

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ - CAMPUS UMUARAMA**  
**PROGRAMA DE MESTRADO EM PRODUÇÃO**  
**SUSTENTÁVEL E SAÚDE ANIMAL**

**ROBERTO CANTOIA JUNIOR**

**USO DE RESÍDUO FERMENTATIVO DE LEVEDURA DA INDÚSTRIA**  
**SUCROALCOOLEIRA EM DIETAS DE VACAS EM LACTAÇÃO**

**UMUARAMA/PR**

**Agosto**

**ROBERTO CANTOIA JUNIOR**

**USO DE RESÍDUO FERMENTATIVO DE LEVEDURA DA INDÚSTRIA  
SUCROALCOOLEIRA EM DIETAS DE VACAS EM LACTAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal do Departamento de Medicina Veterinária, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Veterinária.

**Área de concentração:**

Produção Sustentável e saúde Animal

**Orientador:**

Prof. Dr. Jefferson Rodrigues Gandra

**UMUARAMA/PR**

**2022**

# FOLHA DE APROVAÇÃO

Roberto Cantoia Junior

Uso de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira em dietas de vacas em lactação

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Veterinária pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

## COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. Jefferson Rodrigues Gandra

Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

Prof. Dr. Antônio Campanha Martinez

Universidade Estadual de Maringá-UEM (Membro)

Prof. Dra. Nara Regina Brandao Consolo

Universidade Estadual de Maringá (Membro)

Aprovada em:     de                     de 20     .

Local da defesa:

*Dedico este trabalho a todos os professores, amigos e colegas que me influenciaram positivamente ao longo da minha trajetória profissional. Em especial a meu amigo Tiago Antonio Del Valle e ao meu professor Dr. Jefferson Rodrigues Gandra.*

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Professor Dr. Jefferson Rodrigues Gandra, meu orientador, por depositar sua confiança em mim, e principalmente, me conduzir da melhor forma para que eu pudesse realizar o presente trabalho.

Não poderia deixar de agradecer a todos os professores que contribuíram para meu conhecimento. Gostaria de deixar um agradecimento em especial ao Professor Dr. Antônio Campanha Martinez.

Gostaria também de agradecer ao Professor Dr. Jozivaldo Prudencio de Moraes, por ter me recebido tão bem em seu laboratório de pesquisa. E a todos os integrantes do grupo GETAP.

Ao meu amigo Tiago Antonio Del Valle, por ter me proporcionado algumas grandes conquistas acadêmicas e que foram fundamentais para conduzir esse trabalho.

E por fim, gostaria de agradecer aos meus pais por me dar forças e sempre acreditar em minhas decisões. Seus conselhos foram fundamentais.

É claro que eu não poderia deixar de agradecer acima de tudo, a Deus.

## RESUMO

Objetivou-se neste estudo avaliar o efeito de dietas contendo doses crescentes de um resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira (RFLIS) e de levedura viva sobre o comportamento ingestivo, consumo de matéria seca, índice de seleção de partículas, amido fecal, síntese de proteína microbiana ruminal, parâmetros bioquímicos séricos, produção e composição do leite, perfil de ácidos graxos do leite e variáveis fisiológicas relacionadas ao estresse térmico de vacas leiteiras de alta produção. Foram utilizadas 30 vacas da raça Holandesa, com  $175 \pm 46,4$  dias em lactação,  $40,4 \pm 4,56$  kg/dia de produção de leite e  $658 \pm 48,0$  kg de peso vivo (média  $\pm$  desvio padrão), alocadas em delineamento inteiramente casualizado para receber os seguintes tratamentos: 1. CONT (controle): dieta basal, sem leveduras; 2. L600: dieta contendo 22,2 g/kg MS de RFLIS (Levupass<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil) e 0,75 g/kg MS de levedura viva (Levumilk<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil), formulada para um consumo de 600 g/d de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva; e 3. L1200: dieta contendo 44,4 g/kg de RFLIS (Levupass<sup>®</sup>) e 0,75 g/kg MS de levedura viva (Levumilk<sup>®</sup>), formulada para um consumo de 1200 g/dia de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva. O experimento teve duração de 60 dias, composto por 4 períodos subsequentes de avaliação, cada um deles de 15 dias. A suplementação de leveduras, em relação ao controle, aumentou o tempo de alimentação e reduziu o teor de amido fecal. Animais alimentados com L600 apresentaram maior consumo de matéria seca, síntese de proteína microbiana e concentração de glicose sérica do que os animais consumindo as demais dietas experimentais. De maneira geral, a adição de leveduras aumentou a produção de leite, produção de leite corrigida para o teor de gordura, a produção de gordura, de proteína e de caseína, além do teor de gordura no leite das vacas e da secreção de energia no leite. A suplementação com leveduras teve pouco efeito sobre o perfil de ácidos graxos do leite e reduziu a frequência respiratória, a temperatura corporal e a emissão de calor pelas vacas. Assim, a adição de leveduras na dieta de vacas leiteiras em lactação aumenta o desempenho produtivo, a digestão do amido, a síntese de proteína microbiana, as concentrações séricas de glicose e melhora os parâmetros relacionados ao estresse térmico. A menor dose RFLIS (600 g/d) é a mais recomendada para utilização na dieta de vacas em lactação.

**Palavras-chaves:** biomassa, desempenho, probióticos, *Saccharomyces cerevisiae*.

## ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effect of diets containing increasing doses of a yeast fermentation residue from the sugar-alcohol industry (RFLIS) and live yeast on the ingestive behavior, dry matter intake, particle selection index, fecal starch, microbial protein synthesis, serum biochemical parameters, milk production and composition, milk fatty acid profile, and physiological variables related to heat stress in high-producing dairy cows. Thirty Holstein cows were used ( $175 \pm 46.4$  days of milk,  $40.4 \pm 4.56$  kg/day of milk yield, and  $658 \pm 48.0$  kg of body weight; mean  $\pm$  SD), allocated in a completely randomized design to receive the following treatments: 1. CONT (control): basal diet, without yeast; 2. L600: diet containing 22.2 g/kg DM of RFLIS (Levupass<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brazil) and 0.75 g/kg DM of live yeast (Levumilk<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brazil), formulated for 600 g/d of RFLIS and 20 g/d of live yeast daily intake; and 3. L1200: diet containing 44.4 g/kg of RFLIS (Levupass<sup>®</sup>) and 0.75 g/kg MS of live yeast (Levumilk<sup>®</sup>), formulated for 1200 g/day of RFLIS and 20 g/ live yeast daily intake. The trial lasted for 60 days, consisting of 4 subsequent 15-days experimental periods. Yeast supplementation, in relation to the control, increased the feeding time and reduced the fecal starch content. Animals fed with L600 showed higher dry matter intake, microbial protein synthesis, and serum glucose concentration than animals fed diets. In general, the addition of yeasts increased milk yield, fat-corrected milk, and production of fat, protein and casein. In addition, yeast increased milk fat content and milk energy secretion. Yeast supplementation had small effect on the milk fatty acid profile and reduced respiratory rate, body temperature, and heat emission by cows. Thus, yeast in lactating dairy cows increases productive performance, starch digestion, microbial protein synthesis, serum glucose concentrations, and improves parameters related to heat stress. Live yeast and lower RFLIS dose (600 g/d) is the most recommended for lactating cows.

**Keywords:** biomass, performance, probiotics, *Saccharomyces cerevisiae*.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> Composição das dietas experimentais .....	22
<b>Tabela 2</b> Temperatura ambiental, umidade relativa e índice de temperatura e umidade (ITU) ao longo do período experimental.....	26
<b>Tabela 3</b> Comportamento ingestivo de vacas em lactação alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de suplementação dietética de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira .....	27
<b>Tabela 4</b> Consumo de matéria seca, índice de seleção de partículas e parâmetros fecais de vacas em lactação alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de suplementação dietética de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira .....	29
<b>Tabela 5</b> Excreção de derivados purina e síntese de proteína microbiana de vacas em lactação alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de suplementação dietética de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira.....	30
<b>Tabela 6</b> Parâmetros bioquímicos séricos de vacas em lactação alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de suplementação dietética de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira .....	31
<b>Tabela 7</b> Desempenho produtivo de vacas em lactação alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de suplementação dietética de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira .....	32
<b>Tabela 8</b> Perfil de ácidos graxos do leite de vacas em lactação alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de suplementação dietética de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira .....	35
<b>Tabela 9</b> Variáveis fisiológicas e emissão de calor de vacas em lactação alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de suplementação dietética de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira .....	37



## ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO .....	9
2	REVISÃO DE LITERATURA .....	11
2.1	Aditivos alimentares para ruminantes.....	11
2.2	Leveduras na alimentação de ruminantes.....	11
2.2.1	Mecanismo de ação .....	12
2.2.2	Efeitos das leveduras sobre o perfil fermentativo ruminal.....	13
2.2.3	Efeitos das leveduras sobre a digestibilidade da fibra .....	14
2.2.4	Efeitos das leveduras sobre o desempenho produtivo.....	15
2.2.5	Efeitos das leveduras sobre a saúde intestinal e imunidade .....	17
2.3	Outras propriedades das culturas de leveduras .....	18
3	HIPÓTESES E OBJETIVOS .....	20
4	MATERIAIS E MÉTODOS .....	20
4.1	Animais, dietas e manejo .....	20
4.2	Comportamento ingestivo .....	21
4.3	Índice de seleção de partículas e avaliações fecais .....	23
4.4	Síntese de proteína microbiana .....	23
4.5	Parâmetros bioquímicos séricos .....	24
4.6	Produção e composição do Leite .....	24
4.7	Perfil de ácidos graxos do leite .....	24
4.8	Variáveis fisiológicas relacionadas ao estresse térmico .....	25
4.9	Análises estatísticas .....	25
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	26
5.1	Comportamento ingestivo .....	26
5.2	Consumo de matéria seca, índice de seleção de partículas e avaliações fecais.....	28
5.3	Síntese de proteína microbiana .....	29
5.4	Parâmetros bioquímicos séricos .....	31
5.5	Produção e composição do leite .....	32
5.6	Perfil de ácidos graxos do Leite.....	34
5.7	Variáveis fisiológicas e emissão de calor .....	36
6	CONCLUSÃO .....	38
7	IMPLICAÇÕES .....	38
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	38
	TOPICO II .....	48
	ANEXO I .....	72

## 1 INTRODUÇÃO

A produção animal tem enfrentado uma série de desafios nos últimos anos. Estes desafios incluem a valorização das *comodities*, importantes componentes do custo produtivo, a segurança dos alimentos e a pegada de carbono da atividade (DILLION et al.). Sabe-se que o desempenho e a eficiência produtiva dos animais estão diretamente relacionados a quantidade e qualidade de nutrientes disponíveis nos alimentos, assim como a capacidade do animal de absorver tais nutrientes (VAN SOEST E MASON, 1991).

O aumento da eficiência produtiva dos animais é importante para a redução dos custos produtivo e do impacto ambiental da produção leiteira. Desta forma, aditivos alimentares vêm sendo largamente utilizados para modular a fermentação ruminal e maximizar a eficiência de digestão e metabolização dos alimentos pelos animais. No entanto, o aditivo alimentar mais utilizado para ruminantes, a monensina sódica, é classificada como um antibiótico ionóforo e assim como outros antibióticos vem sofrendo reduzida aceitação, especialmente dos mercados mais exigentes, como o mercado europeu (RUSSEL; HOUULIHAN, 2003).

Os carboidratos são os principais macronutrientes das dietas de ruminantes. De acordo com o NRC (2001), uma dieta de vacas leiteiras deve conter no mínimo 25% de fibra em detergente neutro (FDN), além dos carboidratos fibrosos, importantes para o atendimento das exigências energéticas das vacas em lactação. Apesar do aumento da inclusão de carboidratos não fibrosos na dieta e da disponibilidade do amido aumentar o teor de energia e potencialmente a produção leiteira, estes tornam os animais mais propensos ao desenvolvimento de acidose ruminal (BEAUCHMIN, 2007). Estratégias ambientalmente mais amigáveis que previnam o desenvolvimento de acidose ruminal e maximizem o aproveitamento de carboidratos tem o potencial de aplicação na dieta de vacas leiteiras, possibilitando superar os principais desafios da bovinocultura leiteira contemporânea.

Dentre os aditivos utilizados na alimentação animal, probióticos tem ganhado atenção nos últimos anos. Os probióticos são aditivos que tem por base microrganismos vivos, que tem potencial de alterar as populações microbianas e o perfil fermentativo ruminal (FULLER, 1989). Dentre estes aditivos, aqueles baseados em leveduras, especialmente *Saccharomyces cerevisiae* tem apresentado os resultados mais

promissores. A suplementação com *S. cerevisiae* reduz a concentração de oxigênio do ambiente ruminal, contribuindo para a adesão e crescimento de bactérias, especialmente àquelas que degradam a fibra (CHAUCHEYRAS-DURAND et al., 2012). Dentre os resultados observados com a utilização de leveduras destacam-se a estabilização do pH ruminal, o aumento da digestão da fibra e consequentemente o aumento do desempenho animal (DESNOYERS et al., 2009).

A indústria de biológicos tem produzido grandes quantidades de aditivos contendo *S. cerevisiae*. No entanto, o processo de purificação aumenta os custos de produção. A utilização de extratos puros de leveduras contendo substratos e levedura inviável (parede de levedura) pode ser uma estratégia interessante não apenas por reduzir o custo de produção, mas também por explorar o potencial prebiótico das paredes de leveduras (fontes de glucanas e mano-oligossacarídeos - GONÇALVES et al., 2017). Além de possuir compostos bioativos, a biomassa de levedura possui proteínas, que de acordo com Sabbia et al. (2012), possuem um perfil aminoacídico melhor do que fontes proteicas tradicionais, como o farelo de soja.

Desta forma, acredita-se que a associação de uma fonte de levedura viva à uma fonte de biomassa de levedura pode trazer efeitos benéficos sobre o consumo, digestão, metabolismo e desempenho de vacas leiteiras. No entanto, não há informações de estudos que tenham avaliados a associação destes produtos, à qual pretende-se no presente estudo.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Aditivos alimentares para ruminantes

A eficiência produtiva e o desempenho animal estão ligados a quantidade e qualidade de nutrientes disponíveis nos alimentos, assim como com a capacidade do animal de digerir e absorver tais nutrientes (VAN SOEST; MASON, 1991). Os ruminantes possuem uma microbiota variada, principalmente no rúmen, que é responsável pela degradação e fermentação da ingesta. No entanto, um desequilíbrio na microbiota ruminal pode provocar uma redução na ingestão de alimentos, diminuição no desempenho dos animais e aumento do risco de problemas de saúde (FONTY; CHAUCHEYRAS-DURAND, 2006). Segundo Fonty e Chaucheyras-Durand (2006), a manipulação da microbiota ruminal é uma das principais estratégias da pecuária para a otimização do ecossistema ruminal e trazer benefícios sobre desempenho animal. Neste sentido, aditivos têm cada vez mais despertado interesse para fabricantes de ração, produtores e técnicos, com o intuito de melhorar o desempenho e a saúde animal (PENG et al. 2020).

A proibição do uso de antibióticos promotores de crescimento em alguns países, têm incentivado a busca por compostos que substituam o uso de ionóforos (RUSSEL; HOUULIHAN, 2003). Uma das alternativas é a suplementação com probióticos (BITENCOURT et al., 2011). Os probióticos, ou *direct-fed microbials* (DFM), são suplementos alimentares à base de microrganismos vivos (FULLER, 1989). Existe uma grande variedade de probióticos com diferentes gêneros de bactérias e fungos comercialmente disponíveis.

### 2.2 Leveduras na alimentação de ruminantes

As leveduras *Saccharomyces cerevisiae* têm sido amplamente utilizadas como aditivo alimentar nas dietas de ruminantes. De acordo com Krehbiel et al. (2003), os probióticos à base de leveduras têm potencial de alterar a população microbiana e o padrão de fermentação ruminal. A levedura é um probiótico que se mostrou eficaz na restauração do equilíbrio microbiano, sendo comumente usado na nutrição animal (MCALLISTER et al., 2011), especialmente em dietas contendo elevadas inclusões de ingredientes concentrados (DESNOYERS et al., 2009).

Segundo Lund (1974), as leveduras são encontradas naturalmente no rúmen. No entanto, a temperatura ruminal não favorece o seu crescimento. Desta forma, para que seja utilizada como aditivo alimentar, é necessário suplementar diariamente a dieta dos animais. Os produtos à base de leveduras, comercialmente disponíveis, podem causar efeitos diferentes nos animais em função das diferentes dosagens, tipo de microrganismo e composição da dieta dos animais (NEWBOLD; WALLACE; MCINTOSH, 1996).

Três grandes setores industriais no Brasil contribuem para a produção da biomassa de levedura (*Saccharomyces*): cervejeiro, panificação e sucroalcooleiro. A indústria sucroalcooleira apresenta maior produção, pelo fato de que o Brasil ser o maior produtor mundial de álcool de cana-de-açúcar. Após a obtenção do álcool a levedura seca pode ser extraída de três formas distintas, pela sangria do leite de levedura, fundo da dorna e da vinhaça (BUTOLO, 1996).

De acordo com Gonçalves et al. (2017), muitos produtos são obtidos da fermentação da cana-de-açúcar com *Saccharomyces cerevisiae*. Dentre estes produtos podemos destacar: I) a parede celular: um aditivo prebiótico, composto de glucanas e mano-oligossacarídeos; II) levedura seca: levedura inativada, submetida ao processo de secagem; e III) levedura autolisada: obtida pelo processo que leva a ruptura da célula por enzimas endógenas. No entanto, os produtos comerciais contendo leveduras que são utilizados na dieta de ruminantes são compostos por leveduras vivas ou então misturas em diversas proporções de leveduras viáveis e inviáveis, além de outros carboidratos, aminoácidos e peptídeos, ácidos orgânicos e oligossacarídeos presentes na parede celular (SANTOS; GRECO, 2012). Por esta razão, produtos à base de leveduras são normalmente classificados como prebióticos e probióticos.

### 2.2.1 Mecanismo de ação

De acordo com Newbold et al. (1995), o modo de ação da levedura viva está relacionado a sua capacidade em captar oxigênio no rúmen, contribuindo com ambiente anaeróbico e favorecendo o crescimento de bactérias ruminais, principalmente as celulolíticas (CHAUCHEYRAS-DURAND et al., 2012). Outro mecanismo de ação descrito por Nisbet e Martin (1990) tem relação com nutrientes liberados pelas leveduras vivas como ácidos málico e carboxílicos, aminoácidos e vitaminas B que servem de substrato para bactérias que utilizam ácido láctico, como a *Selenomonas ruminantium* que é estimulada pela presença de *Saccharomyces cerevisiae* no meio ruminal

(CHAUCHEYRAS et al., 1995). Desta maneira, há redução na concentração de lactato no rúmen, reduzindo a flutuação do pH ruminal e proporcionando maior degradação da fibra da dieta. Segundo Orskov e Ryle (1990), quando o pH ruminal é maior que 6,2, a degradabilidade ruminal da matéria seca e da fibra aumenta. Maiores valores de pH podem ser alcançados com a utilização de leveduras, como descrito acima.

### 2.2.2 *Efeitos das leveduras sobre o perfil fermentativo ruminal*

Um dos principais efeitos atribuídos a utilização da levedura viva na dieta de vacas leiteiras é a regulação do pH ruminal. Altos níveis de concentrados são adicionados na alimentação de vacas leiteiras, de modo que torne a dieta mais densa em nutrientes, com o intuito de atingir as exigências nutricionais e aumentar as respostas produtivas (ABDULMUMINI; SHENGYONG, 2021). No entanto, dietas com alto teor de concentrado podem deprimir o consumo de matéria seca e a digestibilidade da parede celular da planta, devido redução do pH (DESNOYERS et al., 2009), levando o animal ao quadro de acidose ruminal subclínica ou clínica (SAUVANT et al., 1999).

A adição da levedura pode neutralizar os efeitos acidogênicos da dieta, competindo com bactérias produtoras de ácido láctico (*Streptococcus bovis* e *Lactobacillus*) pelo açúcar disponível, em condições estritamente anaeróbias, e estimular o crescimento de bactérias que utilizam lactato como substrato (*Megasphaera elsdenii*) (MARDEN et al., 2008). Os efeitos no aumento do pH podem ser confirmados pelos achados de Guedes et al. (2008), que observaram aumento de pH quando adicionaram leveduras vivas na dieta de vacas leiteiras. Resultados semelhantes também foram observados por Robinson e Erasmus (2009) em uma revisão de literatura.

Uma maneira melhor de compreender o efeito da levedura no processo fermentativo e estabilização do pH ruminal é através da medição do potencial redox do líquido ruminal. Em condições normais, devido a anaerobiose, o valor redox do líquido ruminal é negativo (FONTY; CHAUCHEYRAS DURAND, 2006). Com a entrada de oxigênio no rúmen durante a alimentação, o potencial redox do fluido ruminal aumenta lentamente, declinando posteriormente após absorção deste oxigênio pelos microrganismos (KRIZOVÁ et al., 2011). A levedura é capaz de balancear o potencial redox do líquido ruminal devido sua capacidade em captar o oxigênio. Marden et al. (2008) em seu estudo, confirmou que a levedura foi capaz de reduzir o potencial redox do rúmen em até -34 mV. Em estudo subsequente, Marden et al. (2013) ao avaliar o efeito

de leveduras vivas em vacas leiteiras com acidose induzida, relatam que houve um aumento de 0.2 unidade no pH ruminal no grupo suplementado com leveduras, seguido por uma diferença de potencial redox de -20mV em relação ao grupo controle.

Uma das características peculiares do rúmen é manter-se em anaerobiose, ambiente este exigido pelos microrganismos que habitam o rúmen para processos de fermentação, fornecendo metabólitos de energia e nutrientes ao hospedeiro (WRIGHT; KLIEVE, 2011). No entanto, mesmo o rúmen sendo essencialmente anaeróbio a ingestão de alimento traz consigo uma porção de oxigênio aderido nas partículas. A presença de oxigênio no rúmen inibe o crescimento e adesão das bactérias ruminais à fibra, principalmente celulolíticas (QUEIROZ et al., 2004). De acordo com Martin e Nisbet (1992) a adição de leveduras no ambiente ruminal reduz a concentração de oxigênio, pois as leveduras utilizam o oxigênio presente no rúmen para sua atividade respiratória. Newbold, Wallace e Mcintosh (1996) relatam um aumento de 89% na taxa de desaparecimento do oxigênio ao adicionar um produto comercial contendo leveduras ao líquido ruminal *in vitro*. Sendo assim, a presença da levedura contribui para que o ambiente ruminal se torne mais propício para o desenvolvimento de microrganismos anaeróbios (JOUANY, 2006), promovendo maior atividade metabólica (CHAUCHEYRAS-DURAND; FURAND, 2010).

Harrison et al. (1988) e Newbold et al. (1995) relatam que a suplementação com levedura resulta em um aumento na população microbiana, principalmente bactérias celulolíticas, assim como aumento na síntese de proteína microbiana. Desse modo, há maior fluxo pós ruminal de proteína microbiana e aumento no teor de proteína no leite (ERASMUS; BOTHA; KISTNER, 1992).

### *2.2.3 Efeitos das leveduras sobre a digestibilidade da fibra*

O uso de levedura pode contribuir para maior aproveitamento do alimento ofertado através do aumento da digestibilidade da fibra (WOHLT; FINKELSTEIN; GHUNG, 1991; GUEDES et al., 2008; MARDEN et al., 2008). O rúmen funciona como um ecossistema que abriga uma sofisticada população microbiana, tanto em termos de número de espécie quanto em capacidade metabólica (NEWBOLD; RAMOS-MORALES, 2020). A presença desses microrganismos é de extrema importância, uma vez que eles produzem enzimas que permitem ao ruminante aproveitar, com maior eficiência, os alimentos fibrosos presentes na dieta (BERCHIELLI et al, 2011). Porém,

mesmo que o ecossistema ruminal apresente populações capazes de degradar alimentos fibrosos, a digestão desses alimentos permanece indesejável dentro do rúmen (VOHRA et al., 2016).

Um dos motivos que podem interferir na digestão dos alimentos fibrosos é a presença de barreira bioquímica e física. Como mencionado anteriormente, a adição de levedura na alimentação de vacas leiteiras propicia um ambiente ruminal mais favorável para o crescimento de microrganismos. De acordo com Guedes et al. (2008), este ambiente aumenta o crescimento e a atividade da comunidade de bactérias capazes de degradar fibra (celulolíticas), contribuindo com substratos oriundo da fermentação para aumentar o desempenho produtivo. Curiosamente Sousa et al. (2018) também observaram melhoras na digestibilidade da fibra no rúmen em bovinos submetidos a pastagens tropicais. Este aumento foi associado com o aumento de bactérias celulolíticas em ambiente ruminal favorável.

#### *2.2.4 Efeitos das leveduras sobre o desempenho produtivo*

Muitos trabalhos têm demonstrado efeitos positivos da adição de levedura na dieta sobre o desempenho produtivo de vacas leiteiras (PIVA et al., 1993; WOHLT; FINKELSTEIN; GHUNG, 1991). Esses efeitos são sustentados pelo fato de que a levedura limita a redução do pH ruminal com aumento na produção dos ácidos graxos voláteis (AGV) e reduz a concentração de ácido láctico (NOCEK; HOLT; OPPY, 2011).

Wohlt, Finkelstein e Ghung (1991) descrevem que as leveduras têm capacidade de aumentar a digestibilidade da fibra, otimizando a produção de AGV no rúmen, e desta maneira aumentando a produção de leite (DESNOYERS, 2009). Oba e Allen (1999), em uma análise estatística com 63 grupos de forragens, obtidos de 33 publicações experimentais, relatam um aumento de 0,17 kg no consumo de MS e um aumento de 0,25 kg na produção de leite corrigida para 4% de gordura em animais que receberam forragens com um aumento de 1 unidade percentual na digestibilidade de FDN.

Efeitos positivos na produção de leite foram relatados por Desnoyers et al. (2009), que observaram um aumento de produção de leite de (+ 1,2 g/kg de peso corporal) e atribuíram este efeito à melhoria de condição ruminal. Portanto, adicionar levedura ao ecossistema ruminal parece influenciar a fermentação e pode ajudar o ecossistema a lidar com dietas com alto teor de concentrado. Seus efeitos ruminais são sempre influenciados por pelo menos uma das características da dieta (PB na dieta, FDN ou a proporção de



concentrado), mostrando que as respostas são sempre maiores quando a dieta tem alto teor de concentrado (KUNG et al., 1997).

Outros estudos mostraram que a suplementação de vacas leiteiras com leveduras aumenta a produção de leite (GUNTHER, 1989; ARAMBEL; KEN, 1990; PIVA et al. 1993; NOCEK et al., 2003; DUTTA; KUNDU, 2008; BRUNO et al., 2009; NOCEK; HOLT; OPPY, 2011; MAAMOURI; SELMI; M'HAMDI, 2014). Segundo Dutta, kundu e Kumar (2009), o aumento da produção de leite se deve ao maior fornecimento de nutrientes à glândula mamária. Maiores concentrações de metionina livre, lisina e isoleucina no plasma sanguíneo foram observados por Kobayashi et al. (1995) em vacas no início da lactação, sugerindo uma maior taxa de absorção de aminoácidos essenciais. Suñé e Muhlbach (1998), ao estudarem o efeito da adição de 10 g/dia de cultura de levedura em bovinos leiteiros a pasto, observaram um aumento de 17,5 % na produção de leite.

Bruno et al. (2009) relatam que bovinos suplementados com 30 g/dia de uma cultura de levedura viva de *Saccharomyces cerevisiae*, produziram 1,2 kg/ a mais de leite em relação ao controle. Além disso, produziram mais proteína verdadeira no leite, lactose e sólidos não gordurosos. No entanto, não houve alteração no consumo de MS pelos animais. Gunther (1989) ao incluir *Saccharomyces cerevisiae* na dieta de vacas leiteiras observou aumento de 30,1 kg/dia para 35,35 kg/dia na produção de leite corrigida para 4% de gordura. Nocek et al. (2003), ao estudar o efeito da suplementação de leveduras no desempenho de vacas durante o período de transição, relataram que o consumo de MS, produção de leite e teor de proteína foi maior para os animais de pós-parto suplementados com leveduras.

Já Adams et al. (1995), em seu estudo com 20 vacas em lactação, observaram uma diminuição no teor de proteína e aumento na porcentagem de gordura no leite ao suplementar os animais com 10 g de leveduras. Yalçin et al. (2011) ao suplementar vacas lactantes com 50 g/dia de levedura, observaram um aumento na produção de leite de 1,48 kg/dia, 14,5% no teor de gordura, 5,8 % no teor de proteína e 4,8 % de lactose no leite. Estes aumentos na produção e no teor de sólidos do leite pode ser explicado pelo aumento da atividade microbiana no rúmen que fornece mais AGV's e proporciona maior quantidade de proteína microbiana (EDWARDS, 1991; WOHLT; FINKELSTEIN; GHUNG, 1991).

Pontarolo et al. (2021), ao avaliar a digestibilidade da MS da dieta, desempenho produtivo, comportamento ingestivo e características da carcaça de novilhos de corte em

confinamento e suplementados com leveduras autolisadas, relataram uma maior eficiência alimentar e maior ganho de peso corporal diário nos animais. Além disso, a digestibilidade da MS da dieta foi mais elevada para os animais suplementados com levedura autolisada sem interferir no comportamento ingestivo. A inclusão de 4 g/dia de levedura autolisada resultou em melhor grau de acabamento da carcaça em relação ao controle.

#### *2.2.5 Efeitos das leveduras sobre a saúde intestinal e imunidade*

A população microbiana intestinal dos animais é muito densa e diversificada. A modulação da microbiota intestinal pode elevar a produtividade e saúde do animal através do aumento da população microbiana intestinal ou estímulo de uma flora saudável (CALLAWAY et al., 2008), pois as bactérias patogênicas no intestino competem pelo alimento ingerido pelo animal (DIAZ; BRANCO, 2019). Por não ser um hospedeiro oriundo naturalmente do trato gastrointestinal, as leveduras multiplicam-se muito pouco e transitam juntamente com o bolo alimentar através do trato gastrointestinal, não sendo capazes de se aderirem ao epitélio intestinal. O fornecimento de leveduras vivas para o animal favorece a saúde do trato gastrointestinal, pois atuam como prebióticos auxiliando a diminuir a pressão exercida pelos microrganismos patogênicos (COSTA, 2004).

As leveduras podem se ligar a bactérias enteropatogênicas no intestino e estimular células do sistema imunológico desencadeando respostas de defesa em outras mucosas do corpo (MORAN, 2004). De acordo com Chagoyan et al. (2002), esse mecanismo é conhecido como sistema imune comum de mucosas. A parede das leveduras constitui-se de cerca de 30 a 60 % de polissacarídeos, 15 a 30 % de proteínas, 5 a 20 % de lipídios e cerca de 1 % de quitina (HUANG, 2008). O componente polissacarídeo consiste em uma mistura de mananos (mananoligossacarídeos - MOS) e glucanos, sendo que os MOS se encontram em maior proporção na parede celular mais externa da levedura, agindo no organismo animal como protetores do mecanismo de defesa (COSTA, 2004).

Bactérias patogênicas possuem em sua superfície fatores de ligação como as fímbrias Tipo 1, compostas por lecitinas, pelas quais os MOS possuem tropismo e se ligam a elas por um mecanismo de competição, inibindo a colonização de bactérias patogênicas e eliminando-as através das fezes (DIAZ; BRANCO, 2019). Estudos mostram que os MOS, quando adicionados à dieta, são capazes de diminuir a colonização de bactérias patogênicas no intestino do animal, evitando a adesão de bactérias

patogênicas devido sua capacidade de bloquear fímbrias destas bactérias. Essa ação diminui a possibilidade de qualquer tipo de dano causado à mucosa intestinal pelas bactérias (DIAZ; BRANCO, 2019). Os segmentos da parede celular de leveduras, principalmente os glucanos, estimulam o sistema imune e a produção de macrófagos que destroem os microrganismos patogênicos via fagocitose (COSTA, 2004).

De acordo com Word et al. (2018), a suplementação de novilhas desafiadas com o vírus da IBR- Rinotraqueíte Infecciosa Bovina com leveduras na dieta, resultou em menor gravidade das lesões na mucosa nasal. Segundo os autores, este aumento na atividade celular do sistema imunológico pode ter um efeito positivo também em respostas inflamatórias fora do intestino e não apenas no local. Os animais do grupo suplementado apresentaram aumento na área e perímetro das criptas de Lieberkuhn em ambos segmentos do intestino delgado, sugerindo que nestes animais a taxa metabólica celular foi mais elevada, tornando a absorção de nutrientes pelo intestino mais eficiente. Esse achado condiz com o maior ganho de peso encontrado no referido estudo.

Jensen, Patterson e Yoon (2008) em seu estudo relatam que os produtos da levedura apresentam atividade antioxidante e anti-inflamatória, promovendo proteção intracelular contra danos oxidativos em células vermelhas e neutrófilos. Outro achado destes autores em ensaios de culturas celulares, foi de que produtos à base de leveduras desencadeiam a ativação e aumentam a resposta citotóxica de células naturais killers. Desta forma, a suplementação com leveduras pode potencializar a resposta imune e influenciar na redução da CCS e casos subclínicos de mastite em vacas leiteiras. Em estudo realizado por Zaworski et al. (2014), vacas suplementadas com leveduras vivas e produtos da fermentação de leveduras, apresentaram menores valores de CCS quando comparadas ao grupo controle. Nocek, Holt e Oppy (2011), obtiveram resultados de CCS semelhantes ao suplementar animais com levedura hidrolisada. Proudfoot, Weary e Keyserlink (2009) em seu estudo demonstrou que vacas suplementadas com levedura hidrolisada apresentaram redução na mastite subclínica e no número de novos casos.

### *2.3 Outras propriedades das culturas de leveduras*

Uma forma de aumentar a digestibilidade dos nutrientes presentes nas leveduras é separando a parede celular da mesma. A autólise é o método mais utilizado (DIMOPOULOS et al., 2018) e consiste em um processo físico ou químico que através de suas próprias enzimas auto degrada os componentes celulares (SCHLABITZ; LEHN;

SOUZA, 2022). A fração sólida resultante da autólise após filtragem é denominada parede de levedura (MARTÍNEZ et al., 2016). A biomassa de levedura além de ser uma fonte de proteína, possui em sua composição uma forma de cromo biologicamente ativo, vitaminas do complexo B, ácidos nucleicos, vitaminas e minerais (FERREIRA et al., 2010).

Novas tecnologias estão sendo desenvolvidas a fim de encontrar suplementos proteicos que melhorem a quantidade e perfil de aminoácidos que atingem o intestino para absorção (NRC, 2001). A proteína microbiana derivada de levedura é um coproduto da fermentação de levedura com perfil de aminoácidos similar ao da proteína microbiana ruminal (SABBIA et al. 2012), além de conter concentrações maiores de Lisina e Metionina (SCHWAB et al, 1992), segundo Sabbia et al. (2012), este coproduto pode ser utilizado para substituir o uso do farelo de soja sem causar efeitos negativos no desempenho do animal. Por ser um pó fino, com tamanho de partícula pequeno, Sabbia et al. (2012), supõe que uma quantidade de proteína microbiana derivada da levedura, escapa da degradação ruminal e flui juntamente com a fase líquida do conteúdo ruminal resultando em uma maior absorção de aminoácidos pelo intestino delgado.

Sabbia et al. (2012) ao substituir o farelo de soja da dieta de vacas leiteiras por até 34,1 g/kg de MS da dieta, não observaram efeitos negativos na produção de leite. Resultados semelhantes foram obtidos por Manthey et al. (2016) ao substituir parcialmente o farelo de soja por 22,5 g/kg de MS de proteína microbiana derivada de levedura da dieta de vacas leiteiras. Neal et al. (2014), em estudo semelhante com substituição de 11,5 g/kg de proteína microbiana de levedura da dieta de vacas leiteiras encontraram uma tendência de aumento da produção de leite e eficiência alimentar.

Utilizando cultura de levedura como suplemento para vacas leiteiras Erasmus, Botha e Kistner (1992) relataram que o fluxo duodenal de nitrogênio não amoniacal (NNA) foi 9,4% maior para o grupo de animais que recebeu a suplementação. Segundo os autores, isso se deve a uma maior eficiência na síntese de proteína microbiana. Putnam et al. (1997), ao estudar o efeito da suplementação de levedura na dieta de bovinos em início de lactação relatou que as dietas contendo maior teor de proteína tiveram um aumento na passagem de nitrogênio microbiano. No entanto, isto não teve efeito sobre a passagem de NNA. Em relação ao fluxo de NNA, os autores relatam que tendeu a ser maior em vacas suplementadas, e ao avaliar o fluxo de bactérias ruminais, aminoácidos e perfil de aminoácidos essenciais para o duodeno não observaram diferenças significativas.

Carro, Lebzien e Rohr (1992) ao suplementar bovinos leiteiros com dieta à base de silagem de capim, também observaram um aumento no fluxo de NNA para o duodeno nos animais suplementados, de acordo com os autores, essa diferença no fluxo entre os animais pode ser explicada pela diferença no fluxo de N não degradado. Este aumento no fluxo ruminal diminuirá o tempo de retenção ruminal e taxa de degradação, resultando em menor degradação da proteína e maior fluxo de N não degradado para o duodeno (WILLIAMS et al., 1991).

### **3 HIPÓTESES E OBJETIVOS**

Este estudo tem como hipótese que a adição de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira (LEVUPASS<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil) e de leveduras vivas reduz o índice de seleção de partículas grandes e aumenta a síntese de proteína microbiana, a produção e o teor de sólidos no leite, sem afetar o comportamento ingestivo, os parâmetros bioquímicos e o perfil de ácidos graxos do leite de vacas leiteiras.

Desta forma, o presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar o efeito de níveis dietéticos crescentes (0, 600 e 1200 g/dia) de um resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira e da adição de leveduras vivas sobre o comportamento ingestivo, o consumo de matéria seca, índice de seleção de partículas, amido fecal, síntese de proteína microbiana ruminal, parâmetros bioquímicos séricos, produção e composição do leite, perfil de ácidos graxos do leite e variáveis fisiológicas relacionadas ao estresse térmico.

### **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido em uma fazenda comercial no município de São Lourenço/MG, de janeiro a março de 2021.

#### *4.1 Animais, dietas e manejo*

Foram utilizadas 30 vacas da raça Holandesa, com  $175 \pm 46,4$  dias em lactação,  $40,4 \pm 4,56$  kg/dia de produção de leite e  $658 \pm 48,0$  kg de peso vivo (média  $\pm$  desvio padrão). Os animais foram alocados em um delineamento inteiramente casualizado para

avaliar as seguintes dietas: 1. CONT (controle): dieta basal, sem o fornecimento de leveduras; 2. L600: dieta contendo 22,2 g/kg MS de RFLIS (Levupass<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil) e 0,75 g/kg MS de levedura viva (Levumilk<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil), formulada para um consumo de 600 g/d de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva; e 3. L1200: dieta contendo 44,4 g/kg de RFLIS (Levupass<sup>®</sup>) e 0,75 g/kg MS de levedura viva (Levumilk<sup>®</sup>), formulada para um consumo de 1200 g/dia de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva. As dietas foram formuladas de acordo com o NRC (2001), sendo isonitrogenadas e isoFDN (Tabela 1). O experimento teve duração de 60 dias, composto por 4 períodos subsequentes de avaliação, cada um deles de 15 dias, sendo 10 dias para a adaptação 5 dias para coleta de amostras e dados.

Os animais foram alimentados duas vezes ao dia (05:00 e 14:00 horas), utilizando um vagão forrageiro horizontal. Os ingredientes da dieta foram coletados durante os cinco dias de cada período experimental para compor uma amostra composta por ingrediente por período. Estas amostras foram congeladas para posteriores análises bromatológicas. A oferta de dieta completa (TMR) foi ajustada diariamente para que as sobras representassem de 5 a 10% do ofertado. Durante os períodos de coleta, as quantidades ofertadas foram pesadas e as sobras foram pesadas e amostradas para a avaliação do teor de matéria seca (MS) foram obtidas nos dias 11, 12 e 13 de cada período experimental.

As amostras de ingredientes foram analisadas quanto aos teores de MS, proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina em detergente ácido (LIG) e cinzas, conforme técnicas descritas por (AOAC, 2000). O teor de amido foi avaliado como descrito por Hendrix (1993), após degradação enzimática e avaliação do teor de glicose em espectrofotômetro semiautomático. Os teores de nutrientes digestíveis totais (NDT<sub>1x</sub>) e energia líquida de lactação (ELL<sub>3x</sub>) foram calculados de acordo com o NRC (2001).

#### 4.2 *Comportamento ingestivo*

O comportamento dos animais foi avaliado a cada 5 minutos, das 08:00 às 21:00 horas do dia 15 de cada período experimental. Os comportamentos foram classificados em: alimentação, ruminação (de pé e deitado); ócio (de pé e deitado) e bebendo água. Todos os comportamentos foram convertidos em % do tempo total de avaliação a cada período. O tempo total de mastigação foi obtido pela soma entre os tempos de alimentação e ócio.

**Tabela 1** Composição das dietas experimentais

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>		
	CONT	L600	L1200
Ingredientes(g/kg MS)			
Silagem de milho	449	436	422
Farelo de soja	194	179	164
Milho reidratado	140	146	153
Tifton ‘in natura’	74,8	74,8	74,6
Casca de soja	73,2	73,2	73,0
Milho moído	40,4	40,4	40,3
Premix mineral <sup>3</sup>	17,5	17,5	17,5
Calcário calcítico	9,10	9,10	9,10
Sal branco	2,20	2,20	2,20
RFLIS <sup>2</sup>	0	22,2	44,4
Levedura viva <sup>3</sup>	0	0,75	0,75
Composição química (g/kg)			
Matéria seca	489	480	490
Matéria orgânica	940	940	940
FDN	399	390	396
FDNfe <sup>4</sup>	266	263	264
FDA	184	182	179
Lignina	29,9	29,6	29,6
CNF	354	357	360
Amido	247	247	246
Proteína bruta	148	149	152
Extrato etéreo	37,6	37,5	37,3
NDT <sup>5</sup>	653	654	656
ELL <sup>5</sup>	1,46	1,47	1,47

<sup>1</sup>Dietas experimentais: CONT (controle): dieta basal, sem leveduras; L600: dieta contendo 22,2 g/kg MS de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira (RFLIS; Levupass<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil) e 0,75 g/kg de levedura viva (Levumilk<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil), formulada para um consumo de 600 g/d de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva; e L1200: dieta contendo 44,4 g/kg de RFLIS (Levupass<sup>®</sup>) e 0,75 g/kg de levedura viva (Levumilk<sup>®</sup>), formulada para um consumo de 1200 g/dia de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva.<sup>2</sup>RFLIS: resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira (Levupass<sup>®</sup>). <sup>3</sup>Aditivo a base de leveduras vivas (Levumilk<sup>®</sup>).<sup>4</sup>Premix mineral: 110 g/kg Ca; 42 g/kg P; 18 g/kg S; 20 g/kg Mg; 123 g/kg Na; 14 mg/kg Co; 600 mg/kg Cu; 20 mg/kg Cr;

1050 mg/kg Fe; 28 mg/kg I; 2000 mg/kg Mn; 18 mg/kg Se; 2800 mg/kg Zn; 80 mg/kg biotina; 240000 UI/kg vitamina A; 100000 UI/kg vitamina D, 100000 UI/kg vitamina E.<sup>5</sup>Calculado de acordo com Mertens et al. 1999 <sup>4</sup>Calculado de acordo com NRC (2001).

#### 4.3 *Índice de seleção de partículas e avaliações fecais*

As amostras compostas de alimentos e sobras obtidas durante os dias 11 de cada período experimental foram analisadas quanto ao tamanho de partícula utilizando peneira separadora Penn State, como descrito por Kononoff et al. (2003). Os índices de seleção das partículas maiores que 19 mm, entre 8 e 19 mm, entre 4 e 8 mm e menores que 4 mm foram calculados utilizando as equações descritas por Zilio et al. (2018).

As amostras de fezes foram coletadas após a segunda ordenha diária (9 horas após a primeira alimentação). Para avaliação do resíduo fecal, 500 gramas de fezes foram submetidas a lavagem em peneira de 1 mm para mensuração do resíduo de matéria natural fecal. De cada uma destas amostras foi avaliado o teor de amido, conforme metodologia previamente descrita.

#### 4.4 *Síntese de proteína microbiana*

No 12º dia de cada período experimental, amostras (aproximadamente 50 mL) de urina spot foram coletadas de 5 animais de cada grupo experimental, 4 horas após a primeira alimentação matinal. As amostras foram conservadas em solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e congeladas para posterior análises de creatinina, ureia, alantoína e ácido úrico. As análises de ácido úrico e creatinina foram realizadas utilizando kits colorimétricos comerciais (Biclin, Belo Horizonte, Brasil) e as análises de alantoína foram realizadas utilizando método colorimétrico (FUJIHARA; YAMAGUCHI, 1987). O volume urinário (VU, L/dia) foi calculado considerando a constante de excreção de creatinina de 27,36 mg/kg PV/dia (RENNÓ et al., 2008).

A excreção total de derivados de purina (DP) foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretado na urina e leite expressos em mmol/dia. As purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas na urina (DP, mmol/dia), considerando 85% de recuperação urinária das purinas absorvidas e uma excreção endógena de derivados purina de 0,385 mmol/kg PV<sup>0,75</sup> (VERBIC et al., 1990).



#### 4.5 Parâmetros bioquímicos séricos

No dia 12 de cada período experimental, 4 horas após a primeira alimentação matinal foi realizada coleta de sangue da veia/artéria concígea de oito vacas de cada tratamento. As amostras foram coletadas sem anticoagulantes, centrifugadas e congeladas para posterior análises de glicose, colesterol total, triglicerídeos, proteína total, albumina e ureia, utilizando kits comerciais (Bioclin) e realizando as leituras em espectrofotômetro semiautomático.

#### 4.6 Produção e composição do Leite

A produção de leite foi mensurada diariamente durante todo o período experimental utilizando sistema automático de pesagem acoplado ao sistema de ordenha. As vacas eram ordenhadas três vezes ao dia, (04:00, 12:00 e 20:00 horas. Para avaliação da composição do leite foram obtidas amostras proporcionais das ordenhas realizadas no dia 14 de cada período experimental. Os teores de gordura, proteína e lactose foram avaliados na amostra fresca utilizando método ultrassônico (Lactoscan<sup>®</sup>).

As pesagens foram realizadas logo após a ordenha matinal, no primeiro dia de cada período experimental e ao final do experimento. Logo após a pesagem foi avaliado o escore de condição corporal dos animais de acordo com Edmonson et al. (1989).

#### 4.7 Perfil de ácidos graxos do leite

Da amostra de leite coletada no dia 14 de cada período experimental, uma alíquota (aproximadamente 300 mL) foi congelada para posterior avaliação do perfil de ácidos graxos do leite. A extração dos ácidos graxos foi realizada de acordo com Feng et al. (2004) e a metilação de acordo com Kramer et al. (1997). Os ácidos graxos foram avaliados usando um cromatógrafo a gás (GC Shimatzu 2010 com injeção automática, Shimadzu Corporation, Kioto, Japão) equipado com uma coluna capilar SP-2560 (100 m × 0,25 mm i.d. e 0,02 µm de espessura; Supelco Sigma-Aldrich Group, Bellefonte, EUA). Os seguintes padrões foram utilizados para identificar os AG: C4–C24 (TM 37, Supelco Sigma-Aldrich); C18:1 *trans*-11 (V038-1G, Supelco Sigma-Aldrich); C18:2 *trans*-10 *cis*-

12 (UC-61M 100 mg, Nu-Chek Prep Inc., Waterville, MN); e C18:2 *cis*-9 *trans*-11 (UC-60M 100 mg, Nu-Chek Prep Inc.).

#### 4.8 Variáveis fisiológicas relacionadas ao estresse térmico

A frequência respiratória e as temperaturas das superfícies foram avaliadas no 14º dia de cada período experimental, após a primeira ordenha matinal. A temperatura da superfície corporal foi avaliada em diferentes regiões do corpo (cabeça, costelas, cauda e patas), usando termômetro infravermelho (Fluke 568, Fluke Corporation, Everett, WA). As temperaturas vaginal e retal foram avaliadas utilizando termômetro clínico digital. A frequência respiratória foi avaliada utilizando cronômetro e digital e contando-se os movimentos costais por um período de 1 minuto. Imagens infravermelho foram obtidas utilizando câmera termográfica (Testo 880, Brandt Instruments, Prairieville, LA) posicionada a 1,5 m do animal. A temperatura média das regiões da face, olhos e narina foram contidas utilizando polígonos de área (GOMES et al., 2016).

Temperatura e umidade relativa do ar foram obtidos utilizando sensores instalados no interior das instalações de manutenção dos animais (Tabela 2). A partir destes valores, obtidos diariamente às 06:00, 14:00 e 20:00 horas foi calculado o índice temperatura-umidade (ITU), de acordo com a seguinte equação:

$$ITU = (0,8 \times TA + (UR/100) \times (TA - 14,4) + 46,4)$$

Em que; T = temperatura do ar, em °C; e UR = umidade relativa do ar, em %.

#### 4.9 Análises estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos ao SAS (Version 9.1.3, SAS Institute, Cary, NC 2004), verificando a normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias pelo PROC UNIVARIATE. Os dados foram analisados, pelo PROC MIXED de acordo com a seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + D_j + T_k + D_j \times T_k + e_{ijk}$$

onde:  $Y_{ijy}$  = variável dependente,  $\mu$  = média geral,  $A_i$  = efeito de animal ( $j = 1$  a 30),  $D_j$  = efeito de dieta ( $j = 1$  a 3);  $T_k$  = efeito de tempo ( $k = 1$  a 5),  $D_j \times T_k$  = efeito de interação dieta e tempo e  $e_{ijk}$  = erro. O efeito aleatório do modelo (random) foi

caracterizado por:  $A_i$ . Os graus de liberdade foram corrigidos por  $DDFM = kr$ . Foi adotado o nível de significância de 5% para todas as análises.

**Tabela 2** Temperatura ambiental, umidade relativa e índice de temperatura e umidade (ITU) ao longo do período experimental

Item	Temperatura, °C	Umidade relativa, %	ITU
6:00 h			
Mínimo	19,8	76,0	61,8
Média	31,1	97,3	71,5
Máximo	33,5	99,0	73,4
Desvio Padrão	3,84	4,49	3,11
14:00 h			
Mínimo	23,3	35,0	65,1
Média	32,2	65,3	72,3
Máximo	38,5	99,0	77,3
Desvio Padrão	2,27	19,0	1,83
20:00 h			
Mínimo	24,0	35,0	65,1
Média	32,2	65,3	72,3
Máximo	33,5	99,0	77,3
Desvio Padrão	2,06	19,0	1,83

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 Comportamento ingestivo

A suplementação com leveduras, em relação ao controle (L0) aumentou ( $P \leq 0,04$ ) o tempo de alimentação (Tabela 3). DeVries e Chevaux (2014) estudaram o efeito da suplementação com  $1 \times 10^{10}$  UFC de *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-1077 sobre o comportamento de vacas em lactação. Segundo estes autores, a adição de leveduras na dieta aumenta o número de refeições e reduz o intervalo entre elas, sem afetar o tempo diário de consumo e de ruminção. Mullins et al. (2012) também observaram um aumento da frequência de refeições com a utilização de monensina sódica na dieta de gado de

corde. O efeito de aditivos moduladores da fermentação ruminal sobre a frequência de refeições tem sido associado à maior estabilidade ruminal e a menor susceptibilidade do animal à acidose ruminal subaguda. Animais mais susceptíveis a acidose ruminal apresentam um maior período de latência (entre o final da alimentação e início da ruminação; DONG et al., 2018). Apesar de não ter sido avaliada a quantidade e a frequência de refeições no presente estudo, a adição de leveduras aumentou o tempo diário de alimentação. Este resultado está intimamente relacionado ao aumento do consumo de matéria seca apresentado pelos animais suplementados com leveduras.

A suplementação com leveduras aumentou ( $P \leq 0,04$ ) os tempos de ruminação e ócio deitado. No entanto, os animais recebendo leveduras apresentaram menor ( $P \leq 0,01$ ) tempo de ruminação e ócio de pé. No entanto, os tratamentos não afetaram ( $P \geq 0,31$ ) os tempos totais de ruminação, ócio e mastigação. Estes resultados evidenciam que os animais recebendo leveduras permaneceram deitados por mais tempo, evidenciando que estavam mais confortáveis e menos sujeitos ao estresse térmico, como discutido abaixo.

**Tabela 3** Comportamento ingestivo de vacas em lactação alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de suplementação dietética de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>			EPM <sup>2</sup>	Probabilidades <sup>3</sup>						
	CONT	L600	L1200		Trat	Tp	T.×T.	C1	Lin.	Qua.	
Comportamentos, %											
Alimentando	22,4	23,4	24,4	0,90	0,01	<0,01	0,52	0,04	0,25	0,64	
Ruminando	29,6	30,4	29,2	0,69	0,66	0,62	<0,01	0,88	0,75	0,39	
Rum. de pé	9,6	6,2	7,00	0,662	<0,01	0,01	<0,01	<0,01	0,01	0,02	
Rum. deitado	20,1	24,1	22,2	0,79	0,03	0,06	0,03	0,02	0,14	0,02	
Ócio	44,4	45,9	42,6	1,03	0,31	0,01	0,06	0,93	0,40	0,21	
Ócio de pé	19,5	13,6	16,8	0,92	0,01	0,68	0,77	0,01	0,11	<0,01	
Ócio deitado	24,9	32,2	25,8	1,20	0,01	0,05	0,08	0,04	0,68	<0,01	
Bebendo	3,0	2,5	2,9	0,19	0,49	0,12	0,65	0,48	0,89	0,24	
Mastigando	52,0	52,0	53,6	1,03	0,37	0,01	0,10	0,97	0,46	0,23	

<sup>1</sup>Dietas experimentais: CONT (controle): dieta basal, sem leveduras; L600: dieta contendo 22,2 g/kg MS de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira (RFLIS; Levupass®, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil) e 0,75 g/kg de levedura viva (Levumilk®, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil), formulada para um consumo de 600 g/d de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva; e L1200: dieta contendo 44,4 g/kg de RFLIS (Levupass®) e 0,75 g/kg de levedura viva (Levumilk®), formulada para um consumo de 1200

g/dia de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva. <sup>2</sup>EPM: erro padrão da média; <sup>3</sup>Probabilidades Tratamento (Trat); tempo (Tp); interação tratamento-tempo (T. $\times$ T.); contraste do efeito da inclusão de RFLIS (C1; L0 vs. L600 + L1200); contrastes para avaliação do efeito linear (Lin) e quadrático (Qua.).

## 5.2 Consumo de matéria seca, índice de seleção de partículas e avaliações fecais

Desnoyers et al. (2009) observaram em um estudo metanalítico que os efeitos da suplementação com leveduras sobre o consumo de vacas leiteiras são variáveis entre estudos. No entanto, animais recebendo leveduras apresentam um consumo 0,44 g/kg de peso vivo maior do que animais não suplementados com leveduras. No presente estudo, a adição de RFLIS afetou de maneira quadrática ( $P < 0,01$ ) o consumo de matéria seca dos animais (Tabela 4). Os animais recebendo L600 apresentaram um consumo de matéria seca maior do que os animais alimentados com CONT e L1200. Além disso, a adição de RFLIS afetou de maneira linear e quadrática ( $P \leq 0,01$ ) o teor de amido das fezes dos animais. Os animais recebendo leveduras tenham reduzido ( $P < 0,01$ ) o teor de amido das fezes, a redução foi maior no tratamento L600 do que no tratamento L1200.

O teor de amido nas fezes é um indicativo da digestibilidade do amido no trato total (FREDIN et al., 2014). A redução do teor de amido nas fezes dos animais alimentados com L600 evidencia que a adição de leveduras e de RFLIS, nesta dose, promoveu um ambiente mais equilibrado, contribuindo não apenas para o aumento da digestibilidade do amido, mas também para o aumento do consumo de matéria seca dos animais. Por outro lado, os animais alimentados com L1200 apresentaram amido fecal e consumo de matéria seca similares ao tratamento controle. Estudando o efeito de doses crescentes de *S. cerevisiae* ( $0, 5,7 \times 10^7$  e  $6,0 \times 10^8$  UFC/dia) para vacas leiteiras, Jiang et al. (2017a) observaram a dose mais elevada não aumentou a produção de leite dos animais. Elghandour et al. (2014) já havia observado que o uso de doses elevadas de levedura não traz efeitos benéficos adicionais sobre a digestibilidade da fibra de forrageiras de baixa qualidade. De acordo com Jiang et al. (2017b), uma alta dose de leveduras reduz a abundância de *Butyrivibrio fibrisolvens* (bactéria fibrolítica), o que potencialmente limita a digestibilidade da fibra.

No presente estudo, os tratamentos não afetaram ( $P \geq 0,13$ ) os índices de seleção de partículas e o resíduo alimentar fecal. Como o efeito positivo da adição de leveduras na dieta de ruminantes tem sido largamente documentado (WOHLT; FINKELSTEIN; GHUNG, 1991; GUEDES et al., 2008; MARDEN et al., 2008; SOUSA et al., 2018), era esperado uma redução do resíduo alimentar fecal, em resposta à suplementação com

leveduras. Da mesma forma, acreditava-se que a suplementação com leveduras pudesse aumentar o índice de seleção de grandes partículas (maiores que 19 mm). No entanto, nenhum destes resultados foram observados. O efeito da suplementação com leveduras sobre as variáveis previamente citadas pode ser confundido pelos seus efeitos sobre consumo. Animais com maior consumo de matéria seca, como aqueles consumindo L600 tendem a apresentar maior resíduo alimentar fecal e menor índice de seleção de grandes partículas.

**Tabela 4** Consumo de matéria seca, índice de seleção de partículas e parâmetros fecais de vacas em lactação alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de suplementação dietética de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>			EPM <sup>2</sup>	Probabilidades <sup>3</sup>					
	CONT	L600	L1200		Trat	Tp	T.×T.	C1	Lin.	Qua.
CMS <sup>4</sup>	25,7	26,5	25,2	0,11	<0,01	<0,01	<0,01	0,15	0,54	<0,01
Índice de seleção										
>19 mm	0,95	0,95	0,95	0,001	0,62	0,40	0,64	0,80	0,35	0,49
19-8 mm	1,00	1,00	1,00	0,002	0,13	0,50	0,62	0,14	0,07	0,34
8-4 mm	1,00	1,00	1,00	0,001	0,72	0,43	0,64	0,72	0,50	0,65
<4 mm	1,02	1,00	1,01	0,002	0,65	0,49	0,60	0,65	0,54	0,71
Fezes										
MN <sup>5</sup>	35,5	36,8	33,6	0,93	0,42	<0,01	0,76	0,90	0,44	0,28
Amido,%	10,8	5,3	8,4	0,46	<0,01	0,22	<0,01	<0,01	0,01	<0,01
DG <sup>6</sup>	89,2	94,7	91,6	0,88	<0,01	0,22	<0,01	<0,01	0,01	<0,01

<sup>1</sup>Dietas experimentais: CONT (controle): dieta basal, sem leveduras; L600: dieta contendo 22,2 g/kg MS de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira (RFLIS; Levupass®, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil) e 0,75 g/kg de levedura viva (Levumilk®, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil), formulada para um consumo de 600 g/d de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva; e L1200: dieta contendo 44,4 g/kg de RFLIS (Levupass®) e 0,75 g/kg de levedura viva (Levumilk®), formulada para um consumo de 1200 g/dia de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva. <sup>2</sup>EPM: erro padrão da média; <sup>3</sup>Probabilidades Tratamento (Trat); tempo (Tp); interação tratamento-tempo (T.×T.); contraste do efeito da inclusão de RFLIS (C1; L0 vs. L600 + L1200); contrastes para avaliação do efeito linear (Lin) e quadrático (Qua.); <sup>4</sup>Consumo de matéria seca (CMS); <sup>5</sup>Matéria natural (MN) retida na peneira com porosidade de 1-mm; <sup>6</sup>Estimativa de digestibilidade (DG) do amido.

### 5.3 Síntese de proteína microbiana

Os tratamentos não afetaram ( $P = 0,61$ ) a excreção diária de ácido úrico (Tabela 5). No entanto, o fornecimento de leveduras aumentou ( $P \leq 0,02$ ) a excreção de derivados

purina tanto na urina quanto no leite, o que resultou em aumento da estimativa de purinas absorvidas e da síntese de proteína microbiana. Estudando o fluxo duodenal de proteína microbiana em vacas leiteiras alimentadas com dietas contendo leveduras vivas, Erasmus et al. (1992) observou um aumento do fluxo de nitrogênio não amônia e de aminoácidos, nos animais que receberam suplementação com leveduras.

Em um estudo um pouco mais recente, Jiang et al. (2017b) estudaram o efeito de doses crescentes de leveduras sobre a abundância de bactérias ruminais. Houve pequenas diferenças entre as doses, evidenciando a ausência de um comportamento dose-resposta da adição de leveduras na dieta. Além disso, algumas bactérias fibrolíticas, como *Ruminococcus* e *Fibrobacter succinogenes* tiveram aumento de abundância em relação ao tratamento controle apenas com a adição da menor dose de leveduras.

**Tabela 5** Excreção de derivados purina e síntese de proteína microbiana de vacas em lactação alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de suplementação dietética de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>			EPM <sup>2</sup>	Probabilidades <sup>3</sup>					
	CONT	L600	L1200		Trat	Tp	T.×T.	C1	Lin.	Qua.
mmol/dia										
Alantoina urina	408	505	497	32,6	0,02	0,05	0,50	0,02	0,32	0,04
Alantoina leite	24,4	34,4	34,2	1,74	0,04	<0,01	0,43	0,01	0,03	0,16
Ácido úrico	115	80,8	69,4	19,01	0,61	0,17	0,44	0,78	0,35	0,78
Purinas totais	547	620	601	41,5	0,04	0,27	0,53	0,04	0,57	0,02
Purinas abs	625	710	688	49,4	0,03	0,27	0,52	0,03	0,57	0,04
g/dia										
Nitrogênio mic	455	517	500	35,2	0,02	0,27	0,52	0,01	0,54	0,04
Proteína mic	2.841	3.228	3.125	52,6	0,02	0,27	0,52	0,01	0,54	0,04
Urina (mg/dL)										
Ureia	205	174	193	7,6	0,01	0,35	0,78	0,05	0,49	0,03

<sup>1</sup>Dietas experimentais: CONT (controle): dieta basal, sem leveduras; L600: dieta contendo 22,2 g/kg MS de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira (RFLIS; Levupass<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil) e 0,75 g/kg de levedura viva (Levumilk<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil), formulada para um consumo de 600 g/d de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva; e L1200: dieta contendo 44,4 g/kg de RFLIS (Levupass<sup>®</sup>) e 0,75 g/kg de levedura viva (Levumilk<sup>®</sup>), formulada para um consumo de 1200 g/dia de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva.<sup>2</sup>EPM: erro padrão da média; <sup>3</sup>Probabilidades Tratamento (Trat); tempo (Tp); interação tratamento-tempo (T.×T.); contraste do efeito da inclusão de RFLIS (C1; L0 vs. L600 + L1200); contrastes para avaliação do efeito linear (Lin) e quadrático (Qua.).

#### 5.4 Parâmetros bioquímicos séricos

Houve efeito quadrático ( $P = 0,03$ ) da adição de RFLIS sobre as concentrações séricas de glicose, colesterol e triglicerídeos (Tabela 6). As concentrações de glicose e colesterol foram maiores nos animais alimentados com L600 do que nos animais consumindo CONT e L1200. Por outro lado, os animais alimentados com L600 tiveram uma menor concentração sérica de triglicerídeos do que os animais dos tratamentos CONT e L1200. Os efeitos positivos da utilização de RFLIS sobre a concentração sérica de glicose estão relacionadas ao aumento da digestibilidade do amido, evidenciada pela redução da concentração de amido fecal no presente estudo. Estudando a infusões ruminais e abomasais de amido em vacas leiteiras, Knowlton et al. (1998) observaram um aumento da concentração de glicose circulante e da produção de leite, além de uma redução dos ácidos graxos não esterificados. No presente estudo, a redução da concentração de glicose sérica parece ter contribuído para a redução da lipólise, resultando em menores concentrações séricas de triglicerídeos nos animais consumindo L600.

**Tabela 6** Parâmetros bioquímicos séricos de vacas em lactação alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de suplementação dietética de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>			EPM <sup>2</sup>	Probabilidades <sup>3</sup>					
	CONT	L600	L1200		Trat	Tp	T.×T.	C1	Lin.	Qua.
Parâmetros bioquímicos, mg/dL										
Glicose	60,5	64,9	59,5	1,53	0,03	0,55	0,49	0,32	0,12	0,03
Colesterol	117	158	154	11,8	<0,01	0,21	0,54	<0,01	0,03	0,01
Triglicerídeos	73,8	63,3	91,8	3,71	<0,01	0,57	0,23	<0,01	0,01	<0,01
Proteína total, g/L	7,8	7,2	7,3	0,71	0,21	0,55	0,23	0,22	0,25	0,51
Albumina	2,5	2,6	2,6	0,03	0,33	0,32	0,36	0,46	0,40	0,36
N ureico	12,7	13,9	12,3	0,43	0,21	0,34	0,84	0,54	0,88	0,56

<sup>1</sup>Dietas experimentais: CONT (controle): dieta basal, sem leveduras; L600: dieta contendo 22,2 g/kg MS de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira (RFLIS; Levupass<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil) e 0,75 g/kg de levedura viva (Levumilk<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil), formulada para um consumo de 600 g/d de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva; e L1200: dieta contendo 44,4 g/kg de RFLIS (Levupass<sup>®</sup>) e 0,75 g/kg de levedura viva (Levumilk<sup>®</sup>), formulada para um consumo de 1200 g/dia de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva. <sup>2</sup>EPM: erro padrão da média; <sup>3</sup>Probabilidades Tratamento (Trat); tempo (Tp); interação tratamento-tempo (T.×T.); contraste do efeito da



inclusão de RFLIS (C1; L0 vs. L600 + L1200); contrastes para avaliação do efeito linear (Lin) e quadrático (Qua.).

Os tratamentos não afetaram ( $P \geq 0,21$ ) as concentrações séricas de proteína total, albumina e nitrogênio ureico séricos. Se por um lado o aumento da digestibilidade e da síntese de proteína microbiana podem contribuir para o aumento dos níveis séricos destes constituintes, por outro, o aumento da secreção de sólidos no leite atua como dreno dos mesmos, resultando em nenhum efeito dos tratamentos avaliados sobre a referidas variáveis.

### 5.5 Produção e composição do leite

De maneira geral, a adição de leveduras aumentou ( $P \leq 0,03$ ) a produção de leite, produção de leite corrigida para o teor de gordura, a produção de gordura, de proteína e de caseína, além do teor de gordura no leite das vacas e da secreção de energia no leite (Tabela 7). Os aumentos foram de 2,30 kg/d (6,3%) na produção de leite, 2,06 na produção de leite corrigida para o teor de gordura e 3,02% no teor de gordura do leite. Os efeitos positivos sobre desempenho produtivo da adição de leveduras de dietas de vacas em lactação têm sido largamente documentados (PIVA et al., 1993; NOCEK et al., 2003; DESNOYERS et al., 2009; NOCEK et al., 2011; MAAMOURI et al., 2014; SALVATTI et al., 2015; PERDOMO et al., 2020).

De acordo com DESNOYERS et al. (2009), em um estudo meta analítico, a adição de leveduras a dietas de vacas em lactação aumenta em 1,2 g/kg de peso corporal a produção de leite e em 0,05% o teor de gordura no leite. No presente estudo, animais consumindo dietas contendo leveduras apresentaram um aumento médio de 2,3 kg/d (3,2 g/kg de peso vivo) e de 0,12% no teor de gordura do leite. É importante considerar que no estudo estes autores foram considerados ensaios conduzidos com animais em todas as fases de produção, enquanto que no presente estudo os animais estavam no pico de lactação.

**Tabela 7** Desempenho produtivo de vacas em lactação alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de suplementação dietética de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira

---

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>	EPM <sup>2</sup>	Probabilidades <sup>3</sup>
------	-----------------------------------	------------------	-----------------------------

---

	CON	L600	L1200		Trat	Tp	T.×T.	C1	Lin.	Qua.
	T									
Produção, kg/dia										
PL <sup>4</sup>	34,2	36,7	36,3	0,53	0,01	<0,01	0,54	<0,01	0,33	0,43
PLC. 3,5% <sup>5</sup>	36,1	38,2	38,2	0,57	0,01	<0,01	0,58	<0,01	0,30	0,44
Gordura	1,28	1,43	1,39	0,023	0,02	<0,01	0,35	0,02	0,50	0,03
Proteína	1,15	1,26	1,28	0,023	0,04	<0,01	0,43	0,03	0,43	0,40
Lactose	1,54	1,66	1,65	0,024	0,13	0,43	0,54	0,45	0,33	0,49
Caseína	0,89	1,00	0,98	0,011	0,08	0,04	0,56	0,03	0,67	0,78
Composição do leite, %										
Gordura	3,74	3,89	3,82	0,044	0,04	<0,01	0,51	0,03	0,11	0,09
Proteína	3,39	3,44	3,54	0,022	0,06	<0,01	0,67	0,07	0,08	0,43
Lactose	4,50	4,53	4,54	0,012	0,32	0,13	0,56	0,55	0,24	0,77
Caseína	2,61	2,73	2,70	0,022	0,13	0,05	0,67	0,23	0,43	0,88
ECC <sup>6</sup>	2,86	2,77	2,87	0,018	0,37	<0,01	0,87	0,50	0,99	0,16
PC (kg) <sup>7</sup>	664	693	714	8,6	0,35	<0,01	0,28	0,19	0,15	0,88
MECC <sup>8</sup>	0,02	0,04	0,01	8,545	0,58	<0,01	0,92	0,69	0,89	0,31
MPC <sup>9</sup>	29,2	6,42	20,8	0,02	0,41	0,40	0,44	0,31	0,63	0,21
NU <sup>10</sup> , mg/dL	15,1	14,1	14,8	22,77	0,35	<0,01	0,65	0,22	0,56	0,89
CCS <sup>11</sup> (1000/ml)	78	75	82	0,13	0,43	0,67	0,78	0,51	0,83	0,44
ECM <sup>12</sup> (Mcal/kg)	39,0	40,4	40,5	0,62	0,03	<0,01	0,59	0,01	0,76	0,87
<i>Eficiência</i>										
PL/CMS <sup>14</sup>	1,33	1,38	1,43	0,021	0,05	<0,01	0,70	0,01	<0,01	0,13
PLC/CMS	1,43	1,46	1,52	0,023	0,05	<0,01	0,76	0,02	<0,01	0,32
ECM/CM	1,47	1,52	1,55	0,028	0,04	<0,01	0,67	0,03	<0,01	0,39

S

<sup>1</sup>Dietas experimentais: CONT (controle): dieta basal, sem leveduras; L600: dieta contendo 22,2 g/kg MS de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira (RFLIS; Levupass®, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil) e 0,75 g/kg de levedura viva (Levumilk®, Kera Nutrição Animal, Bento

Gonçalves, Brasil), formulada para um consumo de 600 g/d de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva; e L1200: dieta contendo 44,4 g/kg de RFLIS (Levupass<sup>®</sup>) e 0,75 g/kg de levedura viva (Levumilk<sup>®</sup>), formulada para um consumo de 1200 g/dia de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva. <sup>2</sup>EPM: erro padrão da média; <sup>3</sup>Probabilidades Tratamento (Trat); tempo (Tp); interação tratamento-tempo (T. $\times$ T.); contraste do efeito da inclusão de RFLIS (C1; L0 vs. L600 + L1200); contrastes para avaliação do efeito linear (Lin) e quadrático (Qua.); <sup>4</sup>Produção de leite (PL); <sup>5</sup>Produção de leite corrigida (PLC) para 3,5% de gordura; <sup>6</sup>Escore de condição corporal (ECC); <sup>7</sup>Peso corporal (PC); <sup>8</sup>Mudança de escore de condição corporal (MECC); <sup>9</sup>Mudança de peso corporal (MPC); <sup>10</sup>Nitrogênio ureico (NU); <sup>11</sup>Contagem de células somáticas (CCS); <sup>12</sup>Secreção de energia no leite (ECM); <sup>13</sup>Consumo de matéria seca (CMS).

Ainda, o fornecimento de RFLIS aumentou linearmente ( $P < 0,01$ ) a eficiência produtiva dos animais. Apesar do aumento do consumo de matéria seca (+0,8 kg/dia ou 3,1%), observado apenas para o tratamento L600 em relação a L1200, houve um aumento de maior magnitude na produção de leite nos animais alimentados com dietas contendo RFLIS. De acordo com Oba e Allen (1999), o aumento de uma unidade na digestibilidade da FDN resulta em um aumento de 0,17 kg/dia no consumo de matéria seca e de 0,25 kg/dia na produção de leite. Além do efeito positivo da adição de RFLIS sobre a digestibilidade, convém destacar aqui os efeitos positivos sobre a síntese de proteína microbiana e os parâmetros séricos, que contribuem para este aumento da eficiência produtiva dos animais.

O aumento do desempenho não foi acompanhado de perda de peso no presente estudo, uma vez que os tratamentos não afetaram ( $P \geq 0,35$ ) o escore de condição corporal, peso vivo, mudança de escore e de peso vivo, nitrogênio ureico do leite e a contagem de células somáticas.

### 5.6 Perfil de ácidos graxos do Leite

A adição de leveduras na dieta aumentou ( $P \leq 0,02$ ) o teor de ácidos graxos de cadeia curta e de ácidos graxos de cadeia ímpar no leite dos animais (Tabela 8). Os ácidos graxos de cadeia ímpar são majoritariamente de origem microbiana (ZHANG et al., 2020). Além do efeito geral de leveduras, a adição de RFLIS afetou de maneira quadrática a concentração destes ácidos graxos. Estes resultados justificam-se pelo aumento da síntese de proteína microbiana e do consequente aumento do fluxo pós ruminal nos animais alimentados com dietas contendo leveduras e o menor teor de RFLIS.

**Tabela 8** Perfil de ácidos graxos do leite de vacas em lactação alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de suplementação dietética de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>			EPM <sup>2</sup>	Probabilidades <sup>3</sup>					
	CONT	L600	L1200		Trat	Tp	T.×T.	C1	Lin.	Qua.
Ácidos graxos, g/100 g										
C4:0	1,59	1,60	1,58	0,012	0,45	0,13	0,38	0,97	0,55	0,27
C6:0	1,66	1,65	1,67	0,013	0,46	0,14	0,59	0,65	0,34	0,44
C8:0	2,86	2,91	2,88	0,024	0,12	0,06	0,87	0,04	0,42	0,04
C10:0	6,76	6,78	6,77	0,054	0,91	0,03	0,84	0,97	0,85	0,70
C12:0	4,22	4,23	4,22	0,035	0,54	0,26	0,34	0,28	0,86	0,39
C14:0	10,9	10,9	10,9	0,327	0,44	<0,01	0,84	0,34	0,69	0,27
C14:1	0,053	0,054	0,052	0,001	0,47	0,06	0,87	0,99	0,54	0,29
C15:0	1,42	1,49	1,47	0,014	0,02	0,66	0,55	0,03	0,55	0,03
C15:1	0,191	0,198	0,196	0,016	0,02	0,55	0,90	0,01	0,59	0,04
C16:0	27,7	27,7	27,6	0,65	0,77	<0,01	0,64	0,56	0,41	0,96
C16:1	0,952	0,961	0,960	0,001	0,82	0,11	0,76	0,54	0,62	0,71
C17:0	0,178	0,180	0,179	0,001	0,91	0,20	0,64	0,75	0,89	0,70
C17:1	0,383	0,454	0,474	0,001	0,19	0,36	0,87	0,02	0,02	0,45
C18:0	14,4	14,2	14,3	0,55	0,02	0,02	0,44	0,01	0,32	0,03
C18:1 <i>c11</i>	7,20	7,16	7,17	0,441	0,03	0,02	0,46	0,02	0,36	0,02
C18:1 <i>c9</i>	13,4	13,6	13,5	0,54	0,11	0,55	0,49	0,13	0,40	0,21
C18:2 <i>t10 c12</i>	0,971	0,821	0,863	0,001	<0,01	0,55	0,85	0,03	0,55	0,01
C18:3 <i>c9c12c15</i>	1,56	1,59	1,60	0,011	0,22	<0,01	0,91	0,31	0,88	0,25
C20:0	0,891	0,888	0,902	0,002	0,47	0,04	0,88	0,32	0,36	0,42
C22:0	0,852	0,847	0,853	0,003	0,68	0,25	0,79	0,92	0,39	0,73
C24:0	0,210	0,222	0,230	0,004	0,20	<0,01	0,58	0,11	0,08	0,90
Sumário										
4 a 14 C <sup>4</sup>	27,5	28,2	28,1	2,56	0,01	0,21	0,87	0,02	0,87	0,03
> 16 C <sup>5</sup>	70,4	70,0	70,2	2,06	0,53	0,55	0,86	0,53	0,65	0,82
AGS <sup>6</sup>	73,7	73,6	73,6	3,01	0,62	0,75	0,91	0,35	0,84	0,36
AGI <sup>7</sup>	26,3	26,4	26,4	3,65	0,62	0,75	0,92	0,21	0,36	0,55
AGMI <sup>8</sup>	22,3	22,4	22,4	3,00	0,59	0,19	0,91	0,27	0,38	0,47
AGPI <sup>9</sup>	4,03	3,99	4,04	0,874	0,10	<0,01	0,16	0,66	0,46	0,45

AGCI <sup>10</sup>	2,27	2,31	2,28	0,015	0,02	0,55	0,25	0,01	0,45	0,03
AGS/AGI <sup>11</sup>	2,80	2,79	2,78	0,114	0,62	0,71	0,91	0,37	0,35	0,85
AGS/AGI 18C <sup>12</sup>	0,583	0,574	0,578	0,001	0,54	0,52	0,21	0,32	0,55	0,87

<sup>1</sup>Dietas experimentais: CONT (controle): dieta basal, sem leveduras; L600: dieta contendo 22,2 g/kg MS de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira (RFLIS; Levupass<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil) e 0,75 g/kg de levedura viva (Levumilk<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil), formulada para um consumo de 600 g/d de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva; e L1200: dieta contendo 44,4 g/kg de RFLIS (Levupass<sup>®</sup>) e 0,75 g/kg de levedura viva (Levumilk<sup>®</sup>), formulada para um consumo de 1200 g/dia de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva. <sup>2</sup>EPM: erro padrão da média; <sup>3</sup>Probabilidades Tratamento (Trat); tempo (Tp); interação tratamento-tempo (T. $\times$ T.); contraste do efeito da inclusão de RFLIS (C1; L0 vs. L600 + L1200); contrastes para avaliação do efeito linear (Lin) e quadrático (Qua.); <sup>4</sup>Ácidos graxos de 4 a 14 carbonos; <sup>5</sup>Ácidos graxos com mais de 16 carbonos; <sup>6</sup>Ácidos graxos saturados; <sup>7</sup>Ácidos graxos insaturados; <sup>8</sup>Ácidos graxos monoinsaturados. <sup>9</sup>Ácidos graxos poliinsaturados. <sup>10</sup>Ácidos graxos de cadeia ímpar. <sup>11</sup>Relação ácidos graxos saturados/insaturados total. <sup>12</sup>Relação ácidos graxos saturados/insaturados com 18 carbonos. <sup>11</sup>Relação produto/substrato da enzima esteroil-CoA dessaturase.

De maneira geral, a adição de leveduras na dieta aumentou ( $P \leq 0,04$ ) as concentrações de C8:0, C15:0 a C15:1, além de reduzir ( $P \leq 0,03$ ) os teores de C17:1, C18:0, C18:1 *cis*-11, C18:2 *trans*-10 *cis*-12. A redução do teor de C18:2 *trans*-10 *cis*-12 no leite dos animais alimentados com leveduras é condizente com o aumento do teor de gordura no leite, tendo em vista que este ácido graxo tem sido associado com a síndrome da redução do teor de gordura no leite (BAUMAN; GRIINARI, 2003).

Ademais, houve efeito quadráticos da inclusão de RFLIS sobre a concentração de alguns ácidos graxos no leite. Animais recebendo L600 apresentaram maiores teores de C8:0, C15:0 e C15:1; e menores de C18:0, C18:1 *cis*-11, C18:2 *trans*-10 *cis*-12 do que os animais alimentados com CONT e L1200.

### 5.7 Variáveis fisiológicas e emissão de calor

De maneira geral, a adição de leveduras reduziu ( $P \leq 0,03$ ) a temperatura vaginal e a temperatura retal. Além disso, as doses de RFLIS reduziram linearmente ( $P = 0,04$ ) a frequência respiratória (Tabela 9). No entanto, houve efeito quadrático ( $P < 0,01$ ) das doses de RFLIS sobre a emissão de calor na face, olho e narina. Os animais alimentados com L660 apresentaram menores emissões do que os animais do tratamento controle e aqueles do tratamento L1200. Dias et al. (2018), estudando a suplementação com leveduras em vacas no final de lactação também encontraram redução da taxa respiratória e da temperatura da retal e da pele. De acordo com estes autores, estes efeitos estão associados ao aumento da concentração plasmática de niacina, que tem um efeito

vasodilatador, aumentando a eficiência com que os animais dissipam calor. Além disso, sabe-se que vacas regulação da temperatura corporal é um processo que consome energia dos animais. Como vacas em estresse térmico tendem a apresentar uma demanda aumentada de glicose como substrato energético (WHEELLOCK et al., 2012), é possível que este menor estresse térmico reforce os efeitos positivos observados sobre o processo digestivo, levando a um efeito ainda mais positivo sobre o desempenho produtivo, como observado no presente estudo.

**Tabela 9** Variáveis fisiológicas e emissão de calor de vacas em lactação alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de suplementação dietética de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>			EPM <sup>2</sup>	Probabilidades <sup>3</sup>					
	CONT	L600	L1200		Trat	Tp	T.×T.	C1	Lin.	Qua.
Temperatura, °C										
Vaginal	38,8	38,3	38,3	0,05	0,03	<0,01	0,63	0,01	0,11	0,75
Retal	38,8	38,2	38,2	0,05	0,05	<0,01	0,10	0,03	0,11	0,06
Corporal	37,9	37,2	37,5	0,067	0,17	<0,01	0,42	0,08	0,22	0,13
Frequência respiratória, 1/min.										
	58,5	55,6	51,8	0,54	0,03	<0,01	0,55	0,02	0,04	0,33
<i>Emissão de calor termografia infravermelha (°C)</i>										
Face	33,6	33,1	34,0	0,032	0,01	<0,01	0,02	0,76	0,18	<0,01
Olho	35,6	34,7	35,2	0,058	<0,01	<0,01	0,01	<0,01	0,01	<0,01
Narina	32,7	32,1	32,6	0,102	<0,01	<0,01	0,02	0,24	0,24	<0,01

<sup>1</sup>Dietas experimentais: CONT (controle): dieta basal, sem leveduras; L600: dieta contendo 22,2 g/kg MS de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira (RFLIS; Levupass®, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil) e 0,75 g/kg de levedura viva (Levumilk®, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil), formulada para um consumo de 600 g/d de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva; e L1200: dieta contendo 44,4 g/kg de RFLIS (Levupass®) e 0,75 g/kg de levedura viva (Levumilk®), formulada para um consumo de 1200 g/dia de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva. <sup>2</sup>EPM (erro padrão da média).<sup>3</sup> Probabilidades INT (interação entre dieta e tempo experimental); C vs PL (controle versus LEVUPASS®); Quad (efeito quadrático).

## 6 CONCLUSÃO

A adição de leveduras na dieta de vacas leiteiras em lactação aumenta o desempenho produtivo, a digestão do amido, a síntese de proteína microbiana, as concentrações séricas de glicose e melhora os parâmetros relacionados ao estresse térmico. Apesar de muitos dos efeitos positivos da inclusão de RFLIS serem lineares crescentes, os efeitos sobre consumo, amido fecal e desempenho não são dose dependente.

## 7 IMPLICAÇÕES

A inclusão de leveduras na dieta de vacas leiteiras é uma estratégia interessante para otimizar o consumo, a digestão e a eficiência produtiva de vacas leiteiras. A menor dose de RFLIS avaliada (600 g/d) é a mais recomendada para utilização na dieta de vacas em lactação.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDULMUMINI, B.A.; SHENGYONG, M. Influence of yeast on rumen fermentation, growth performance and quality of products in ruminants: A review. **Animal Nutrition**, v. 7, n. 1, p. 31-41, 2021.
- ADAMS, A. L. et al. 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.
- AOAC. **Official Methods of Analysis**. 17th Ed. The Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD, USA, 2000.
- ARAMBEL, M. J.; KEN, B. A. Effect of yeast culture on nutrient digestibility and milk yield response in early – to midlactation dairy cows. **Journal Dairy Science**, v.73, p. 1560-1563, 1990.
- BAUMAN, D.E.; GRIINARI, J.M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. **Annual Review of Nutrition**, v. 23, n. 1, p. 203–227, 2003.
- BEAUCHEMIN, K.A. Ruminant acidosis in dairy cows: balancing physically effective fiber with starch availability. **Florida Ruminant Nutrition Symposium**, p. 17-27, 2007.

- BITENCOURT, L. L. et al. Diet digestibility and performance of dairy cows supplemented with live yeast. **Scientia Agricola**, v. 68, n. 3, p. 301-307, 2011.
- BRUNO, R. G. S. et al. Effect of feeding *Saccharomyces cerevisiae* on performance of dairy cows during summer heat stress. **Animal Feed Science and Technology**, v.150, n. 3-4 p. 175-186, 2009.
- BUTOLO, J. E. Uso de biomassa de levedura em alimentação animal: propriedades, custo relativo a outras fontes de nutrientes. In: "WORKSHOP" — PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE LEVEDURA: UTILIZAÇÃO EM ALIMENTAÇÃO HUMANA E ANIMAL, 1996, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1996. p. 70-89.
- CALLAWAY, T. R. et al. Probiotics, prebiotics and competitive exclusion for prophylaxis against bacterial disease. **Animal Health Research Reviews**, v. 9, n. 2, p.217-225, 2008.
- CARRO, M. D., LEBZIEN, P., ROHR, K. Effects of yeast culture on rumen fermentation, digestibility and duodenal flow in dairy cows fed a silage based diet. **Livestock Production Science**, v. 32, n. 3, p. 219-229, 1992.
- CHAGOYÁN, J.C.V. et al. 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 NUTRICION ANIMAL, 5., 2002, Guadalajara. **Anais...** Guadalajara, 2002.
- CHAUCHEYRAS, F. et al. In vitro H<sub>2</sub> utilization by a ruminal acetogenic bacterium cultivated alone or in association with an archaea methanogen is stimulated by a probiotic strain of *Saccharomyces cerevisiae*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.61, n.9, p.3466-3467, 1995.
- CHAUCHEYRAS-DURAND, F. et al. **Use of yeast probiotics in ruminants: Effects and mechanisms of action on rumen pH, fiber degradation, and microbiota according to the diet.** In: Probiotic in Animals. Rigobelo, E. ed. License InTech, p. 119-152, 2012.
- CHAUCHEYRAS-DURAND, F; DURAN D, H. Probiotics in animal nutrition and health. **Beneficial Microbes**, v. 1, n. 1, p. 3-9, 2010.
- CLARK, J.H.; KLUSMEYER, T.H.; CAMERON, M.R. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.2304-2323, 1992.



- COSTA, Leidimara Feregueti. Leveduras na nutrição animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, Viçosa, v. 1, n. 1, p.1-6, ago., 2004. Disponível em: <[http://www.nutritime.com.br/arquivos\\_internos/artigos/001V1N1P01\\_06\\_JUL2004.pdf](http://www.nutritime.com.br/arquivos_internos/artigos/001V1N1P01_06_JUL2004.pdf)>. Acesso em: 18 abr. 2022.
- DESNOYERS, M. et al. Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 4, p. 1620-1632, 2009.
- DEVRIES, T.J.; CHEVAUX, E. Modification of the feeding behavior of dairy cows through live yeast supplementation. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 10, p. 6499–6510, 2014.
- DIAS, A.L.G.; FREITAS, J.A.; MICAI, B.; AZEVEDO, R.A.; GRECO, L.F.; SANTOS, J.E.P. Effects of supplementing yeast culture to diets differing in starch content on performance and feeding behavior of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 1, p. 186–200, 2018.
- DIAZ, T. G.; BRANCO, A. F. Live yeasts and mannanoligosaccharides for the prevention of subacute ruminal acidosis. **Archivos de Zootecnia**, v. 68, n. 263, p. 456-462, 2019.
- DILLION, J. A., et al. Current state of enteric methane and the carbon footprint of beef and dairy cattle in the United States. **Animal Frontiers**, v. 11, n. 4, p. 57–68, 2021.
- DIMOPOULOS, G. et al. Effect of pulsed electric fields on the production of yeast extract by autolysis. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 48, p. 287-295, 2018.
- DONG, R.L.; CHIBISA, G.E.; BEAUCHEMIN, K.A. Estimating optimal observational sampling frequency of behaviors for cattle fed high- and low-forage diets. **Journal of Animal Science**, v. 96, n. 3, p. 783–796, 2018.
- DUTTA, T. K.; KUNDU, S. S. Response of mixed viable probiotics culture on milk production and nutrient availability in crossbred mid-lactating cows. **Indian Journal of Animal Science**, v. 78, p. 531-535, 2008.
- DUTTA, T. K.; KUNDU, S. S.; KUMAR, M. Potential of direct-fed-microbials on lactation performance in ruminants - a critical review. **Livestock Research for Rural Development**, v. 21, n.10, 2009.

- EDWARDS, I. E. **Practical uses of yeast culture in beef production: insight into its mode of action.** In **Biotechnology in the Feed Industry**. T. P. Lyons, ed. Alltech Tech. Publ., Nicholasville, KY, p.5, 1991.
- EDMONSON, A.J.; LEAN, I.J.; WEAVER, L.D.; FARVER, T.; WEBSTER, G. A body condition scoring chart for holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 1, p. 68–78, 1989.
- ELGHANDOUR, M. M., et al. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* at direct addition or pre-incubation on *in vitro* gas production kinetics and degradability of four fibrous feeds. **Italian Journal of Animal Science**, v. 13, p. 295–301, 2014.
- 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, 1992.
- FENG, S.; LOCK, A. L.; GARNSWORTHY, P. C. A rapid method for determining fatty acid composition of milk. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 11, p. 3785-3788, 2004.
- FERREIRA, I. M. P. L. V. O. et al. Brewer's *Saccharomyces* yeast biomass: characteristics and potential applications. **Trends in Food Science and Technology**, v. 21, n. 2, p.77-84, 2010.
- FONTY, G.; CHAUCHEYRAS-DURAND F. Effects and modes of action of live yeasts in the rumen. **Biologia**, v.61, n. 6, p. 741–750, 2006.
- FREDIN, S.M.; FERRARETTO, L.F.; AKINS, M.S.; HOFFMAN, P.C.; Shaver, R.D. Fecal starch as an indicator of total-tract starch digestibility by lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 3, p. 1862–1871, 2014.
- FUJIHARA, S., YAMAGUCHI, M. Effects of allopurinol 4-hydroxypyrazolo(3,4-d)pyrimidine on metabolism of allantoin in soybean plants. **Plant Physiology**, v. 62, n. 1, p. 134-138, 1978.
- FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 66, p. 365-378, 1989.
- GOMES, R.A. et al. Technical note: Relationship between infrared thermography and heat production in young bulls. **Journal of Animal Science**, v. 94, n. 3, p. 1105–1109, 2016.
- GONÇALVES, E. et al. Systematic analysis of transcriptional and post-transcriptional regulation of metabolism in yeast. **Plos Computational Biology**, v. 13, n. 1, 2017.

- GUEDES, C. M. et al. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* yeast on ruminal fermentation and fibre degradation of maize silages in cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 145, n. 1-4, p. 27-40, 2008.
- GUNTHER, K. D. **Effect of Yea-Sacc on milk yield, composition and feed intake of dairy cows**. Alltech (internal communication). Alltech, Lexington, KY, 1989.
- HARRISON, G. A. et al. Influence of addition of yeast culture supplement to diets of lactating cows on ruminal fermentation and microbial populations. **Journal of Dairy Science**, v. 71, p. 2967-2975, 1988.
- HENDRIX, D.L. Rapid extraction and analysis of nonstructural carbohydrates in plant tissues. **Crop Science**, v. 33, n. 6, p. 1306-1311, 1993.
- HUANG, G. L. Extraction of two active polysaccharides from the yeast cell wall. **Zeitschrift für Naturforschung**, 63c, p. 919-921, 2008.
- JENSEN, G. S.; PATTERSON, K. M.; YOON, I. Yeast culture has anti inflammatory effects and specifically activates NK cells. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, v. 31, p. 487–500, 2008.
- JIANG, Y.; et al. Effects of the dose and viability of *Saccharomyces cerevisiae*. 2. Ruminal fermentation, performance of lactating dairy cows, and correlations between ruminal bacteria abundance and performance measures. **Journal of Dairy Science**, v. 100, p. 8102–8118, 2017a.
- JIANG, Y.; et al. Effects of the dose and viability of *Saccharomyces cerevisiae* . 1. Diversity of ruminal microbes as analyzed by Illumina MiSeq sequencing and quantitative PCR. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 1, p. 325–342, 2017b.
- JOUANY, J. P. Optimizing rumen functions in the close-up transition period and early lactation to drive dry matter intake and energy balance in cows. **Animal Reproduction Science**, v. 36, n. 3-4, p. 250-264, 2006.
- KNOWLTON, K.F.; DAWSON, T.E.; GLENN, B.P.; HUNTINGTON, G.B.; ERDMAN, R.A. Glucose metabolism and milk yield of cows infused abomasally or ruminally with starch. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 12 , p. 3248–3258, 1998.
- KOBAYASHI, T.; ODA, S.; TAKENAKA, A.; ITABASHI, H. Effects of yeast culture supplement on milk protein yield, ruminal fermentation and blood components in early to mid-lactation dairy cows. **Bulletin National Institute Animal Industry**, v. 55, p. 13-20, 1995.

- KONONOFF, P.J.; HEINRICHS, A.J.; BUCKMASTER, D.R. Modification of the Penn State forage and total mixed ration particle separator and the effects of moisture content on its measurements. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 5, p. 1858–1863, 2003.
- KRAMER, J.K.; FELLNER, V.; DUGAN, M.E.; SAUER, F.D.; MOSSOBA, M.M.; YURAWECZ, M.P. Evaluating acid and base catalysts in the methylation of milk and rumen FA with special emphasis on conjugated dienes and total trans fatty acids. **Lipids**, v. 32, n. 11, p. 1219-1228, 1997.
- KREHBIEL, C. R. et al. Bacterial direct-fed microbials in ruminant diets: Performance response and mode of action. **Journal Animal Science**, v. 81, n.14, p. 120-132, 2003.
- KŘÍŽOVÁ, L. et al. The effect of feeding live yeast cultures on ruminal pH and redox potential in dry cows as continuously measured by a new wireless device. **Czech Journal of Animal Science**, v. 56, n. 1, p. 37-45, 2011.
- KUNG JR, L. et al. 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, n. 9, p. 2045-2051, 1997.
- LUND, A. Yeasts and moulds in the bovine rumen. **Journal of General Microbiology**, v. 81, n. 2, p. 453-462, 1974.
- MAAMOURI, O.; SELMI, H.; M'HAMDI, N. Effects of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) feed supplement on milk production and its composition in tunisian holstein friesian cows. **Scientia Agriculturae Bohemica**, v. 45, n. 3, p. 170-174, 2014.
- MANTHEY, A. K. et al. Lactation performance of dairy cows fed yeast-derived microbial protein in low-and-high-forage diets. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 4, p. 2775-2787, 2016.
- MARDEN, J. P. et al. How does live yeast differ from sodium bicarbonate to stabilize ruminal pH in high-yielding dairy cows? **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 9, p. 3528-3535, 2008.
- MARDEN, J. P. et al. A Bioenergetic-Redox Approach to the Effect of Live Yeast on Ruminal pH during Induced Acidosis in Dairy Cow. **American Journal of Analytical Chemistry**, v. 4, n.10a, 2013.
- MARTIN, S.A.; NISBET, D.J. Symposium: direct-fed microbials and rumen fermentation. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.6, p.1736-1744, 1992.

- MARTÍNEZ, J. M. et al. Release of Mannoproteins during *Saccharomyces cerevisiae* Autolysis Induced by Pulsed Electric Field. *Frontiers in Microbiology*, v. 7, n.1435, 2016.
- MCALLISTER, T. A. et al. Review: The use of direct fed microbials to mitigate pathogens and enhance production in cattle. **Canadian Journal Animal Science**, v. 91, n. 2, p. 193-211, 2011.
- MORAN, C.A. **Functional components of the cell wall of *Saccharomyces cerevisiae*: applications for yeast glucan and mannan.** In: ALLTECH'S ANNUAL SYMPOSIUM, Nicholasville. Proceedings... Nicholasville: Alltech Technical Publications, p. 283-296, 2004.
- MULLINS, C.R., et al. Effects of monensin on metabolic parameters, feeding behavior, and productivity of transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 3, p. 1323–1336, 2012.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC. 2001.
- NEAL, K. et al. Feeding protein supplements in alfalfa hay-based lactation diets improves nutrient utilization, lactational performance, and feed efficiency of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 12, p. 7716-7728, 2014.
- NEWBOLD C. J.; RAMOS-MORALES, E. Revisão: Microbioma ruminal e metaboloma microbiano: efeitos da dieta e do hospedeiro ruminante. **Animal**, v. 14, p. 78-86, 2020.
- NEWBOLD, C. J. et al. 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.
- NISBET, D. J.; MARTIN, S. A. Effect of dicarboxylic acids and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on lactate uptake by the ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. **Applied and Environmental Microbiology**. v.56, n.11, p.3515-3518, 1990.
- NOCEK, J. E. et al. Direct-fed microbial supplementation on the performance of dairy cattle during the transition period. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 1, p. 331-335, 2003.

- NOCEK, J. E.; HOLT, M. G.; OPPY, J. Effects of supplementation with yeast culture and enzymatically hydrolyzed yeast on performance of early lactation dairy cattle. **Journal Dairy Science**, v. 94, n. 8, p. 4046-4056, 2011.
- OBA, M.; ALLEN, M.S. Evaluation of the importance of the digestibility of neutral detergent fiber from forage: effects on dry matter intake and milk yield of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 3, p. 589–596, 1999.
- ORSKOV, E. R.; RYLE, M. **Energy Nutrition in ruminants**. London, Elsevier Applied Science, 1990, p. 149.
- PENG, Q. et al. Effects of yeast and yeast cell wall polysaccharides supplementation on beef cattle growth performance, rumen microbial populations and lipopolysaccharides production. **Journal of Integrative Agriculture**, v, 19, n. 3, p. 810–819, 2020.
- PERDOMO, M.C. et al. Effects of feeding live yeast at 2 dosages on performance and feeding behavior of dairy cows under heat stress. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 1, p. 325-339, 2020.
- PIVA, G. et al. Effects of yeast on dairy cows performance, ruminal fermentation, blood components, and milk manufacturing properties. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 9, p. 2717-2722, 1993.
- PONTAROLO, B.G. et al. Effects of including autolyzed yeasts in the finishing of feedlot steers. **Ciência Agrária**, v.42, n.4, p. 2471-2488, 2021.
- PROUDFOOT, K.; WEARY D.; KEYSERLINK, M. V. The effect of enzymatically hydrolyzed yeast on feeding behavior and immune function in early lactation dairy cows. **Journal Dairy Science**, v. 91, n. 1, p. 279, 2009.
- QUEIROZ, R. C. et al. Use of product from enzyme and yeast in the cattle diet: nutrients digestibility and performance in feedlot. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 6, p. 1548-1556, 2004.
- RENNO, L. N. et al. Urea levels in diet for steers of four genetic groups: microbial protein production by the urinary purine derivatives, using two collection methodologies. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 3, p. 546-555, 2008.
- ROBINSON, P.H.; ERASMUS, L. J. Effects of analyzable diet components on responses of lactating dairy cows to *Saccharomyces cerevisiae* based yeast products: A systematic review of the literature. **Animal Feed Science and Technology**, v. 149, n. 3-4, p. 185–198, 2009.

- RUSSELL, J.B.; HOULIHAN, A.J. Ionophore resistance of ruminal bacteria and its potential impact on human health. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 27, n. 1, p. 65–74, 2003.
- SABBIA J. A. et al. Soybeans meal substitution with a yeast-derived microbial protein source in dairy cow diets. **Journal Dairy Science**, v. 95, n. 10, p. 5888-5900, 2012.
- SALVATTI, G.G.S. et al. Response of lactating cows to live yeast supplementation during summer. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 6, p. 4062–4073, 2015.
- SANTOS, J.E.P.; GRECO, L.F. Levedura viva e cultivo de leveduras em dietas de bovinos leiteiros. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL EM FORMULAÇÃO DE DIETAS PARA O GADO DE LEITE, 2012, Lavras. **Anais...** Lavras: Suprema Gráfica e Editora, 2012. p. 9-33.
- SAUVANT, D.; MESCHY, F.; MERTENS, D. Les composantes de l'acidose ruminale et les effets acidogènes des rations. **Productions Animales**, v. 12, n. 1, p. 49-60, 1999.
- SCHLABITZ, C.; LEHN, D. N.; SOUZA, C. F. V. A review of *Saccharomyces cerevisiae* and the applications of its byproducts in dairy cattle feed: Trends in the use of residual brewer's yeast. **Journal of Cleaner Production**, v. 32, 2022.
- SCHWAB, C.G.; BOZAK, C.K.; WHITEHOUSE, N.L. et al. Amino acid limitation and flow to the duodenum at four stages of lactation. 2. Extent of lysine limitation. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.3503-3518, 1992a.
- SOUSA, D. O. et al. Live yeast supplementation improves rumen fibre degradation in cattle grazing tropical pastures throughout the year. **Animal Feed Science and Technology**, v. 236, p. 149–158, 2018.
- SUÑÉ, R.W.; MUHLBACH, P.R.F. Efeito da adição da cultura de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) Cepa 1206 na produção e qualidade do leite de vacas holandesas em pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 27, n. 6, p. 1248-1252, 1998.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583-3596, 1991.
- VERBIC, J.; CHEN, X. B.; MACLEOD, N. A.; ØRSKOV, E. R. Excretion of purine derivatives by ruminants - effect of microbial nucleic-acid infusion on purine

- derivative excretion by steers. **Journal of Agricultural Science**, v. 114, p. 243-248, 1990.
- VOHRA, A.; SYAL, P.; MADAN, A. Probiotic yeasts in livestock sector. **Animal Feed Science and Technology**, v. 219, p. 31–47, 2016.
- WHEELOCK, J.B.; RHOADS, R.P.; VANBAALE, M.J.; SANDERS, S.R.; BAUMGARD, L.H. Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 2, p. 644–655, 2010.
- WILLIAMS, P. E. et al. Effects of the inclusion of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae* plus growth medium) in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of steers. **Journal of Animal Science**, v. 69, n. 7, p. 3016-3026, 1991.
- WOHLT, J. E.; FINKELSTEIN, A. D.; GHUNG, C. H. Yeast culture to improve intake, nutrient digestibility and performance by dairy cattle during early lactation. **Journal Dairy Science**, v. 74, p. 1395-1400, 1991.
- WORD, A. B. et al. Immune and metabolic responses of beef heifers supplemented with *Saccharomyces cerevisiae* to a combined viral-bacterial respiratory disease challenge. **Translational Animal Science**, v. 3, n. 1, p.135-148, 2018.
- WRIGHT, A. D. G.; KLIEVE, A. V. Does the complexity of the rumen microbial ecology preclude methane mitigation? **Animal Feed Science and Technology**, v. 166-167, p. 248-253, 2011.
- YALÇIN, S. et al. The nutritive value of live yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) and its effect on milk yield, milk composition and some blood parameters of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 24, n. 10, p. 1377-1385, 2011.
- ZHANG, L.S. et al. Microbial synthesis of functional odd-chain fatty acids: a review. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 36, n. 3, p. 1-9, 2020.
- ZAWORSKI, E. M. Effects of feeding various dosages of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product in transition dairy cows. **Journal Dairy Science**, v. 97, n. 5 p. 3081-3098, 2014.
- ZILIO, E.M.C. et al. Effects of exogenous fibrolytic and amylolytic enzymes on ruminal fermentation and performance of mid-lactation dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 5, p. 4179-4189, 2019.



**TOPICO II**  
**ARTIGO A SER SUBMETIDO A:**  
**REVISTA BRASILEIRA DE MEDICINA VETERINÁRIO**

Normas da Revista:

<https://rbmv.org/BJVM/preparation>

## USO DE RESÍDUO FERMENTATIVO DE LEVEDURA DA INDÚSTRIA SUCROALCOOLEIRA EM DIETAS DE VACAS EM LACTAÇÃO

### RESUMO

Objetivou-se neste estudo avaliar o efeito de dietas contendo doses crescentes de um resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira (RFLIS) e de levedura viva sobre o comportamento ingestivo, consumo de matéria seca, índice de seleção de partículas, amido fecal, síntese de proteína microbiana ruminal, parâmetros bioquímicos séricos, produção e composição do leite, perfil de ácidos graxos do leite e variáveis fisiológicas relacionadas ao estresse térmico de vacas leiteiras de alta produção. Foram utilizadas 30 vacas da raça Holandesa, com  $175 \pm 46,4$  dias em lactação,  $40,4 \pm 4,56$  kg/dia de produção de leite e  $658 \pm 48,0$  kg de peso vivo (média  $\pm$  desvio padrão), alocadas em delineamento inteiramente casualizado para receber os seguintes tratamentos: 1. CONT (controle): dieta basal, sem leveduras; 2. L600: dieta contendo 22,2 g/kg MS de RFLIS (Levupass<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil) e 0,75 g/kg MS de levedura viva (Levumilk<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil), formulada para um consumo de 600 g/d de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva; e 3. L1200: dieta contendo 44,4 g/kg de RFLIS (Levupass<sup>®</sup>) e 0,75 g/kg MS de levedura viva (Levumilk<sup>®</sup>), formulada para um consumo de 1200 g/dia de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva. O experimento teve duração de 60 dias, composto por 4 períodos subsequentes de avaliação, cada um deles de 15 dias. A suplementação de leveduras, em relação ao controle, aumentou o tempo de alimentação e reduziu o teor de amido fecal. Animais alimentados com L600 apresentaram maior consumo de matéria seca, síntese de proteína microbiana e concentração de glicose sérica do que os animais consumindo as demais dietas experimentais. De maneira geral, a adição de leveduras aumentou a produção de leite, produção de leite corrigida para o teor de gordura, a produção de gordura, de proteína e de caseína, além do teor de gordura no leite das vacas e da secreção de energia no leite. A suplementação com leveduras teve pouco efeito sobre o perfil de ácidos graxos do leite e reduziu a frequência respiratória, a temperatura corporal e a emissão de calor pelas vacas. Assim, a adição de leveduras na dieta de vacas leiteiras em lactação aumenta o desempenho produtivo, a digestão do amido, a síntese de proteína microbiana, as concentrações séricas de glicose e melhora os parâmetros relacionados ao estresse térmico. A menor dose RFLIS (600 g/d) é a mais recomendada para utilização na dieta de vacas em lactação.

Palavras-chaves: **biomassa, desempenho, probióticos, *Saccharomyces cerevisiae*.**

## **ABSTRACT**

This study aimed to evaluate the effect of diets containing increasing doses of a yeast fermentation residue from the sugar-alcohol industry (RFLIS) and live yeast on the ingestive behavior, dry matter intake, particle selection index, fecal starch, microbial protein synthesis, serum biochemical parameters, milk production and composition, milk fatty acid profile, and physiological variables related to heat stress in high-producing dairy cows. Thirty Holstein cows were used ( $175 \pm 46.4$  days of milk,  $40.4 \pm 4.56$  kg/day of milk yield, and  $658 \pm 48.0$  kg of body weight; mean  $\pm$  SD), allocated in a completely randomized design to receive the following treatments: 1. CONT (control): basal diet, without yeast; 2. L600: diet containing 22.2 g/kg DM of RFLIS (Levupass<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brazil) and 0.75 g/kg DM of live yeast (Levumilk<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brazil), formulated for 600 g/d of RFLIS and 20 g/d of live yeast daily intake; and 3. L1200: diet containing 44.4 g/kg of RFLIS (Levupass<sup>®</sup>) and 0.75 g/kg MS of live yeast (Levumilk<sup>®</sup>), formulated for 1200 g/day of RFLIS and 20 g/ live yeast daily intake. The trial lasted for 60 days, consisting of 4 subsequent 15-days experimental periods. Yeast supplementation, in relation to the control, increased the feeding time and reduced the fecal starch content. Animals fed with L600 showed higher dry matter intake, microbial protein synthesis, and serum glucose concentration than animals fed diets. In general, the addition of yeasts increased milk yield, fat-corrected milk, and production of fat, protein and casein. In addition, yeast increased milk fat content and milk energy secretion. Yeast supplementation had small effect on the milk fatty acid profile and reduced respiratory rate, body temperature, and heat emission by cows. Thus, yeast in lactating dairy cows increases productive performance, starch digestion, microbial protein synthesis, serum glucose concentrations, and improves parameters related to heat stress. Live yeast and lower RFLIS dose (600 g/d) is the most recommended for lactating cows.

**Keywords:** biomass, performance, probiotics, *Saccharomyces cerevisiae*.

## **INTRODUÇÃO**

A produção animal tem enfrentado uma série de desafios nos últimos anos. Estes desafios incluem a valorização das *comodities*, importantes componentes do custo produtivo, a segurança dos alimentos e a pegada de carbono da atividade (DILLION et al.). Sabe-se que o desempenho e a eficiência produtiva dos animais estão diretamente relacionados a quantidade e qualidade de nutrientes disponíveis nos alimentos, assim como a capacidade do animal de absorver tais nutrientes (VAN SOEST E MASON, 1991).

O aumento da eficiência produtiva dos animais é importante para a redução dos custos produtivo e do impacto ambiental da produção leiteira. Desta forma, aditivos alimentares vêm sendo largamente utilizados para modular a fermentação ruminal e maximizar a eficiência de digestão e metabolização dos alimentos pelos animais. No entanto, o aditivo alimentar mais utilizado para ruminantes, a monensina sódica, é classificada como um antibiótico ionóforo e assim como outros antibióticos vem sofrendo reduzida aceitação, especialmente dos mercados mais exigentes, como o mercado europeu (RUSSEL; HOUULIHAN, 2003).

Os carboidratos são os principais macronutrientes das dietas de ruminantes. De acordo com o NRC (2001), uma dieta de vacas leiteiras deve conter no mínimo 25% de fibra em detergente neutro (FDN), além dos carboidratos fibrosos, importantes para o atendimento das exigências energéticas das vacas em lactação. Apesar do aumento da inclusão de carboidratos não fibrosos na dieta e da disponibilidade do amido aumentar o teor de energia e potencialmente a produção leiteira, estes tornam os animais mais propensos ao desenvolvimento de acidose ruminal (BEAUCHMIN, 2007). Estratégias ambientalmente mais amigáveis que previnam o desenvolvimento de acidose ruminal e maximizem o aproveitamento de carboidratos tem o potencial de aplicação na dieta de vacas leiteiras, possibilitando superar os principais desafios da bovinocultura leiteira contemporânea.

Dentre os aditivos utilizados na alimentação animal, probióticos tem ganhado atenção nos últimos anos. Os probióticos são aditivos que tem por base microrganismos vivos, que tem potencial de alterar as populações microbianas e o perfil fermentativo ruminal (FULLER, 1989). Dentre estes aditivos, aqueles baseados em leveduras, especialmente *Saccharomyces cerevisiae* tem apresentado os resultados mais promissores. A suplementação com *S. cerevisiae* reduz a concentração de oxigênio do ambiente ruminal, contribuindo para a adesão e crescimento de bactérias, especialmente àquelas que degradam a fibra (CHAUCHEYRAS-DURAND et al., 2012). Dentre os

resultados observados com a utilização de leveduras destacam-se a estabilização do pH ruminal, o aumento da digestão da fibra e consequentemente o aumento do desempenho animal (DESNOYERS et al., 2009).

A indústria de biológicos tem produzido grandes quantidades de aditivos contendo *S. cerevisiae*. No entanto, o processo de purificação aumenta os custos de produção. A utilização de extratos puros de leveduras contendo substratos e levedura inviável (parede de levedura) pode ser uma estratégia interessante não apenas por reduzir o custo de produção, mas também por explorar o potencial prebiótico das paredes de leveduras (fontes de glucanas e mano-oligossacarídeos - GONÇALVES et al., 2017). Além de possuir compostos bioativos, a biomassa de levedura possui proteínas, que de acordo com Sabbia et al. (2012), possuem um perfil aminoacídico melhor do que fontes proteicas tradicionais, como o farelo de soja.

Desta forma, acredita-se que a associação de uma fonte de levedura viva à uma fonte de biomassa de levedura pode trazer efeitos benéficos sobre o consumo, digestão, metabolismo e desempenho de vacas leiteiras. No entanto, não há informações de estudos que tenham avaliados a associação destes produtos, à qual pretende-se no presente estudo.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido em uma fazenda comercial no município de São Lourenço/MG, de janeiro a março de 2021. Foram utilizadas 30 vacas da raça Holandesa, com  $175 \pm 46,4$  dias em lactação,  $40,4 \pm 4,56$  kg/dia de produção de leite e  $658 \pm 48,0$  kg de peso vivo (média  $\pm$  desvio padrão). Os animais foram alocados em um delineamento inteiramente casualizado para avaliar as seguintes dietas: 1. CONT (controle): dieta basal, sem o fornecimento de leveduras; 2. L600: dieta contendo 22,2 g/kg MS de RFLIS (Levupass<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil) e 0,75 g/kg MS de levedura viva (Levumilk<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil), formulada para um consumo de 600 g/d de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva; e 3. L1200: dieta contendo 44,4 g/kg de RFLIS (Levupass<sup>®</sup>) e 0,75 g/kg MS de levedura viva (Levumilk<sup>®</sup>), formulada para um consumo de 1200 g/dia de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva. As dietas foram formuladas de acordo com o NRC (2001), sendo isonitrogenadas e isoFDN (Tabela 1). O experimento teve duração de 60 dias, composto por 4 períodos subsequentes

de avaliação, cada um deles de 15 dias, sendo 10 dias para a adaptação 5 dias para coleta de amostras e dados.

Os animais foram alimentados duas vezes ao dia (05:00 e 14:00 horas), utilizando um vagão forrageiro horizontal. Os ingredientes da dieta foram coletados durante os cinco dias de cada período experimental para compor uma amostra composta por ingrediente por período. Estas amostras foram congeladas para posteriores análises bromatológicas. A oferta de dieta completa (TMR) foi ajustada diariamente para que as sobras representassem de 5 a 10% do ofertado. Durante os períodos de coleta, as quantidades ofertadas foram pesadas e as sobras foram pesadas e amostradas para a avaliação do teor de matéria seca (MS) foram obtidas nos dias 11, 12 e 13 de cada período experimental.

As amostras de ingredientes foram analisadas quanto aos teores de MS, proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina em detergente ácido (LIG) e cinzas, conforme técnicas descritas por (AOAC, 2000). O teor de amido foi avaliado como descrito por Hendrix (1993), após degradação enzimática e avaliação do teor de glicose em espectrofotômetro semiautomático. Os teores de nutrientes digestíveis totais ( $NDT_{1x}$ ) e energia líquida de lactação ( $ELL_{3x}$ ) foram calculados de acordo com o NRC (2001).

O comportamento dos animais foi avaliado a cada 5 minutos, das 08:00 às 21:00 horas do dia 15 de cada período experimental. Os comportamentos foram classificados em: alimentação, ruminação (de pé e deitado); ócio (de pé e deitado) e bebendo água. Todos os comportamentos foram convertidos em % do tempo total de avaliação a cada período. O tempo total de mastigação foi obtido pela soma entre os tempos de alimentação e ócio.

**Tabela 10** Composição das dietas experimentais

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>		
	CONT	L600	L1200
Ingredientes(g/kg MS)			
Silagem de milho	449	436	422
Farelo de soja	194	179	164
Milho reidratado	140	146	153
Tifton ‘in natura’	74,8	74,8	74,6
Casca de soja	73,2	73,2	73,0

Milho moído	40,4	40,4	40,3
Premix mineral <sup>3</sup>	17,5	17,5	17,5
Calcário calcítico	9,10	9,10	9,10
Sal branco	2,20	2,20	2,20
RFLIS <sup>2</sup>	0	22,2	44,4
Levedura viva <sup>3</sup>	0	0,75	0,75
Composição química (g/kg)			
Matéria seca	489	480	490
Matéria orgânica	940	940	940
FDN	399	390	396
FDNfe <sup>4</sup>	266	263	264
FDA	184	182	179
Lignina	29,9	29,6	29,6
CNF	354	357	360
Amido	247	247	246
Proteína bruta	148	149	152
Extrato etéreo	37,6	37,5	37,3
NDT <sup>5</sup>	653	654	656
ELL <sup>5</sup>	1,46	1,47	1,47

<sup>1</sup>Dietas experimentais: CONT (controle): dieta basal, sem leveduras; L600: dieta contendo 22,2 g/kg MS de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira (RFLIS; Levupass<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil) e 0,75 g/kg de levedura viva (Levumilk<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil), formulada para um consumo de 600 g/d de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva; e L1200: dieta contendo 44,4 g/kg de RFLIS (Levupass<sup>®</sup>) e 0,75 g/kg de levedura viva (Levumilk<sup>®</sup>), formulada para um consumo de 1200 g/dia de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva.<sup>2</sup>RFLIS: resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira (Levupass<sup>®</sup>). <sup>3</sup>Aditivo a base de leveduras vivas (Levumilk<sup>®</sup>).<sup>4</sup>Premix mineral: 110 g/kg Ca; 42 g/kg P; 18 g/kg S; 20 g/kg Mg; 123 g/kg Na; 14 mg/kg Co; 600 mg/kg Cu; 20 mg/kg Cr; 1050 mg/kg Fe; 28 mg/kg I; 2000 mg/kg Mn; 18 mg/kg Se; 2800 mg/kg Zn; 80 mg/kg biotina; 240000 UI/kg vitamina A; 100000 UI/kg vitamina D, 100000 UI/kg vitamina E.<sup>5</sup>Calculado de acordo com Mertens et al. 1999 <sup>4</sup>Calculado de acordo com NRC (2001).

No 12º dia de cada período experimental, amostras (aproximadamente 50 mL) de urina spot foram coletadas de 5 animais de cada grupo experimental, 4 horas após a primeira alimentação matinal. As amostras foram conservadas em solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e congeladas para posterior análises de creatinina, ureia, alantoína e ácido úrico. As análises de ácido úrico e creatinina foram realizadas utilizando kits colorimétricos comerciais (Biclin, Belo Horizonte, Brasil) e as análises de alantoína foram realizadas utilizando método colorimétrico (FUJIHARA; YAMAGUCHI, 1987). O volume urinário (VU,

L/dia) foi calculado considerando a constante de excreção de creatinina de 27,36 mg/kg PV/dia (RENNÓ et al., 2008).

A excreção total de derivados de purina (DP) foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretado na urina e leite expressos em mmol/dia. As purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas na urina (DP, mmol/dia), considerando 85% de recuperação urinária das purinas absorvidas e uma excreção endógena de derivados purina de 0,385 mmol/kg PV<sup>0,75</sup> (VERBIC et al., 1990).

No dia 12 de cada período experimental, 4 horas após a primeira alimentação matinal foi realizado coleta de sangue da veia/artéria concígea de oito vacas de cada tratamento. As amostras foram coletadas sem anticoagulantes, centrifugadas e congeladas para posterior análises de glicose, colesterol total, triglicerídeos, proteína total, albumina e ureia, utilizando kits comerciais (Bioclin) e realizando as leituras em espectrofotômetro semiautomático.

A produção de leite foi mensurada diariamente durante todo o período experimental utilizando sistema automático de pesagem acoplado ao sistema de ordenha. As vacas eram ordenhadas três vezes ao dia, (04:00, 12:00 e 20:00 horas. Para avaliação da composição do leite foram obtidas amostras proporcionais das ordenhas realizadas no dia 14 de cada período experimental. Os teores de gordura, proteína e lactose foram avaliados na amostra fresca utilizando método ultrassônico (Lactoscan<sup>®</sup>).

As pesagens foram realizadas logo após a ordenha matinal, no primeiro dia de cada período experimental e ao final do experimento. Logo após a pesagem foi avaliado o escore de condição corporal dos animais de acordo com Edmonson et al. (1989).

Da amostra de leite coletada no dia 14 de cada período experimental, uma alíquota (aproximadamente 300 mL) foi congelada para posterior avaliação do perfil de ácidos graxos do leite. A extração dos ácidos graxos foi realizada de acordo com Feng et al. (2004) e a metilação de acordo com Kramer et al. (1997). Os ácidos graxos foram avaliados usando um cromatógrafo a gás (GC Shimadzu 2010 com injeção automática, Shimadzu Corporation, Kioto, Japão) equipado com uma coluna capilar SP-2560 (100 m × 0,25 mm i.d. e 0,02 µm de espessura; Supelco Sigma-Aldrich Group, Bellefonte, EUA). Os seguintes padrões foram utilizados para identificar os AG: C4–C24 (TM 37, Supelco Sigma-Aldrich); C18:1 *trans*-11 (V038-1G, Supelco Sigma-Aldrich); C18:2 *trans*-10 *cis*-12 (UC-61M 100 mg, Nu-Chek Prep Inc., Waterville, MN); e C18:2 *cis*-9 *trans*-11 (UC-60M 100 mg, Nu-Chek Prep Inc.).



A frequência respiratória e as temperaturas das superfícies foram avaliadas no 14º dia de cada período experimental, após a primeira ordenha matinal. A temperatura da superfície corporal foi avaliada em diferentes regiões do corpo (cabeça, costelas, cauda e patas), usando termômetro infravermelho (Fluke 568, Fluke Corporation, Everett, WA). As temperaturas vaginal e retal foram avaliadas utilizando termômetro clínico digital. A frequência respiratória foi avaliada utilizando cronômetro e digital e contando-se os movimentos costais por um período de 1 minuto. Imagens infravermelho foram obtidas utilizando câmera termográfica (Testo 880, Brandt Instruments, Prairieville, LA) posicionada a 1,5 m do animal. A temperatura média das regiões da face, olhos e narina foram contidas utilizando polígonos de área (GOMES et al., 2016).

Temperatura e umidade relativa do ar foram obtidos utilizando sensores instalados no interior das instalações de manutenção dos animais (Tabela 2). A partir destes valores, obtidos diariamente às 06:00, 14:00 e 20:00 horas foi calculado o índice temperatura-umidade (ITU), de acordo com a seguinte equação:

$$ITU = (0,8 \times TA + (UR/100) \times (TA - 14,4) + 46,4)$$

Em que; T = temperatura do ar, em °C; e UR = umidade relativa do ar, em %.

Os dados obtidos foram submetidos ao SAS (Version 9.1.3, SAS Institute, Cary, NC 2004), verificando a normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias pelo PROC UNIVARIATE.

Os dados foram analisados, pelo PROC MIXED de acordo com a seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + D_j + T_k + D_j \times T_k + e_{ijk}$$

Onde:  $Y_{ijy}$  = variável dependente,  $\mu$  = média geral,  $A_i$  = efeito de animal ( $j = 1$  a 30),  $D_j$  = efeito de dieta ( $j = 1$  a 3);  $T_k$  = efeito de tempo ( $k = 1$  a 5),  $D_j \times T_k$  = efeito de interação dieta e tempo e  $e_{ijk}$  = erro. O efeito aleatório do modelo (random) foi caracterizado por:  $A_i$ . Os graus de liberdade foram corrigidos por DDFM= kr. Foi adotado o nível de significância de 5% para todas as análises.

## RESULTADOS

A suplementação com leveduras, em relação ao controle (L0) aumentou ( $P \leq 0,04$ ) o tempo de alimentação (Tabela 3). A suplementação com leveduras aumentou ( $P \leq 0,04$ ) os tempos de ruminação e ócio deitado. No entanto, os animais recebendo leveduras

apresentaram menor ( $P \leq 0,01$ ) tempo de ruminação e ócio de pé. Os tratamentos não afetaram ( $P \geq 0,31$ ) os tempos totais de ruminação, ócio e mastigação.

**Tabela 11** Comportamento ingestivo de vacas em lactação alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de suplementação dietética de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>			EPM <sup>2</sup>	Probabilidades <sup>3</sup>					
	CONT	L600	L1200		Trat	Tp	T.×T.	C1	Lin.	Qua.
Comportamentos, %										
Alimentando	22,4	23,4	24,4	0,90	0,01	<0,01	0,52	0,04	0,25	0,64
Ruminando	29,6	30,4	29,2	0,69	0,66	0,62	<0,01	0,88	0,75	0,39
Rum. de pé	9,6	6,2	7,00	0,662	<0,01	0,01	<0,01	<0,01	0,01	0,02
Rum. deitado	20,1	24,1	22,2	0,79	0,03	0,06	0,03	0,02	0,14	0,02
Ócio	44,4	45,9	42,6	1,03	0,31	0,01	0,06	0,93	0,40	0,21
Ócio de pé	19,5	13,6	16,8	0,92	0,01	0,68	0,77	0,01	0,11	<0,01
Ócio deitado	24,9	32,2	25,8	1,20	0,01	0,05	0,08	0,04	0,68	<0,01
Bebendo	3,0	2,5	2,9	0,19	0,49	0,12	0,65	0,48	0,89	0,24
Mastigando	52,0	52,0	53,6	1,03	0,37	0,01	0,10	0,97	0,46	0,23

<sup>1</sup>Dietas experimentais: CONT (controle): dieta basal, sem leveduras; L600: dieta contendo 22,2 g/kg MS de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira (RFLIS; Levupass®, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil) e 0,75 g/kg de levedura viva (Levumilk®, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil), formulada para um consumo de 600 g/d de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva; e L1200: dieta contendo 44,4 g/kg de RFLIS (Levupass®) e 0,75 g/kg de levedura viva (Levumilk®), formulada para um consumo de 1200 g/dia de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva. <sup>2</sup>EPM: erro padrão da média; <sup>3</sup>Probabilidades Tratamento (Trat); tempo (Tp); interação tratamento-tempo (T.×T.); contraste do efeito da inclusão de RFLIS (C1; L0 vs. L600 + L1200); contrastes para avaliação do efeito linear (Lin) e quadrático (Qua.).

No presente estudo, a adição de RFLIS afetou de maneira quadrática ( $P < 0,01$ ) o consumo de matéria seca dos animais (Tabela 4). Os animais recebendo L600 apresentaram um consumo de matéria seca maior do que os animais alimentados com CONT e L1200. Além disso, a adição de RFLIS afetou de maneira linear e quadrática ( $P \leq 0,01$ ) o teor de amido das fezes dos animais. Os animais recebendo leveduras tenham reduzido ( $P < 0,01$ ) o teor de amido das fezes, a redução foi maior no tratamento L600 do que no tratamento L1200. Os tratamentos não afetaram ( $P \geq 0,13$ ) os índices de seleção de partículas e o resíduo alimentar fecal.

**Tabela 12** Consumo de matéria seca, índice de seleção de partículas e parâmetros fecais de vacas em lactação alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de suplementação dietética de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>			EPM <sup>2</sup>	Probabilidades <sup>3</sup>					
	CONT	L600	L1200		Trat	Tp	T.×T.	C1	Lin.	Qua.
CMS <sup>4</sup>	25,7	26,5	25,2	0,11	<0,01	<0,01	<0,01	0,15	0,54	<0,01
Índice de seleção										
>19 mm	0,95	0,95	0,95	0,001	0,62	0,40	0,64	0,80	0,35	0,49
19-8 mm	1,00	1,00	1,00	0,002	0,13	0,50	0,62	0,14	0,07	0,34
8-4 mm	1,00	1,00	1,00	0,001	0,72	0,43	0,64	0,72	0,50	0,65
<4 mm	1,02	1,00	1,01	0,002	0,65	0,49	0,60	0,65	0,54	0,71
Fezes										
MN <sup>5</sup>	35,5	36,8	33,6	0,93	0,42	<0,01	0,76	0,90	0,44	0,28
Amido,%	10,8	5,3	8,4	0,46	<0,01	0,22	<0,01	<0,01	0,01	<0,01
DG <sup>6</sup>	89,2	94,7	91,6	0,88	<0,01	0,22	<0,01	<0,01	0,01	<0,01

<sup>1</sup>Dietas experimentais: CONT (controle): dieta basal, sem leveduras; L600: dieta contendo 22,2 g/kg MS de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira (RFLIS; Levupass®, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil) e 0,75 g/kg de levedura viva (Levumilk®, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil), formulada para um consumo de 600 g/d de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva; e L1200: dieta contendo 44,4 g/kg de RFLIS (Levupass®) e 0,75 g/kg de levedura viva (Levumilk®), formulada para um consumo de 1200 g/dia de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva. <sup>2</sup>EPM: erro padrão da média; <sup>3</sup>Probabilidades Tratamento (Trat); tempo (Tp); interação tratamento-tempo (T.×T.); contraste do efeito da inclusão de RFLIS (C1; L0 vs. L600 + L1200); contrastes para avaliação do efeito linear (Lin) e quadrático (Qua.); <sup>4</sup>Consumo de matéria seca (CMS); <sup>5</sup>Matéria natural (MN) retida na peneira com porosidade de 1-mm; <sup>6</sup>Estimativa de digestibilidade (DG) do amido.

Os tratamentos não afetaram ( $P = 0,61$ ) a excreção diária de ácido úrico (Tabela 5). No entanto, o fornecimento de leveduras aumentou ( $P \leq 0,02$ ) a excreção de derivados purina tanto na urina quanto no leite, o que resultou em aumento da estimativa de purinas absorvidas e da síntese de proteína microbiana.

**Tabela 13** Excreção de derivados purina e síntese de proteína microbiana de vacas em lactação alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de suplementação dietética de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>			EPM <sup>2</sup>	Probabilidades <sup>3</sup>					
	CONT	L600	L1200		Trat	Tp	T.×T.	C1	Lin.	Qua.
mmol/dia										
Alantoina urina	408	505	497	32,6	0,02	0,05	0,50	0,02	0,32	0,04

Alantoina leite	24,4	34,4	34,2	1,74	0,04	<0,01	0,43	0,01	0,03	0,16
Ácido úrico	115	80,8	69,4	19,01	0,61	0,17	0,44	0,78	0,35	0,78
Purinas totais	547	620	601	41,5	0,04	0,27	0,53	0,04	0,57	0,02
Purinas abs	625	710	688	49,4	0,03	0,27	0,52	0,03	0,57	0,04
g/dia										
Nitrogênio mic	455	517	500	35,2	0,02	0,27	0,52	0,01	0,54	0,04
Proteína mic	2.841	3.228	3.125	52,6	0,02	0,27	0,52	0,01	0,54	0,04
Urina (mg/dL)										
Ureia	205	174	193	7,6	0,01	0,35	0,78	0,05	0,49	0,03

<sup>1</sup>Dietas experimentais: CONT (controle): dieta basal, sem leveduras; L600: dieta contendo 22,2 g/kg MS de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira (RFLIS; Levupass<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil) e 0,75 g/kg de levedura viva (Levumilk<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil), formulada para um consumo de 600 g/d de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva; e L1200: dieta contendo 44,4 g/kg de RFLIS (Levupass<sup>®</sup>) e 0,75 g/kg de levedura viva (Levumilk<sup>®</sup>), formulada para um consumo de 1200 g/dia de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva. <sup>2</sup>EPM: erro padrão da média; <sup>3</sup>Probabilidades Tratamento (Trat); tempo (Tp); interação tratamento-tempo (T.×T.); contraste do efeito da inclusão de RFLIS (C1; L0 vs. L600 + L1200); contrastes para avaliação do efeito linear (Lin) e quadrático (Qua.).

Houve efeito quadrático ( $P = 0,03$ ) da adição de RFLIS sobre as concentrações séricas de glicose, colesterol e triglicerídeos (Tabela 6). As concentrações de glicose e colesterol foram maiores nos animais alimentados com L600 do que nos animais consumindo CONT e L1200. Por outro lado, os animais alimentados com L600 tiveram uma menor concentração sérica de triglicerídeos do que os animais dos tratamentos CONT e L1200. Os tratamentos não afetaram ( $P \geq 0,21$ ) as concentrações séricas de proteína total, albumina e nitrogênio ureico séricos.

**Tabela 14** Parâmetros bioquímicos séricos de vacas em lactação alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de suplementação dietética de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>			EPM <sup>2</sup>	Probabilidades <sup>3</sup>					
	CONT	L600	L1200		Trat	Tp	T.×T.	C1	Lin.	Qua.
Parâmetros bioquímicos, mg/dL										
Glicose	60,5	64,9	59,5	1,53	0,03	0,55	0,49	0,32	0,12	0,03
Colesterol	117	158	154	11,8	<0,01	0,21	0,54	<0,01	0,03	0,01
Triglicerídeos	73,8	63,3	91,8	3,71	<0,01	0,57	0,23	<0,01	0,01	<0,01
Proteína total, g/L	7,8	7,2	7,3	0,71	0,21	0,55	0,23	0,22	0,25	0,51

Albumina	2,5	2,6	2,6	0,03	0,33	0,32	0,36	0,46	0,40	0,36
N ureico	12,7	13,9	12,3	0,43	0,21	0,34	0,84	0,54	0,88	0,56

<sup>1</sup>Dietas experimentais: CONT (controle): dieta basal, sem leveduras; L600: dieta contendo 22,2 g/kg MS de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira (RFLIS; Levupass<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil) e 0,75 g/kg de levedura viva (Levumilk<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil), formulada para um consumo de 600 g/d de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva; e L1200: dieta contendo 44,4 g/kg de RFLIS (Levupass<sup>®</sup>) e 0,75 g/kg de levedura viva (Levumilk<sup>®</sup>), formulada para um consumo de 1200 g/dia de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva. <sup>2</sup>EPM: erro padrão da média; <sup>3</sup>Probabilidades Tratamento (Trat); tempo (Tp); interação tratamento-tempo (T.×T.); contraste do efeito da inclusão de RFLIS (C1; L0 vs. L600 + L1200); contrastes para avaliação do efeito linear (Lin) e quadrático (Qua.).

De maneira geral, a adição de leveduras aumentou ( $P \leq 0,03$ ) a produção de leite, produção de leite corrigida para o teor de gordura, a produção de gordura, de proteína e de caseína, além do teor de gordura no leite das vacas e da secreção de energia no leite (Tabela 7). Os aumentos foram de 2,30 kg/d (6,3%) na produção de leite, 2,06 na produção de leite corrigida para o teor de gordura e 3,02% no teor de gordura do leite.

**Tabela 15** Desempenho produtivo de vacas em lactação alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de suplementação dietética de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>			EPM <sup>2</sup>	Probabilidades <sup>3</sup>					
	CON T	L600	L1200		Trat	Tp	T.×T.	C1	Lin.	Qua.
Produção, kg/dia										
PL <sup>4</sup>	34,2	36,7	36,3	0,53	0,01	<0,01	0,54	<0,01	0,33	0,43
PLC. 3,5% <sup>5</sup>	36,1	38,2	38,2	0,57	0,01	<0,01	0,58	<0,01	0,30	0,44
Gordura	1,28	1,43	1,39	0,023	0,02	<0,01	0,35	0,02	0,50	0,03
Proteína	1,15	1,26	1,28	0,023	0,04	<0,01	0,43	0,03	0,43	0,40
Lactose	1,54	1,66	1,65	0,024	0,13	0,43	0,54	0,45	0,33	0,49
Caseína	0,89	1,00	0,98	0,011	0,08	0,04	0,56	0,03	0,67	0,78
Composição do leite, %										
Gordura	3,74	3,89	3,82	0,044	0,04	<0,01	0,51	0,03	0,11	0,09
Proteína	3,39	3,44	3,54	0,022	0,06	<0,01	0,67	0,07	0,08	0,43

Lactose	4,50	4,53	4,54	0,012	0,32	0,13	0,56	0,55	0,24	0,77
Caseína	2,61	2,73	2,70	0,022	0,13	0,05	0,67	0,23	0,43	0,88
ECC <sup>6</sup>	2,86	2,77	2,87	0,018	0,37	<0,01	0,87	0,50	0,99	0,16
PC (kg) <sup>7</sup>	664	693	714	8,6	0,35	<0,01	0,28	0,19	0,15	0,88
MECC <sup>8</sup>	0,02	0,04	0,01	8,545	0,58	<0,01	0,92	0,69	0,89	0,31
MPC <sup>9</sup>	29,2	6,42	20,8	0,02	0,41	0,40	0,44	0,31	0,63	0,21
NU <sup>10</sup> , mg/dL	15,1	14,1	14,8	22,77	0,35	<0,01	0,65	0,22	0,56	0,89
CCS <sup>11</sup> (1000/ml)	78	75	82	0,13	0,43	0,67	0,78	0,51	0,83	0,44
ECM <sup>12</sup> (Mcal/kg)	39,0	40,4	40,5	0,62	0,03	<0,01	0,59	0,01	0,76	0,87
<i>Eficiência</i>										
PL/CMS <sup>14</sup>	1,33	1,38	1,43	0,021	0,05	<0,01	0,70	0,01	<0,01	0,13
PLC/CMS	1,43	1,46	1,52	0,023	0,05	<0,01	0,76	0,02	<0,01	0,32
ECM/CM	1,47	1,52	1,55	0,028	0,04	<0,01	0,67	0,03	<0,01	0,39
S										

<sup>1</sup>Dietas experimentais: CONT (controle): dieta basal, sem leveduras; L600: dieta contendo 22,2 g/kg MS de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira (RFLIS; Levupass<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil) e 0,75 g/kg de levedura viva (Levumilk<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil), formulada para um consumo de 600 g/d de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva; e L1200: dieta contendo 44,4 g/kg de RFLIS (Levupass<sup>®</sup>) e 0,75 g/kg de levedura viva (Levumilk<sup>®</sup>), formulada para um consumo de 1200 g/dia de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva. <sup>2</sup>EPM: erro padrão da média; <sup>3</sup>Probabilidades Tratamento (Trat); tempo (Tp); interação tratamento-tempo (T. $\times$ T.); contraste do efeito da inclusão de RFLIS (C1; L0 vs. L600 + L1200); contrastes para avaliação do efeito linear (Lin) e quadrático (Qua.); <sup>4</sup>Produção de leite (PL); <sup>5</sup>Produção de leite corrigida (PLC) para 3,5% de gordura; <sup>6</sup>Escore de condição corporal (ECC); <sup>7</sup>Peso corporal (PC); <sup>8</sup>Mudança de escore de condição corporal (MECC); <sup>9</sup>Mudança de peso corporal (MPC); <sup>10</sup>Nitrogênio ureico (NU); <sup>11</sup>Contagem de células somáticas (CCS); <sup>12</sup>Secreção de energia no leite (ECM); <sup>13</sup>Consumo de matéria seca (CMS).

Ainda, o fornecimento de RFLIS aumentou linearmente ( $P < 0,01$ ) a eficiência produtiva dos animais. Apesar do aumento do consumo de matéria seca (+0,8 kg/dia ou 3,1%), observado apenas para o tratamento L600 em relação a L1200, houve um aumento de maior magnitude na produção de leite nos animais alimentados com dietas contendo

RFLIS. O aumento do desempenho não foi acompanhado de perda de peso no presente estudo, uma vez que os tratamentos não afetaram ( $P \geq 0,35$ ) o escore de condição corporal, peso vivo, mudança de escore e de peso vivo, nitrogênio ureico do leite e a contagem de células somáticas.

A adição de leveduras na dieta aumentou ( $P \leq 0,02$ ) o teor de ácidos graxos de cadeia curta e de ácidos graxos de cadeia ímpar no leite dos animais (Tabela 8). De maneira geral, a adição de leveduras na dieta aumentou ( $P \leq 0,04$ ) as concentrações de C8:0, C15:0 a C15:1, além de reduzir ( $P \leq 0,03$ ) os teores de C17:1, C18:0, C18:1 *cis*-11, C18:2 *trans*-10 *cis*-12. Ademais, houve efeito quadráticos da inclusão de RFLIS sobre a concentração de alguns ácidos graxos no leite. Animais recebendo L600 apresentaram maiores teores de C8:0, C15:0 e C15:1; e menores de C18:0, C18:1 *cis*-11, C18:2 *trans*-10 *cis*-12 do que os animais alimentados com CONT e L1200.

**Tabela 16** Perfil de ácidos graxos do leite de vacas em lactação alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de suplementação dietética de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>			EPM <sup>2</sup>	Probabilidades <sup>3</sup>					
	CONT	L600	L1200		Trat	Tp	T.×T.	C1	Lin.	Qua.
Ácidos graxos, g/100 g										
C4:0	1,59	1,60	1,58	0,012	0,45	0,13	0,38	0,97	0,55	0,27
C6:0	1,66	1,65	1,67	0,013	0,46	0,14	0,59	0,65	0,34	0,44
C8:0	2,86	2,91	2,88	0,024	0,12	0,06	0,87	0,04	0,42	0,04
C10:0	6,76	6,78	6,77	0,054	0,91	0,03	0,84	0,97	0,85	0,70
C12:0	4,22	4,23	4,22	0,035	0,54	0,26	0,34	0,28	0,86	0,39
C14:0	10,9	10,9	10,9	0,327	0,44	<0,01	0,84	0,34	0,69	0,27
C14:1	0,053	0,054	0,052	0,001	0,47	0,06	0,87	0,99	0,54	0,29
C15:0	1,42	1,49	1,47	0,014	0,02	0,66	0,55	0,03	0,55	0,03
C15:1	0,191	0,198	0,196	0,016	0,02	0,55	0,90	0,01	0,59	0,04
C16:0	27,7	27,7	27,6	0,65	0,77	<0,01	0,64	0,56	0,41	0,96
C16:1	0,952	0,961	0,960	0,001	0,82	0,11	0,76	0,54	0,62	0,71
C17:0	0,178	0,180	0,179	0,001	0,91	0,20	0,64	0,75	0,89	0,70
C17:1	0,383	0,454	0,474	0,001	0,19	0,36	0,87	0,02	0,02	0,45
C18:0	14,4	14,2	14,3	0,55	0,02	0,02	0,44	0,01	0,32	0,03
C18:1 <i>c11</i>	7,20	7,16	7,17	0,441	0,03	0,02	0,46	0,02	0,36	0,02

C18:1 <i>c</i> <sup>9</sup>	13,4	13,6	13,5	0,54	0,11	0,55	0,49	0,13	0,40	0,21
C18:2 <i>t</i> <sup>10</sup> <i>c</i> <sup>12</sup>	0,971	0,821	0,863	0,001	<0,01	0,55	0,85	0,03	0,55	0,01
C18:3 <i>c</i> <sup>9</sup> <i>c</i> <sup>12</sup> <i>c</i> <sup>15</sup>	1,56	1,59	1,60	0,011	0,22	<0,01	0,91	0,31	0,88	0,25
C20:0	0,891	0,888	0,902	0,002	0,47	0,04	0,88	0,32	0,36	0,42
C22:0	0,852	0,847	0,853	0,003	0,68	0,25	0,79	0,92	0,39	0,73
C24:0	0,210	0,222	0,230	0,004	0,20	<0,01	0,58	0,11	0,08	0,90
Sumário										
4 a 14 C <sup>4</sup>	27,5	28,2	28,1	2,56	0,01	0,21	0,87	0,02	0,87	0,03
> 16 C <sup>5</sup>	70,4	70,0	70,2	2,06	0,53	0,55	0,86	0,53	0,65	0,82
AGS <sup>6</sup>	73,7	73,6	73,6	3,01	0,62	0,75	0,91	0,35	0,84	0,36
AGI <sup>7</sup>	26,3	26,4	26,4	3,65	0,62	0,75	0,92	0,21	0,36	0,55
AGMI <sup>8</sup>	22,3	22,4	22,4	3,00	0,59	0,19	0,91	0,27	0,38	0,47
AGPI <sup>9</sup>	4,03	3,99	4,04	0,874	0,10	<0,01	0,16	0,66	0,46	0,45
AGCI <sup>10</sup>	2,27	2,31	2,28	0,015	0,02	0,55	0,25	0,01	0,45	0,03
AGS/AGI <sup>11</sup>	2,80	2,79	2,78	0,114	0,62	0,71	0,91	0,37	0,35	0,85
AGS/AGI 18C <sup>12</sup>	0,583	0,574	0,578	0,001	0,54	0,52	0,21	0,32	0,55	0,87

<sup>1</sup>Dietas experimentais: CONT (controle): dieta basal, sem leveduras; L600: dieta contendo 22,2 g/kg MS de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira (RFLIS; Levupass<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil) e 0,75 g/kg de levedura viva (Levumilk<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil), formulada para um consumo de 600 g/d de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva; e L1200: dieta contendo 44,4 g/kg de RFLIS (Levupass<sup>®</sup>) e 0,75 g/kg de levedura viva (Levumilk<sup>®</sup>), formulada para um consumo de 1200 g/dia de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva. <sup>2</sup>EPM: erro padrão da média; <sup>3</sup>Probabilidades Tratamento (Trat); tempo (Tp); interação tratamento-tempo (T. $\times$ T.); contraste do efeito da inclusão de RFLIS (C1; L0 vs. L600 + L1200); contrastes para avaliação do efeito linear (Lin) e quadrático (Qua.); <sup>4</sup>Ácidos graxos de 4 a 14 carbonos; <sup>5</sup>Ácidos graxos com mais de 16 carbonos; <sup>6</sup>Ácidos graxos saturados; <sup>7</sup>Ácidos graxos insaturados; <sup>8</sup>Ácidos graxos monoinsaturados. <sup>9</sup>Ácidos graxos poliinsaturados. <sup>10</sup>Ácidos graxos de cadeia ímpar. <sup>11</sup>Relação ácidos graxos saturados/insaturados total. <sup>12</sup>Relação ácidos graxos saturados/insaturados com 18 carbonos. <sup>11</sup>Relação produto/substrato da enzima estearoil-CoA dessaturase.

A adição de leveduras reduziu ( $P \leq 0,03$ ) a temperatura vaginal e a temperatura retal. Além disso, as doses de RFLIS reduziram linearmente ( $P = 0,04$ ) a frequência respiratória (Tabela 9). No entanto, houve efeito quadrático ( $P < 0,01$ ) das doses de RFLIS sobre a emissão de calor na face, olho e narina. Os animais alimentados com L660 apresentaram menores emissões do que os animais do tratamento controle e aqueles do tratamento L1200.



**Tabela 17** Variáveis fisiológicas e emissão de calor de vacas em lactação alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de suplementação dietética de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira

Item	Dietas experimentais <sup>1</sup>			EPM <sup>2</sup>	Probabilidades <sup>3</sup>					
	CONT	L600	L1200		Trat	Tp	T.×T.	C1	Lin.	Qua.
Temperatura, °C										
Vaginal	38,8	38,3	38,3	0,05	0,03	<0,01	0,63	0,01	0,11	0,75
Retal	38,8	38,2	38,2	0,05	0,05	<0,01	0,10	0,03	0,11	0,06
Corporal	37,9	37,2	37,5	0,067	0,17	<0,01	0,42	0,08	0,22	0,13
Frequência respiratória, l/min.										
	58,5	55,6	51,8	0,54	0,03	<0,01	0,55	0,02	0,04	0,33
<i>Emissão de calor termografia infravermelha (°C)</i>										
Face	33,6	33,1	34,0	0,032	0,01	<0,01	0,02	0,76	0,18	<0,01
Olho	35,6	34,7	35,2	0,058	<0,01	<0,01	0,01	<0,01	0,01	<0,01
Narina	32,7	32,1	32,6	0,102	<0,01	<0,01	0,02	0,24	0,24	<0,01

<sup>1</sup>Dietas experimentais: CONT (controle): dieta basal, sem leveduras; L600: dieta contendo 22,2 g/kg MS de resíduo fermentativo de levedura da indústria sucroalcooleira (RFLIS; Levupass<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil) e 0,75 g/kg de levedura viva (Levumilk<sup>®</sup>, Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil), formulada para um consumo de 600 g/d de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva; e L1200: dieta contendo 44,4 g/kg de RFLIS (Levupass<sup>®</sup>) e 0,75 g/kg de levedura viva (Levumilk<sup>®</sup>), formulada para um consumo de 1200 g/dia de RFLIS e 20 g/dia de levedura viva. <sup>2</sup>EPM (erro padrão da média).<sup>3</sup> Probabilidades INT (interação entre dieta e tempo experimental); C vs PL (controle versus LEVUPASS<sup>®</sup>); Quad (efeito quadrático).

## DISCUSSÃO

Segundo estes autores, a adição de leveduras na dieta aumenta o número de refeições e reduz o intervalo entre elas, sem afetar o tempo diário de consumo e de ruminação. Mullins et al. (2012) também observaram um aumento da frequência de refeições com a utilização de monensina sódica na dieta de gado de corte. O efeito de aditivos moduladores da fermentação ruminal sobre a frequência de refeições tem sido associado à maior estabilidade ruminal e a menor susceptibilidade do animal à acidose ruminal subaguda. Animais mais susceptíveis a acidose ruminal apresentam um maior período de latência (entre o final da alimentação e início da ruminação; DONG et al., 2018). Apesar de não ter sido avaliada a quantidade e a frequência de refeições no

presente estudo, a adição de leveduras aumentou o tempo diário de alimentação. Este resultado está intimamente relacionado ao aumento do consumo de matéria seca apresentado pelos animais suplementados com leveduras. Desnoyers et al. (2009) observaram em um estudo metanalítico que os efeitos da suplementação com leveduras sobre o consumo de vacas leiteiras são variáveis entre estudos. No entanto, animais recebendo leveduras apresentam um consumo 0,44 g/kg de peso vivo maior do que animais não suplementados com leveduras.

O teor de amido nas fezes é um indicativo da digestibilidade do amido no trato total (FREDIN et al., 2014). Estudando o efeito de doses crescentes de *S. cerevisiae* ( $0$ ,  $5,7 \times 10^7$  e  $6,0 \times 10^8$  UFC/dia) para vacas leiteiras, Jiang et al. (2017a) observaram a dose mais elevada não aumentou a produção de leite dos animais. Elghandour et al. (2014) já havia observado que o uso de doses elevadas de levedura não traz efeitos benéficos adicionais sobre a digestibilidade da fibra de forrageiras de baixa qualidade. De acordo com Jiang et al. (2017b), uma alta dose de leveduras reduz a abundância de *Butyrivibrio fibrisolvens* (bactéria fibrolítica), o que potencialmente limita a digestibilidade da fibra.

Como o efeito positivo da adição de leveduras na dieta de ruminantes tem sido largamente documentado (WOHLT; FINKELSTEIN; GHUNG, 1991; GUEDES et al., 2008; MARDEN et al., 2008; SOUSA et al., 2018), era esperado uma redução do resíduo alimentar fecal, em resposta à suplementação com leveduras. Da mesma forma, acreditava-se que a suplementação com leveduras pudesse aumentar o índice de seleção de grandes partículas (maiores que 19 mm). No entanto, nenhum destes resultados foram observados. O efeito da suplementação com leveduras sobre as variáveis previamente citadas pode ser confundido pelos seus efeitos sobre consumo. Animais com maior consumo de matéria seca, como aqueles consumindo L600 tendem a apresentar maior resíduo alimentar fecal e menor índice de seleção de grandes partículas.

Estudando o fluxo duodenal de proteína microbiana em vacas leiteiras alimentadas com dietas contendo leveduras vivas, Erasmus et al. (1992) observou um aumento do fluxo de nitrogênio não amônia e de aminoácidos, nos animais que receberam suplementação com leveduras.

Em um estudo um pouco mais recente, Jiang et al. (2017b) estudaram o efeito de doses crescentes de leveduras sobre a abundância de bactérias ruminais. Houve pequenas diferenças entre as doses, evidenciando a ausência de um comportamento dose-resposta da adição de leveduras na dieta. Além disso, algumas bactérias fibrolíticas, como

*Ruminococcus* e *Fibrobacter succinogenes* tiveram aumento de abundância em relação ao tratamento controle apenas com a adição da menor dose de leveduras.

Estudando a infusões ruminais e abomasais de amido em vacas leiteiras, Knowlton et al. (1998) observaram um aumento da concentração de glicose circulante e da produção de leite, além de uma redução dos ácidos graxos não esterificados. No presente estudo, a redução da concentração de glicose sérica parece ter contribuído para a redução da lipólise, resultando em menores concentrações séricas de triglicerídeos nos animais consumindo L600.

Os efeitos positivos sobre desempenho produtivo da adição de leveduras de dietas de vacas em lactação têm sido largamente documentados (PIVA et al., 1993; NOCEK et al., 2003; DESNOYERS et al., 2009; NOCEK et al., 2011; MAAMOURI et al., 2014; SALVATTI et al., 2015; PERDOMO et al., 2020). De acordo com DESNOYERS et al. (2009), em um estudo meta analítico, a adição de leveduras a dietas de vacas em lactação aumenta em 1,2 g/kg de peso corporal a produção de leite e em 0,05% o teor de gordura no leite. No presente estudo, animais consumindo dietas contendo leveduras apresentaram um aumento médio de 2,3 kg/d (3,2 g/kg de peso vivo) e de 0,12% no teor de gordura do leite. É importante considerar que no estudo estes autores foram considerados ensaios conduzidos com animais em todas as fases de produção, enquanto que no presente estudo os animais estavam no pico de lactação.

De acordo com Oba e Allen (1999), o aumento de uma unidade na digestibilidade da FDN resulta em um aumento de 0,17 kg/dia no consumo de matéria seca e de 0,25 kg/dia na produção de leite. Além do efeito positivo da adição de RFLIS sobre a digestibilidade, convém destacar aqui os efeitos positivos sobre a síntese de proteína microbiana e os parâmetros séricos, que contribuem para este aumento da eficiência produtiva dos animais.

Os ácidos graxos de cadeia ímpar são majoritariamente de origem microbiana (ZHANG et al., 2020). Além do efeito geral de leveduras, a adição de RFLIS afetou de maneira quadrática a concentração destes ácidos graxos. Estes resultados justificam-se pelo aumento da síntese de proteína microbiana e do consequente aumento do fluxo pós ruminal nos animais alimentados com dietas contendo leveduras e o menor teor de RFLIS. A redução do teor de C18:2 *trans*-10 *cis*-12 no leite dos animais alimentados com leveduras é condizente com o aumento do teor de gordura no leite, tendo em vista que este ácido graxo tem sido associado com a síndrome da redução do teor de gordura no leite (BAUMAN; GRIINARI, 2003).

Dias et al. (2018), estudando a suplementação com leveduras em vacas no final de lactação também encontraram redução da taxa respiratória e da temperatura da retal e da pele. De acordo com estes autores, estes efeitos estão associados ao aumento da concentração plasmática de niacina, que tem um efeito vasodilatador, aumentando a eficiência com que os animais dissipam calor. Além disso, sabe-se que vacas regulação da temperatura corporal é um processo que consome energia dos animais. Como vacas em estresse térmico tendem a apresentar uma demanda aumentada de glicose como substrato energético (WHEELLOCK et al., 2012), é possível que este menor estresse térmico reforce os efeitos positivos observados sobre o processo digestivo, levando a um efeito ainda mais positivo sobre o desempenho produtivo, como observado no presente estudo.

## CONCLUSÃO

A adição de leveduras na dieta de vacas leiteiras em lactação aumenta o desempenho produtivo, a digestão do amido, a síntese de proteína microbiana, as concentrações séricas de glicose e melhora os parâmetros relacionados ao estresse térmico. Apesar de muitos dos efeitos positivos da inclusão de RFLIS serem lineares crescentes, os efeitos sobre consumo, amido fecal e desempenho não são dose dependente.

## REFERÊNCIAS

- AOAC. **Official Methods of Analysis**. 17th Ed. The Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD, USA, 2000.
- BAUMAN, D.E.; GRINARI, J.M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. **Annual Review of Nutrition**, v. 23, n. 1, p. 203–227, 2003.
- BEAUCHEMIN, K.A. Ruminant acidosis in dairy cows: balancing physically effective fiber with starch availability. **Florida Ruminant Nutrition Symposium**, p. 17-27, 2007.
- CHAUCHEYRAS-DURAND, F. et al. **Use of yeast probiotics in ruminants: Effects and mechanisms of action on rumen pH, fiber degradation, and microbiota according to the diet**. In: Probiotic in Animals. Rigobelo, E. ed. License InTech, p. 119-152, 2012. <\_internos/artigos/001V1N1P01\_06\_JUL2004.pdf>. Acesso em: 18 abr. 2022.

- DESNOYERS, M. et al. Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 4, p. 1620-1632, 2009.
- DIAS, A.L.G.; FREITAS, J.A.; MICAI, B.; AZEVEDO, R.A.; GRECO, L.F.; SANTOS, J.E.P. Effects of supplementing yeast culture to diets differing in starch content on performance and feeding behavior of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 1, p. 186–200, 2018.
- DILLION, J. A., et al. Current state of enteric methane and the carbon footprint of beef and dairy cattle in the United States. **Animal Frontiers**, v. 11, n. 4, p. 57–68, 2021.
- DONG, R.L.; CHIBISA, G.E.; BEAUCHEMIN, K.A. Estimating optimal observational sampling frequency of behaviors for cattle fed high- and low-forage diets. **Journal of Animal Science**, v. 96, n. 3, p. 783–796, 2018.
- EDMONSON, A.J.; LEAN, I.J.; WEAVER, L.D.; FARVER, T.; WEBSTER, G. A body condition scoring chart for holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 1, p. 68–78, 1989.
- ELGHANDOUR, M. M., et al. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* at direct addition or pre-incubation on *in vitro* gas production kinetics and degradability of four fibrous feeds. **Italian Journal of Animal Science**, v. 13, p. 295–301, 2014.
- 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, 1992.
- FREDIN, S.M.; FERRARETTO, L.F.; AKINS, M.S.; HOFFMAN, P.C.; Shaver, R.D. Fecal starch as an indicator of total-tract starch digestibility by lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 3, p. 1862–1871, 2014.
- FUJIHARA, S., YAMAGUCHI, M. Effects of allopurinol 4-hydroxypyrazolo(3,4-d) pyrimidine on metabolism of allantoin in soybean plants. **Plant Physiology**, v. 62, n. 1, p. 134-138, 1978.
- FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 66, p. 365-378, 1989.
- GOMES, R.A. et al. Technical note: Relationship between infrared thermography and heat production in young bulls. **Journal of Animal Science**, v. 94, n. 3, p. 1105–1109, 2016.

- GONÇALVES, E. et al. Systematic analysis of transcriptional and post-transcriptional regulation of metabolism in yeast. **Plos Computational Biology**, v. 13, n. 1, 2017.
- JIANG, Y.; et al. Effects of the dose and viability of *Saccharomyces cerevisiae*. 2. Ruminal fermentation, performance of lactating dairy cows, and correlations between ruminal bacteria abundance and performance measures. **Journal of Dairy Science**, v. 100, p. 8102–8118, 2017a.
- JIANG, Y.; et al. Effects of the dose and viability of *Saccharomyces cerevisiae* . 1. Diversity of ruminal microbes as analyzed by Illumina MiSeq sequencing and quantitative PCR. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 1, p. 325–342, 2017b.
- KNOWLTON, K.F.; DAWSON, T.E.; GLENN, B.P.; HUNTINGTON, G.B.; ERDMAN, R.A. Glucose metabolism and milk yield of cows infused abomasally or ruminally with starch. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 12 , p. 3248–3258, 1998.
- KRAMER, J.K.; FELLNER, V.; DUGAN, M.E.; SAUER, F.D.; MOSSOBA, M.M.; YURAWECZ, M.P. Evaluating acid and base catalysts in the methylation of milk and rumen FA with special emphasis on conjugated dienes and total trans fatty acids. **Lipids**, v. 32, n. 11, p. 1219-1228, 1997.
- MAAMOURI, O.; SELMI, H.; M'HAMDI, N. Effects of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) feed supplement on milk production and its composition in tunisian holstein friesian cows. **Scientia Agriculturae Bohemica**, v. 45, n. 3, p. 170-174, 2014.
- MULLINS, C.R., et al. Effects of monensin on metabolic parameters, feeding behavior, and productivity of transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 3, p. 1323–1336, 2012.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC. 2001.
- NOCEK, J. E. et al. Direct-fed microbial supplementation on the performance of dairy cattle during the transition period. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 1, p. 331-335, 2003.
- NOCEK, J. E.; HOLT, M. G.; OPPY, J. Effects of supplementation with yeast culture and enzymatically hydrolyzed yeast on performance of early lactation dairy cattle. **Journal Dairy Science**, v. 94, n. 8, p. 4046-4056, 2011.

- OBA, M.; ALLEN, M.S. Evaluation of the importance of the digestibility of neutral detergent fiber from forage: effects on dry matter intake and milk yield of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 3, p. 589–596, 1999.
- PERDOMO, M.C. et al. Effects of feeding live yeast at 2 dosages on performance and feeding behavior of dairy cows under heat stress. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 1, p. 325-339, 2020.
- PIVA, G. et al. Effects of yeast on dairy cows performance, ruminal fermentation, blood components, and milk manufacturing properties. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 9, p. 2717-2722, 1993.
- RENNO, L. N. et al. Urea levels in diet for steers of four genetic groups: microbial protein production by the urinary purine derivatives, using two collection methodologies. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 3, p. 546-555, 2008.
- RUSSELL, J.B.; HOULIHAN, A.J. Ionophore resistance of ruminal bacteria and its potential impact on human health. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 27, n. 1, p. 65–74, 2003.
- SABBIA J. A. et al. Soybeans meal substitution with a yeast-derived microbial protein source in dairy cow diets. **Journal Dairy Science**, v. 95, n. 10, p. 5888-5900, 2012.
- SALVATTI, G.G.S. et al. Response of lactating cows to live yeast supplementation during summer. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 6, p. 4062–4073, 2015.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583-3596, 1991.
- VERBIC, J.; CHEN, X. B.; MACLEOD, N. A.; ØRSKOV, E. R. Excretion of purine derivatives by ruminants - effect of microbial nucleic-acid infusion on purine derivative excretion by steers. **Journal of Agricultural Science**, v. 114, p. 243-248, 1990.
- WHELOCK, J.B.; RHOADS, R.P.; VANBAALE, M.J.; SANDERS, S.R.; BAUMGARD, L.H. Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 2, p. 644–655, 2010.
- WOHLT, J. E.; FINKELSTEIN, A. D.; GHUNG, C. H. Yeast culture to improve intake, nutrient digestibility and performance by dairy cattle during early lactation. **Journal Dairy Science**, v. 74, p. 1395-1400, 1991.

ZHANG, L.S. et al. Microbial synthesis of functional odd-chain fatty acids: a review.  
**World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 36, n. 3, p. 1-9, 2020.



## ANEXO I



Comissão de Ética no Uso de Animais  
da  
Universidade Estadual de Maringá

## CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "AVALIAÇÃO DO USO DE LEVUPASS® EM DIETAS DE VACAS LEITEIRAS EM LACTAÇÃO.", protocolada sob o CEUA nº 6017151020 (ID 002838), sob a responsabilidade de **Jefferson Rodrigues Gandra** e equipe; **Roberto Cantoia Junior** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (CEUA/UEM) na reunião de 23/11/2020.

We certify that the proposal "EVALUATION OF THE USE OF LEVUPASS® IN DAIRIES OF DAIRY MILK COWS.", utilizing 30 Bovines (30 females), protocol number CEUA 6017151020 (ID 002838), under the responsibility of **Jefferson Rodrigues Gandra** and team; **Roberto Cantoia Junior** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the State University of Maringá (CEUA/UEM) in the meeting of 11/23/2020.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa](#)

Vigência da Proposta: de [01/2021](#) a [03/2021](#)

Área: [Dmv-Medicina Veterinária](#)

Origem: [Animais de Proprietários](#)

Espécie: [Bovinos](#)

sexo: [Fêmeas](#)

idade: [30 a 60 meses](#)

N: [30](#)

Linhagem: [Holandesa](#)

Peso: [600 a 700 kg](#)

Local do experimento: O experimento será realizado em um estabelecimento rural de fins comerciais entre os municípios de São Lourenço e Carmo de Minas  MG.

Maringá, 22 de março de 2022

Prof. Dra. Tatiana Carlesso dos Santos  
Coordenadora da CEUA/UEM  
Universidade Estadual de Maringá

Prof. Dr. Antonio Campanha Martinez  
Coordenador Adjunto da CEUA/UEM  
Universidade Estadual de Maringá