

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

LEANDRO CECATO DE OLIVEIRA

SUPLEMENTAÇÃO COM PRODUTOS DE FERMENTAÇÃO DE LEVEDURAS
PARA VACAS EM LACTAÇÃO

Marechal Cândido Rondon

2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

LEANDRO CECATO DE OLIVEIRA

SUPLEMENTAÇÃO COM PRODUTOS DE FERMENTAÇÃO DE LEVEDURAS
PARA VACAS EM LACTAÇÃO

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná como requisito parcial do Programa Pós-Graduação em Produção e Nutrição Animal, para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Orientadora: Profa. Dra. Maximiliane Alavarse Zambom
Coorientadora: Dra. Andressa Faccenda

Marechal Cândido Rondon

2023

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Oliveira, Leandro Cecato de
Suplementação com produtos de fermentação de leveduras para vacas em lactação / Leandro Cecato de Oliveira; orientadora Prof. Dra. Maximiliane Alavarse Zambom; coorientadora Prof. Dra. Andressa Faccenda. -- Marechal Cândido Rondon, 2023.
36 p.

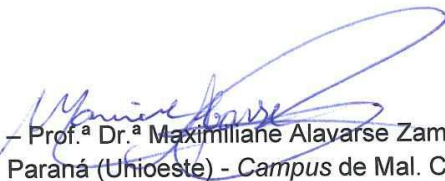
Dissertação (Mestrado Acadêmico Campus de Marechal Cândido Rondon) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2023.


1. Produtos de fermentação de leveduras. 2. Cultura de levedura. 3. Levedura autolisada. 4. Vacas leiteiras. I. Zambom, Prof. Dra. Maximiliane Alavarse, orient. II. Faccenda, Prof. Dra. Andressa, coorient. III. Título.


LEANDRO CECATO DE OLIVEIRA

Suplementação com produtos de fermentação de leveduras para vacas em lactação

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de “Mestre em Zootecnia”, Área de Concentração “Produção e Nutrição Animal”, Linha de Pesquisa “Produção e Nutrição de Ruminantes / Forragicultura”, APROVADO pela seguinte Banca Examinadora:


Orientadora / Presidente – Prof.^a Dr.^a Maximiliane Alavarse Zambom
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - *Campus* de Mal. Cândido Rondon


Membro – Prof.^a Dr.^a Caroline Hoscheid Werle
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - *Campus* de Mal. Cândido Rondon
Pós-Doutoranda no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia


Membro – Prof. Dr. João Luiz Pratti Daniel
Universidade Estadual de Maringá (UEM)

Marechal Cândido Rondon, 20 de outubro de 2023.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela vida e por me guiar em todos os momentos.

À Unioeste e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, pelas oportunidades.

À orientadora Profa. Dra. Maximiliane Alavarse Zambom, pela orientação, ensinamentos, confiança, paciência e compreensão.

À coorientadora Profa. Dra. Andressa Faccenda, pela orientação e apoio para o desenvolvimento do trabalho.

À minha esposa, Nivea, e a meu filho, Giovanni, por todo amor, apoio, confiança e paciência durante este período.

À minha mãe, Marta, a meu pai, João Raimundo, e a meu irmão, Vitor, pelo incentivo.

À empresa, Aleris Nutrition[®], pela parceria com a pesquisa e os auxílios prestados.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia pelos conhecimentos repassados ao longo dessa jornada.

A toda equipe do QUALHADA[®], pela ajuda no experimento em campo e nas análises laboratoriais, em especial à Maria Luiza Fischer e Ida Barbosa de Andrade.

Aos funcionários do Núcleo de Estações Experimentais e da Fazenda Experimental Prof. Dr. Antônio Carlos dos Santos Pessoa, pela colaboração do trabalho a campo.

A todos que de alguma forma me ajudaram, a minha sincera gratidão!

SUPLEMENTAÇÃO COM PRODUTOS DE FERMENTAÇÃO DE LEVEDURAS PARA VACAS EM LACTAÇÃO

Resumo: Objetivou-se com este estudo avaliar o efeito da inclusão de produtos de fermentação de leveduras na dieta de vacas em lactação sobre os parâmetros de ingestão e digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes, parâmetros ruminais, parâmetros sanguíneos, produção e qualidade do leite. Assim, empregou-se quatro tratamentos submetidos ao delineamento em triplo quadrado latino com doze vacas em lactação: dieta controle (CON), cultura de levedura (CL), levedura autolisada (LAL), cultura de levedura enriquecida com extrato de leveduras + MOS + β -glucanos (CLE). Aplicou-se o teste de normalidade de Shapiro-Wilk, e o teste de Tukey foi utilizado para fornecer comparações múltiplas entre os tratamentos. Os dados foram analisados utilizando o procedimento MIXED do SAS 9.3. Observou-se que não houve alteração da ingestão de matéria-seca e dos nutrientes entre os tratamentos. A inclusão de levedura autolisada reduziu a digestibilidade da fibra em detergente ácido em relação à cultura de levedura. As digestibilidades dos demais nutrientes observados não apresentaram diferença entre os tratamentos avaliados. Os parâmetros sanguíneos antes da primeira alimentação do dia e quatro horas após o início da alimentação não foram influenciados pelos tratamentos avaliados. Não houve diferença entre os tratamentos quando pH, nitrogênio amoniacal, acetato, propionato e butirato no líquido ruminal foram avaliados. A adição de cultura de levedura aumentou a produção de leite, a produção de leite corrigida para gordura e para energia, a produção de gordura, proteína e lactose em quilos por vaca por dia. A adição de levedura autolisada aumentou somente a produção de proteína em quilos por vaca por dia. A cultura de levedura enriquecida incrementou a produção de leite, lactose e proteína em quilos por vaca por dia. Os resultados apresentaram uma tendência para redução da contagem de células somáticas a partir da utilização de cultura de levedura. A inclusão de cultura de levedura aumentou a energia líquida de lactação. Os produtos de fermentação de leveduras avaliados no estudo melhoraram o desempenho produtivo de vacas leiteiras em lactação, mantendo a saúde dos animais.

Palavras-chave: cultura de levedura, digestibilidade, levedura autolisada, parede celular de levedura, produção de leite.

SUPPLEMENTATION WITH YEAST FERMENTATION PRODUCTS FOR LACTATING DAIRY COWS

Abstract: This study aims to evaluate the effect of including yeast fermentation products in the diet of lactating cows on the parameters of intake and digestibility of dry matter and nutrients, ruminal parameters, blood parameters, milk production and quality. Thus, four treatments were used in a Latin triple square design with twelve lactating cows: control diet (CON), yeast culture (CL), autolyzed yeast (LAL), yeast culture enriched with yeast extract + MOS + β -glucans (CLE). The Shapiro-Wilk normality test was applied, and the Tukey test was used to compare treatments. Data were analyzed using the MIXED procedure of SAS 9.3. We observed no change in dry matter and nutrient intake between treatments. Including autolyzed yeast reduced the digestibility of acid detergent fiber compared to yeast culture. The other nutrient digestibilities observed did not differ between the evaluated treatments. Blood parameters before the day's first feeding and four hours after the start of feeding were not influenced by the treatments evaluated. There was no difference between treatments when pH, ammonia nitrogen, acetate, propionate and butyrate in rumen fluid were evaluated. The addition of yeast culture increased milk production, milk production corrected for fat and energy, fat, protein and lactose in kilograms per cow per day. Autolyzed yeast only increased protein production in kilograms per cow per day. The enriched yeast culture increased milk, lactose and protein production in kilograms per cow per day. There was a tendency to use yeast culture to reduce somatic cell counts. The inclusion of yeast culture increased net lactation energy. The yeast fermentation products evaluated in the study improved the productive performance of lactating dairy cows, maintaining the animals' health.

Key-words: autolyzed yeast, digestibility, milk production. yeast cell wall, yeast culture.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	9
2.1	Conceitos sobre leveduras.....	9
2.2	Cultura de Levedura.....	9
2.3	Levedura autolisada	10
2.4	Extrato de levedura	12
2.5	Parede celular de levedura	12
2.6	REFERÊNCIAS.....	14
3	SUPLEMENTAÇÃO COM PRODUTOS DE FERMENTAÇÃO DE LEVEDURAS PARA VACAS EM LACTAÇÃO	16
3.1	INTRODUÇÃO	16
3.2	MATERIAL E MÉTODOS	17
3.3	RESULTADOS	23
3.4	DISCUSSÃO	27
3.5	CONCLUSÃO	31
3.6	REFERÊNCIAS.....	32
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	36

1 INTRODUÇÃO

Produtos de fermentação de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* são comumente utilizados em todo o mundo para compor dietas de animais de produção, seja como ingrediente ou como aditivo zootécnico. Os desafios em dietas altamente energéticas para vacas leiteiras de alta produção, com menores teores de forragem e maiores teores de carboidratos fermentescíveis no rúmen, estão relacionados ao aumento do risco de distúrbios gastrointestinais, como acidose ruminal e cecal. As leveduras são adicionadas na alimentação de ruminantes, modificando de maneira benéfica o ambiente e saúde ruminal e intestinal, pois são fonte de diversos nutrientes para os microrganismos ali presentes, promovendo assim um ambiente mais favorável para a degradação do alimento, digestão e aumento na produção (Melo *et al.*, 2023).

Tais produtos podem afetar positivamente a população microbiana ruminal, promovendo mudanças na produção de ácidos graxos voláteis (AGV) ruminais que resultam no aumento da produção de leite, bem como da gordura e proteína do leite de vacas em lactação (Erasmus *et al.*, 1992; Putnam *et al.*, 1997; Longuski *et al.*, 2009; Cunha *et al.*, 2019). Alguns estudos identificaram efeitos significativos na produção de leite (Harrison *et al.*, 1988; Lehloenya *et al.*, 2008; Ramsing *et al.*, 2009). O aumento do consumo de matéria seca (CMS) também pode ser observado em alguns estudos (Dann *et al.*, 2000) e a diminuição do CMS em outros estudos (Schingoethe *et al.*, 2004).

Aliado a isso, são realidade na Europa e América do Norte as restrições ao uso de antibióticos promotores de crescimento na alimentação animal, o que levou ao aumento significativo do interesse no uso de produtos alternativos (incluindo produtos de fermentação de levedura) para fornecer benefícios à saúde animal e ao desempenho (Shurson, 2018).

Dessa forma, a hipótese deste estudo é de que a utilização de produtos de fermentação de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* melhora os índices produtivos, e os parâmetros ruminais e sanguíneos de vacas holandesas em lactação. Objetivou-se com esta pesquisa avaliar o efeito da inclusão de produtos de fermentação de leveduras: cultura de levedura, levedura autolisada e cultura de levedura enriquecida com extrato de levedura + mananoligossacarídeos (M.O.S.) + betaglucanos na dieta de vacas em lactação sobre os parâmetros de ingestão e digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes, parâmetros ruminais e sanguíneos, balanço energético, produção e qualidade do leite.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Conceitos sobre leveduras

As leveduras são microrganismos eucarióticos unicelulares classificados no reino dos fungos. Esses fungos microscópicos geralmente têm cerca de três (3) a quatro (4) micrômetros de tamanho. Além disso, possuem membrana nuclear e parede celular. As leveduras são caracterizadas como heterotróficas, as quais dependem de matéria orgânica viva e/ou morta como fonte de energia e nutrientes (Bennett, 1998). As células de levedura obtêm sua nutrição produzindo e liberando várias enzimas proteolíticas, glicolíticas ou lipolíticas para digerir a matéria orgânica, ou absorvendo aminoácidos e monossacarídeos através da parede celular. A reprodução ocorre por brotamento e fissão. As leveduras são consideradas anaeróbias facultativas, o que significa que podem sobreviver e crescer na presença ou ausência de oxigênio. A propagação das leveduras ocorre em condições aeróbicas e elas convertem oxigênio e açúcares em dióxido de carbono e energia por meio do metabolismo oxidativo para permitir seu crescimento e multiplicação de forma eficiente. Em condições anaeróbicas, como as utilizadas na produção de bebidas e combustível, as leveduras são bem menos eficientes em se reproduzir, o que conduz o processo fermentativo para a produção de etanol (Shurson, 2018).

As leveduras utilizadas em nutrição humana e animal são oriundas da biomassa de diferentes tipos de fermentação, como a de pães, cervejas, cana-de-açúcar e milho, podendo ainda passar por diferentes processamentos. Classificam-se em levedura viva seca, levedura inativada, levedura autolisada, extrato de levedura, parede celular e cultura de levedura. Todas as formas podem ser utilizadas para a nutrição animal, cada uma com suas particularidades (Melo *et al.*, 2023).

No presente estudo serão abordadas a cultura de levedura, a levedura autolisada, o extrato de levedura e a parede celular de levedura, de forma isolada ou misturadas.

2.2 Cultura de Levedura

A cultura de levedura contém uma combinação das células de levedura, o meio em que foi cultivada e os metabólitos produzidos durante processos específicos de fermentação. Embora existam algumas células de levedura viáveis residuais, essas não são uma fonte substancial de leveduras vivas. Para produzir a cultura de levedura, um meio de cultura específico é inoculado com células vivas de levedura e deixado fermentar sob condições

específicas, nas quais todo o meio fermentado é subsequentemente seco (Shurson, 2018; Melo *et al.*, 2023).

À medida que as células de levedura fermentam os açúcares presentes no meio de cultura, elas produzem uma grande variedade de metabólitos, incluindo peptídeos, aminoácidos, vitaminas do complexo B, nucleotídeos, álcoois, ésteres e ácidos orgânicos. No entanto, a composição dos vários metabólitos produzidos depende da composição dos meios de fermentação utilizados e das condições de fermentação (Shurson, 2018).

Tais metabólitos são substrato para a multiplicação de bactérias celulolíticas e consumidoras de lactato no rúmen (Harrison, 1988), proporcionando aumento na concentração de AGV e na proporção molar de propionato, causando decréscimo na concentração de ácido láctico no líquido ruminal e menor variação do pH após as refeições, resultando assim na melhora de ambiente do rúmen, reduzindo as variações da microbiota durante o dia, que por consequência proporciona incremento produtivo (Shurson, 2018; Melo *et al.*, 2023). Em uma metanálise, Poppy *et al.* (2012) concluíram que vacas leiteiras em lactação consumindo cultura de levedura produziram 1,18 kg (um quilo e cento e oitenta gramas) de leite a mais por dia e mais 1,65 kg (um quilo e seiscentos e cinquenta gramas) de leite corrigido para energia, além de no início da lactação (até 70 dias) aumentarem a ingestão de matéria seca (IMS) em 0,62 kg (seiscentos e vinte gramas) por vaca por dia e acima de 70 dias em lactação reduzirem a IMS em 0,78 kg (setecentos e oitenta gramas) por vaca por dia, mostrando, dessa forma, a melhoria da eficiência alimentar no meio e final da lactação.

2.3 Levedura autolisada

As leveduras autolisadas consistem em células de levedura inteiras lisadas. A autólise ou hidrólise podem ser realizadas utilizando-se ácidos ou enzimas que provocarão o rompimento das células das leveduras. Também pode-se utilizar solução com alto teor de cloreto de sódio; neste caso, a ruptura das células acontece pelo aumento da pressão osmótica (Shurson, 2018). De forma mais usual no Brasil, a manipulação da temperatura do meio de cultivo também é utilizada para provocar a autólise das células de levedura.

O mecanismo bioquímico provocado pela manipulação da temperatura do meio de cultivo que leva à ruptura da parede celular da levedura está relacionado à ação sinérgica das enzimas endógenas (glucanases, manases e quitinases) da própria célula (Charpentier *et al.*, 1986). O processo é irreversível e pode ser acelerado pelo uso de cloreto de sódio, em

temperatura e pH específicos (Kollar *et al.*, 1991). Outros processos utilizam o tratamento de células intactas de levedura com enzimas líticas comerciais como zimolase e lisozima para acentuar a liberação de nitrogênio proteico (Knoor *et al.*, 1979).

O efeito da temperatura nas células de levedura é bastante complexo e afeta a síntese e atividade das enzimas endógenas, mecanismo de controle celular, transferência de informação anabólica dos genes aos ribossomos, absorção de íons e moléculas e, o mais importante, a composição e a integridade das membranas semipermeáveis (Reed & Nagodawithana, 1991).

As membranas celulares possuem lipídeos e proteínas, além de cátions para sua estabilização. Se a temperatura de incubação de uma suspensão de leveduras for reduzida de 30°C para 20°C, dois efeitos simultâneos ocorrerão: a atividade enzimática de uma série de enzimas diminuirá e as membranas ficarão mais impermeáveis devido a um aumento na relação ácido graxo saturado/insaturado e, por conseguinte, tenderão a solidificar-se. Se a temperatura subir de 30°C para 40°C, o processo inverso ocorrerá. Essas mudanças, feitas gradativamente, proporcionam à levedura tempo para adaptar-se às novas condições, modificando a relação entre ácidos graxos saturados e insaturados, não havendo assim risco de uma mudança na integridade e na eficiência das membranas (Iimura, 1980; Révillion & Pibernat, 1996).

O efeito da temperatura no processo da autólise de leveduras pode ser analisado sob diferentes aspectos. Primeiramente há a liberação das enzimas endógenas através da membrana celular, facilitando assim as reações e a liberação dos compostos intracelulares no meio. Posteriormente, inicia-se a hidrólise das endo-estruturas celulares e a eficiência do processo dependerá de vários fatores, entre os quais: a estabilidade das enzimas, a afinidade da enzima em relação a ativadores e inibidores, as reações de competição, a afinidade enzima-substrato e a velocidade de quebra do complexo enzima-substrato (Révillion & Pibernat, 1996)

As leveduras autolisadas são, portanto, compostas pelo conteúdo intracelular e pela parede celular. A autólise permite que os ricos componentes intracelulares das leveduras sejam liberados de forma facilitada aos microrganismos ruminais e intestinais dos animais que a consomem (Shurson, 2018). Resultados apresentados por Knollinger *et al.*, (2022) mostraram aumento na IMS, maior digestibilidade da proteína bruta (PB), maior pH ruminal, maior produção molar de AGV total e maior proporção de propionato em relação ao AGV total, além de maior produção de leite, gordura, proteína e lactose em quilos por vaca por dia quando vacas em lactação consumiram leveduras autolisadas.

2.4 Extrato de levedura

O extrato de levedura consiste apenas nos componentes intracelulares das leveduras. Após o processo de autólise, as células passam por centrifugação e os componentes intracelulares solúveis da levedura são separados da fração insolúvel de sua parede celular (Shurson, 2018).

Os componentes intracelulares da levedura são ricos em nutrientes e atuam como substrato para os microrganismos ruminais. Compreendem peptídeos, aminoácidos, carboidratos, lipídios, vitaminas (particularmente a vitamina B12) e minerais (Boulton & Quain, 2001). Uma característica importante do extrato de levedura é a fração peptídica altamente concentrada, que pode ser superior a 50% da massa total, dependendo do método de processamento (Proust *et al.*, 2019). Os carboidratos intracelulares consistem principalmente em glicogênio, 16–20% com base na matéria seca (MS) e trealose, 6–10% com base na MS (Shurson, 2018).

2.5 Parede celular de levedura

A parede celular representa cerca de 15–20% do peso seco das células de levedura e as principais frações são β -glucanos e M.O.S. Os glucanos são o principal componente polissacarídeo da *Saccharomyces cerevisiae* e são uma parte altamente insolúvel da estrutura de suporte da parede celular. A camada interna das paredes celulares da levedura consiste em β -glucano insolúvel (30–35%), a camada intermediária é β -glucano solúvel (20–22%) e a camada externa consiste em glicoproteína (30%). A estrutura dos glucanos consiste em β -1,3 glucanos com ligações ramificadas β -1,6, e ambas as glucanases endo e exo β -1,3 são produzidas durante a autólise da levedura. Os β -glucanos se tornaram muito populares na indústria de alimentação animal devido a seus potenciais efeitos benéficos em saúde e desempenho. Eles demonstraram adsorver ou ligar toxinas, vírus e bactérias patogênicas (Vetvicka *et al.*, 2014; Gonçalves *et al.*, 2017). As células imunes (macrófagos) possuem receptores para glucanos β 1,3/1,6 ramificados. Seu modo de ação está bem documentado na nutrição e na medicina humana (Rop *et al.*, 2009), e há evidências de que os β -glucanos dietéticos podem melhorar a competência imunológica em animais jovens (Shurson, 2018).

Os mananos são considerados o segundo componente mais importante das paredes celulares de leveduras e estão ligados por ligações α -1,6 em uma estrutura ramificada, com cadeias laterais consistindo em unidades de manose ligadas ao esqueleto com ligações α -1,2. O

fósforo também está ligado aos mananos, e a quantidade varia de 0,04 a 4,4%. Os M.O.S. servem como prebióticos, ou fontes de nutrientes para microrganismos selecionados no trato gastrointestinal, que podem levar a um efeito probiótico (Spring *et al.*, 2015). Uma revisão de 733 estudos publicados que avaliaram os efeitos da alimentação com M.O.S. para animais de companhia, cavalos, coelhos, aves, porcos, bezerros e várias espécies de aquicultura mostrou resultados geralmente positivos no ganho de peso corporal e conversão alimentar, reduzindo ao mesmo tempo a mortalidade. Essas respostas benéficas devem-se à ligação do M.O.S. a patógenos e à limitação de sua colonização no trato gastrointestinal, melhorando a integridade da mucosa intestinal, modulando a atividade do sistema imunológico. Além disso, esses benefícios podem estar envolvidos em defesas antioxidantes e antimutagênicas (Spring *et al.*, 2015). Aung *et al.* (2019) forneceram parede celular de levedura para vacas em lactação e encontraram diferença em produção de leite, gordura, proteína e lactose em quilos por vaca por dia. O tratamento com parede celular de levedura aumentou em 3,5kg (três quilos e quinhentos gramas) por vaca por dia a produção de leite corrigido para gordura, assim como aumentou 100g (cem gramas) por vaca por dia a produção de gordura e proteína no leite, além de reduzir a contagem de células somáticas.

2.6 REFERÊNCIAS

(Normas: ABNT/NBR 14724/2005)

- AUNG, M.; OHTSUKA, H.; IZUMI, K. Effect of yeast cell wall supplementation on production performances and blood biochemical indices of dairy cows in different lactation periods. **Veterinary World**, v.12 n.6, p.796-801, 2019.
- BENNETT, J.W. Mycotechnology: the role of fungi in biotechnology. **Journal of Biotechnology**. 66, p.101–107, 1998.
- BOULTON, C.; QUAIN, D. Brewing Yeast and Fermentation. p. 19-63. **The Brewing Process**. Blackwell Science, Oxford, 2001.
- CHARPENTIER, C.; VAN LONG, T. N.; BONALY, R.; FEUILLAT, M. Alteration of cell wall structure in *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces bayanus* during autolysis. **Applied Microbiology and Biothecnology**, n.24, p. 405-413, 1986.
- CUNHA, C. S.; MARCONDES, M. I.; SILVA, A. L. da; GIONBELLI, T. R. S.; NOVAES, M. A. S.; KNUPP, L. S.; VIRGINIO JÚNIOR, G. F.; VELOSO, C. M. Do live or inactive yeasts improve cattle ruminal environment?. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 48, p. e20180259, 2019
- DANN, H.M.; DRACKLEY, J.K.; MCCOY, G.C. et al. Effects of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on prepartum intake and postpartum intake and milk production of Jersey cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p.123–127, 2000.
- ERASMUS, L.J.; BOTHA, P.M.; KISTNER, A. Effect of yeast culture supplement on production, rumen fermentation, and duodenal nitrogen flow in dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v.75, p.3056–3065, 1992.
- GONÇALVES, B.L.; GONÇALVES, J.L.; ROSIM, R.E. et al. Effects of different sources of *Saccharomyces cerevisiae* biomass on milk production, composition, and aflatoxin M1 excretion in milk from dairy cows fed aflatoxin B1. **Journal of Dairy Science**. v.100, p.5701-5708, ISSN 0022-0302, <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12215>. 2017
- HARRISON, G.A.; HEMKEN, R.W.; DAWSON, K.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.
- IIMURA K. Fatty acids associated with the cell wall in film strains of *Saccharomyces*. **Agricultural Biology Chemistry**. National research institute of brewing, kita-ku, Tokio. N.45, p.1113-1119. 1980.
- KNOLLINGER, S.E.; POCZYNEK, M.; MILLER, B. et al. Effects of Autolyzed Yeast Supplementation in a High-Starch Diet on Rumen Health, Apparent Digestibility, and Production Variables of Lactating Holstein Cows. **Animals**. v.12, p. 2445-2462. <https://doi.org/10.3390/ani12182445>, 2022.
- KNOOR, D.; SHETTY K.J.; HOOD L.F.; KINSELLA J.E. An enzymatic method for yeast autolysis. **Journal of Food Science**, v.44, n.5, p.1362-1365, 1979.
- KOLLAR, R.; ŠTURDÍK, E.; FARKAŠ, V. Induction and acceleration of yeast lysis by addition of fresh yeast autolisate. **Biotechnology Letters**, v. 13, n.8, p.543-546, 1991.
- LEHLOENYA, K.V.; STEIN, D.R.; ALLEN, D.T. et al. J. Effects of feeding yeast and propionibacteria to dairy cows on milk yield and components, and reproduction. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. v.92, p.190–202, 2008.

- LONGUSKI, R.A.; YING, Y.; ALLEN, M.S.. Yeast culture supplementation prevented milk fat depression by a short-term dietary challenge with fermentable starch. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.160 – 167, 2009.
- MELO L. de; OLIVEIRA, P.E.P. de; PLODOVISKI, D.C. et al. Suplementação de cultura de leveduras em associação com complexo enzimático na dieta de novilhos confinados. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 24, 2023. Disponível em: <https://revistas.ufg.br/vet/article/view/74470>. Acesso em: 22 abr. 2023.
- POPPY, G.D.; RABIEE, A.R.; LEAN, I.J. et al. A meta-analysis of the effects of feeding yeast culture produced by anaerobic fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* on milk production of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**. doi: 10.3168/jds.2012-5577. Oct;95(10):6027-41, 2012.
- PROUST, L.A.; SOURABIÉ, M.; PEDERSEN, I. et al. Insights into the complexity of yeast extract peptides and their utilization of *Streptococcus thermophilus*. **Frontiers in Microbiology**. v.10, p.906, 2019.
- PUTNAM, D.E.; SCHWAB, C.G.; SOCHA, M.T. et al. Effect of yeast culture in the diets of early lactation dairy cows on ruminal fermentation and passage of nitrogen fractions and amino acids to the small intestine. **Journal of Dairy Science**. v.80, p.374–384, 1997.
- RAMSING, E.M.; DAVIDSON, J.A.; FRENCH, P.D. et al. Effects of yeast culture on peripartum intake and milk production of primiparous and multiparous Holstein cows. **Professional Animal Scientist**. v.25, p.487–495, 2009.
- REED. G.; NAGODAWITHANA, T.W. **Savory Flavors**. New York: Estiekay Associates, 1995.
- RÉVILLION, J.P.P; PIBERNAT, C.C. Utilização de extratos de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* na elaboração de vinhos espumantes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.16, n.3, p. 196-205, 1996.
- ROP, O.; MLCEK, J.; JURIKOVA, T. Beta-glucans in higher fungi and their health effects. **Nutrition Reviews**. v.67, p.624–631, 2009.
- SCHINGOETHE, D.J.; LINKE, K.N.; KALSCHEUR, K.F. et al. Feed efficiency of mid-lactation dairy cows fed yeast culture during summer. **Journal of Dairy Science**. v.87, p.4178–4181, 2004.
- SHURSON G.C. Yeast and yeast derivatives in feed additives and ingredients: sources, characteristics, animal responses, and quantification methods. **Animal Feed Science Technology**. v.235, p.60-76, 2018.
- SPRING, P.; WENK, C.; CONNOLLY, A. et al. A review of 733 published trials on Bio-Mos®, a mannan oligosaccharide, and Actigen®, a second-generation mannose rich fraction, on farm and companion animals. **Journal of Applied Animal Research**. v.3, p.1–11, 2015.
- VETVICKA, V.L.; VANNUCCI, S.P. The effects of β -glucan on pig growth and immunity. **Open Biochemistry Journal**. v.8, p.89–93, 2014.

3 SUPLEMENTAÇÃO COM PRODUTOS DE FERMENTAÇÃO DE LEVEDURAS PARA VACAS EM LACTAÇÃO

3.1 INTRODUÇÃO

Produtos de fermentação de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* são comumente utilizados em todo o mundo na composição de dietas de animais de produção, seja como ingrediente ou aditivo zootécnico. Os desafios em dietas altamente energéticas para vacas leiteiras de alta produção, com menores teores de forragem e maiores teores de carboidratos fermentescíveis no rúmen, estão relacionados ao aumento do risco de distúrbios gastrointestinais, como acidose ruminal e cecal. As leveduras são adicionadas à alimentação de ruminantes, modificando de maneira benéfica o ambiente e a saúde ruminal e intestinal, pois são fonte de diversos nutrientes para os microrganismos ali presentes, promovendo assim um ambiente mais favorável para a degradação do alimento, digestão e aumento na produção (Melo *et al.*, 2023).

Tais produtos podem afetar positivamente a população microbiana ruminal, promovendo mudanças na produção de ácidos graxos voláteis (AGV) ruminal que resultam no aumento da produção de leite, bem como da gordura e proteína do leite de vacas em lactação (Erasmus *et al.*, 1992; Putnam *et al.*, 1997; Longuski *et al.*, 2009; Cunha *et al.*, 2019). Alguns estudos identificaram efeitos significativos na produção de leite (Harrison *et al.*, 1988; Lehloenya *et al.*, 2008; Ramsing *et al.*, 2009). O aumento do consumo de matéria seca (CMS) também pode ser observado em alguns estudos (Dann *et al.*, 2000) e a diminuição do CMS em outros (Schingoethe *et al.*, 2004).

Aliado a isso, são realidade na Europa e na América do Norte as restrições ao uso de antibióticos promotores de crescimento na alimentação animal, o que levou ao aumento significativo do interesse no uso de produtos alternativos (incluindo produtos de levedura) para fornecer benefícios à saúde animal e ao desempenho (Shurson, 2018).

Dessa forma, a hipótese deste estudo é de que a utilização de produtos de fermentação de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* melhore os índices produtivos, e os parâmetros ruminais e sanguíneos de vacas holandesas em lactação. Objetivou-se com esta pesquisa avaliar o efeito da inclusão de produtos de fermentação de leveduras: cultura de levedura, levedura autolisada e cultura de levedura enriquecida com extrato de levedura + mananoligossacarídeos (M.O.S.) + betaglucanos na dieta de vacas em lactação sobre os parâmetros de ingestão e digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes, os parâmetros ruminais, o balanço energético, os parâmetros sanguíneos, e a produção e qualidade do leite.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

O cuidado e a manipulação de animais para realização do protocolo experimental foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná — Unioeste (Protocolo n° P019/22).

O experimento foi conduzido no setor de Bovinocultura de Leite da Estação Experimental Prof. Dr. Antonio Carlos dos Santos Pessoa, situada no município de Marechal Cândido Rondon, no Laboratório de Nutrição Animal e no Laboratório de Sangue do Departamento de Zootecnia da Unioeste, Campus de Marechal Cândido Rondon, no Paraná, localizada a 24°31'55.3" latitude sul, 54°01'08.0" longitude oeste e 392 metros de altitude.

Os animais foram alojados em estábulo coberto, em baias individuais com cocho e bebedouro individual.

Tratamentos Avaliados

Uma dieta controle foi elaborada e balanceada para atender as exigências nutricionais de acordo com o *NRC Dairy Cattle* (2001). Foi composta de silagem de milho, feno de tifton e concentrado (Tabelas 1 e 2). O concentrado foi composto de milho moído, farelo de soja, casca de soja, ureia e núcleo vitamínico mineral. Adicionalmente, foram fornecidos 7g (sete gramas) por animal por dia dos produtos de fermentação de levedura em avaliação: Cultron® (cultura de levedura), Cultron PRO® (levedura autolisada) e Cultron X® (cultura de levedura enriquecida com extrato de leveduras + MOS + β -glucanos) (Aleris Nutrition®, São Paulo, Brasil). Os 7g (sete gramas) de cada aditivo foram homogeneizados em 100g (7g + 93g) de concentrado, especificamente para cada tratamento, para facilitar seu fornecimento sobre a dieta no momento de cada alimentação. Para o grupo controle foi fornecido de forma adicional os 100g (cem gramas) de concentrado sem a inclusão dos aditivos.

Os tratamentos avaliados foram:

- dieta controle (CON): volumosos + concentrado;
- cultura de levedura (CL): dieta controle + cultura de levedura;
- levedura autolisada (LAL): dieta controle + levedura autolisada;
- cultura de levedura enriquecida (CLE): dieta controle + cultura de levedura enriquecida com extrato de leveduras + M.O.S. + β -glucanos.

A dose de 7g (sete gramas) foi proposta para este estudo de acordo com outras avaliações como a feita por Melo *et al.* (2023), também utilizando 7g (sete gramas) de produtos de fermentação de levedura por animal por dia.

Foram utilizadas 12 (doze) vacas da raça Holandês, homogêneas para fase de lactação (148 ± 11 dias em lactação), peso corporal (688 ± 18 kg) e produção de leite média por animal ($28 \pm 2,6$ kg), distribuídas em um triplo quadrado latino 4x4. O experimento teve duração de 84 (oitenta e quatro) dias sendo composto por quatro períodos experimentais de 21 (vinte e um) dias, dos quais 14 (catorze) dias foram destinados para a adaptação dos animais e 7 (sete) dias para a coleta de dados.

As ordenhas foram realizadas duas vezes ao dia às 6:00 e às 16:00h. Os animais foram alojados em estábulo coberto, em baias individuais com cocho individual para controle do consumo da dieta. A alimentação foi realizada duas vezes ao dia: às 06:30h e às 16:30h, nas proporções de 60% e 40% do total de alimento oferecido respectivamente. As sobras dos alimentos oferecidos no cocho foram pesadas diariamente e ajustadas a fim de proporcionar sobras entre 5% e 10%, para garantir o consumo voluntário.

Procedimentos de coletas e análises

O peso corporal dos animais foi estimado por meio de fita barimétrica antes da alimentação da manhã, uma vez em cada período experimental. Nesse mesmo dia, determinou-se o escore de condição corporal (ECC), sempre pelo mesmo avaliador. Essa avaliação foi realizada utilizando-se a escala de ECC com valores de 1–5 pontos, na qual 1 (um) representa vacas muito magras e 5 (cinco) vacas excessivamente gordas, classificadas a intervalos de 0,25 pontos (Wildman *et al.*, 1982).

Durante os dias de coleta, o consumo de dieta foi mensurado individualmente pela pesagem da quantidade ofertada de cada alimento e de suas respectivas sobras. Amostras diárias de silagem, feno e do concentrado fornecido, assim como das sobras foram coletadas e congeladas a -20°C . Posteriormente, essas amostras foram secas em estufa de ventilação forçada (55°C por 72 h), moídas em peneira com crivo de um milímetro. Sequencialmente, foi feito um *pool* composto das amostras de cada alimento e suas sobras, resultando em uma única amostra de alimento e outra de sobras por animal por período. Essas foram analisadas para a determinação dos teores de MS (método 934.01), matéria mineral (MM; método 938.08), proteína bruta (PB; método 981.10) e extrato etéreo (EE; método 920.85) segundo AOAC (1990) e fibra em detergente neutro (FDN) segundo Van Soest *et al.* (1991). Para a análise de FDN não foi realizada a correção para cinzas e proteína. A matéria orgânica (MO) foi calculada pela diferença da MS e MM. Os teores de carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados pela fórmula abaixo adaptada de Weiss *et al.* (1999):

$$\text{CNF} = 100 - (\text{PB} + \text{EE} + \text{MM} + \text{FDN})$$

O teor de nutrientes digestíveis totais (NDT) foi calculado de acordo com Sniffen *et al.* (1992) pela fórmula:

$$\text{NDT} = (\text{PBd} + (\text{EEd} \times 2,25) + \text{CNFd} + \text{FDNd})$$

Para o balanço energético, a energia líquida (EL) ingerida, energia líquida de manutenção e de lactação foram calculadas de acordo com as equações do NRC (2001), onde:

$$\text{EL ingerida} = \text{IMS} \times (0,0245 \times \% \text{NDT} - 0,12)$$

$$\text{EL manutenção} = 0,08 \times \text{PC}^{0,75}$$

$$\text{EL lactação} = (\text{PL} \times (0,0929 \times \% \text{gordura} + 0,0547 \times \% \text{proteína} + 0,0395 \times \% \text{lactose}))$$

A composição nutricional dos alimentos utilizados nas dietas encontra-se na Tabela 1, assim como a composição nutricional das dietas encontra-se na Tabela 2.

Tabela 1: Composição nutricional (g/kg de MS) dos ingredientes das dietas

	Feno de Tifton	Silagem de milho	Concentrado
MS (g/kg de matéria natural)	858,14	292,23	862,92
MM	73,11	47,24	62,93
MO	926,89	952,76	937,07
PB	129,36	79,28	222,43
EE	14,14	26,27	23,12
FDN	773,80	496,52	389,79
FDA	505,69	427,56	229,21
CNF ¹	9,60	350,70	395,73

MS: matéria seca; MM: matéria mineral; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido; CNF: carboidratos não fibrosos.

¹CNF = 100 - (PB + EE + MM + FDN).

Tabela 2: Ingredientes e composição nutricional (g/kg de MS) das dietas experimentais

Ingredientes	Dieta
Silagem de milho	400,00
Feno de Tifton	100,00
Milho moído	194,60
Casca de soja	160,10
Farelo de soja	123,00
Núcleo vitamínico mineral ¹	16,75
Ureia pecuária	5,55
Composição nutricional	
Matéria Seca (MS) (g/kg de matéria natural)	486,50
Matéria orgânica (MO)	942,33
Proteína bruta (PB)	155,86
Proteína degradável no rúmen ² (PDR)	107,55
Proteína não degradável no rúmen ² (PNDR)	48,31
Extrato etéreo (EE)	23,48
Fibra em detergente neutro (FDN)	470,88
Fibra em detergente ácido (FDA)	336,20
Carboidratos não fibrosos (CNF) ³	339,10
Energia Líquida de Lactação Calculada (ELL) ⁴ (Mcal/kg MS)	1,55

¹Composição química (quantidades/kg produto comercial): cálcio: 230 gramas (g); fósforo: 60 g; sódio: 70 g; enxofre: 16 g; magnésio: 50 g; manganês: 3335 miligramas (mg); zinco: 3335 mg; cobre: 1000 mg; cobalto: 24 mg; iodo: 40 mg; selênio: 20 mg; cromo: 10 mg; vitamina A: 235000 Unidades Internacionais (UI); vitamina D: 100000 UI, vitamina E: 1667 UI.

²Estimado pelo NRC (2001) ³CNF = 100 - (PB + EE + MM + FDN).

⁴ELL_(Mcal/kg) = 0,703 x EM - 0,19 + [(0,097 x EM + 0,19) / 97] x [EE - 3].

As coletas de líquido ruminal foram realizadas com o auxílio de uma sonda esofágica, mangueira de silicone e uma bomba de vácuo, sendo feita imediatamente após a coleta a filtragem em quatro camadas de gaze e mensurado o pH. No início do procedimento de coleta, os primeiros 300ml de líquido ruminal foram descartados com o intuito de não haver contaminação por saliva no líquido ruminal coletado. As amostras de líquido ruminal foram analisadas quanto às concentrações de nitrogênio amoniacal ruminal (N-NH₃), através de técnica colorimétrica de acordo com Chaney e Marbach (1962), substituindo-se o fenol por solução de salicilato de sódio (12%). As amostras foram armazenadas em uma proporção de 5ml de líquido ruminal para 0,1ml de ácido sulfúrico (1:1), em tubos identificados e congeladas (-20°C) para posterior determinação dos AGV (ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico) por cromatografia gasosa, utilizando um cromatógrafo (*Shimadzu GC-2010 Plus*) equipado com injetor automático AOC-20i, coluna capilar Stabilwax-DATM (30m, 0,25mm ID, 0,25µm df, Restek[®]) e detector de ionização de chama (FID), após acidificação das mesmas com 1M de ácido fosfórico e fortificação com o padrão WSFA-2. Uma alíquota de 1µl de cada amostra foi

injetada com taxa de *split* de 40:1, utilizando hélio como gás de arraste à velocidade linear de 42cm/s. As temperaturas do injetor e do detector foram, respectivamente, 250°C e 300°C. A rampa de temperatura da coluna se iniciou com 40°C, elevando-se até 120°C à taxa de 40°C/min, seguido de um gradiente de 120°C até 180°C à taxa de 10°C/min e de 180°C a 240°C à taxa de 120°C/min, mantendo-se a temperatura a 240°C por mais três minutos.

Para avaliação da digestibilidade, amostras de fezes foram coletadas diretamente da ampola retal, durante seis dias no período de coleta, seguindo a seguinte distribuição: 1º dia de coleta (8 horas), 2º dia de coleta (10 horas), 3º dia de coleta (12 horas), 4º dia de coleta (14 horas), 5º dia de coleta (16 horas), 6º dia de coleta (18 horas). Após secagem em estufa com ventilação forçada (55°C por 72h), as amostras foram processadas em moinho do tipo Willey (1mm) e compostas proporcionalmente, com base no peso seco ao ar, por animal por período, e armazenadas em frascos para posterior análise de MS, MM, PB, EE e FDN.

Para estimativa da excreção fecal diária foi utilizado como indicador interno a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi). A FDNi foi determinada nas amostras dos alimentos fornecidos, sobras e composições fecais por intermédio de procedimento de digestibilidade *in situ* descrita por Casali *et al.* (2008) que consiste na incubação ruminal por 240 horas, com posterior análise de FDN das amostras. A digestibilidade aparente da MS e dos nutrientes foi calculada pela diferença do consumido e do excretado, dividido pelo consumido.

Para as análises dos metabólitos sanguíneos foram realizadas coletas de sangue no 20º dia do período experimental, antes das vacas iniciarem a alimentação (0 hora), e quatro horas após o início da alimentação, utilizando-se tubos Vacutainer de 4mL (Becton Dickinson Vacutainer Systems, Franklin Lakes, New Jersey, USA), através de punção da veia coccígea, em cada período de coleta. As amostras foram centrifugadas a 3.500 rpm por quinze minutos para a retirada do soro, as quais foram transferidas para tubos eppendorf e refrigerados para análise das concentrações de aspartato aminotransferase (ASAT), gama-glutamil transferase (GGT), fosfatase alcalina (FAL) e glicose, as quais foram determinadas a partir de “kits” comerciais específicos, utilizando-se espectrofotômetro de calibração automática com leitura de alta performance Elitech EL 200 (FLEXOR EL200, LITech Group, Paris, France).

A produção diária das vacas foi registrada no período de coleta de dados, utilizando medidores acoplados ao equipamento de ordenha. A secreção diária de energia no leite foi calculada pela seguinte equação do NRC (2001):

$$[(0,0929 \times \% \text{ gordura}) + (0,0547 \times \% \text{ proteína}) + (0,0395 \times \% \text{ lactose})] \times \text{kg de leite}$$

A produção de leite corrigida para 4% de gordura (PLCG) foi estimada pela seguinte equação do NRC (2001):

$$\text{PLCG} = 0,4 \times (\text{kg de leite produzido}) + [15 \times (\% \text{ de gordura}) \times (\text{kg de leite produzido})]$$

A produção de leite corrigida para energia (PLCE) foi calculada conforme Dias Júnior *et al.* (2017) pela equação:

$$\text{PLCE} = \text{Secreção diária de energia no leite}/0,7$$

Assumindo que o conteúdo de energia em leite com 3,7% de gordura, 3,2% de proteína e 4,6% de lactose é 0,70 Mcal/kg (Dias Júnior *et al.*, 2017). A eficiência da produção leiteira foi calculada dividindo-se a PLCE pela ingestão de matéria seca.

Para a análise das propriedades químicas do leite foram realizadas amostragens individuais de leite de todos os animais (15º e 16º dia do período experimental), as quais foram proporcionalmente compostas por 60% do leite da ordenha da manhã e 40% do leite da ordenha da tarde, totalizando duas amostras por animal por período. Alíquotas de 50ml foram acondicionadas em um frasco com bronopol para análise dos teores de gordura (GOR), proteína (PRO), lactose (LACT) e sólidos totais (ST) por espectrofotometria de infravermelho (Bentley 2000; Bentley Instrument Inc., Chaska, MN), nitrogênio ureico do leite (NUL) pela metodologia de Berthelot (Chemspec 150; Bentley Instrument Inc., Chaska, MN) e contagem de células somáticas (CCS) por meio de citometria de fluxo (Somacount 300; Bentley Instrument Inc., Chaska, MN).

Análise Estatística

A normalidade das variáveis foi verificada, utilizando-se o teste de Shapiro-Wilk. Os dados referentes à contagem de células somáticas por não apresentarem distribuição normal, foram transformados em Log na base 10. Os dados foram analisados utilizando o procedimento MIXED do SAS 9.3 (SAS Institute, 2002). O modelo utilizado foi:

$$Y_{ijkl} = \mu + q_i + a_j(i) + p_k + T_l + \epsilon_{ijkl}$$

Onde:

Y_{ijkl} = variável dependente; μ = média geral; q_i = efeito aleatório do quadrado latino; $aj(i)$ = efeito aleatório do animal dentro do quadrado latino; pk = efeito aleatório do período; Tl = efeito fixo do tratamento; ϵ_{ijkl} = erro residual associado a cada observação.

As interações entre quadrado latino e os tratamentos foram testadas, mas como não foram significativas, as mesmas foram excluídas do modelo. Quando houve diferença estatística, o teste de Tukey foi utilizado para fornecer comparações múltiplas entre os tratamentos. As diferenças foram declaradas quando $P < 0,05$.

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

$$Y_{ijklm} = \mu + q_i + aj(i) + pk + Tl + Hm + THlm + \epsilon_{ijklm}$$

Onde:

Y_{ijklm} = variável dependente; μ = média geral; q_i = efeito aleatório do quadrado latino; $aj(i)$ = efeito aleatório do animal dentro do quadrado latino; pk = efeito aleatório do período; Tl = efeito fixo do tratamento; Hm = efeito fixo do tempo; $THlm$ = efeito da interação entre tratamento e tempo; ϵ_{ijkl} = erro residual associado a cada observação.

Foram testadas várias estruturas de covariância de erros. A estrutura de componentes de variância utilizada foi desestruturada (UN) e foi selecionada com base no menor Critério de Informação Bayesiano. Quando houve diferença estatística entre os tratamentos, o teste de Tukey foi utilizado para fornecer comparações múltiplas. Os efeitos de tempo foram estudados por meio de contrastes ortogonais. As diferenças foram declaradas quando $P < 0,05$. Quando $P > 0,05$ e $< 0,10$ foi considerado tendência.

3.3 RESULTADOS

A utilização de cultura de levedura, levedura autolisada e cultura de levedura enriquecida com M.O.S. + betaglucanos + extrato de levedura não alterou a ingestão de matéria seca (IMS) e dos nutrientes (Tabela 3).

Tabela 3: Ingestão de matéria seca e dos nutrientes (kg/d) de vacas alimentadas com dietas contendo ou não cultura de levedura (CL), levedura autolisada (LAL) e cultura de levedura enriquecida com MOS + betaglucanos + extrato de levedura (CLE)

Variáveis	Tratamentos				EPM	Valor de P
	CON	CL	LAL	CLE		
IMS	23,58	23,15	23,48	23,58	0,41	0,83
IMO	22,28	21,87	22,17	22,27	0,39	0,83
IEE	0,58	0,57	0,58	0,58	0,01	0,80
IPB	3,57	3,48	3,51	3,53	0,06	0,83
IFDN	10,63	10,38	10,63	10,57	0,19	0,81
IFDA	7,89	7,71	7,88	7,87	0,15	0,77
ICNF	7,50	7,43	7,45	7,58	0,15	0,81
INDT	15,51	15,38	15,52	15,69	0,26	0,95

EPM: Erro padrão da média; IMS: ingestão de matéria seca; IMO: ingestão de matéria orgânica; IPB: ingestão de proteína bruta; IEE: ingestão de extrato etéreo; IFDN: ingestão de fibra em detergente neutro; ICNF: ingestão de carboidratos não fibrosos; INDT: ingestão de nutrientes digestíveis totais

A utilização de cultura de levedura, levedura autolisada e cultura de levedura enriquecida com M.O.S. + betaglucanos + extrato de levedura não alterou os valores de pH, nitrogênio amoniacal (mg/dl) e não influenciou a produção e proporção dos AGV (%) no líquido ruminal das vacas (Tabela 4).

Tabela 4 – Valores de pH, nitrogênio amoniacal e ácidos graxos voláteis no líquido ruminal de vacas alimentadas com dietas contendo ou não cultura de levedura (CL), levedura autolisada (LAL) e cultura de levedura enriquecida com M.O.S. + betaglucanos + extrato de levedura (CLE)

Variáveis	Tratamentos				EPM	Valor de P
	CON	CL	LAL	CLE		
pH	6,64	6,63	6,66	6,63	0,02	0,84
N_NH3 mg/dl	9,59	9,84	9,51	10,15	0,35	0,68
AGV Total mM	92,64	95,73	94,30	94,31	1,23	0,46
Ácidos graxos voláteis (% do AGV)						
Acetato	75,23	75,13	75,23	75,11	0,22	0,98
Propionato	14,04	13,93	13,95	13,70	0,11	0,72
Butirato	10,73	10,93	10,82	11,19	0,19	0,59

EPM: erro padrão da média; N-NH3: nitrogênio amoniacal; AGV: ácidos graxos voláteis; mM: milimolar; mg/dl: miligramas por decilitro.

A inclusão de levedura autolisada reduziu a digestibilidade da FDA em relação à cultura de levedura ($P < 0,05$). As digestibilidades da MS, MO, PB, EE, FDN, CNF e o NDT observado não apresentaram efeito para os tratamentos avaliados (Tabela 5).

Tabela 5: Digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes e teor de nutrientes digestíveis totais (g/kg de MS) das dietas de vacas contendo ou não cultura de levedura (CL), levedura autolisada (LAL) e cultura de levedura enriquecida com M.O.S. + betaglukanos + extrato de levedura (CLE)

Variáveis	Tratamentos				EPM	Valor de P
	CON	CL	LAL	CLE		
DMS	655	662	660	662	4,26	0,48
DMO	676	681	679	682	3,99	0,71
DEE	662	675	681	680	10,49	0,89
DPB	682	681	685	683	4,77	0,86
DFDN	565	574	551	547	10,27	0,13
DFDA	506ab	533a	470b	516ab	13,78	0,03
DCNF	829	834	857	868	8,50	0,16
NDT Obs ¹	659	664	662	665	3,86	0,72

EPM: Erro padrão da média; DMS: digestibilidade da matéria seca; DMO: digestibilidade da matéria orgânica; DPB: digestibilidade da proteína bruta; DEE: digestibilidade do extrato etéreo; DFDN: digestibilidade da fibra em detergente neutro; DFDA: digestibilidade da fibra em detergente ácido; DCNF: digestibilidade dos carboidratos não fibrosos; NDT obs: nutrientes digestíveis totais observado.

¹NDT = (PBd + (EEd x 2,25) + CNFd + FDNd)

Os parâmetros sanguíneos ASAT, GGT, FAL e Glicose tanto antes quanto quatro horas após o início da alimentação não foram influenciados pelos tratamentos avaliados (Tabela 6).

Tabela 6: Parâmetros sanguíneos de vacas alimentadas com dietas contendo ou não cultura de levedura (CL), levedura autolisada (LAL) e cultura de levedura enriquecida com M.O.S. + betaglukanos + extrato de levedura (CLE)

Variáveis	Tratamentos				EPM	Valor de P
	CON	CL	LAL	CLE		
Jejum						
ASAT (UI/L)	91,88	85,83	90,96	81,34	3,71	0,35
GGT (UI/L)	28,09	25,42	25,55	26,07	1,36	0,18
FAL (UI/L)	130,91	120,91	152,73	165,45	9,64	0,22
Glicose (mg/dL)	64,81	66,59	65,04	66,03	0,86	0,78
4 horas após a alimentação						
ASAT (UI/L)	89,25	87,52	98,47	84,38	3,92	0,24
GGT (UI/L)	26,07	25,26	25,30	26,18	1,26	0,81
FAL (UI/L)	137,27	120,00	155,45	178,18	10,91	0,13
Glicose (mg/dL)	47,92	49,51	46,70	53,74	2,38	0,36

EPM: Erro padrão da média; FAL: fosfatase alcalina; ASAT: aspartato aminotransferase; GGT: gama glutamyl transferase

A adição de cultura de levedura aumentou a produção de leite, bem como a produção de leite corrigida para gordura e energia, gordura, proteína e lactose em quilos por vaca por dia (P<0,05). Já a adição de cultura de levedura enriquecida com M.O.S. + betaglukanos + extrato de levedura aumentou a produção de leite, lactose e proteína em quilos por vaca por dia

($P < 0,05$). E a adição de levedura autolisada aumentou somente a produção de proteína em quilos por vaca por dia ($P < 0,05$) (Tabela 7).

A utilização de cultura de levedura, levedura autolisada e cultura de levedura enriquecida com M.O.S. + betaglucanos + extrato de levedura não alterou a eficiência de produção de leite corrigida para energia (PLCE/IMS), gordura, proteína, lactose e sólidos totais (g/100g), nitrogênio ureico do leite (mg/dl) e sólidos totais (kg/dia). Houve tendência na utilização de cultura de levedura em reduzir a contagem de células somáticas ($P = 0,06$) (Tabela 7).

Tabela 7: Produção, composição e qualidade do leite de vacas alimentadas com dietas contendo ou não cultura de levedura (CL), levedura autolisada (LAL) e cultura de levedura enriquecida com M.O.S. + betaglucanos + extrato de levedura (CLE)

Variáveis	Tratamentos				EPM	Valor de P
	CON	CL	LAL	CLE		
Leite (kg/dia)	26,78b	28,04a	27,67ab	28,03a	0,63	0,02
PLCG ¹ (kg/dia)	26,35b	27,82a	27,21ab	27,46ab	0,64	0,02
PLCE ² (kg/dia)	28,00b	29,57a	29,10ab	29,33ab	0,64	0,02
EPLCE	1,20	1,29	1,26	1,26	0,03	0,11
Gordura (g/100g)	3,92	3,95	3,90	3,87	0,05	0,48
Proteína (g/100g)	3,36	3,36	3,41	3,39	0,02	0,12
Lactose (g/100g)	4,75	4,77	4,79	4,78	0,02	0,49
ST (g/100g)	13,18	13,06	13,07	13,01	0,07	0,69
NUL (mg/dL)	16,34	17,03	16,40	16,37	0,56	0,33
CCS log ₁₀	1,86	1,63	1,80	1,86	0,07	0,06
Gordura (kg/dia)	1,04b	1,11a	1,08ab	1,08ab	0,03	0,05
Proteína (kg/dia)	0,90b	0,94a	0,94a	0,95a	0,02	0,01
Lactose (kg/dia)	1,27b	1,34a	1,32ab	1,34a	0,03	0,04
ST (kg/dia)	3,53	3,66	3,61	3,64	0,08	0,24

EPM: Erro padrão da média; PLCE: produção de leite corrigida para energia; EPLCE: Eficiência de produção de leite corrigida para energia (PLCE/IMS); ST: sólidos totais; NUL: nitrogênio ureico do leite; CCS: contagem de células somáticas

¹PLCG = $0,4 \times (\text{kg de leite produzido}) + [15 \times (\% \text{ de gordura}) \times (\text{kg de leite produzido})]$

²PLCE = $(\text{PL} \times (0,0929 \times \% \text{gordura} + 0,0547 \times \% \text{proteína} + 0,0395 \times \% \text{lactose}))/0,7$

A inclusão de cultura de levedura aumentou a energia líquida de lactação ($P < 0,05$) (Tabela 8). A energia líquida ingerida, a energia líquida para manutenção, o balanço energético, o peso corporal e o ECC não foram influenciados pela inclusão de cultura de levedura, levedura autolisada e cultura de levedura enriquecida com M.O.S. + betaglucanos + extrato de levedura.

Tabela 8 – Balanço energético (Mcal/dia), peso corporal (kg) e escore de condição corporal de vacas alimentadas com dietas contendo ou não cultura de levedura (CL), levedura autolisada (LAL) e cultura de levedura enriquecida com M.O.S. + betaglucanos + extrato de levedura (CLE)

Variáveis	Tratamentos				EPM	Valor de P
	CON	CL	LAL	CLE		
EL ingerida ¹	35,18	34,90	35,21	35,61	0,58	0,95
EL manutenção ²	10,88	10,97	10,93	10,96	0,11	0,69
EL lactação ³	19,60b	20,70a	20,37ab	20,53ab	0,45	0,02
BE	4,70	3,23	3,91	4,12	0,61	0,45
PC	699,82	707,73	704,45	706,73	9,25	0,70
ECC	3,20	3,09	3,09	3,18	0,05	0,58

EPM: Erro padrão da média; EL Ingerida: Energia líquida ingerida; EL manutenção: Energia líquida para manutenção; EL lactação: Energia líquida de lactação; BE: balanço energético; PC: peso corporal; ECC: escore de condição corporal. ¹EL ingerida = $IMS \times (0,0245 \times \%NDT - 0,12)$. ²EL manutenção = $0,08 \times PC^{0,75}$

³EL lactação = $(PL \times (0,0929 \times \%gordura + 0,0547 \times \%proteína + 0,0395 \times \%lactose))$

3.4 DISCUSSÃO

A utilização de cultura de levedura, levedura autolisada e cultura de levedura enriquecida com M.O.S. + betaglucanos + extrato de levedura não alterou a IMS e dos nutrientes. Variações no padrão ingestivo de vacas em lactação podem estar relacionadas ao período de lactação das vacas. Em uma metanálise, Poppy *et al.* (2012) relataram que vacas consumindo cultura de levedura até 70 dias após o parto aumentaram a IMS em 0,62kg por vaca por dia, e que após os 70 dias em lactação (DEL) houve redução da IMS (-0,78kg/vaca/dia), o que mostra melhora na eficiência alimentar após 70 DEL, visto que a produtividade foi maior (1,18 kg de leite/vaca/dia) e a IMS foi menor nessa fase da lactação. Outros autores também não encontraram diferença no consumo de MS para vacas consumindo cultura de levedura (Arambel & Kent, 1990; Dias *et al.*, 2018; Carpinelli *et al.*, 2021). Erasmus *et al.* (1992) e Dann *et al.* (2000) relataram aumento na IMS para vacas consumindo cultura de levedura, mas não citaram a fase de lactação das vacas. A ausência de diferença na IMS também pode estar relacionado aos níveis seguros de CNF e FDN da dieta experimental, visto que em dietas com teor de CNF acima dos limites seguros e FDN abaixo do mínimo recomendados pelo NRC 2001, os animais apresentarão redução na IMS devido à redução de pH ruminal (NRC, 2001).

A utilização de cultura de levedura, levedura autolisada e cultura de levedura enriquecida com M.O.S. + betaglucanos + extrato de levedura não alterou os valores de pH, nitrogênio amoniacal e não influenciou a produção e proporção dos AGV no líquido ruminal.

A ausência de efeito no pH ruminal pode estar relacionada à elevada quantidade de fibras presente nas dietas, uma vez que os efeitos desses tipos de aditivos sobre o pH ruminal foram positivamente correlacionados com o nível de concentrado na dieta, e negativamente correlacionada com a proporção de FDN dietético (Desnoyers *et al.*, 2009). De acordo com Doreau e Jouany (1998), a adição de produtos de fermentação de levedura não modifica o pH médio, apenas impede o declínio no pH no rúmen, através da redução no acúmulo de ácido láctico por beneficiar o crescimento de bactérias utilizadoras desse ácido, como as *Selenomonas spp*, *Anaerovibrio spp*, *Megasphaera spp* e *Propionibacterium spp* (Wallace, 1994). Desta forma, como não houve desafio dietético para alterações em pH ruminal, os tratamentos avaliados não tiveram oportunidade para expressar os efeitos esperados no pH do líquido ruminal e na IMS.

Segundo Harrison *et al.* (1988), com o fornecimento de produtos de fermentação de leveduras, principalmente cultura de levedura, espera-se um aumento na população de bactérias fibrolíticas no rúmen. Com isso haveria um aumento da degradabilidade ruminal e digestibilidade das frações fibrosas da dieta, como FDN e FDA. Contudo, neste trabalho, a inclusão de levedura autolisada reduziu a digestibilidade da FDA em relação ao tratamento com cultura de levedura ($P < 0,05$) e as digestibilidades da MS, MO, PB, EE, FDN, CNF e o NDT observado não apresentaram diferença para os tratamentos avaliados.

Na maioria dos trabalhos nos quais os produtos de fermentação de levedura melhoraram a digestibilidade de proteína e frações fibrosas dietéticas, o teor de carboidratos não fibrosos na dieta dos animais era um fator de desafio, ou seja, havia uma combinação com maior teor de CNF e menor de fibra fisicamente efetiva, sempre em níveis próximos dos limites relativos às recomendações do NRC 2001. Essas ações podem culminar com a diminuição da população ruminal principalmente das bactérias fibrolíticas, responsáveis pela degradação das fibras no rúmen e conseqüentemente reduzir a digestibilidade desse nutriente. Segundo Harrison *et al.* (1988), os produtos de fermentação de leveduras, quando fornecidos a bovinos, servem como substrato para o aumento da população de bactérias fibrolíticas e, mesmo com os desafios citados anteriormente consegue-se promover maior digestibilidade das frações fibrosas da dieta. Neste trabalho, os teores de CNF e FDN dietéticos (339 gramas por kg de MS e 470 gramas por kg de MS respectivamente) não apresentaram os desafios citados anteriormente, o que pode justificar a ausência de efeito dos aditivos para a digestibilidade dos nutrientes.

Alguns estudos reportaram redução no N-NH₃ do rúmen ao utilizar produtos de fermentação de levedura, e destacaram que esse efeito ocorreu devido a esse prebiótico

beneficiar o crescimento de bactérias fibrolíticas que possuem elevada preferência por amônia como fonte de nitrogênio para a síntese de suas proteínas (Erasmus, 1992; Hristov *et al.*, 2010). No entanto, esse fato não foi observado no presente estudo, o que sugere a ausência de efeito sobre os microrganismos fibrolíticos, uma vez que a digestibilidade da FDN também não foi alterada.

Alterações nesses parâmetros ruminais são indicativos de como os aditivos adicionados à alimentação das vacas poderiam modular a microbiota e a fermentação ruminal. Neste trabalho, as dietas oferecidas aos animais apresentaram desafio moderado para reduzir o pH ruminal e provocar suas consequências inerentes na população microbiana do rúmen, no qual os produtos de fermentação de levedura poderiam apresentar efeitos positivos, resultando em manutenção do pH ruminal em relação ao grupo controle e maior produção de AGV total com menor relação acetato:propionato. Entretanto, esses efeitos não foram observados neste estudo.

As enzimas ASAT, GGT e FAL são mensuradas para avaliar a saúde hepática nos animais e encontraram-se dentro dos níveis fisiológicos (ASAT < 132 UI/L; GGT < 39 UI/L; FAL < 488 UI/L) conforme descrito por González e Silva (2022). Os parâmetros sanguíneos ASAT, GGT, FAL, tanto antes da primeira alimentação do dia quanto quatro horas após o início da alimentação não foram influenciados pelos tratamentos avaliados, indicando que os aditivos testados não apresentaram capacidade para promover alterações hepáticas. Já a glicose plasmática é fonte de energia para diversos tecidos do organismo e também um indicador em ruminantes de que a gliconeogênese está acontecendo de forma correta. Os níveis plasmáticos de glicose tanto antes da primeira alimentação do dia quanto quatro horas após o início da alimentação não foram influenciados pelos tratamentos avaliados devido aos animais utilizados consumirem dietas isoproteicas e isoenergéticas, somente diferindo a inclusão dos aditivos avaliados. Nesse caso, os níveis de glicose mensurados também encontraram-se dentro dos níveis fisiológicos, entre 45 e 75 mg/dl (González & Silva, 2022).

A adição de cultura de levedura aumentou a produção de leite, a produção de leite corrigida para gordura e energia, gordura, proteína e lactose em quilos por vaca por dia ($P < 0,05$). Esses resultados corroboram os obtidos na metanálise de Poppy *et al.* (2012), na qual esses parâmetros também foram maiores quando vacas em lactação consumiram cultura de levedura. Além disso, os trabalhos de Erasmus *et al.* (1992), Lehloenya *et al.* (2008), Dias *et al.* (2018) e Carpinelli (2021) tiveram resultados semelhantes para produção de leite corrigida para energia com cultura de levedura.

A adição de cultura de levedura enriquecida com M.O.S. + betaglucanos + extrato de levedura aumentou a produção de leite, lactose e proteína em quilogramas por vaca por dia ($P < 0,05$). E a adição de levedura autolisada teve efeito somente na produção de proteína em quilogramas por vaca por dia ($P < 0,05$). Adili *et al.* (2019) forneceram levedura autolisada e extrato de levedura como dois tratamentos diferentes, e Bagheri *et al.* (2009) forneceram parede celular de levedura e, em ambos os trabalhos, não encontraram diferença em produção de leite, gordura, proteína e lactose em quilogramas por vaca por dia. Knollinger *et al.* (2022) forneceram levedura autolisada e Aung *et al.* (2019) forneceram parede celular de levedura e, em ambos os trabalhos, foram encontradas maiores produções de leite, gordura, proteína e lactose em quilogramas por vaca por dia.

A utilização de cultura de levedura, levedura autolisada e cultura de levedura enriquecida com M.O.S. + betaglucanos + extrato de levedura não alterou o nitrogênio ureico do leite (mg/dL). Houve tendência na utilização de cultura de levedura em reduzir a contagem de células somáticas ($P = 0,06$). Carpinelli (2021) observou redução na CCS de vacas consumindo cultura de levedura. Dann *et al.* (2000) observaram que tanto a CCS quanto o NUL foram iguais quando forneceram cultura de levedura. E Aung *et al.* (2019) obtiveram o mesmo resultado que Dann *et al.* (2000) para CCS e NUL, porém, fornecendo parede celular de levedura.

Embora diversos indicadores de produtividade neste estudo tenham sido maiores para os produtos de fermentação de leveduras avaliados, não foi possível justificar estatisticamente essas diferenças pensando nos parâmetros ingestivos, ruminais e de digestibilidade.

A energia líquida de lactação foi maior para o tratamento cultura de levedura ($P < 0,05$). A energia líquida ingerida, a energia líquida para manutenção, o balanço energético, o peso corporal e o ECC não foram influenciados pela inclusão de cultura de levedura, levedura autolisada e cultura de levedura enriquecida com M.O.S. + betaglucanos + extrato de levedura. Fornecendo cultura de levedura para vacas em lactação, Arambel e Kent (1990) não encontraram diferenças no peso corporal; Carpinelli (2021) não encontrou diferenças no peso corporal e no ECC; Halfen *et al.* (2021) obtiveram um balanço energético menor.

3.5 CONCLUSÃO

A cultura de levedura, levedura autolisada e cultura de levedura enriquecida avaliados no estudo aumentaram a produção de leite e sólidos, com destaque para a cultura de levedura que apresentou maiores diferenças positivas em relação ao controle, além de mostrarem potencial para reduzir a contagem de células somáticas de vacas leiteiras em lactação. Dessa forma, com a crescente demanda de leite com mais sólidos e menor CCS pelos laticínios, ocorre melhor remuneração desse leite de maior qualidade. Com isso, a utilização de produtos de fermentação de levedura torna-se uma opção viável para proporcionar ganhos adicionais aos produtores de leite.

3.6 REFERÊNCIAS

(Normas: ABNT/NBR 14724/2005)

- ADILI, S.; SADEGHI, A.A.; CHAMANI, M. et al. Auto-lysed yeast and yeast extract effects on dry matter intake, blood cells counts, IgG titer and gene expression of IL-2 in lactating dairy cows under heat stress. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 42, n. 1, p. e48425, 2020.
- AOAC. Official methods of analysis of Association of Official Analytical Chemists, 15th ed, **Association of Official Analytical Chemists**. Arlington, 1990.
- ARAMBEL, M.J.; KENT, B.A. Effect of yeast culture on nutrient digestibility and milk yield response in early- to midlactation dairy cows. **Journal of Dairy Science**. 73(6):1560-3, 1990.
- AUNG, M.; OHTSUKA, H.; IZUMI, K. Effect of yeast cell wall supplementation on production performances and blood biochemical indices of dairy cows in different lactation periods. **Veterinary World**, v.12 n.6, p.796-801, 2019.
- BAGHERI, M.; GHORBANI, G.R.; RAHMANI, H. et al. Effect of Live Yeast and Mannan-oligosaccharides on Performance of Early-lactation Holstein Dairy Cows. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**. 22. 10.5713/ajas., 2009.
- BAKER, L. **The Effects Of Dietary Yeast Extracts On Rumen Microbiota And Fermentation In A Dual-Flow Continuous Culture Fermentation System**. 2021. 129 f. Dissertação (Mestrado) - Specializing In Animal Science, University Of Vermont, Vermont, 2021.
- BENNETT, J.W. Mycotechnology: the role of fungi in biotechnology. **Journal of Biotechnology**. 66, p.101–107, 1998.
- BOULTON, C.; QUAIN, D. Brewing Yeast and Fermentation. p. 19-63. **The Brewing Process**. Blackwell Science, Oxford, 2001.
- CARPINELLI, N.A.; HALFEN, J.; TREVISI, E. et al. Effects of peripartal yeast culture supplementation on lactation performance, blood biomarkers, rumen fermentation, and rumen bacteria species in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.104, 10 ed., p.10727-10743, 2021.
- CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos in situ. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 2, p. 335-342, 2008.
- CHARPENTIER, C.; VAN LONG, T. N.; BONALY, R.; FEUILLAT, M. Alteration of cell wall structure in *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces bayanus* during autolysis. **Applied Microbiology and Biothecnology**, n.24, p. 405-413, 1986.
- CHANEY, A.L.; MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, v. 8, p. 130-132, 1962.
- CHEN, X.B.; GOMES, M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives: an overview of the technical details. **Rowett Research Institute**, 1992.

- CHIZZOTTI, M.L.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. Consumo, digestibilidade e excreção de ureia e derivados de purinas em vacas de diferentes níveis de produção de leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 1, p. 138-146, 2007.
- CUNHA, C. S.; MARCONDES, M. I.; SILVA, A. L. da; GIONBELLI, T. R. S.; NOVAES, M. A. S.; KNUPP, L. S.; VIRGINIO JÚNIOR, G. F.; VELOSO, C. M.. Do live or inactive yeasts improve cattle ruminal environment?. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 48, p. e20180259, 2019
- DANN, H.M.; DRACKLEY, J.K.; MCCOY, G.C. et al. Effects of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on prepartum intake and postpartum intake and milk production of Jersey cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p.123–127, 2000.
- DESNOYERS, M., GIGER-REVERDIN, S., BERTIN, 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, p.1620–1632. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1414>. 2009.
- DOREAU, M., JOUANY, J.P. Effect of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on nutrient digestion in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v. 81, p.3214–3221. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75885-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75885-0), 1998
- DIAS, A.L.G.; FREITAS, J.A.; MICAI, B. et al. Effect of supplemental yeast culture and dietary starch content on rumen fermentation and digestion in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Jan;101(1):201-221. doi: 10.3168/jds.2017-13241, 2018.
- DIAS JUNIOR, G.S.; SILVEIRA, V.A.; ASCARI, I.J. et al. Replacement of raw soybean with roasted soybean increased milk production in Holstein cows. **Ciência Rural**, v. 47, n.5, p. 1-7, 2017.
- ERASMUS, L.J.; BOTHA, P.M.; KISTNER, A. Effect of yeast culture supplement on production, rumen fermentation, and duodenal nitrogen flow in dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v.75, p.3056–3065, 1992.
- GONÇALVES, B.L.; GONÇALVES, J.L.; ROSIM, R.E. et al. Effects of different sources of *Saccharomyces cerevisiae* biomass on milk production, composition, and aflatoxin M1 excretion in milk from dairy cows fed aflatoxin B1. **Journal of Dairy Science**. v.100, p.5701-5708, ISSN 0022-0302, <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12215>. 2017
- GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. ePub rev., atual. e ampl. Porto Alegre: [s.n.], 2022. ISBN 978-65-00-43160-5. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10183/237269>. Acesso em: 22/12/2022.
- HALFEN, J.; CARPINELLI, N.; DEL PINO, F.A.B. et al. Effects of yeast culture supplementation on lactation performance and rumen fermentation profile and microbial abundance in mid-lactation Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**. doi: 10.3168/jds.2020-19996, v.104, n.11, p.11580-11592, 2021.
- HARRISON, G.A.; HEMKEN, R.W.; DAWSON, K.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.
- HRISTOV, A.N., VARGA, G., CASSIDY, T., et al. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on ruminal fermentation and nutrient utilization in dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v.93, p.682–692. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2379>, 2010.

- IIMURA K. Fatty acids associated with the cell wall in film strains of *Saccharomyces*. **Agricultural Biology Chemistry**. National research institute of brewing, kita-ku, Tokio. N.45, p.1113-1119. 1980.
- KNOLLINGER, S.E.; POCZYNEK, M.; MILLER, B. et al. Effects of Autolyzed Yeast Supplementation in a High-Starch Diet on Rumen Health, Apparent Digestibility, and Production Variables of Lactating Holstein Cows. **Animals**. v.12, p. 2445-2462. <https://doi.org/10.3390/ani12182445>, 2022.
- KNOOR, D.; SHETTY K.J.; HOOD L.F.; KINSELLA J.E. An enzymatic method for yeast autolysis. **Journal of Food Science**, v.44, n.5, p.1362-1365, 1979.
- KOLLAR, R.; ŠTURDÍK, E.; FARKAŠ, V. Induction and acceleration of yeast lysis by addition of fresh yeast autolysate. **Biotechnology Letters**, v. 13, n.8, p.543-546, 1991.
- LEHLOENYA, K.V.; STEIN, D.R.; ALLEN, D.T. et al. J. Effects of feeding yeast and propionibacteria to dairy cows on milk yield and components, and reproduction. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. v.92, p.190–202, 2008.
- LONGUSKI, R.A.; YING, Y.; ALLEN, M.S.. Yeast culture supplementation prevented milk fat depression by a short-term dietary challenge with fermentable starch. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.160 – 167, 2009.
- MELO L. de; OLIVEIRA, P.E.P. de; PLODOVISKI, D.C. et al. Suplementação de cultura de leveduras em associação com complexo enzimático na dieta de novilhos confinados. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 24, 2023. Disponível em: <https://revistas.ufg.br/vet/article/view/74470>. Acesso em: 22 abr. 2023.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. Seventh revised edition, Washington D.C.: National Academy Press, 381p. 2001
- PONTAROLO, G.B.; NEUMANN, M.; CRISTO, F.B. et al. Efeitos da inclusão de leveduras autolisadas na terminação de novilhos confinados. **Semina: Ciências Agrárias**, [S. l.], v. 42, n. 4, p. 2471–2488, 2021. DOI: 10.5433/1679-0359.2021v42n4p2471. Disponível em: <https://ojs.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/41012>. Acesso em: 22 abr. 2023.
- POPPY, G.D.; RABIEE, A.R.; LEAN, I.J. et al. A meta-analysis of the effects of feeding yeast culture produced by anaerobic fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* on milk production of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**. doi: 10.3168/jds.2012-5577. Oct;95(10):6027-41, 2012.
- PROUST, L.A.; SOURABIÉ, M.; PEDERSEN, I. et al. Insights into the complexity of yeast extract peptides and their utilization of *Streptococcus thermophilus*. **Frontiers in Microbiology**. v.10, p.906, 2019.
- PUTNAM, D.E.; SCHWAB, C.G.; SOCHA, M.T. et al. Effect of yeast culture in the diets of early lactation dairy cows on ruminal fermentation and passage of nitrogen fractions and amino acids to the small intestine. **Journal of Dairy Science**. v.80, p.374–384, 1997.
- RAMSING, E.M.; DAVIDSON, J.A.; FRENCH, P.D. et al. Effects of yeast culture on peripartum intake and milk production of primiparous and multiparous Holstein cows. **Professional Animal Scientist**. v.25, p.487–495, 2009.
- REED. G.; NAGODAWITHANA, T.W. **Savory Flavors**. New York: Estiekay Associates, 1995.

- RÉVILLION, J.P.P; PIBERNAT, C.C. Utilização de extratos de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* na elaboração de vinhos espumantes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.16, n.3, p. 196-205, 1996.
- ROP, O.; MLCEK, J.; JURIKOVA, T. Beta-glucans in higher fungi and their health effects. **Nutrition Reviews**. v.67, p.624–631, 2009.
- SCHINGOETHE, D.J.; LINKE, K.N.; KALSCHEUR, K.F. et al. Feed efficiency of mid-lactation dairy cows fed yeast culture during summer. **Journal of Dairy Science**. v.87, p.4178–4181, 2004.
- SHURSON G.C. Yeast and yeast derivatives in feed additives and ingredients: sources, characteristics, animal responses, and quantification methods. **Animal Feed Science Technology**. v.235, p.60-76, 2018.
- SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of animal science**, v. 70, n. 11, p. 3562-3577, 1992.
- SPRING, P.; WENK, C.; CONNOLLY, A. et al. A review of 733 published trials on Bio-Mos®, a mannan oligosaccharide, and Actigen®, a second-generation mannose rich fraction, on farm and companion animals. **Journal of Applied Animal Research**. v.3, p.1–11, 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.3583–3597. [https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2). 1991
- VETVICKA, V.L.; VANNUCCI, S.P. The effects of β -glucan on pig growth and immunity. **Open Biochemistry Journal**. v.8, p.89–93, 2014.
- WALLACE, R.J. Ruminal microbiology, biotechnology, and ruminant nutrition: progress and problems. **Journal of Animal Science**. v.72, p.2992–3003. 1994.
- WEISS, W.P. Energy prediction equations for ruminant feeds, in: **Cornell 582 Nutrition Conference for Feed Manufacturers**. Ithaca, p.176–185, 1999.
- WILDMAN, O.E.E.; JONES, G.M.; WAGNER, P.E. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. **Journal of Dairy Science**, v.65, n.3, p.495-501, 1982.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A suplementação com produtos de fermentação de leveduras na forma de aditivo zootécnico é utilizada há décadas, e sua eficácia pode ser comprovada por diversos pesquisadores pelo mundo. É fato que esses produtos aumentam a produção de leite e sólidos, respaldado por melhores condições ruminais aos microrganismos, os quais apresentarão maior população no trato digestivo dos animais, além de promoverem maior degradabilidade ruminal e digestibilidade das frações fibrosas da dieta, assim como maior produção total de AGV e melhor proporção entre eles.

Corroborando a literatura, neste estudo foi possível verificar maior produtividade leiteira com mais sólidos como gordura e proteína para os tratamentos nos quais houve a suplementação com produtos de fermentação de levedura. Contudo não ficou evidente quais mecanismos fisiológicos promoveram esses aumentos em produção. Outras avaliações como utilização de níveis dietéticos mais desafiadores, como maior teor de CNF e menor teor de FDN e a quantificação da população microbiana ruminal (população total e gêneros de microrganismos fibrolíticos e consumidores de lactato) se fazem necessárias em busca de resultados mais esclarecedores e consistentes.