	173,3	8,06	0,73
	% do AGV Total			
Acetato	66,6	66,8	0,60	0,92
Propionato	21,1	21,0	0,35	0,96
Butirato	12,3	12,2	0,45	0,92
Acetato/Propionato	3,20	3,21	0,07	0,93
pH ³	6,43	6,50	0,043	0,26

¹ EPM = Erro padrão da média

² AGV total = acetato + propionato + butirato

³ pH ruminal mensurado cerca de 13 horas após a alimentação da manhã

A julgar por esses dados, a resposta observada em eficiência alimentar não foi mediada pela ação da levedura sobre a função ruminal e a digestibilidade. O postulado efeito positivo das leveduras sobre a fermentação ruminal (Dawson et al., 1990; Wallace, 1994), capaz de atuar sobre a síntese microbiana (Wallace & Newbold, 1992; Michalet-Doreau et al., 1997), a perda ruminal de amônia (Harrison et al., 1988) e o pH (Martin & Nisbet, 1992), resultando em ganho em digestão, principalmente fibrosa (Wiedmeier et al., 1987; Erasmus et al., 1992; Wohlt et al., 1998; Chaucheyras-Durand & Fonty, 2001; Bitencourt et al., 2008), não foi evidenciado neste trabalho.

O pH ruminal não respondeu à suplementação com leveduras (Tabela 3). A frequência de pH abaixo ou acima de 6,2 não foi diferente entre tratamentos ($P=0,31$ para qui-quadrado). Não houve resposta no metabolismo ruminal de compostos nitrogenados, não refletindo em diferença na secreção protéica pela glândula mamária ou na concentração de nitrogênio uréico no leite (Tabela 2). A concentração urinária de alantoína também não foi capaz de dar suporte ao efeito do suplemento sobre a síntese de proteína microbiana no rúmen (Tabela 4). A digestibilidade aparente de nutrientes no trato digestivo total não foi influenciada pelos tratamentos (Tabela 5). A mensuração da atividade mastigatória também não evidenciou um possível efeito dos tratamentos sobre a digestão fibrosa (Tabela 6).

TABELA 4. Concentração de alantoína e creatinina na urina de vacas leiteiras suplementadas (Levumilk[®]) ou não (Controle) com leveduras vivas.

	Levumilk [®]	Controle	EPM ¹	P Trat
	mM	mM		
Alantoína	15,8	15,1	0,91	0,58
Creatinina	5,7	5,8	0,78	0,93
Alan/Creat	3,9	3,8	0,67	0,91

¹ EPM = Erro padrão da média

TABELA 5. Digestibilidade aparente de nutrientes no trato digestivo total de vacas leiteiras suplementadas (Levumilk[®]) ou não (Controle) com leveduras vivas.

	Levumilk [®]	Controle	EPM ¹	P Trat
	% do ingerido			
DMS ²	69,0	69,0	0,55	0,95
DMO	71,0	71,3	0,53	0,63
DFDN	39,5	41,5	1,04	0,19
DMOnFDN	89,9	89,0	0,47	0,21

¹ EPM = Erro padrão da média

² DMS = Digestibilidade da matéria seca. DMO = Digestibilidade da matéria orgânica. DFDN = Digestibilidade da FDN. DMOnFDN = Digestibilidade da matéria orgânica não-FDN

TABELA 6. Atividade mastigatória de vacas leiteiras suplementadas (Levumilk[®]) ou não (Controle) com leveduras vivas.

	Levumilk [®]	Controle	EPM ¹	P Trat
	min/d			
Ruminação	429	416	12,7	0,48
Ingestão	305	286	9,1	0,15
Mastigação ²	734	702	15,8	0,16
	min/kg de CMS ³			
Ruminação	21,6	21,5	0,79	0,94
Ingestão	15,3	14,8	0,43	0,41
Mastigação	36,9	36,3	0,97	0,67

¹ EPM = Erro padrão da média

² Mastigação = Ruminação + Ingestão

³ Atividade mastigatória, em minutos por kg de consumo de matéria seca (CMS)

Outro mecanismo para a resposta positiva em eficiência alimentar à suplementação com leveduras seria pelo seu efeito imunoestimulante. Mananligossacarídeos presentes na parede celular das leveduras podem ativar a resposta imune sem induzir uma resposta inflamatória negativa, possivelmente pela indução de citocinas reguladoras (Cuarón, 2006). Suínos imunologicamente ativados tiveram pior conversão alimentar, em função da intensa atividade do sistema imune, que pode aumentar a exigência nutricional de manutenção (Heugten et al., 1994).

A suplementação com Levumilk[®] reduziu a contagem de células somáticas do leite (Tabela 2), sugerindo que houve efeito da levedura sobre o sistema imunológico das vacas, semelhantemente ao observado em garrotes (Cole et al., 1992), bezerros em aleitamento (Heinrichs et al., 2003; Magalhães et al., 2008) e vacas periparturientes (Franklin et al., 2005). A suplementação de

porcas com levedura aumentou o teor de imunoglobulinas no leite (Jurgens et al., 1997).

Moran (2004) argumenta que as leveduras podem se ligar a bactérias enteropatogênicas no intestino, estimular células do sistema imunológico e desencadear resposta de defesa em outras mucosas do corpo, além daquelas em que ocorreu o estímulo inicial. Este mecanismo de migração de células para outros tecidos é conhecido como sistema imune comum de mucosas e seria uma explicação plausível para a menor contagem de células somáticas no leite, observada nos animais suplementados (Chagoyán et al., 2002). É interessante constatar o curto intervalo de tempo entre o início da suplementação e a detecção da resposta, coerente com o relatado por outros autores (Higginbotham et al., 2000; Ugalde & Vega, 2002).

No trabalho de Bitencourt et al. (2008), conduzido não simultaneamente, mas nas mesmas condições experimentais e pela mesma equipe deste experimento, foi verificado efeito favorável da suplementação com leveduras vivas sobre o consumo, a produção de leite e a digestibilidade aparente da fibra no trato digestivo total de vacas leiteiras. Além da diferença na dose e na cepa de levedura utilizada, uma explicação plausível para a diferença na resposta observada (Newbold et al., 1995), houve diferença nas dietas experimentais.

No trabalho de Bitencourt et al. (2008), não foram utilizados tamponantes e a fonte dietética de amido oriundo do concentrado foi milho floculado. No presente trabalho, uma condição mais típica de rebanhos comerciais foi obtida pelo uso de bicarbonato de sódio e amido de milho de textura dura do endosperma, colhido em estágio maduro de maturação e finamente moído (Tabela 1). Na dieta teoricamente mais acidogênica de Bitencourt et al. (2008) foi detectada resposta em volume de leite e digestão, enquanto, neste trabalho, a resposta foi caracterizada por ganho em eficiência alimentar e contagem de células somáticas do leite.

Um questionamento pertinente e frequentemente presente na literatura se refere à replicabilidade e à capacidade de predição da resposta à suplementação com leveduras em dietas específicas (Williams et al., 1991; Sullivan & Martin, 1999; Wang et al., 2001; Lynch & Martin, 2002; Lila et al., 2004). Os dados até o momento existentes sugerem que qualquer recomendação é puramente especulativa.

5 CONCLUSÕES

A suplementação da dieta baseada em silagem de milho, polpa cítrica e milho maduro finamente moído com *Saccharomyces cerevisiae* cepa KA500 resultou em ganho em eficiência alimentar, por resultar na mesma produção de leite em um menor consumo de matéria seca. Entretanto, o mecanismo da resposta positiva em eficiência alimentar não pôde ser suportado pelas variáveis descritas. Houve redução na contagem de células somáticas do leite, mostrando que o suplemento atuou positivamente sobre o sistema imune.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, A. L.; HARRIS JR., B.; HORN, H. H. van; WILCOX, C. J. Effects of varying forage types on milk production responses to whole cottonseed, tallow, and yeast. **Journal of Dairy Science**, v. 78, p. 573-581, 1995.

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**, v. 73, p. 1560-1563, 1990.

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 12. ed. Washington, 1975. v. 1, 1094 p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 15. ed. Virgínia, 1990. v. 1, 1117 p.

BITENCOURT, L. L.; PEREIRA, M. N.; OLIVEIRA, B. M. L.; SILVA, J. R. M.; DIAS JÚNIOR, G. S.; LOPES, F.; MELO, R. C. M.; SIÉCOLA JÚNIOR, S. Response of lactating cows to the supplementation with live yeast. **Journal of Dairy Science**, v. 91, W208, Suppl. 1, p. 264, 2008.

CHAGOYÁN, J. C. V.; CUARÓN, J. A.; SALAZAR, H. G. M.; SOTELO, L. S. P.; MUÑOZ, R. F.; ESPINOSA, J. L. Z.; BERNABÉ, S. L.; ALEJANDRI, C. Estudio de los efectos de la Sc47 proporcionada vía oral sobre el sistema inmunocompetente en cerdos infectados naturalmente con *E. coli*. In: SEMINARIO INTERNACIONAL DE MICROBIOLOGIA APLICADA A LA NUTRICIÓN ANIMAL, 5., 2002, Guadalajara. **Anais...** Guadalajara, 2002.

CHAUCHEYRAS-DURAND, F.; FONTY, G.; BERTIN, G.; THEVENIOT, M.; GOUET, P. Fate of Levucell SC I-1077 yeast additive during digestive transit in lambs. **Reproduction, Nutrition, Development**, v. 38, p. 275-280, 1998.

CHAUCHEYRAS-DURAND, F.; FONTY, G. Establishment of cellulolytic bacteria and development of fermentative activities in the rumen of gnotobiotically-reared lambs receiving the microbial additive *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-1077. **Reproduction, Nutrition, Development**, v. 41, p. 57-68, 2001.

CHAUCHEYRAS, F.; FONTY, G.; BERTIN, G.; GOUET, P. *In vitro* H₂ utilization by a ruminal acetogenic bacterium cultivated alone or in association with an archae methanogen is stimulated by a probiotic strain of *Saccharomyces cerevisiae*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, p. 3466-3467, 1995.

CHAUCHEYRAS, F.; FONTY, G.; BERTIN, G.; SALMON, J. M.; GOUET, P. Effects of a strain of *Saccharomyces cerevisiae* (Levucell SC), a microbial additive for ruminants, on lactate metabolism *in vitro*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 42, p. 927-933, 1996.

CHEN, X. B.; GOMES, J. **Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives – an overview of the technical details**. Bucksburn: International Feed Resources Unit. Rowett Research Institute, 1995. 20 p.

COLE, N. A.; PURDY, C. W.; HUTCHESON, D. P. Influence of yeast culture on feeder calves and lambs. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 1682-1690, 1992.

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

CUARÓN, J. A. Estímulo de la inmunidad por pre y prebióticos. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 2., 2006, São Paulo. **Anais...** São Paulo, 2006.

CZERKAWSKI, J. W. **An introduction to rumen studies**. New York: Pergamon International Library, 1986.

DANN, H. M.; DRACKLEY, J. K.; MCCOY, G. C.; HUTJENS, M. F.; GARRET, J. E. Effects of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on prepartum intake and postpartum intake and milk production of Jersey cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 123-127, 2000.

DAWSON, K. A.; GIRARD, I. D. Biochemical and physiological basis for the stimulatory effects of yeast preparations on ruminal bacteria. In: ANNUAL SYMPOSIUM OF NUTRITIONAL BIOTECHNOLOGY IN THE FEED AND FOOD INDUSTRIES, 13., 1997, Nicholasville. **Proceedings of Alltech's...** Nicholasville: Alltech Technical Publications, 1997. p. 293-304.

DAWSON, K. A.; NEWMAN, K. E.; BOLING, J. A. Effects of microbial supplements containing yeast and lactobacilli on roughage-fed ruminal microbial activities. **Journal of Animal Science**, v. 68, p. 3392-3398, 1990.

DAWSON, K. A. Not just bread or beer: new applications for yeast and yeast products in human health and nutrition. In: ANNUAL SYMPOSIUM OF NUTRITIONAL BIOTECHNOLOGY IN THE FEED AND FOOD INDUSTRIES, 18., 2002, Nicholasville. **Proceedings of Alltech's...** Nicholasville: Alltech Technical Publications, 2002. p. 225-231.

DAWSON, K. A. Some milestones in our understanding of yeast culture supplementation in ruminants and their implications in animal production systems. In: ANNUAL SYMPOSIUM OF NUTRITIONAL BIOTECHNOLOGY IN THE FEED AND FOOD INDUSTRIES, 16., 2000, Nicholasville. **Proceedings of Alltech's...** Nicholasville: Alltech Technical Publications, 2000. p. 473-486.

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

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**, v. 75, p. 3056-3065, 1992.

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**, v. 72, p. 1929-1932, 1989.

FRANKLIN, S. T.; NEWMAN, M. C.; NEWMAN, K. E.; MEEK, K. I. Immune parameters of dry cows fed mannan oligosaccharide and subsequent transfer of immunity to calves. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 766-775, 2005.

GASKINS, H. R. Development and structure of mucosal defense in the pig intestine. In: ANNUAL SYMPOSIUM OF NUTRITIONAL BIOTECHNOLOGY IN THE FEED AND FOOD INDUSTRIES, 12., 1996, Nicholasville. **Proceedings of Alltech's...** Nicholasville: Alltech Technical Publications, 1996. p. 23-35.

GUNTER, K. D. Yeast culture's success under German dairy conditions. In: ANNUAL SYMPOSIUM OF NUTRITIONAL BIOTECHNOLOGY IN THE FEED AND FOOD INDUSTRIES, 5., 1989, Nicholasville. **Proceedings of Alltech's...** Nicholasville: Alltech Technical Publications, 1989. p. 39-46.

HARRIS JR., B.; DORMINEY, D. E.; SMITH, W. A.; HORN, H. H. van; WILCOX, C. J. Effects of feather meal at two protein concentrations and yeast culture on production parameters in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 3524-3530, 1992.

HARRISON, G. A.; HEMKEN, R. W.; DAWSON, K. A.; HARMON, R. J. Influence of addition of yeast culture supplement to diets of lactating cows on ruminal fermentation and microbial populations. **Journal of Dairy Science**, v. 71, p. 2967-2975, 1988.

HEINRICHS, A. J.; JONES, C. M.; HEINRICHS, B. S. Effects of mannan oligosaccharide or antibiotics in neonatal diets on health and growth of dairy calves. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 4064-4069, 2003.

HEUGTEN, E. van; SPEARS, J. W.; COFFEY, M. T. The effect of dietary protein on performance and immune response in weaning pigs subject to an inflammatory challenge. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 2661-2669, 1994.

HIGGINBOTHAM, G.; MERRIAM, J.; SULLIVAN, J. Efecto de una levadura viva o un cultivo de levadura sobre producción de leche y parámetros relacionados en vacas al inicio de la lactancia. In: SEMINARIO INTERNACIONAL DE MICROBIOLOGIA APLICADA A LA NUTRICIÓN ANIMAL, 2., 2000, Guadalajara. **Anais...** Guadalajara, 2000.

HUTJENS, M. F. Feed additives in dairy nutrition an industry and farm perspective. In: NUTRITION CONFERENCE, 2005, Urbana, **Proceedings...** Urbana, 2005.

INGLEDEW, W. M. Yeast – could you base a business on this bug? In: ANNUAL SYMPOSIUM OF NUTRITIONAL BIOTECHNOLOGY IN THE FEED AND FOOD INDUSTRIES, 15., 1999, Nicholasville. **Proceedings of Alltech's...** Nicholasville: Alltech Technical Publications, 1999. p. 27-47.

JOHNSON, L. R. **Physiology of gastrointestinal tract**. New York: Raven, 1987. 1800 p.

JURGENS, M. H.; RIKABI, R. A.; ZIMMERMAN, D. R. The effect of dietary active dry yeast supplement on performance of sows during gestation-lactation and their pigs. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 593-597, 1997.

KOGAN, G.; KOCHER, A. Role of yeast cell wall polysaccharides in pig nutrition and health protection. **Livestock Science**, v. 109, p. 161-165, 2007.

KUNG JR., E.; KRECK, E. M.; TUNG, R. S.; HESSION, A. O.; SHEPERD, A. C.; COHEN, M. A.; SWAIN, H. E.; LEEDLE, J. A. Z. Effects of a live yeast culture and enzymes on *in vitro* ruminal fermentation and milk production of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 2045-2051, 1997.

LEEDLE, J. A. Z.; GREENING, R. C. Postprandial changes in methanogenic and acidogenic bacteria in the rumens of steers fed high- or low-forage diets once daily. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 54, p. 502-506, 1988.

LESMEISTER, K. E.; HEINRICHS, A. J.; GABLER, M. T. Effects of supplemental yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) culture on rumen development, growth characteristics, and blood parameters in neonatal dairy calves. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 1832-1839, 2004.

LILA, Z. A.; MOHAMMED, N.; YASUI, T.; KUROKAWA, Y.; KANDA, S.; ITABASHI, H. Effects of a twin strain of *Saccharomyces cerevisiae* live cells on mixed ruminal microorganism fermentation *in vitro*. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 1847-1854, 2004.

LIPKE, P. N.; OVALLE, R. Cell wall architecture in yeast: new structure and new challenges. **Journal of Bacteriology**, v. 180, p. 3735-3740, 1998.

LUND, A. Yeasts and moulds in the bovine rumen. **Journal of General Microbiology**, v. 81, p. 453-462, 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**, v. 85, p. 2603-2608, 2002.

MAGALHÃES, V. J. A.; SUSCA, F.; LIMA, F. S.; BRANCO, A. F.; YOON, I. SANTOS, J. E. P. Effect of feeding yeast culture on performance, health, and immunocompetence of dairy calves. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 1497-1509, 2008.

MALCOLM, K. J.; KIESLING, H. E. Effects of whole cottonseed and live yeast culture on ruminal fermentation and fluid passage rate in steers. **Journal of Animal Science**, v. 68, p. 1965-1970, 1990.

MARTÍNEZ, A. M.; MERINO, C. B.; ANAYA, E. A.; ZAPATA, S. L.; PÉREZ, M. V.; CUARÓN, J. A. Respuesta de lechones a diferentes Fuentes de pared celular de *Saccharomyces cerevisiae*. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 2003, Cancún. **Anais...** Cancún, 2003.

MARTIN, S. A.; NISBET, D. J. Effect of direct-fed microbials on rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 1736-1744, 1992.

MCDERMOTT, M. R.; BIENESNSTOCK, J. Evidence for a common mucosal immunologic system. **The Journal of Immunology**, v. 122, p. 1892-1898, 1979.

MCGINN, S. M.; BEAUCHEMIN, K. A.; COATES, T.; COLOMBATTO, D. Methane emissions from beef cattle: effects of monensin, sunflower oil, enzymes, yeast, and fumaric acid. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 3346-3356, 2004.

MICHALET-DOREAU, B.; MORAND, D.; MARTIN, C. Effect of the microbial additive Levucell SC CNCM I-1077 on microbial activity in the rumen during the stepwise adaptation of sheep to high concentrate diet. **Reproduction, Nutrition, Development**, EE5, Suppl 1-88, p. 82, 1997.

MILKPOINT. **Levantamento Top 100 Milkpoint** – base 2007. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/>>. Acesso em: 14 jul. 2008.

MORAN, C. A. Functional components of the cell wall of *Saccharomyces cerevisiae*: applications for yeast glucan and mannan. In: ANNUAL SYMPOSIUM OF NUTRITIONAL BIOTECHNOLOGY IN THE FEED AND FOOD INDUSTRIES, 20., 2004, Nicholasville. **Proceedings of Alltech's...** Nicholasville: Alltech Technical Publications, 2004. p. 283-296.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7. ed. Washington: National Academy, 2001. 381 p.

NEWBOLD, C. J.; WALLACE, R. J.; CHEN, X. B.; MCINTOSH, F. M. Different strains of *Saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on ruminal bacterial numbers *in vitro* and in sheep. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 1811-1818, 1995.

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

NEWMAN, K. Mannan-oligosaccharides: natural polymers with significant impact on the gastrointestinal microflora and the immune system. In: ANNUAL SYMPOSIUM OF NUTRITIONAL BIOTECHNOLOGY IN THE FEED AND FOOD INDUSTRIES, 10., 1994, Nicholasville. **Proceedings of Alltech's...** Nicholasville: Alltech Technical Publications, 1994. p. 167-174.

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**, v. 69, p. 4628-4633, 1991.

OLSON, K. C.; CATON, J. S.; KIRBY, D. R.; NORTON, P. L. Influence of yeast culture supplementation and advancing season on steers grazing mixed-grass prairie in the northern great plains: I. dietary composition, intake, and in situ disappearance. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 2149-2157, 1994.

PANCHAL, C. J.; RUSSELL, L.; SILLS, A. M.; STEWART, G. G. Genetic manipulation of brewing and related yeast strains. **Food Technology**, v. 99, p. 111, 1984.

PERDIGÓN, G.; VINTIÑI, E.; ALVAREZ, S.; MEDINA, M.; MEDICI, M. Study of the possible mechanisms involved in the mucosal immune system activation by lactic acid bacteria. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 1108, 1999.

PIVA, G.; BELLADONA, S.; FUSCONI, G.; SICBALDI, F. Effects of yeast on dairy cow performance, ruminal fermentation, blood components, and milk manufacturing properties. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 2717-2722, 1993.

PUTNAM, D. E.; SCHWAB, C. G.; SOCHA, M. T.; WHITEHOUSE, N. L.; KIERSTEAD, N. A.; GARTHWAITE, B. D. 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**, v. 80, p. 374-384, 1997.

RICE, P. J.; ADAMS, E. L.; OZMENT-SKELTON, T.; GONZALEZ, A. J.; GOLDMAN, M. P.; LOCKHART, B. E.; BARKER, L. A.; BREUEL, K. F.; PONTI, W. K.; KALBFLEISCH, J. H.; ENSLEY, H. E.; BROWN, G. D.; GORDON, S.; WILLIAMS, D. L. Oral delivery and gastrointestinal absorption of soluble glucans stimulate increased resistance to infectious challenge. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 314, p. 1079-1086, 2005.

ROGER, V.; FONTY, G.; KOMISARCZUK, B. S.; GOUET, P. Effects of physicochemical factors on the adhesion to cellulose avicel of the rumen bacteria *Ruminococcus flavefaciens* and *Fibrobacter succinogenes* subsp. *succinogenes*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 56, p. 3081-3087, 1990.

ROSE, A. H. Yeast culture, a micro-organism for all species: a theoretical look at its mode of action. In: ANNUAL SYMPOSIUM OF NUTRITIONAL BIOTECHNOLOGY IN THE FEED AND FOOD INDUSTRIES, 3., 1987, Nicholasville. **Proceedings of Alltech's...** Nicholasville: Alltech Technical Publications, 1987. p. 113-118.

ROSEMBERGER, G. **Exame clínico dos bovinos**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993.

SALVADOR, S. C.; PEREIRA, M. N.; SANTOS, J. F.; MELO, L. Q.; CHAVES, M. L. Resposta de vacas leiteiras à substituição total do milho por polpa cítrica e à suplementação com minerais orgânicos II: desempenho e economia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. No prelo.

SAS Institute. **SAS[®] user's guide: statistics**. 5. ed. Cary, 1985. 1290 p.

SCHELLING, G. T. Monensin mode of action in the rumen. **Journal of Animal Science**, v. 58, p. 1518-1527, 1984.

SCHINGOETHE, D. J.; LINKE, K. N.; KALSCHEUR, K. F.; HIPPEN, A. R.; RENNICH, D. R.; YOON, I. Feed efficiency of mid-lactation dairy cows fed yeast culture during summer. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 4178-4181, 2004.

SEYMOUR, W. M.; NOCEK, J. E.; SICILIANO-JONES, J. Effects of a colostrum substitute and of dietary brewer's yeast on the health and performance of dairy calves. **Journal of Dairy Science**, v. 78, p. 412-420, 1995.

SILVA, M. E. T.; COELHO, O. A.; OSTREWSKY, A. Efeito de um composto de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) e parede celular de levedura (MOS) sobre a produção e a sanidade da glândula mamária de vacas leiteiras de alta produção. **Revista Acadêmica**, v. 3, p. 27-33, 2005.

SMITH, W. A.; HARRIS JR., B.; HORN, H. H. van; WILCOX, C. J. Effects of forage type on production of dairy cows supplemented with whole cottonseed, tallow, and yeast. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 205-215, 1993.

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**, v. 82, p. 605-610, 1999.

STAMBAS, J.; PIETERSZ, G.; MCKENZIE, I.; NAGABHUSHANAM, V.; CHEERS, C. Oxidized mannan-lysteriolysin O conjugates induce Th1/Th2 cytokine responses after intranasal immunization. **Vaccine**, v. 20, p. 1068-1078, 2002.

SULLIVAN, H. M.; MARTIN, S. A. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on in vitro mixed ruminal microorganism fermentation. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 2011-2016, 1999.

SWARTZ, D. L.; MULLER, L. D.; ROGERS, G. W.; VARGA, G. A. Effect of yeast culture on performance of lactating dairy cows: a field study. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 3073-3080, 1994.

TIZARD, I. R. **Imunologia veterinária**. 5. ed. São Paulo: Roca, 1998. 545 p.

UGALDE, E. A.; VEJA, R. Uso de levedura viva, enzimas y ácidos dicarboxílicos en ganado lechero en condiciones tropicales. In: SEMINARIO INTERNACIONAL DE MICROBIOLOGIA APLICADA A LA NUTRICIÓN ANIMAL, 5., 2002, Guadalajara. **Anais...** Guadalajara, 2002.

WALLACE, R. J.; NEWBOLD, C. J. **Microbial feed additives for ruminants**. 2. ed. London: Chapman and Hall, 1992. 317 p.

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

WALLACE, R. J. The mode of action of yeast culture in modifying rumen fermentation. In: ANNUAL SYMPOSIUM OF NUTRITIONAL BIOTECHNOLOGY IN THE FEED AND FOOD INDUSTRIES, 12., 1996, Nicholasville. **Proceedings of Alltech's...** Nicholasville: Alltech Technical Publications, 1996. p. 217-232.

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**, v. 84, p. 204-212, 2001.

WHITE, L. A.; NEWMAN, M. C.; CROMWELL, G. L.; LINDEMANN, M. D. Brewers dried yeast as a source of mannan oligosaccharides for weanling pigs. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 2619-2628, 2002.

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**, v. 70, p. 2063-2068, 1987.

WILLIAMS, N. H.; STAHLY, T. S.; ZIMMERMAN, D. R. Effect of chronic immune system activation on the rate, efficiency, and composition of growth and lysine needs of pigs fed from 6 to 27 kg. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 2463-2471, 1997.

WILLIAMS, P. E. V.; TAIT, C. A. G.; INNES, G. M.; NEWBOLD, C. J. 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**, v. 69, p. 3016-3026, 1991.

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**, v. 81, p. 1345-1352, 1998.

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**, v. 74, p. 1395-1400, 1991.

WOOD, H. G. Life with CO or CO₂ and H₂ as a source of carbon and energy. **The Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 5, p. 156-163, 1991.

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