

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia



Dissertação

**Efeitos da utilização de *Saccharomyces cerevisiae*
sobre a modulação ruminal e saúde de ovinos
confinados submetidos a mudanças de dieta**

Larissa Alt Tavares

Pelotas, 2020

Larissa Alt Tavares

**Efeitos da utilização de *Saccharomyces cerevisiae* sobre a modulação ruminal
e saúde de ovinos confinados submetidos a mudanças de dieta**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (Área do Conhecimento: Reprodução Animal e Transtornos Metabólicos).

Orientador: Marcio Nunes Corrêa

Coorientador(es): Cássio Cassal Brauner

Eduardo Schmitt

Viviane Rohrig Rabassa

Francisco Augusto Burkert Del Pino

Pelotas, 2020

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

T231e Tavares, Larissa Alt

Efeitos da utilização de *Saccharomyces cerevisiae* sobre a modulação ruminal e saúde de ovinos confinados submetidos a mudanças de dieta / Larissa Alt Tavares ; Marcio Nunes Corrêa, orientador ; Cássio Cassal Brauner, coorientador. — Pelotas, 2020.

58 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, 2020.

1. Cultura de levedura . 2. Levedura hidrolisada . 3. Ambiente ruminal . 4. Performance. I. Corrêa, Marcio Nunes, orient. II. Brauner, Cássio Cassal, coorient. III. Título.

CDD : „

Elaborada por Ubirajara Buddin Cruz CRB: 10/901

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Giovani Fiorentini (UFPel, Departamento de Zootecnia)

Prof. Dr^a. Elizabeth Schwegler (IFC, Faculdade de Veterinária)

Dr. Antônio Amaral Barbosa (UFPel, Faculdade de Veterinária)

Prof. Dr. Marcio Nunes Corrêa (Orientador, UFPel, Faculdade de Veterinária)

Agradecimentos

A Deus, sempre e antes de tudo, pela vida, amparo e força em todos os momentos, me guiando e mostrando o quanto sou capaz.

Aos meus pais, Jaqueline e Rogério, que possibilitaram a realização deste mestrado, me apoiando incondicionalmente incentivando a sempre ir mais longe: devo tudo a vocês. À toda minha família, fonte de amor, carinho e compreensão, em especial a minha avó Neda (*in memoriam*), pelo amor por mim dedicado durante tantos anos.

À Universidade Federal de Pelotas e, especialmente, à família NUPEEC, pelos anos de troca de conhecimento e aprendizado, em especial aos professores Marcio Nunes Corrêa e Cássio Cassal Brauner, pelas oportunidades de crescimento, confiança, exemplo e auxílio para que este experimento se tornasse possível; e ao Dr. Antônio Amaral Barbosa, pelas considerações e ajuda durante a etapa final deste trabalho.

Ao meu namorado, Rodrigo, pela compreensão, carinho e cuidado, por ser meu parceiro e companheiro de vida, dividindo momentos de alegrias e angústias: és o meu Porto Seguro.

Aos meus amigos, com toda a verdade da palavra, pelo amor e amizade. Não me atrevo a citar nomes, pois fui abençoada por ter tantos anjos em minha vida.

Às minhas amigas Andreza, Maria Carolina, Adriane, Bruna e Guta, que de companheiras de trabalho se tornaram meu alicerce, tornando essa jornada mais leve e feliz.

Ao grupo Mariá, por serem o meu elo com Deus.

Aos animais, àqueles que me motivam e inspiram, o meu mais puro agradecimento; por demonstrarem, dia após dia, que estou no caminho certo. Por eles eu cheguei até aqui e por eles sigo em frente.

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

A todos vocês, obrigada, de coração.

Resumo

TAVARES, Larissa Alt. **Efeitos da utilização de *Saccharomyces cerevisiae* sobre a modulação ruminal e saúde de ovinos confinados submetidos a mudanças de dieta.** 2020. 58f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

A intensificação no modelo produtivo de ruminantes está intimamente ligada a um incremento na utilização de alimentos com alto teor de energia. Entretanto, o uso dessa ferramenta desencadeia alterações importantes no ambiente ruminal, tornando o animal suscetível a desordens metabólicas. Nesse sentido, a utilização de aditivos na dieta de ruminantes é uma estratégia alimentar eficaz, uma vez que atuam diretamente na modulação ruminal com otimização do desempenho. O objetivo do estudo foi avaliar os efeitos da utilização de produtos à base de *Saccharomyces cerevisiae* durante mudanças na concentração de amido da dieta sobre a manutenção do pH ruminal, desempenho e metabolismo de ovinos confinados. Para tanto, foram utilizadas 20 fêmeas ovinas adultas com peso médio de $44,7 \pm 6,97$, as quais foram mantidas em sistema confinado e divididas em três grupos: Controle (sem suplementação; n=6), Cultron X (cultura de levedura; n=7) e Cultron Pro (levedura hidrolisada; n=7), administrados na dose de 5g/ovelha/dia. A dieta fornecida era composta por silagem de milho e farelo de trigo, calculada a fim de manter as exigências de 3% do peso vivo. O experimento teve duração de 20 dias divididos em quatro períodos (1, 2, 3 e 4), alternando entre 40 e 60% de concentrado a cada troca de dieta. O primeiro período foi caracterizado por uma dieta altamente energética (60% concentrado), seguido pelo período 2 com uma dieta com menor teor de energia (40% concentrado) e os dois períodos subsequentes seguindo o mesmo formato. Foram realizadas coletas de sangue e líquido ruminal ao final de cada período, bem como mensuração do peso corporal a fim de determinar o ganho médio diário dos animais e avaliação da ingestão de matéria seca diariamente. As análises sanguíneas incluíram hemograma e parâmetros bioquímicos como glicose, ureia, PPT, enzimas hepáticas, proteínas de fase aguda e minerais. Houve aumento no GMD no grupo Cultron X em relação ao controle, exceto no segundo período. Apesar do pH ruminal não diferir entre grupos, a motilidade de protozoários foi melhor nos animais suplementados. O grupo Cultron Pro apresentou aumento de PPT nos períodos 3 e 4 e AST nos períodos 2 e 3 em comparação ao grupo controle. Não houve diferença nos demais metabólitos. A suplementação com levedura apresentou-se como uma potencial ferramenta em momentos de desafio alimentar, sendo a cultura de levedura mais eficaz na melhora da performance de ovinos confinados.

Palavras-chave: cultura de levedura, levedura hidrolisada, ambiente ruminal, performance.

Abstract

TAVARES, Larissa Alt. **Effects of *Saccharomyces cerevisiae* use on ruminal modulation and health of feedlot sheep undergoing dietary changes**. 2020. 58f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The intensification in the ruminant production model is closely linked to an increase in the use of high energy foods. However, the use of this tool triggers important changes in the rumen environment, making the animal susceptible to metabolic disorders. In this sense, the use of additives in the ruminant diet is an effective food strategy, as they act directly on ruminal modulation with performance optimization. The aim of this study was to evaluate the effects of using *Saccharomyces cerevisiae*-based products during changes in dietary starch concentration on ruminal pH maintenance, performance and metabolism of confined sheep. Twenty adult female sheep weighing $44,7 \pm 6,97$ were kept in a confined system and divided into three groups: Control (without supplementation; n=6), Cultron X (yeast culture; n=7) and Cultron Pro (hydrolyzed yeast; n=7) administered at a dose of 5g/sheep/day. The diet provided consisted of corn silage and wheat bran, calculated to maintain the requirements of 3% of live weight. The experiment lasted 20 days divided into four periods (1, 2, 3 and 4), alternating between 40 and 60% concentrate with each diet change. The first period was characterized by a highly energetic diet (60% concentrate), followed by second period with a lower energy diet (40% concentrate) and the two subsequent periods following the same format. Blood and ruminal fluid collections were performed at the end of each period, as well as body weight measurements to determine the animals' daily average gain and daily dry matter intake. Blood tests included hematological analysis and biochemical parameters such as glucose, urea, PPT, liver enzymes, acute phase proteins and minerals. There was an increase in GMD in the Cultron X group compared to control, except in the second period. Although ruminal pH did not differ between groups, protozoan motility was better in supplemented animals. The Cultron Pro group showed an increase in PPT in periods 3 and 4 and AST in periods 2 and 3 compared to the control group. There was no difference in the other metabolites. Yeast supplementation was a potential tool in times of food challenge, being the most effective yeast culture in improving performance of confined sheep.

Keywords: yeast culture, hydrolyzed yeast, ruminal environment, performance.

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1 INTRODUÇÃO GERAL | 8 |
| 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 10 |
| 3 HIPÓTESE E OBJETIVOS..... | 15 |
| 3.1 Hipótese | 15 |
| 3.2 Objetivo Geral..... | 15 |
| 3.3 Objetivos Específicos..... | 15 |
| 4 CAPÍTULOS..... | 16 |
| 4.1 Artigo 1 – Utilização de produtos à base de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> e seus efeitos sobre o ambiente ruminal e desempenho de ovinos submetidos a trocas bruscas de dieta | 16 |
| 4.1.1 Introdução..... | 18 |
| 4.1.2 Metodologia | 21 |
| 4.1.3 Resultados e discussão | 25 |
| 4.1.4 Conclusão..... | 33 |
| 6 CONCLUSÃO GERAL | 53 |
| 7 REFERÊNCIAS | 54 |
| 8 ANEXOS..... | 58 |

1 INTRODUÇÃO GERAL

A intensificação da produção animal na busca por desempenhos superiores requer um incremento na dieta a fim de satisfazer o requerimento energético desses animais (Giger-Reverdin, 2018). Entretanto, uma alimentação com dietas altamente concentradas favorece o aparecimento de transtornos digestivos importantes associados a alterações no padrão de fermentação ruminal (AlZahal *et al.*, 2014). (Mathieu *et al.*, 1996; AlZahal *et al.*, 2014). Sendo assim, as modificações no ecossistema ruminal afetam diretamente a ingestão de matéria seca e a produtividade desses animais.

Quadros de acidose ruminal são caracterizados por distúrbios fermentativos que surgem em decorrência de uma redução no pH associada à ingestão de carboidratos altamente fermentáveis, os quais favorecem o acúmulo de ácidos graxos voláteis e ácido láctico no ambiente ruminal (Shen *et al.*, 2018). Esse transtorno digestivo ocorre quando a quantidade de ácidos de fermentação excede a capacidade de absorção e tampão no rúmen (Kleen *et al.*, 2003; Stone, 2004), sendo que a diminuição do pH ruminal por longos períodos pode provocar a inibição da ingestão (Owens *et al.*, 1998) e redução na digestão da fibra, alterando o valor energético do alimento.

Mudanças na dieta de ruminantes sem adequada adaptação prévia são o principal fator que determina o grau de alteração da fermentação ruminal e potenciais transtornos digestivos (Van Soest, 1994). Aliado a isso, a crescente preocupação em produzir animais de forma menos desafiadora despertou o interesse na utilização de estratégias nutricionais como os aditivos microbianos, principalmente aqueles que atuam controlando ou modificando o padrão de fermentação no rúmen (Enjalbert *et al.*, 1999), com efeitos positivos na eficiência e captação de energia a nível ruminal (Yuan *et al.*, 2015).

Dentre os aditivos, destacam-se os produtos derivados da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, os quais são adicionados à dieta com o intuito de melhorar a fermentação ruminal e conseqüentemente a eficiência digestiva e o comportamento ingestivo, atuando como promotores de saúde (Desnoyers *et al.*, 2009; Yuan *et al.*, 2015). Os mecanismos propostos para explicar o modo de ação

destes aditivos no rúmen são focados principalmente na otimização da digestão da fibra (Chaucheyras-Durand, Walker & Bach, 2008), sendo associados à redução de distúrbios digestivos em animais sob manejo intensivo (Wallace & Newbold, 1992).

Estudos recentes com novilhas de corte encontraram resultados positivos com a suplementação de *Saccharomyces cerevisiae* em uma dieta com elevada concentração de carboidratos na elevação do pH ruminal e redução no tempo em que os animais permaneceram com valores de pH abaixo do fisiológico, com consequências diretas no aumento da digestibilidade da fibra, sugerindo que os efeitos deletérios de dietas altamente energéticas podem ser atenuados pela suplementação deste aditivo (Shen *et al.*, 2018). Bach, Iglesias & Devant, 2007 também propuseram que vacas recebendo uma alimentação rica em energia apresentaram aumento no pH ruminal quando suplementadas com a levedura.

Tais benefícios foram atribuídos a mudanças no comportamento alimentar e aumento na frequência de ingestão, o que culminaria com uma redução o acúmulo de ácido no rúmen. Todavia, as alterações no padrão de fermentação ruminal são atribuídas como um dos fatores responsáveis pelo desempenho aprimorado em ruminantes, devido, principalmente a otimização na degradação de fibras da dieta (Chaucheyras-Durand, Walker & Bach, 2008). Tal fato pode ser explicado pela influência da levedura nas populações microbianas, favorecendo o crescimento de bactérias fibrolíticas e aquelas utilizadoras de lactato (Callaway & Martin, 1997).

Vale ressaltar que os benefícios da suplementação no pH ruminal são exacerbados pelo aumento na ingestão de matéria seca ou por uma alimentação rica em concentrado (Desnoyers *et al.*, 2009), demonstrando que o grau de fermentação da dieta compõe um dos fatores que influenciam diretamente na resposta à suplementação (Poppy *et al.*, 2012). Ademais, a mudança nos componentes da dieta e consequentemente no padrão de fermentação ruminal é uma prática comumente observada, principalmente em sistemas intensivos, demonstrando a importância de estudos que permitam elucidar os mecanismos pelos quais a levedura atua no ambiente ruminal e promove a melhora na eficiência digestiva e na performance desses ruminantes.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As leveduras são fungos unicelulares utilizados há alguns anos na fermentação de açúcar em etanol (Entian & Barnett, 1992; Robinson & Erasmus et al., 2009; Morais & Berchielli, 2011), sendo seu primeiro uso na nutrição de ruminantes em 1924 como fonte de proteína da dieta (Eckles *et al.*, 1924). A aplicação de levedura aumentou durante a década de 1950, quando Beeson & Perry, 1952 identificaram um acréscimo no ganho diário de novilhos, seguidos de Renz, 1954 que relatou aumento na produção de leite com adição de levedura à dieta. De acordo com a *Food and Drug Administration* (FDA; 2014), as leveduras estão incluídas no grupo dos *Direct Fed Microbial* (DFM), classificados como produtos que contêm microrganismos viáveis em sua composição, sejam bactérias, fungos ou leveduras, os quais atualmente substituem a nomenclatura dos probióticos.

Segundo Chaucheyras-Durand, Walker & Bach, 2008, a utilização de leveduras vivas, especialmente do gênero *Saccharomyces cerevisiae*, é amplamente difundida em estudos *in vitro* e *in vivo*, buscando compreender os mecanismos de ação destes microorganismos no ambiente ruminal e as consequências no metabolismo de ruminantes (de Ondarza *et al.*, 2010). Apesar de alguns efeitos do uso de aditivos à base de levedura serem bem caracterizados, os mecanismos exatos pelos quais a sua inclusão na dieta de ruminantes melhora o desempenho ainda não são totalmente elucidados. Três efeitos principais são citados como responsáveis pela modulação ruminal: estabelecimento da microbiota através de uma melhor maturação ruminal, interação no metabolismo do lactato com estabilização do pH e aumento na degradação da fibra da dieta (Chaucheyras-Durand, Walker & Bach, 2008).

Os aditivos à base da levedura *Saccharomyces cerevisiae* atualmente disponíveis englobam três formulações distintas: compostos por células vivas, os quais somente desempenham sua função no organismo se estiverem em sua forma ativa (viáveis); leveduras hidrolisadas ou ainda aqueles que contêm células vivas e mortas na presença de um meio de cultivo, o qual chamamos de cultura de levedura por ser rico em carboidratos e fatores de crescimento, sendo o mais utilizado na nutrição de ruminantes (Nocek, Holt & Oppy, 2011).

As leveduras possuem em sua parede celular mananos e glucanos, compostos responsáveis pela ação imunomodulatória destes microorganismos. Os

mananoligossacarídeos (MOS) podem atuar como ligantes de alta afinidade, competindo pelo sítio de ligação de bactérias gram negativas e consequentemente inibir a colonização do trato gastrointestinal (Okef, 1977; Nocek, Holt & Oppy, 2011). Tal fato pode desencadear respostas antigênicas significativas no hospedeiro através da apresentação de antígenos atenuados às células imunes e desenvolvendo a melhora da imunidade humoral (Ferket, 2003).

Outro componente que tem demonstrado efeito imunomodulador são os β -glucanos, os quais estão relacionados à ativação de células imunes como macrófagos, neutrófilos, células natural killers e linfócitos B e T, aumentando a taxa de fagocitose e a resposta a patógenos (Jensen, Patterson & Yoon, 2008; Boudergue *et al.*, 2009).

Uma série de efeitos benéficos são atribuídos às culturas de leveduras que não contém microorganismos viáveis, uma vez que trata-se de um produto de fermentação natural composto por vitaminas do complexo B, aminoácidos, ácidos orgânicos e demais produtos finais de fermentação que atuam como fatores de crescimento de bactérias, atuando diretamente na melhor digestão da fibra e melhor aproveitamento de nutrientes (Miller-Webster *et al.*, 2002; Moallem *et al.*, 2009; Robinson & Erasmus, 2009; Nocek, Holt & Oppy, 2011). De forma semelhante, produtos que contém unicamente leveduras hidrolisadas são uma fonte de substratos provenientes da parede celular, os quais atuam diretamente na imunidade do hospedeiro, além de fornecer nutrientes e favorecer a fermentação ruminal (Oeztuerk, 2009; Opsi *et al.*, 2012).

Estudos relatam que a proporção de bactérias ruminais e eficiência alimentar estão altamente correlacionados, demonstrando a importância de uma fermentação adequada na regulação dos parâmetros fisiológicos do hospedeiro (Jami, White & Mizrahi, 2014). Nesse contexto, a adição de leveduras à dieta está associada ao aumento no número de bactérias fibrolíticas (Callaway & Martin, 1997; Mosoni *et al.*, 2007; Jiang *et al.*, 2017) e aquelas que utilizam lactato (Rossi *et al.*, 2004), o que explica o aumento na degradação da fibra (Ferraretto, Shaver & Bertics, 2012). Tal fato se confirma pelo aumento no número das principais bactérias celulolíticas, como *Fibrobacter Succinogenes* e *Ruminococcus spp.* com levedura viva (Callaway & Martin, 1997; Pinloche *et al.*, 2013; Jiang *et al.*, 2017) e hidrolisada (Vyas *et al.*, 2014). Ainda, autores sugerem que os efeitos positivos da levedura no organismo podem ser

acentuados quando estão na presença de um ambiente ácido em decorrência de dietas mais concentradas (Desnoyers *et al.*, 2009). Nessa mesma linha, Bach, Iglesias & Devant, 2007 propuseram que a suplementação com levedura pode ser mais eficaz na modulação do pH ruminal quando os animais são submetidos a uma dieta mais acidogênica.

Pinloche *et al.* (2013) observaram efeitos que ocorrem no ecossistema ruminal com a utilização de leveduras vivas que poderiam explicar o crescimento de populações microbianas celulolíticas e metabolizadoras de lactato, os quais podem ser atribuídos ao aumento na concentração de AGV, elevação do pH ruminal e redução nos níveis de lactato.

Chaucheyras-Durand, Masségla & Fonty, 2005 comentam que houve diminuição aparente o número de células *in vitro* de *Streptococcus bovis*, bactéria produtora de ácido láctico, quando na presença de levedura viva, possivelmente devido à competição pela captação de glicose em condições anaeróbicas. Ainda, organismos que utilizam lactato, como *Megasphaera* e *Selenomonas*, foram estimulados por esta cepa de levedura viva (Chaucheyras *et al.*, 1996). É provável que os efeitos positivos na manutenção do pH ruminal ocorram pela inibição do crescimento de bactérias produtoras de lactato e estimulação do crescimento de bactérias metabolizadoras (Lynch & Martin, 2002), reduzindo o acúmulo de lactato no ecossistema ruminal.

Sabe-se que o consumo de carboidratos prontamente fermentáveis desencadeia acentuada diminuição no pH ruminal pós-prandial (Nocek, 1997), em decorrência de um acúmulo na concentração de ácidos graxos voláteis (Ferraretto *et al.*, 2012). Com esta redução a nível ruminal, espécies bacterianas produtoras de lactato podem superar espécies que utilizam este ácido, que, por apresentar maior potencial acidificante em relação aos demais AGV, desempenha um papel importante na queda do pH (Chaucheyras-Durand, Walker & Bach, 2008). A adição de cultura de leveduras à dieta pode aumentar a concentração de AGV totais e a proporção de propionato (Harrison *et al.*, 1988; Mutsvangwa *et al.*, 1992) e diminuir a concentração de lactato no líquido ruminal (Erasmus, Botha & Kistner, 1992), levando a uma redução nas variações pós-prandiais de pH ruminal (Mathieu *et al.*, 1996). Ainda, a suplementação com levedura viva diminui o tempo em que o pH ruminal permanece abaixo dos limites críticos entre 5,6 e 6,0 (Bach, Iglesias & Devant, 2007). A redução nas concentrações de lactato no ambiente ruminal quando na presença de cepas de

levedura comprova a interação entre células de levedura e bactérias que metabolizam lactato (Lila *et al.*, 2004; Lynch & Martin, 2002)

Os microrganismos do rúmen são sensíveis à presença de oxigênio e considerados estritamente anaeróbios, entretanto, até 16 litros de oxigênio podem chegar ao rúmen diariamente durante a ingestão de alimentos, água, ruminação ou salivacão (Newbold *et al.*, 1995). Essa sensibilidade das bactérias à presença deste gás se dá em função da formação de espécies reativas de oxigênio e à incapacidade das bactérias anaeróbicas em neutralizar os peróxidos. Desse modo, um dos efeitos propostos pela levedura no rúmen é a utilização de traços de oxigênio dissolvido no conteúdo ruminal, os quais estão diretamente envolvidos na digestão da fibra, tornando o ambiente anaeróbico ideal para as bactérias (Newbold, Wallace & McIntosh, 1996; AlZahal *et al.*, 2014). Além de interferir na sobrevivência destas espécies bacterianas, o oxigênio é prejudicial à aderência das bactérias ao substrato (Rogers *et al.*, 1997), reduzindo significativamente a digestibilidade. Assim, através da remoção de quantidades vestigiais de oxigênio ruminal, a levedura viva diminui o potencial redox deste conteúdo e consequentemente o crescimento da microbiota anaeróbica e a maior produção de AGV no rúmen (Fonty & Chaucheyras-Durand, 2006; Jouany, 2006; Marden *et al.*, 2008).

Brossard *et al.*, 2006 constaram efeitos benéficos de uma cepa de *S. cerevisiae* na estabilização do pH ruminal de ovinos através da estimulação de uma população de protozoários ciliados responsáveis por englobar grânulos de amido e competir efetivamente com bactérias amilolíticas por substrato (Mendoza, Britton & Stock, 1993; Williams & Coleman, 1997). Esses microrganismos têm um efeito estabilizador no rúmen por retardar a fermentação (Williams & Coleman, 1997), uma vez que o amido é fermentado mais lentamente quando comparado a digestão bacteriana, produzindo AGV ao invés de lactato. Além disso, essa classe de protozoários é capaz de absorver parte do lactato presente no rúmen, impedindo seu acúmulo. Autores observaram que uma cepa fúngica presente no rúmen foi estimulada *in vitro* por *S. cerevisiae* em razão do seu potencial efeito sobre o crescimento e atividade desses microrganismos (Chaucheyras *et al.*, 1995), sugerindo que as leveduras poderiam aumentar a colonização fúngica na parede celular das plantas, facilitando a adesão das bactérias ao substrato (Fonty & Joblin, 1991).

À medida que a população bacteriana aumenta, uma maior demanda de nitrogênio também é requerida. Sendo assim, com uma maior disponibilidade de nitrogênio no conteúdo ruminal é provável que a proporção de esqueletos carbônicos disponíveis seja desviada para a síntese de proteínas microbianas ao invés de sofrer fermentação e produzir AGV como produtos finais (Chaucheyras-Durand, Walker & Bach, 2008).

Como resposta aos efeitos positivos diretos na fermentação ruminal, a suplementação com levedura pode aumentar de 2 a 5% na ingestão de matéria seca, o que é atribuído ao aumento na digestibilidade (Dann *et al.*, 2000; Miller-Webster *et al.*, 2002; Ramsing *et al.*, 2009). Nessa linha, Desnoyers *et al.*, 2009 relataram que a suplementação com leveduras vivas aumentou a ingestão de matéria seca em 0,44/Kg de peso corporal, porém sem efeito quando foram adicionadas culturas de levedura na dieta (Poppy *et al.*, 2012). Todavia, de Ondarza *et al.*, 2016 observaram aumento na produção de leite em vacas leiteiras sem efeito na ingestão de matéria seca, o que remete a uma maior eficiência alimentar nesses animais. Em bovinos de corte e ruminantes jovens, os parâmetros de crescimento foram melhorados pela suplementação diária de leveduras vivas em vários estudos (Lesmeister, Heinrichs & Gabler, 2004; Galvão *et al.*, 2005).

Apesar de alguns mecanismos pelos quais a adição de leveduras à dieta influencia na modulação do ambiente ruminal estarem bem caracterizados, o efeito direto sobre o desempenho e performance de ruminantes, particularmente em momentos de desafio alimentar, ainda não são totalmente compreendidos. Dessa forma, estudos que demonstrem a associação do uso de leveduras vivas e hidrolisadas e seus efeitos no metabolismo desses animais são essenciais, a fim de definir ferramentas que otimizem os índices produtivos e promovam a saúde dos animais.

3 HIPÓTESE E OBJETIVOS

3.1 Hipótese

Animais suplementados com produtos à base de levedura apresentam estabilização do pH e consequente modulação do ambiente ruminal em momentos de desafio alimentar, com reflexos positivos no desempenho e metabolismo.

3.2 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos da utilização de dois produtos à base de *Saccharomyces cerevisiae* durante períodos de mudanças bruscas na concentração de amido da dieta sobre a manutenção do pH ruminal, desempenho e metabolismo de ovinos confinados.

3.3 Objetivos Específicos

- Avaliar o efeito da levedura *Saccharomyces cerevisiae* na manutenção do pH ruminal em situações de trocas bruscas de dieta;
- Avaliar os parâmetros ruminais (aspectos físicos, químicos e biológicos) e índices zootécnicos de ovinos que passam por trocas bruscas de dieta recebendo ou não aditivos de *Saccharomyces cerevisiae*;
- Investigar possíveis alterações nos parâmetros bioquímicos relacionados com o sistema imune, hepático e energético (hemograma completo, ureia, albumina, proteínas totais, gama glutamil transferase, aspartato aminotransferase, glicose, potássio, cálcio, magnésio e sódio) em animais suplementados ou não com aditivos à base de *Saccharomyces cerevisiae* que passaram por trocas bruscas de dieta.

4 CAPÍTULOS

4.1 Artigo 1 – Utilização de produtos à base de *Saccharomyces cerevisiae* e seus efeitos sobre o ambiente ruminal e desempenho de ovinos submetidos a mudanças de dieta

Artigo formatado e submetido à revista *Ciência Rural*

Larissa Alt Tavares^I; Maria Carolina Narval de Araújo^{II}; Antônio Amaral Barbosa^{II}; Cássio Cassal Brauner^{III}; Marcio Nunes Corrêa^{IV}; Eduardo Schmitt^{IV}; Viviane Rohrig Rabassa^{IV}; Francisco Augusto Burkert Del Pino^V

RESUMO

A utilização de aditivos naturais na dieta de ruminantes é uma prática que otimiza o desempenho, controlando ou modificando o padrão de fermentação ruminal. O objetivo do estudo buscou avaliar os efeitos da utilização de produtos à base de *Saccharomyces cerevisiae* durante mudanças na concentração de amido da dieta sobre a manutenção do pH ruminal, desempenho e metabolismo de ovinos confinados. Dessa forma, 20 fêmeas ovinas adultas mestiças das raças Texel e Corriedale (44,7±6,97 PV) foram divididas em três grupos: Controle

^I Programa de Pós-graduação em Biotecnologia - Universidade Federal de Pelotas (UFPel), 96160-000, Pelotas-RS, Brasil. E-mail: larissatav.21@gmail.com. Autor para correspondência.

^{II} Programa de Pós-graduação em Veterinária - Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas-RS, Brasil

^{III} Departamento de Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas-RS, Brasil

^{IV} Departamento de Clínicas Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas-RS, Brasil

^V Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas-RS, Brasil

(n=6), Cultron X (cultura de levedura; n=7) e Cultron Pro (levedura hidrolisada; n=7), administrados na dose de 5g/ovelha/dia (10×10^{10} ufc/g de MS). O experimento teve duração de 20 dias divididos em quatro períodos, alternando entre 40 e 60% de concentrado. Foram realizadas coletas de sangue e líquido ruminal ao final de cada período e mensuração da ingestão de matéria seca diariamente, a fim de determinar o ganho médio diário (GMD).

As análises sanguíneas incluíram hemograma e parâmetros bioquímicos como glicose, ureia, proteínas plasmáticas totais (PPT), enzimas hepáticas, proteínas de fase aguda e minerais. Houve tendência de aumento no GMD no grupo Cultron X em relação ao controle no período 3. Apesar do pH ruminal não diferir entre grupos, a motilidade de protozoários foi melhor nos animais suplementados com levedura hidrolisada. O grupo Cultron Pro apresentou aumento de PPT nos períodos 3 e 4 e aumento nos níveis da enzima hepática AST nos períodos 2 e 3 em comparação ao grupo controle. Não houve diferença nos demais metabólitos. A suplementação com levedura apresentou-se como potencial ferramenta em momentos de desafio alimentar, sendo a cultura de levedura mais eficaz na melhora da performance de ovinos confinados.

Palavras-chave: cultura de levedura, levedura hidrolisada, modulação ruminal, performance.

ABSTRACT

The use of natural additives in the ruminant diet is a practice that optimizes performance by controlling or modifying the rumen fermentation pattern. The aim of this study was to evaluate the effects of using *Saccharomyces cerevisiae* products during abrupt changes in dietary starch concentration on ruminal pH maintenance, performance and metabolism of confined sheep. Twenty adult female sheep crossbreeds of the Texel and Corriedale breeds ($44,7 \pm 6,97$ BW) were used and divided into three groups: Control (n=6), Cultron X (yeast culture; n=7) and Cultron Pro (hydrolysed yeast; n=7), administered at a dose of 5g/sheep/day (10×10^{10} ufc/g on DM

basis). The experiment lasted 20 days divided into four periods, alternating between 40 and 60% concentrate. Blood and ruminal fluid were collected at the end of each period and daily dry matter intake was measured to determine the average daily gain (ADG). Blood tests included blood count and biochemical parameters such as glucose, urea, total proteins (TP), liver enzymes, acute phase proteins and minerals. There was an upward trend in ADG in the Cultron X group compared to control in period 3. Although ruminal pH did not differ between groups, protozoan motility was better in supplemented animals. The Cultron Pro group showed an increase in TP in periods 3 and 4 and AST in periods 2 and 3 compared to the control group. There was no difference in the other metabolites. Yeast supplementation is a potential tool in times of food challenge, being the most effective yeast culture in improving performance of confined sheep.

Keywords: yeast culture, hydrolyzed yeast, ruminal modulation, animal performance.

1. INTRODUÇÃO

A intensificação no modelo produtivo buscando maximizar o desempenho de ruminantes está intimamente ligada ao incremento na utilização de alimentos com alto teor de energia na dieta desses animais (ALVES et al., 2003; YANG et al., 2012). Entretanto, o uso desta ferramenta pode desenvolver alterações no ambiente ruminal, tornando o animal mais suscetível ao desenvolvimento de desordens metabólicas (RUSSEL & RYCHLIK, 2001; MCCANN et al., 2016).

Devido à importância da população microbiana na eficiência alimentar de ruminantes, a utilização de aditivos naturais na dieta é uma prática que otimiza o desempenho dos animais, principalmente aqueles que atuam no rúmen, controlando ou modificando o padrão de

314 fermentação ruminal (WALLACE & NEWBOLD, 1993; ENJALBERT et al., 1999). Dentre
315 os aditivos utilizados, a suplementação com cepas de *Saccharomyces cerevisiae* tem se
316 destacado na modulação do ambiente ruminal e melhora na saúde e desempenho dos animais
317 (OZTURK et al., 2015; CHAUCHEYRAS-DURAND et al., 2008).

318 Existem apresentações distintas de levedura para uso na nutrição de ruminantes e, dentre
319 elas, aditivos em sua forma hidrolisada. Este é composto por β -glucanos e
320 mananoligossacarídeos (MOS), componentes principais da parede celular das células de
321 levedura (NOCEK et al., 2011), os quais atuam como imunomoduladores (FRANKLIN et al.,
322 2005). Os glucanos são estimuladores de macrófagos, aumentando a resposta a patógenos
323 (MORAN et al., 2004), enquanto os MOS atuam como ligantes de alta afinidade de bactérias
324 patogênicas que afetam o trato gastrintestinal de ruminantes, inibindo a colonização local
325 (BOUDERGUE et al., 2009; OFEK et al., 1977). As leveduras ativas, por sua vez, são
326 caracterizadas por possuir uma alta concentração de células viáveis (acima de 10 bilhões ufc/g),
327 enquanto que a cultura de levedura consiste em um produto de fermentação contendo parede
328 celular, células vivas, dentre uma série de compostos, como vitaminas e aminoácidos, os quais
329 fornecem um meio de crescimento ideal para as leveduras (NOCEK et al., 2011).

330 Até o presente momento, são poucos os estudos que investigam estratégias de
331 modulação ruminal em momentos de mudanças abruptas na dieta, bem como a utilização da
332 suplementação com a finalidade de reduzir potenciais impactos negativos dessas mudanças.
333 Nesse sentido, a hipótese do trabalho é que animais suplementados com levedura apresentam
334 estabilização do pH e consequente modulação do ambiente ruminal em momentos de trocas de
335 dieta, com reflexos positivos no desempenho e metabolismo. Assim, o objetivo do estudo
336 consiste em avaliar os efeitos da utilização de dois produtos à base de *Saccharomyces cerevisiae*

em períodos de mudança na quantidade de concentrado da dieta sobre a manutenção do pH ruminal, desempenho e metabolismo de ovinos confinados.

2. METODOLOGIA

Animais e grupos experimentais

O experimento foi realizado nas dependências do Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC) da Universidade Federal de Pelotas, localizada no município de Capão do Leão, Rio Grande do Sul, Brasil.

Foram utilizadas 20 fêmeas ovinas mestiças das raças Texel e Corriedale, não lactantes, com idade entre 24 e 36 meses e peso médio de $44,7 \pm 6,97$, mantidas em sistema confinado durante todo o período experimental e alocadas em baias de dois e três animais, sendo três baias por cada tratamento. Os animais foram divididos em três grupos de acordo com o peso corporal: Grupo Controle (sem suplementação; n=6), Grupo Cultron X[®] (Aleris, São Paulo, Brasil), suplementado com produtos de fermentação de *Saccharomyces cerevisiae* contendo a levedura viva em sua formulação (2×10^{10} ufc/g de MS) (n=7) e Grupo Cultron Pro[®] (Aleris, São Paulo, Brasil), suplementado com um produto à base de levedura hidrolisada enzimaticamente (n=7). As ovelhas pertencentes aos grupos tratamento receberam 5g dos produtos diariamente, fornecidos nos comedouros anteriormente ao trato da manhã.

Delineamento experimental e dietas

O período experimental compreendeu um período de 20 dias, caracterizado por mudanças na proporção dos componentes da dieta a cada 5 dias, alternando entre a quantidade de volumoso e concentrado, sem adaptação prévia. O estudo foi dividido em quatro períodos experimentais sem adaptação entre eles, sendo estes: P1, referente a 60% de volumoso; P2, referente a 60% de concentrado; P3, referente a 60% de volumoso e P4, referente a 60% de

concentrado. Os animais dos grupos suplementados passaram por uma adaptação prévia durante 20 dias, ingerindo a dose adequada de cada produto. Os ovinos possuíam comedouros individuais, sendo a dieta total homogeneizada manualmente e ofertada duas vezes ao dia, pela manhã às 08:30h e à tarde às 16:30h, composta por silagem de milho e farelo de trigo com água *ad libitum*. A dieta foi calculada em uma proporção de 3% do peso vivo de MS. A composição nutricional dos ingredientes está descrita na Tabela 1.

Coletas de sangue e análises hematológicas e bioquímicas

As coletas de sangue foram realizadas a cada cinco dias (dias 5, 10, 15 e 20) através de punção da veia jugular em sistema *vacutainer*, anteriormente à oferta do trato da manhã ao final de cada um dos períodos experimentais, totalizando cinco coletas por animal. O sangue foi coletado em três tubos distintos, um contendo EDTA 10% para realização de hemograma completo, um com fluoreto de sódio para análise de glicose sérica e um terceiro com ativador de coágulo utilizado para a realização das análises bioquímicas. Após a coleta, as amostras contendo EDTA 10% foram devidamente homogeneizadas e analisadas em analisador hematológico (BC Vet 2800 Mindray), aonde foram realizados eritrograma e leucograma, bem como confeccionadas lâminas de esfregaços sanguíneos para diferenciação leucocitária.

As amostras de sangue para análises bioquímicas foram centrifugadas a 3000 rpm durante 15 minutos e as alíquotas de soro repassadas para tubos *ependorf* posteriormente congelados. Foram mensurados os níveis de glicose, ureia e proteínas plasmáticas totais (PPT) a fim de avaliar o metabolismo energético-protéico; enzimas gama glutamil transferase (GGT) e aspartato amino transferase (AST) como parâmetros de funcionalidade hepática; proteínas de fase aguda albumina, fibrinogênio e paraoxonase (PON1), além dos minerais cálcio, magnésio, sódio e potássio. As análises foram realizadas através de analisador automático Labmax Plenno® (Labtest, Minas Gerais, Brasil) e a atividade de PON1 foi analisada através da técnica

385 de quantificação pela taxa de extinção de fenol a 270 nm em amostras de soro, conforme
386 descrito por Pradiee et al. (2017).

387 *Coletas de fluido ruminal*

388 Anteriormente ao período experimental, foi realizado um experimento piloto, no qual
389 optou-se por realizar as coletas de líquido ruminal duas horas após a alimentação, levando em
390 consideração os resultados populacionais obtidos. Dessa forma, o fluido foi coletado nos dias
391 referentes às coletas de sangue, sendo realizado duas horas após a alimentação, através de
392 sondagem orogástrica. O líquido coletado foi filtrado utilizando uma gaze dobrada 4 vezes,
393 evitando a contaminação da amostra por saliva, como descrito por DEHORITY (1984).
394 Imediatamente à coleta foi realizada a análise do pH ruminal através de pHmetro digital portátil
395 (Hanna®, Brasil), em seguida foram avaliados os aspectos físicos do fluido, como cor, odor e
396 consistência. A coloração do líquido foi classificada como verde oliva (1), verde puro (2),
397 castanho amarelado (3), cinza leitoso (4) e verde enegrecido (5), enquanto os graus para
398 avaliação do odor foram considerados aromático (1), ácido (2), pútrido (3), amoniacal (4) e
399 inodoro (5). A consistência do fluido foi classificada em diferentes graus de viscosidade,
400 incluindo aquosa, levemente viscosa e viscosa (graus 1, 2 e 3, respectivamente). As avaliações
401 organolépticas realizadas foram adaptadas de DIRKSEN (1993). Após, foram realizadas as
402 análises químicas, iniciando com a visualização da motilidade de protozoários ruminais em
403 microscópio ótico de acordo com DIRKSEN (1993). A avaliação da atividade bacteriana
404 através da prova de redução do azul de metileno e a análise de sedimentação e flutuação foram
405 realizadas segundo metodologia descrita por ROSENBERGER (1993).

406 *Análises de desempenho*

407 Foi realizada a pesagem de todos os animais nos dias referentes às coletas, a cada cinco
408 dias, através de balança digital (Tru-Test®, Brasil), anteriormente à oferta da alimentação da

manhã. Assim, foi possível determinar o ganho médio diário (GMD) dos animais em cada um dos períodos experimentais. A dieta total e as sobras de alimento foram pesadas duas vezes ao dia, a fim de mensurar a ingestão de matéria seca (IMS) em cada período.

Análises bromatológicas

Foram coletadas amostras do TMR (*Total Mix Ration*), bem como as sobras de alimento nos cochos. As amostras foram analisadas para mensuração de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), FDN (fibra detergente neutro), FDA (fibra detergente ácido) e cinzas, de acordo com metodologia descrita por SILVA & QUEIROZ (2002). Os parâmetros de digestibilidade da matéria seca (DMS) e nutrientes digestíveis totais (NDT) foram determinados de acordo com as seguintes equações: $DMS = 88,9 - (0,7779 \times \% FDA)$ e $NDT = 87,84 - (0,7 \times \% FDA)$, respectivamente, descritos em TEIXEIRA & TEIXEIRA (1998).

Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi completamente casualizado, sendo as baias as unidades experimentais. As análises estatísticas foram realizadas através do programa estatístico SAS (SAS Institute Inc., Cary, EUA, 2016). As médias foram analisadas através do método MIXED MODELS, considerando os efeitos fixos de grupo (Controle, Cultron Pro e Cultron X), o momento da coleta e suas interações e efeito aleatório do animal. Os dados foram analisados de acordo com o seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + P_j + S_k + TP_{ij} + e_{ijk}$$

onde Y_{ijk} é a variável dependente, μ é a média geral, T_i efeito fixo de tratamento (i = Controle, Cultron Pro e Cultron X), P_j efeito fixo de período (j = 1; 2; 3; 4), S_k efeito aleatório do animal (k = 1 a 20), TP_{ij} interação entre tratamento e período e e_{ijk} erro experimental. A comparação de médias foi feita através do teste de Tukey-Kramer. Foram considerados significativos efeitos

de tratamento com valores de $P < 0.05$ e as tendências foram discutidas com $0.05 < P < 0.10$. Os resultados estão apresentados como médias \pm erro padrão da média.

3. RESULTADOS

Os valores de pH ruminal não diferiram entre os grupos e períodos experimentais, como observado na Figura 1. Todos os animais apresentaram valores de pH entre 6,0 e 7,0, considerado fisiológico para a espécie (FEITOSA, 2008). Foi possível observar tendência de aumento nos valores de pH ruminal no período 4 em relação ao período 3 (6,28 x 6,13, respectivamente) ($P = 0.06$) em todos os grupos experimentais.

Foram observadas duas colorações distintas no fluido ruminal, incluindo verde oliva e amarelo acastanhado. A diferença foi observada apenas no grupo Cultron X no período 1, com 85,71% dos animais apresentando fluido de coloração verde oliva e 14,29% amarelo acastanhado. O odor aromático observado em todos os grupos durante o experimento, demonstra que os animais do estudo apresentavam condições compatíveis com os parâmetros fisiológicos normais (GONZÁLEZ et al., 2000). Com relação à consistência do fluido, os resultados do estudo demonstram que, durante todo o período experimental, 42,8% dos animais do grupo Cultron Pro apresentaram viscosidade ideal, comparado a 39,3% no grupo Cultron X e 33,3% no grupo controle. No período 2, observou-se um número elevado de animais apresentando líquido ruminal de consistência aquosa nos três tratamentos, sendo que os animais do grupo controle apresentaram 100% de consistência anormal, seguido de 85% no Cultron X e 71% no grupo Cultron Pro.

Com relação à motilidade de protozoários ruminais houve diferença significativa entre os grupos ($P < 0.001$). Os animais do grupo controle apresentaram maiores casos de motilidade reduzida (20,8%) em comparação aos grupos Cultron X (3,57%) e Cultron Pro (0%). O grupo Cultron Pro obteve resultados superiores ($P < 0,05$) em comparação aos demais, com 64,3% dos

animais com motilidade de infusórios ótima, comparado a 39,3% e 20,8% nos grupos Cultron X e controle, respectivamente.

No presente trabalho, não houve efeito da suplementação sobre a atividade fermentativa das bactérias através, sendo todos os grupos dentro da normalidade. Os resultados de pH, PRAM e TSF estão descritos nas tabelas 2 e 3.

Quanto aos parâmetros zootécnicos analisados, a suplementação não influenciou na IMS dos animais, com diferença significativa apenas entre os grupos Cultron Pro e Cultron X ($P=0.04$).

Foi encontrada diferença no GMD entre períodos em todos os grupos ($P<0.001$), principalmente no período 2 em relação aos demais. O grupo suplementado com Cultron X apresentou redução mais intensa neste segundo período, entretanto, observou-se um aumento notável neste grupo no período 4 em relação ao período 2 ($-0,6 \times 0,4 \pm 0,09$ Kg, respectivamente) ($P=0.003$), caracterizados pela mesma dieta. No período 3, houve tendência de aumento no grupo Cultron X em comparação ao controle ($P=0,1$). As médias de IMS e GMD estão demonstradas nas tabelas 2 e 3.

Quanto à avaliação do metabolismo energético foi possível identificar diferença nos níveis séricos de glicose entre os grupo controle e Cultron X ($53,7 \times 68,0 \pm 2,0$ mg/dL) e entre controle e Cultron Pro ($56,7 \times 68,0 \pm 2,0$ mg/dL) no período 1 ($P=0.02$) (Figura 2).

Quanto ao metabolismo proteico, houve diferença significativa na concentração das proteínas plasmáticas totais entre os tratamentos, com visível aumento do grupo Cultron Pro em comparação ao grupo controle no período 3 ($6,64 \times 7,26 \pm 1,18$ g/dL; $P=0,02$) e no período 4 ($7,07 \times 6,67 \pm 0,09$ g/dL; $P=0,01$), demonstrando aumento das concentrações em animais suplementados com levedura hidrolisada.

As proteínas plasmáticas totais (PPT) são produzidas no fígado e sua síntese está relacionada com os níveis de proteína da dieta e estado nutricional do animal (GONZÁLEZ E

SCHEFFER, 2003). Neste estudo, verificou-se que as concentrações de PPT foram maiores no grupo Cultron Pro e esse aumento pode estar relacionado com o aumento dos níveis de proteínas na dieta, visto que este produto contém levedura hidrolisada o qual proporciona uma fonte proteica de ampla disponibilidade, além de favorecer fatores estimulatórios aos microrganismos do rúmen, aumentando a concentração destes no ambiente ruminal e assim incrementando a proteína microbiana (MAO et al., 2013).

Além disso, essas proteínas possuem papel importante na imunidade, atuando como indicadores de processos infecciosos (GONZÁLES E SILVA, 2006). Já a levedura hidrolisada, contém em sua parede celular β -glucanos e mananoligosacarídeos (MOS), que atuam basicamente no aumento de células fagocitárias, principalmente macrófagos, podendo estimular a resposta a antígenos (CZECH et al., 2018), mostrando que os resultados de PPT aliados aos componentes da levedura configuram-se com grande potencial de incremento na qualidade e quantidade da resposta imune dos animais.

Houve diferença nos níveis séricos de ureia entre os períodos experimentais ($P < 0.001$), com aumento significativo no primeiro desafio com maior proporção de concentrado na dieta. Foi encontrada diferença entre o grupo Cultron X e grupo controle ($P = 0,03$), com valores superiores no grupo suplementado ($36,39 \times 32,16 \pm 1,94$ mg/dL).

O grupo Cultron Pro apresentou maiores valores da enzima AST comparado ao grupo controle nos períodos 2 e 3 ($P = 0.002$), porém as concentrações da enzima GGT não foram alteradas pela suplementação ($P > 0,05$).

Os demais marcadores metabólicos não apresentaram diferença significativa entre os grupos experimentais, como ilustram as Tabelas 2 e 3.

4. DISCUSSÃO

O pH do rúmen é uma das variáveis que interferem diretamente na população microbiana e na atividade de protozoários (DAYANI et al., 2007). O pH do fluido ruminal pode variar entre 5,5 e 6,2 em dietas com maior teor de concentrado, enquanto dietas com maior participação de volumosos os valores situam-se entre 6,2 e 7,0 (ODENYO et al., 1997). Neste caso, as oscilações de pH foram observadas em pequenas proporções, se mantendo dentro dos valores fisiológicos para a espécie, o que remete a manutenção do ambiente ruminal e um equilíbrio da atividade microbiana.

De acordo com FEITOSA (2008), a consistência do fluido deve ser levemente viscosa, indicando a presença de partículas de nutrientes sobrenadantes e microorganismos em quantidade adequada.

O número elevado de animais apresentando líquido ruminal de consistência anormal no grupo controle pode estar relacionado a um nível de inatividade microbiana, demonstrando que os animais suplementados com cultura de levedura ou levedura hidrolisada poderão vir a ter menos consequências negativas no ambiente ruminal quando desafiados a dietas com maior teor de amido.

Os protozoários desempenham papel importante no controle do pH do fluido ruminal, sendo capazes de engolfar facilmente grânulos de amido. Esses microorganismos são responsáveis por até 45% da atividade amilolítica no rúmen, aumentando significativamente sua população em animais suplementados com dietas concentradas (BORGES et al., 2002). No presente trabalho identificou-se maior número de casos com motilidade ativa de protozoários no primeiro período de desafio com uma dieta mais concentrada, corroborando com HUHTANEN (1992) que observou maior número de protozoários quando houve substituição de fibra por grão na dieta. Tal resultado pode ser explicado uma vez que estes microorganismos digerem o amido mais lentamente do que as bactérias, auxiliando indiretamente no controle do

pH e levando a diminuição do número de bactérias amilolíticas através da competição pelo substrato, participando também da fermentação de lactato presente no rúmen.

Ao comparar os grupos suplementados com o controle, é possível observar que ambos os grupos suplementados apresentaram maior número de animais com motilidade de protozoários boa à excelente, o que demonstra a eficácia da suplementação na modulação do padrão de fermentação, refletindo diretamente na atividade dos protozoários ruminais.

A prova de redução do azul de metileno (PRAM) reflete o metabolismo fermentativo anaeróbico da população microbiana (FEITOSA, 2008). Tal autor afirma que o tempo de redução de até 3 minutos é consequência de uma microbiota ativa, o qual pode reduzir-se em uma dieta altamente concentrada, o que não ocorreu no presente estudo, uma vez que, independente do teor energético da dieta, todos os grupos se mantiveram dentro dos valores fisiológicos.

Apesar da suplementação não ter influenciado na IMS, os animais suplementados com cultura de levedura apresentaram melhor eficiência alimentar quando comparados ao grupo controle no período 3. Tal fato sustenta o encontrado por DING et al. (2008), no qual ovinos suplementados com levedura viva na dose de 10×10^9 ufc/dia apresentaram 7,3% de melhora na eficiência alimentar em relação ao grupo controle, porém sem influência na IMS. Em contrapartida, STELLA et al. (2007), avaliando uma dieta com 47% de MS de concentrado, e EL-GHANI (2004), com 60% de MS de concentrado, observaram aumento na IMS desses animais resultando em aumento da produção de leite em caprinos.

DING et al. (2008) avaliou a digestibilidade da hemicelulose, a qual apresentou aumento de 55,7% para 62,4% em dietas suplementadas com levedura viva, o que, segundo SALINAS-CHAVIRA et al., (2017) teria efeito benéfico na regulação da IMS dos animais como consequência de uma maior degradação da fibra e síntese de proteína microbiana no rúmen. Em um estudo realizado por DIAS et al. (2018), os valores de IMS se igualaram entre o grupo não

suplementado recebendo uma dieta com baixo teor de amido e o grupo suplementado com levedura recebendo uma dieta mais energética, o que possibilita constatar que a levedura tem efeito benéfico no ambiente ruminal, minimizando os efeitos decorrentes da oferta de concentrados.

Outro estudo conduzido por DIAS et al. (2018) comprova tal afirmação, demonstrando que a suplementação aumentou a digestibilidade da fibra em vacas leiteiras quando alimentadas com uma dieta de alto amido, o que poderia influenciar positivamente nas taxas de IMS. Tal fato não condiz com os resultados obtidos no presente trabalho, nos quais observou-se redução na IMS nos períodos com maior proporção de concentrado na dieta, corroborando com DESNOYERS et al. (2009), que afirmam que a suplementação com *S. cerevisiae* aumenta a digestibilidade da matéria orgânica com resultados benéficos em dietas mais fibrosas em comparação com dietas energéticas.

A diferença nos valores de GMD do grupo Cultron X nos períodos 2 e 4 pode ser explicada pela melhor adaptação a nível ruminal de animais suplementados com cultura de levedura, uma vez que a troca brusca na alimentação sem adaptação prévia não garante um padrão de digestão e fermentação ruminal adequados (FARENZENA et al., 2016), compreendendo que estes indivíduos passam por períodos de desafio alimentar de forma menos severa.

Segundo WALLACE & NEWBOLD (1992), os efeitos da levedura no rúmen desencadeiam uma modulação na população microbiana, contribuindo para a melhoria da eficiência alimentar em vacas leiteiras, o que se sustenta pelos relatos de ZHU et al. (2017), que identificaram aumento significativo no número de bactérias celulolíticas e redução de espécies produtoras de lactato como resposta à suplementação. HADDAD & GOUSSOUS (2005) afirmam que a suplementação com cultura de levedura tem efeito positivo na digestibilidade

581 dos nutrientes, resultando em maior GMD e melhor eficiência alimentar em ovinos recebendo
582 uma dieta com 80% de concentrado.

583 O aumento nos níveis séricos de glicose era esperado devido ao maior aporte energético,
584 como encontrado por DIAS et al. (2018). Segundo os autores, a alimentação com maior teor de
585 concentrado estimulou as concentrações de propionato no rúmen, o que favorece a
586 gliconeogênese e aumenta as concentrações de glicose.

587 De acordo com KHALID et al. (2011), a menor concentração de glicose plasmática em
588 animais recebendo suplementação pode ser atribuída a maior digestão de fibras como
589 consequência da modulação no ambiente ruminal proporcionada pela ação da levedura. Tal
590 afirmação pode ser constatada no estudo de YUAN et al. (2015), os quais identificaram que a
591 suplementação com duas doses distintas de levedura tendeu a reduzir os níveis de glicose
592 sanguíneos em vacas. De encontro aos resultados obtidos, ABO EL-NOR & KHOLIF (1998)
593 relataram maior concentração de glicose em vacas suplementadas. Entretanto, HRISTOV et al.
594 (2010) e OLAGARAY et al. (2019) não encontraram efeito da suplementação nos níveis
595 plasmáticos de glicose em vacas leiteiras. Outro fato a ser mencionado é de que o grupo controle
596 já iniciou o período experimental com níveis elevados de glicose, se mantendo dessa forma em
597 períodos com baixo aporte energético. Isto demonstra que, provavelmente, animais
598 suplementados poderão ter uma eficiência na metabolização do amido melhorada em casos de
599 maior aporte de energia, visto que nesses momentos os níveis de glicose entre grupos
600 igualaram-se, mesmo com o grupo controle partindo de índices glicêmicos maiores.

601 As proteínas plasmáticas totais (PPT) são produzidas no fígado e sua síntese está
602 relacionada com os níveis de proteína da dieta e estado nutricional do animal (GONZÁLEZ E
603 SCHEFFER, 2003). Neste estudo, verificou-se que as concentrações de PPT foram maiores no
604 grupo Cultron Pro e esse aumento pode estar relacionado com o aumento dos níveis de proteínas

na dieta, visto que este produto contém levedura hidrolisada o qual proporciona uma fonte proteica de ampla disponibilidade, além de favorecer fatores estimulatórios aos microrganismos do rúmen, aumentando a concentração destes no ambiente ruminal e assim incrementando a proteína microbiana (MAO et al., 2013).

Além disso, essas proteínas possuem papel importante na imunidade, atuando como indicadores de processos infecciosos (GONZÁLES E SILVA, 2006). Já a levedura hidrolisada, contém em sua parede celular β -glucanos e mananoligosacarídeos (MOS), que atuam basicamente no aumento de células fagocitárias, principalmente macrófagos, podendo estimular a resposta a antígenos (CZECH et al., 2018), mostrando que os resultados de PPT aliados aos componentes da levedura configuram-se com grande potencial de incremento na qualidade e quantidade da resposta imune dos animais.

A ureia é um metabólito produzido pelo fígado através da reciclagem da amônia ruminal que advém da fermentação do nitrogênio ingerido através da dieta, sendo que, parte desta é metabolizada no fígado e pode ser excretada via urina ou retornar ao rúmen via saliva ou corrente sanguínea (BERCHIELLI et al., 2011). No presente estudo, as concentrações deste metabólito no primeiro desafio foram maiores que os valores de referência estabelecidos por GONZÁLES (2006). Esse fato pode sugerir que os níveis elevados podem estar relacionados com o teor de proteína da dieta, uma vez que houve um acréscimo na porcentagem de proteína bruta na troca da dieta a base volumoso para maior proporção de concentrado.

Observou-se aumento na concentração da enzima AST após o período com maior oferta energética, que se manteve até o final do período seguinte. O aumento deste metabólito em animais submetidos a uma alimentação rica em energia foi encontrado também por SCHWEGLER et al. (2014), demonstrando que havia algum nível de sobrecarga hepática em ambos os períodos. Ainda, os autores observaram que o aumento nos níveis de AST se manteve mesmo após um período de recuperação de indução de acidose.

TABELEÃO et al. (2014) identificaram que a inclusão de aditivos à base de levedura em uma dieta balanceada promovem alterações na funcionalidade hepática que foram evidenciadas pelo aumento da atividade da enzima GGT no período de adaptação, o que não ocorreu no presente estudo, porém demonstra que a ação destes produtos pode estar relacionada com o aumento da atividade de hepatócitos. NASROLLAHI et al. (2019) e XU et al. (2016) encontraram aumento na atividade sérica da enzima AST em vacas com pH ruminal mais baixo, indicando que existe uma relação entre a redução no pH e a eficiência hepática desses animais, explicando em parte os resultados encontrados no presente estudo. Ainda, NASROLLAHI et al. (2019) sugerem que a atividade sérica da AST pode ser um possível indicador da suscetibilidade a baixos valores de pH ruminal.

Aditivos contendo células viáveis tendem a modular o ambiente ruminal de maneira mais direta (CHAUCHEYRAS-DURAND et al., 2008), o que está intimamente relacionado à saúde e consequentemente à funcionalidade hepática. De tal forma, a utilização de leveduras hidrolisadas (ausência de células viáveis) pode não agir diretamente na manutenção ruminal, refletindo em alterações no metabolismo hepático em decorrência de mudanças no padrão fermentativo no rúmen, principalmente durante períodos de desafio alimentar, corroborando com os resultados encontrados a nível hepático e ruminal no atual trabalho.

5. CONCLUSÃO

Produtos à base de levedura *Saccharomyces cerevisiae* apresentam-se como potencial ferramenta em momentos de mudanças alimentares na dieta, com reflexos positivos diretos no desempenho e metabolismo animal, sendo que a cultura de levedura demonstrou maiores efeitos na performance de ovinos confinados.

655 **AGRADECIMENTOS**

656 Os autores agradecem à empresa Aleris Nutrition® pelo fornecimento dos produtos e
657 auxílio financeiro para a realização do projeto; à Universidade Federal de Pelotas (UFPel), ao
658 Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC) e à Coordenação de
659 Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

660

661 **COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA**

662 Todos os procedimentos envolvendo os animais deste estudo foram de acordo com o
663 estabelecido pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal da Universidade Federal de
664 Pelotas, estando registrado e aprovado sob número 4100.

665 **DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSES**

666 Não temos nenhum conflito de interesse a declarar.

667 **CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES**

668 LT realizou os experimentos com os animais, análises laboratoriais, análise de dados e
669 escrita do artigo científico. AB auxiliou nas análises estatísticas dos dados experimentais,
670 escrita e revisão do manuscrito. CB coordenou e supervisionou todas as etapas do experimento,
671 bem como revisou e auxiliou na redação do manuscrito. MC orientou todas as etapas do projeto.
672 MC, ES, VR e FD possibilitaram todas as etapas do experimento e fornecerem a infraestrutura
673 necessária para a realização do projeto. Todos os autores estão de acordo com a versão final
674 deste manuscrito.

675

676 **REFERÊNCIAS**

677 ABD EL-GHANI, A.A. Influence of diet supplementation with yeast culture (*Saccharomyces*
678 *cerevisiae*) on performance of Zaraibi goats. Small ruminant research, v.52, n.3, p.223-229,

- 679 2004. Available from:
 680 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0921448803002815>>. Accessed: Oct. 23,
 681 2019. doi: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2003.06.002>.
- 682
- 683 ABO EL-NOR, S. A. H.; KHOLIF, A. M. Effect of supplementation of live yeast culture in the
 684 diet on the productive performance of lactating buffaloes. **Milchwissenschaft**, v.53, n.12,
 685 p.663-666, 1998. Available from:
 686 <https://www.researchgate.net/publication/259863735_Effect_of_supplementation_of_live_yeast_culture_in_the_diet_on_the_productive_performance_of_lactating_buffaloes>. Accessed:
 687 Oct. 23, 2019.
- 688
- 689 ALVES, K.S. et al. Níveis de energia em dietas para ovinos Santa Inês: digestibilidade aparente.
 690 **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1962-1968, 2003. Available from:
 691 <<http://www.scielo.br/pdf/rbz/v32n6s2/20966.pdf>>. Accessed: Oct. 23, 2019.
- 692 BERCHIELLI, et al. **Nutrição de ruminantes**. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2011.
- 693 BORGES, N.C. et al. Avaliação do suco ruminal de bovinos “a fresco” e após 12 horas. **Ciência**
 694 **Animal Brasileira**, v.3, n.2, p.57-63, 2002. Available from:
 695 <<https://repositorio.bc.ufg.br/xmlui/handle/ri/12359>>. Accessed: Oct. 29, 2019.
- 696 BOUDERGUE, C. et al. Review of mycotoxin-detoxifying agents used as feed additives: mode
 697 of action, efficacy and feed/food safety. **EFSA Supporting Publication**, v.6, n.9, 192p., 2009.
 698 Available from: <<http://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2903/sp.efsa.2009.EN-22>>
 699 Accessed: Oct. 29, 2019. doi: [10.2903/sp.efsa.2009.EN-22](https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2009.EN-22).
- 700 CHAUCHEYRAS-DURAND, F. et al. Effects of active dry yeasts on the rumen microbial
 701 ecosystem: past, present and future. *Anim. Feed sci. Technol.*, v.145, p.5-26, 2008. Available

- 702 from:<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840107002787?via%3Dihub>>.
- 703 Accessed: Oct. 29, 2019. doi: [10.1016/j.anifeedsci.2007.04.019](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.04.019)
- 704 CZECH, A. et al. Effect of dietary supplementation with *Yarrowia lipolytica* or *Saccharomyces*
- 705 *cerevisiae* yeast and probiotic additives on haematological parameters and the gut microbiota
- 706 in piglets. *Res. Vet. Sci.* v.119, p.221–227, 2018. Available from:
- 707 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0034528817306689>>. Accessed: Oct.
- 708 28, 2019. doi: [10.1016/j.rvsc.2018.06.007](https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2018.06.007).
- 709 DAYANI, O. et al. Effects of dietary whole cottonseed and crude protein level on rumen
- 710 protozoal population and fermentation parameters. **Small Ruminant Research**, v. 69, n.1-3,
- 711 p.36-45, 2007. Available from:
- 712 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0921448805005043>>. Accessed: Oct.
- 713 28, 2019. doi: doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.12.007.
- 714 DEHORITY, B. A. Evaluation of subsampling and fixation procedures used for counting rumen
- 715 protozoa. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 48, n. 1, p. 182–185, 1984. Available
- 716 from: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC240360>> Accessed: Oct. 28, 2019.
- 717 DESNOYERS M. et al., Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae*
- 718 supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. *American Dairy*
- 719 *Science Association*, v.92, n.4, p. 1620–1632, 2009. Available from:
- 720 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030209704746>>. Accessed: Oct. 20,
- 721 2019. doi: [10.3168/jds.2008-1414](https://doi.org/10.3168/jds.2008-1414).
- 722 DIAS, A. L. G. et al. Effects of supplementing yeast culture to diets differing in starch content
- 723 on performance and feeding behavior of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.101, n.1,
- 724 p.186-200, 2018. Accessed: Oct. 20, 2019.

- 725 DING, J. et al. Effect of monensin and live yeast supplementation on growth performance,
 726 nutrient digestibility, carcass characteristics and ruminal fermentation parameters in lambs fed
 727 steam-flaked corn-based diets. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.21, n.4,
 728 p.547-554, 2008. Available from: <<https://www.ajas.info/journal/view.php?number=21814>>.
 729 Accessed: Oct. 20, 2019. doi: [10.5713/ajas.2008.70353](https://doi.org/10.5713/ajas.2008.70353).
- 730 DIRKSEN G., et al. Sistema digestivo. In: ROSEMBERGER, G. **Exame Clínico dos Bovinos**.
 731 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993, p.166-228.
- 732 ENJALBERT, F. et al. Effects of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on ruminal
 733 digestion in non-lactating dairy cows. **Anim. Feed**, v.76, n.3-4, p.195-206, 1999. Available
 734 from: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840198002302>>. Accessed:
 735 Oct. 23, 2019. doi: [10.1016/S0377-8401\(98\)00230-2](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(98)00230-2).
- 736 FARENZENA, R. et al. Minimum length of the adaptation and collection period in digestibility
 737 trials with sheep fed ad libitum only forage or forage plus concentrate. **Journal of Animal**
 738 **Physiology and Animal Nutrition**. Available from:
 739 <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jpn.12550>>. Accessed: Oct. 23, 2019. doi:
 740 [10.1111/jpn.12550](https://doi.org/10.1111/jpn.12550).
- 741 FEITOSA, F.L.F. **Semiologia Veterinária: A arte do diagnóstico**. São Paulo: Roca, 2004.
- 742 FRANÇA, R. A.; RIGO, E. J. Utilização de leveduras vivas (*Saccharomyces cerevisiae*) na
 743 nutrição de ruminantes – Uma revisão. **FAZU em Revista**, n.8, p.187-195, 2012. Available
 744 from: <<http://www.fazu.br/ojs/index.php/fazuemrevista/article/viewArticle/391>>. Accessed:
 745 Oct. 28, 2019.
- 746 FRANKLIN, S. T. et al. Immune parameters of dry cows 404 fed mannan oligosaccharide and
 747 subsequent transfer of immunity to calves, *Journal of Dairy Science*, v.88, n.2, p.766–775,

2005. Available from:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030205727405>. Accessed: Oct. 25,
 2019. doi: [10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72740-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72740-5).
- GALVÃO, K. N. et al. Effect of feeding live yeast products to calves with failure of passive transfer on performance and patterns of antibiotic resistance in fecal *Escherichia coli*. **Reproduction Nutrition Development**, v.45, n.4, p.427-440, 2005. Available from:
<https://rnd.edpsciences.org/articles/rnd/abs/2005/04/r5411/r5411.html>. Accessed: Oct. 25,
 2019. doi: [10.1051/rnd:2005040](https://doi.org/10.1051/rnd:2005040)
- GONZÁLEZ, F.H.D. et al. **Uso de provas de campo e de laboratório clínico em doenças metabólicas e ruminais dos bovinos**. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000. Available from:
<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/26658/000283211.pdf?se>. Accessed:
 Oct. 25, 2019.
- HADDAD, S. G.; GOUSSOUS, S. N. Effect of yeast culture supplementation on nutrient intake, digestibility and growth performance of Awassi lambs. **Animal Feed Science and Technology**, v.118, n.3-4, p.343-348, 2005. Available from:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840104002317>. Accessed: Oct. 24,
 2019. doi: [10.1016/j.anifeedsci.2004.10.003](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2004.10.003)
- HRISTOV, A.N. et al. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on ruminal fermentation and nutrient utilization in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.93, n.2, p.682-692, 2010. Available from:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030210715101>. Accessed: Oct. 24,
 2019. doi: [10.3168/jds.2009-2379](https://doi.org/10.3168/jds.2009-2379).

- 771 KHALID, M. F. et al. Probiotics and lamb performance: A review. **African Journal of**
 772 **Agricultural Research**, v.6, n.23, p.5198-5203, 2011. Available from:
 773 <[http://www.academicjournals.org/app/webroot/article/article1380900106_Khalid%20et%20](http://www.academicjournals.org/app/webroot/article/article1380900106_Khalid%20et%20al.pdf)
 774 [al.pdf](http://www.academicjournals.org/app/webroot/article/article1380900106_Khalid%20et%20al.pdf)>. Accessed: Oct. 16, 2019. doi: 10.5897/AJAR11.1134.
- 775 MAO, H.-L. et al. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on in vitro
 776 fermentation and microbial communities of low-quality forages and mixed diets. **J. Anim. Sci.**
 777 v.91, n.7, p.3291–3298, 2013. Available from: <[https://academic.oup.com/jas/article-](https://academic.oup.com/jas/article-abstract/91/7/3291/4717164)
 778 [abstract/91/7/3291/4717164](https://academic.oup.com/jas/article-abstract/91/7/3291/4717164)>. Accessed: Sep. 23, 2019. doi: [10.2527/jas.2012-5851](https://doi.org/10.2527/jas.2012-5851).
- 779 MARDEN, J. P. et al. How does live yeast differ from sodium bicarbonate to stabilize ruminal
 780 pH in high-yielding dairy cows? **J. Dairy Sci.** v.91, n.9, p.3528–3535, 2008. Available from:
 781 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030208710671>>. Accessed: Sep. 21,
 782 2019. doi: [10.3168/jds.2007-0889](https://doi.org/10.3168/jds.2007-0889).
- 783 MCCANN, J. C. et al. Induction of subacute ruminal acidosis affects the ruminal microbiome
 784 and epithelium. **Front. Microbiol.**, v.7, p.701, 2016. Available from:
 785 <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2016.00701/full>>. Accessed: Oct. 23,
 786 2019. doi: [10.3389/fmicb.2016.00701](https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00701).
- 787 MORAN, C. A. Functional components of the cell wall of *Saccharomyces cerevisiae*:
 788 applications for yeast glucan and mannan. In: ANNUAL SYMPOSIUM OF NUTRITIONAL
 789 BIOTECHNOLOGY IN THE FEED AND FOOD INDUSTRIES, 2004, Nicholasville, USA.
 790 **Proceedings of Alltech's...** Nicholasville: Alltech Technical Publications, 2004. p.283-296.
 791 Available from: <[https://www.hilyses.com/wp-content/uploads/2016/11/heinrichs-and-Kehoe-](https://www.hilyses.com/wp-content/uploads/2016/11/heinrichs-and-Kehoe-2004-pp-194-203.pdf#page=271)
 792 [2004-pp-194-203.pdf#page=271](https://www.hilyses.com/wp-content/uploads/2016/11/heinrichs-and-Kehoe-2004-pp-194-203.pdf#page=271)>. Accessed: Sep. 12, 2019.

- 793 NASROLLAHI, S. M. et al. Blood metabolites, body reserves, and feed efficiency of high-
 794 producing dairy cows that varied in ruminal pH when fed a high-concentrate diet. **Journal of**
 795 **Dairy Science**, v.102, n.1, p.672-677, 2019. Available from:
 796 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030218309822>>. Accessed: Sep. 9,
 797 2019. doi: [10.3168/jds.2018-15022](https://doi.org/10.3168/jds.2018-15022)
- 798 NOCEK, J.E.; HOLT, M.G.; OPPY, J. Effects of supplementation with yeast culture and
 799 enzymatically hydrolyzed yeast on performance of early lactation dairy cattle. *Journal of Dairy*
 800 *Science*, v. 94, n. 8, p. 4046-4056, 2011. Available from:
 801 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030211004085>>. Accessed: Sep. 10,
 802 2019. doi: [10.3168/jds.2011-4277](https://doi.org/10.3168/jds.2011-4277).
- 803 Nutrient Requirements of Dairy Cattle (7th rev.), Natl. Acad. Sci., Washington, 2001.
- 804 ODENYO, A.A. et al. Effect of multipurpose tree (MPT) supplements on ruminal ciliate
 805 protozoa. **Animal Feed Science Technology**., v.67, n.2-3, p.169-180, 1997. Available from:
 806 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840196011182>>. Accessed: Sep. 13,
 807 2019. doi: [10.1016/S0377-8401\(96\)01118-2](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(96)01118-2).
- 808 OFEK, I. et al. Adherence of *Escherichia coli* to human mucosal cells mediated by mannose
 809 receptors. **Nature**, v.265, n.5595, p.623–625, 1977. Available from:
 810 <<https://www.nature.com/articles/265623a0>>. Accessed: Sep. 15, 2019. doi:
 811 [10.1038/265623a0](https://doi.org/10.1038/265623a0).
- 812 OLAGARAY, K. E. et al. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on feed
 813 intake parameters, lactation performance, and metabolism of transition dairy cattle. **Journal of**
 814 **Dairy Science**, v.102, n.9, p.8092-8107, 2019. Available from:

- 815 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030219306186>>. Accessed: Sep. 15,
816 2019. doi: [10.3168/jds.2019-16315](https://doi.org/10.3168/jds.2019-16315).
- 817 ÖZTÜRK, H. et al. Effects of hydrolyzed and live yeasts on rumen microbial fermentation in a
818 semicontinuous culture system (Rusitec). **Turkish Journal of Veterinary and Animal**
819 **Sciences**, v.39, n.5, p.556-559, 2015. Available from:
820 <<https://journals.tubitak.gov.tr/veterinary/abstract.htm?id=17050>>. Accessed: Sep. 18, 2019.
821 doi: [10.3906/vet-1506-16](https://doi.org/10.3906/vet-1506-16).
- 822 PINLOCHE E., et al. The effects of a probiotic yeast on the bacterial diversity and population
823 structure in the rumen of cattle. **Plos One**, v.8, n.7, 2013 v., p.e67824. Available from:
824 <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0067824>>. Accessed: Sep.
825 15, 2019. doi: [10.1371/journal.pone.0067824](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067824).
- 826 ROSEMBERGER, G. **Exame clínico dos bovinos**. 3. ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan,
827 1993. 419 p.
- 828 RUSSEL J.B.; RYCHLIK J.L. Factors that alter rumen microbial ecology. **Science**, v.292,
829 n.5519, p.1119-1122, 2001. Available from:
830 <<https://science.sciencemag.org/content/292/5519/1119>>. Accessed: Oct. 20, 2019. doi:
831 [10.1126/science.1058830](https://doi.org/10.1126/science.1058830).
- 832 SALINAS-CHAVIRA, J. et al. Influence of feeding enzymatically hydrolysed yeast cell wall+
833 yeast culture on growth performance of calf-fed Holstein steers. **Journal of Applied Animal**
834 **Research**, v.46, n.1, p.327-330, 2018. Available from:
835 <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09712119.2017.1299742>>. Accessed: Oct. 13,
836 2019. doi: [10.1080/09712119.2017.1299742](https://doi.org/10.1080/09712119.2017.1299742).

- 837 SCHINGOETHE, D. J. et al. Feed efficiency of mid-lactation dairy cows fed yeast culture
 838 during summer. **Journal of Dairy Science**, v.87, n.12, p.4178-4181, 2004. Available from:
 839 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030204735614>>. Accessed: Oct. 20,
 840 2019. doi: [10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73561-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73561-4).
- 841 SCHWEGLER, E. et al. The use of sodic monensin and probiotics for controlling subacute
 842 ruminal acidosis in sheep. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**,
 843 v.51, n.4, p.324-332, 2014. Available from:
 844 <<https://www.revistas.usp.br/bjvras/article/view/69502>>. Accessed: Oct. 5, 2019. doi:
 845 [10.11606/issn.1678-4456.v51i4p324-339](https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.v51i4p324-339).
- 846 SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. 2002. **Análise de alimentos (métodos químicos e**
 847 **biológicos)**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 235 p.
- 848 STELLA, A. V. et al. Effect of administration of live *Saccharomyces cerevisiae* on milk
 849 production, milk composition, blood metabolites, and faecal flora in early lactating dairy
 850 goats. **Small Ruminant Research**, v.67, n.1, p.7-13, 2007. Available from:
 851 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0921448805003585>>. Accessed: Oct. 21,
 852 2019. doi: [10.1016/j.smallrumres.2005.08.024](https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.08.024).
- 853 TABELEÃO, V.C. et al. Influência da monensina e levedura sobre parâmetros ruminais e
 854 metabólicos em cordeiros semiconfinados. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 30, n. 2, p.
 855 181-186, 2008. Available from: <<https://www.redalyc.org/pdf/3031/303126492007.pdf>>.
 856 Accessed: Oct. 29, 2019.
- 857 WALLACE, R. John; NEWBOLD, C. James. Probiotics for ruminants. In: **Probiotics**.
 858 Springer, Dordrecht, 1992. p. 317-353. Available from:

- 859 https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-011-2364-8_12. Accessed: Sep. 3, 2019. doi:
860 10.1007/978-94-011-2364-8_12.
- 861 WALLACE, R. J.; NEWBOLD, C. J. Rumen fermentation and its manipulation: the
862 development of yeast cultures as feed additives. In: **Biotechnology in the food industry**.
863 Alltech Technical Publications, 1993. p. 173-192.
- 864 XU, C., et al. The effect of subacute ruminal acidosis of dairy cows on productivity, digestibility
865 and greenhouse gas emission. **J. Agric. Sci.** v.8, p.92–100, 2016. Available from:
866 <<http://www.ccsenet.org/journal/index.php/jas/article/view/56707>> Accessed: Sep. 15, 2019.
867 doi: 10.5539/jas.v8n4pxx.
- 868 YANG, W. Z. et al. Wheat distillers grains in feedlot cattle diets: feeding behavior, growth
869 performance, carcass characteristics, and blood metabolites. **J. Anim. Sci.** v.90, n.4, p.1301–
870 1310, 2012. Available from: <[https://academic.oup.com/jas/article-](https://academic.oup.com/jas/article-abstract/90/4/1301/4764616)
871 [abstract/90/4/1301/4764616](https://academic.oup.com/jas/article-abstract/90/4/1301/4764616)>. Accessed: Oct. 29, 2019. doi: [10.2527/jas.2011-4372](https://doi.org/10.2527/jas.2011-4372).
- 872 YUAN, K. et al. Yeast product supplementation modulated feeding behavior and metabolism
873 in transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.98, n.1, p. 532-540, 2015. Available
874 from: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030214007978>>. Accessed:
875 Oct. 20, 2019. doi: [10.3168/jds.2014-8468](https://doi.org/10.3168/jds.2014-8468).
- 876 ZAWORSKI, E. M. et al. Effects of feeding various dosages of *Saccharomyces cerevisiae*
877 fermentation product in transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.97, n.5 3081–3098,
878 2014. Available from:
879 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030214001738>>. Accessed: Oct. 21,
880 2019. doi: [10.3168/jds.2013-7692](https://doi.org/10.3168/jds.2013-7692).

881 ZHU, W. et al. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation products on performance and
 882 rumen fermentation and microbiota in dairy cows fed a diet containing low quality forage.
 883 **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v.8, n.1, p.36, 2017. Available from:
 884 <<https://jasbsci.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40104-017-0167-3>>. Accessed: Oct. 16,
 885 2019. doi: [10.1186/s40104-017-0167-3](https://doi.org/10.1186/s40104-017-0167-3).

886

887 Tabela 1. Composição nutricional da dieta total utilizada durante o período experimental.

| Composição nutricional* | Concentrado da dieta (%) | |
|-------------------------|--------------------------|------|
| | 40 | 60 |
| Matéria orgânica | 93,8 | 93,7 |
| Proteína bruta | 10,4 | 12,5 |
| FDN | 47,4 | 45,8 |
| FDA | 19,3 | 17,3 |
| Matéria mineral | 6,2 | 6,3 |
| NDT | 73,9 | 75,8 |
| Digestibilidade | 70,8 | 75,4 |

888 *Dieta composta por silagem de milho e farelo de trigo. FDN=Fibra detergente neutro;
 889 FDA=Fibra detergente ácido; NDT=Nutrientes digestíveis totais

890

891

892

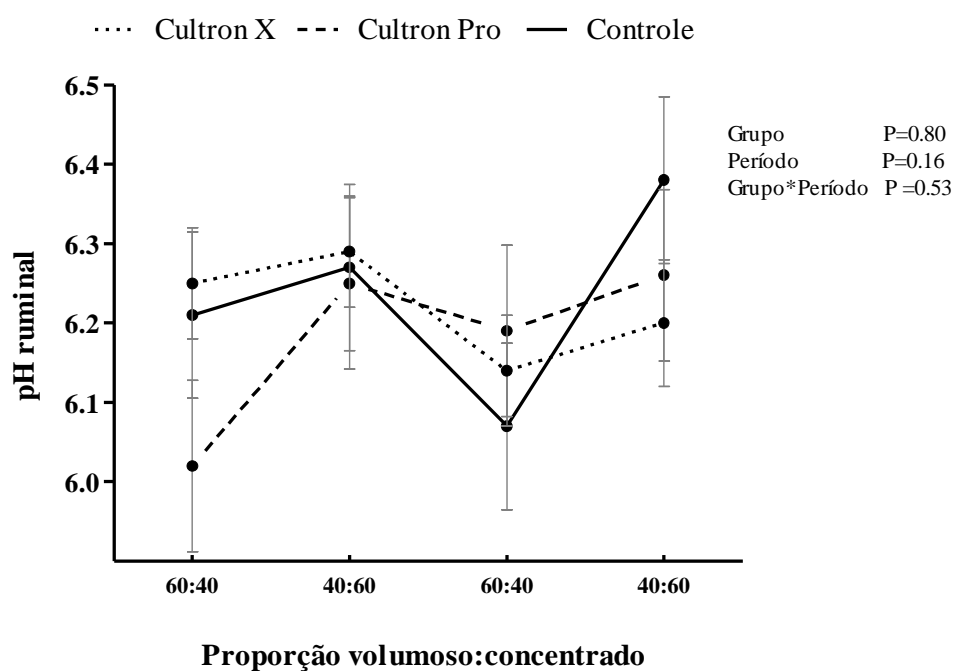


Figura 1 - Médias de pH ruminal dos grupos Cultron X (cultura de levedura), Cultron Pro (levedura hidrolisada) e Controle durante os quatro períodos experimentais de troca abrupta na proporção volumoso:concentrado da dieta.

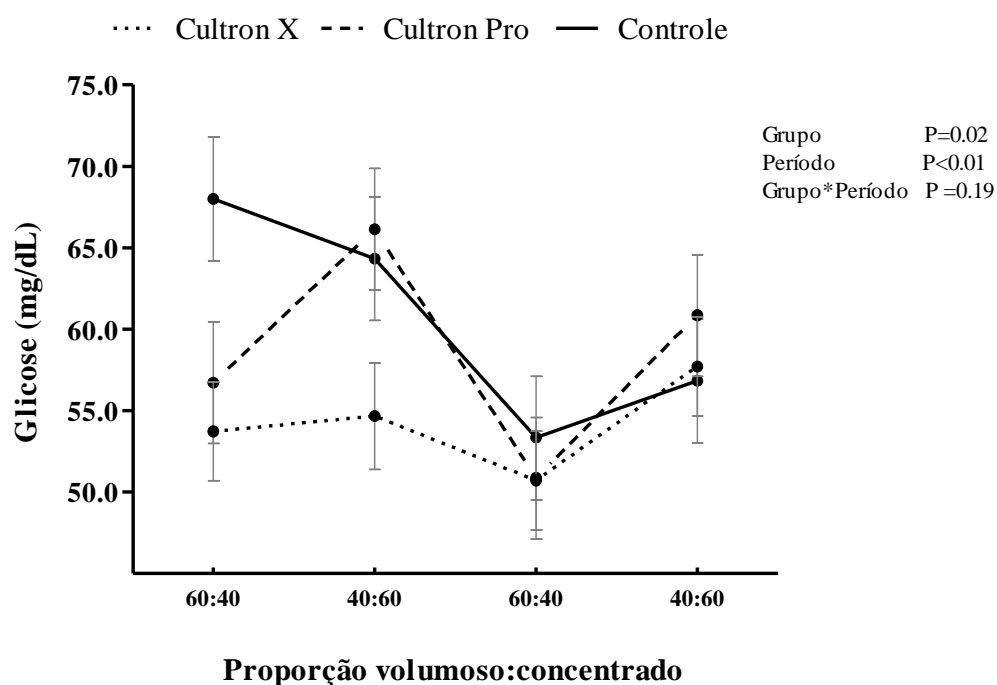


Figura 2 - Médias da concentração de glicose sérica dos grupos Cultron X (cultura de levedura), Cultron Pro (levedura hidrolisada enzimaticamente) e controle (sem suplementação) durante todo o período experimental.

926

927

928

929

930

931

932

933

934

935

936

937

938

939

940

941

942

943

944

| | Período 1 | | | | Período 2 | | | | Valor de P | |
|-------|--------------------|--------------------|--------------------|------|--------------------|--------------------|--------------------|------|------------|--------|
| | 60:40 | | | | 40:60 | | | | Gru | Per |
| | C. X | C. Pro | CTL | E.P. | C. X | C. Pro | CTL | E.P | | |
| pH | 6,2 | 6,0 | 6,2 | 6,2 | 6,2 | 6,2 | 6,1 | 6,1 | 0,80 | 0,16 |
| PRAM | 3,5 | 2,2 | 2,8 | 1,5 | 1,7 | 2,3 | 3,0 | 2,8 | 0,29 | 0,003 |
| TSF | 8,3 | 18,1 | 10,0 | 2,7 | 12,0 | 13,3 | 19,5 | 2,9 | 0,58 | 0,45 |
| IMS | 2,7 | 2,6 | 2,6 | 0,08 | 2,2 | 2,2 | 2,2 | 0,08 | 0,11 | <0,001 |
| GMD | 0,3 | 0,1 | 0,2 | 0,09 | -0,6 | -0,1 | -0,2 | 0,09 | 0,90 | <0,001 |
| Alb | 2,9 | 3,0 | 3,0 | 0,04 | 2,8 | 2,9 | 3,0 | 0,04 | 0,52 | 0,23 |
| PON | 256,5 | 260,4 | 238,8 | 14,3 | 258,9 | 273,0 | 273,7 | 14,3 | 0,9 | 0,66 |
| Fibri | 600,0 | 571,4 | 566,6 | 61,8 | 514,2 | 542,8 | 666,6 | 61,8 | 0,47 | 0,1 |
| AST | 83,1 | 95,2 | 83,3 | 2,6 | 89,0 ^{ab} | 87,8 ^a | 83,6 ^b | 2,6 | <0,01 | 0,75 |
| GGT | 52,2 | 50,2 | 52,3 | 2,0 | 49,4 | 55,1 | 55,3 | 2,0 | 0,15 | 0,8 |
| Gli | 53,7 ^a | 56,7 ^a | 68,0 ^b | 2,0 | 54,6 ^a | 66,1 ^b | 64,3 ^{ab} | 2,0 | 0,02 | <0,01 |
| Ur | 36,1 | 30,1 | 32,3 | 1,6 | 45,1 | 41,0 | 39,0 | 1,6 | 0,09 | <0,01 |
| PPT | 6,7 | 6,6 | 6,5 | 0,1 | 6,8 | 7,1 | 7,0 | 0,1 | 0,01 | 0,07 |
| Ca | 8,7 | 8,6 | 8,4 | 0,1 | 8,0 | 8,6 | 8,3 | 0,1 | 0,08 | <0,01 |
| Na | 143,4 ^a | 143,8 ^a | 135,8 ^a | 1,7 | 141 ^a | 144,2 ^a | 139,6 ^a | 1,7 | 0,44 | <0,01 |
| K | 3,8 ^a | 4,1 ^{ab} | 4,4 ^b | 0,09 | 3,69 ^a | 4,0 ^a | 3,7 ^a | 0,09 | 0,02 | 0,07 |
| Mg | 3,3 ^a | 3,3 ^a | 3,4 ^a | 0,1 | 4,22 ^a | 4,0 ^a | 3,9 ^a | 0,1 | 0,55 | <0,01 |

945 Tabela 2 - Índices zootécnicos, parâmetros ruminiais e níveis de metabólitos sanguíneos dos
 946 animais do grupo Cultron X (cultura de levedura), Cultron Pro (levedura hidrolisada) e Controle
 947 durante os períodos 1 e 2.

948

949 60:40=Dieta 60% volumoso e 40% concentrado; 40:60=Dieta 40% volumoso e 60%
 950 concentrado; C. X=Grupo Cultron X (produto à base de cultura de levedura); C. Pro=Grupo

Cultron Pro (produto à base de levedura hidrolisada); CTL=Grupo Controle; E.P=Erro padrão da média; Gru=Grupo; Per=Período; PRAM=Prova de redução do azul de metileno; TSF=Teste de sedimentação e flutuação; IMS=Ingestão de matéria seca; GMD=Ganho médio diário; Alb=albumina; PON=Paraoxonase; Fibri=Fibrinogênio; Gli=Glicose; Ur=Ureia; PPT=Proteínas plasmáticas totais; Ca=Cálcio; Na=Sódio; K=Potássio; Mg=Magnésio. IMS e GMD avaliados em Kg/dia; Alb e PPT analisados em g/dL; Fibri, Gli, Ur, Ca e Mg analisados em mg/dL; AST e GGT analisados em U/L; PON analisada em U/mL; Na e K analisados em mmol/L.

971

972 Tabela 3 - Índices zootécnicos, parâmetros ruminais e níveis de metabólitos sanguíneos dos

| | Período 3 | | | | Período 4 | | | | Valor de P | |
|-------|-------------------|-------------------|-------------------|------|-------------------|------------------|------------------|------|------------|--------|
| | 60:40 | | | | 40:60 | | | | Gru | Per |
| | C. X | C. Pro | CTL | E.P. | C. X | C. Pro | CTL | E.P | | |
| pH | 6,1 | 6,1 | 6,0 | 0,05 | 6,2 | 6,2 | 6,3 | 0,05 | 0,80 | 0,16 |
| PRAM | 3,0 | 2,8 | 2,3 | 0,2 | 3,5 | 3,2 | 2,6 | 0,2 | 0,29 | 0,003 |
| TSF | 20,0 | 18,3 | 17,6 | 2,8 | 14,4 | 19,5 | 10,2 | 3,03 | 0,58 | 0,45 |
| IMS | 2,7 | 2,5 | 2,6 | 2,6 | 2,1 | 1,8 | 2,1 | 2,0 | 0,11 | <0,001 |
| GMD | 0,4 | 0,2 | 0,1 | 0,09 | 0,4 | 0,2 | 0,3 | 0,09 | 0,90 | <0,001 |
| Alb | 3,0 ^{ab} | 3,1 ^a | 2,8 ^b | 0,04 | 3,0 | 3,0 | 3,1 | 0,05 | 0,52 | 0,23 |
| PON | 235,0 | 250,6 | 245,0 | 14,3 | 258,1 | 254,6 | 255,7 | 14,7 | 0,9 | 0,66 |
| Fibri | 728,5 | 800,0 | 766,6 | 61,8 | 485,7 | 771,4 | 566,6 | 61,8 | 0,47 | 0,1 |
| AST | 81,1 ^a | 97,7 ^b | 80,1 ^a | 2,6 | 83,2 ^a | 9,4 | 90,8 | 2,8 | <0,01 | 0,75 |
| GGT | 47,8 | 49,7 | 57,1 | 2,0 | 49,5 | 57,6 | 54,5 | 2,1 | 0,15 | 0,8 |
| Gli | 50,7 | 50,8 | 53,3 | 2,0 | 57,7 | 60,8 | 56,8 | 2,0 | 0,02 | <0,01 |
| Ur | 32,4 | 30,2 | 27,3 | 1,6 | 31,8 | 36,4 | 30,0 | 1,7 | 0,09 | <0,01 |
| PPT | 6,9 ^{ab} | 7,2 ^a | 6,6 ^b | 0,1 | 6,5 ^a | 7,1 ^b | 6,5 ^a | 0,1 | 0,01 | 0,07 |
| Ca | 8,5 | 8,9 | 8,4 | 0,1 | 7,6 | 7,9 | 7,4 | 0,1 | 0,08 | <0,01 |
| Na | 136,5 | 142,7 | 143,5 | 1,7 | 133,1 | 133,2 | 134,5 | 1,8 | 0,44 | <0,01 |
| K | 3,9 | 4,1 | 4,1 | 0,09 | 3,8 | 4,2 | 3,8 | 0,1 | 0,02 | 0,07 |
| Mg | 4,2 | 4,0 | 3,9 | 0,1 | 4,1 | 3,9 | 4,1 | 0,1 | 0,55 | <0,01 |

973 animais do grupo Cultron X (cultura de levedura), Cultron Pro (levedura hidrolisada) e Controle

974 durante os períodos 3 e 4.

975

976 60:40=Dieta 60% volumoso e 40% concentrado; 40:60=Dieta 40% concentrado e 60%

977 volumoso; C. X=Grupo Cultron X (produto à base de cultura de levedura); C. Pro=Grupo

978 Cultron Pro (produto à base de levedura hidrolisada); CTL=Grupo Controle; E.P=Erro padrão

979 da média; Gru=Grupo; Per=Período; PRAM=Prova de redução do azul de metileno; TSF=Teste

980 de sedimentação e flutuação; IMS=Ingestão de matéria seca; GMD=Ganho médio diário;
981 Alb=albumina; PON=Paraoxonase; Fibri=Fibrinogênio; Gli=Glicose; Ur=Ureia;
982 PPT=Proteínas plasmáticas totais; Ca=Cálcio; Na=Sódio; K=Potássio; Mg=Magnésio. IMS e
983 GMD avaliados em Kg/dia; Alb e PPT analisados em g/dL; Fibri, Gli, Ur, Ca e Mg analisados
984 em mg/dL; AST e GGT analisados em U/L; PON analisada em U/mL; Na e K analisados em
985 mmol/L.

CONCLUSÃO GERAL

A utilização de aditivos como estratégia alimentar na nutrição de ruminantes vem expandindo-se de forma crescente, demonstrando que, cada vez mais, otimizar o desempenho animal através de melhor aproveitamento de nutrientes e melhoria na saúde é o caminho para se obter uma produção mais eficiente e segura. Deste modo, produtos à base da levedura *Saccharomyces cerevisiae* apresentam-se como uma potencial ferramenta em momentos de desafio alimentar, com reflexos positivos diretos no desempenho e metabolismo animal, sendo que a cultura de levedura demonstrou maiores efeitos na performance de ovinos confinados quando comparado ao uso de leveduras hidrolisadas.

1020 **7 REFERÊNCIAS**

- 1021 ALZAHAL, O., DIONISSOPOULOS L., LAARMAN, A.H., WALKER, N. & MCBRIDE,
1022 B.W. (2014). Active dry *Saccharomyces cerevisiae* can alleviate the effect of
1023 subacute ruminal acidosis in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*.
1024 97(12). p. 7751–7763.
- 1025 BACH, A., IGLESIAS, C. & DEVANT, M. (2007). Daily rumen pH pattern of loose-
1026 housed dairy cattle as affected by feeding pattern and live yeast supplementation.
1027 *Animal Feed Science and Technology*. 136(1–2). p. 146–153.
- 1028 BEESON W.M. & PERRY T.W. (1952). Balancing the Nutritional Deficiencies of
1029 Roughages for Beef Steers. *Journal of Animal Science*. 11(3). p. 501–515.
- 1030 BACH, A., IGLESIAS, C. & DEVANT, M. (2007). Daily rumen pH pattern of loose-
1031 housed dairy cattle as affected by feeding pattern and live yeast supplementation.
1032 *Animal Feed Science and Technology*. 136(1–2). p. 146–153.
- 1033 BEESON W.M. & PERRY T.W. (1952). Balancing the Nutritional Deficiencies of
1034 Roughages for Beef Steers. *Journal of Animal Science*. 11(3), p. 501–515.
- 1035 BOUDERGUE, C., BUREL, C., DRAGACCI, S., FAVROT, M., FREMY, J., MASSIMI,
1036 C., PRIGENT, P., DEBONGNIE, P., PUSSEMIER, L., BOUDRA, H., MORGAVI,
1037 D., OSWALD, I., PEREZ, A. & AVANTAGGIATO, G. (2009). Review of mycotoxin-
1038 detoxifying agents used as feed additives: mode of action, efficacy and feed/food
1039 safety. *EFSA Supporting Publications*.
- 1040 BROSSARD, L., CHAUCHEYRAS-DURAND, F., MICHALET-DOREAU, B. &
1041 MARTIN, C. (2006). Dose effect of live yeasts on rumen microbial communities
1042 and fermentations during butyric latent acidosis in sheep: New type of interaction.
1043 *Animal Science*. 82(6), p. 829–836.
- 1044 CALLAWAY, E. S. & MARTIN, S. A. (1997). Effects of a *Saccharomyces cerevisiae*
1045 Culture on Ruminant Bacteria that Utilize Lactate and Digest Cellulose. *Journal of*
1046 *Dairy Science*. 80(9), p. 2035–2044.
- 1047 CHAUCHEYRAS-DURAND, F., MASSÉGLIA, S. & FONTY, G. (2005). Effect of the
1048 microbial feed additive *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-1077 on protein and
1049 peptide degrading activities of rumen bacteria grown in vitro. *Current Microbiology*.
1050 50(2), p. 96–101.
- 1051 CHAUCHEYRAS-DURAND, F., WALKER, N. D. & BACH, A. (2008). Effects of active
1052 dry yeasts on the rumen microbial ecosystem: Past, present and future. *Animal*
1053 *Feed Science and Technology*. 145(1–4), p. 5–26.
- 1054 CHAUCHEYRAS, F., FONTY, G., BERTIN, G. & GOUET, P. (1995). Effects of live
1055 *Saccharomyces cerevisiae* cells on zoospore germination, growth, and cellulolytic
1056 activity of the rumen anaerobic fungus *Neocallimastix frontalis* MCH3. *Current*
1057 *Microbiology*. 31(4), p. 201–205.

- 1058 CHAUCHEYRAS, F., FONTY, G., BERTIN, G., SALMON, J. & GOUET, P. (1996).
 1059 Effects of a strain of *Saccharomyces cerevisiae* (Levucell® SC), a microbial
 1060 additive for ruminants, on lactate metabolism in vitro. *Canadian Journal of*
 1061 *Microbiology*. 42(9), p. 927–933.
- 1062 DANN, H. M., DRACKLEY, J.K., MCCOY, G.C., HUTJENS, M.F. & GARRETT, J.E.
 1063 (2000). Effects of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on prepartum intake
 1064 and postpartum intake and milk production of Jersey cows. *Journal of Dairy*
 1065 *Science*. 83(1), p. 123–127.
- 1066 DESNOYERS, M., GIGER-REVERDIN, S., BERTIN, G., DUVAUX-PONTER, C. &
 1067 SAUVANT, D. (2009) 'Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces*
 1068 *cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of
- 1069 ruminants', *Journal of Dairy Science*. Elsevier, 92(4), pp. 1620–1632. doi:
 1070 10.3168/jds.2008-1414.
- 1071 ECKLES, C. H., WILLIAMS, V.M., WILBUR, J.W., PALMER, L.S. & HARSHAW, H.M.
 1072 (1924). Yeast as a Supplementary Feed for Calves. *Journal of Dairy Science*. 7(5),
 1073 p. 421–439.
- 1074 ENJALBERT, F., GARRETT, J.E., MONCOULON, R., BAYOURTHE, C. &
 1075 CHICOTEAU, P. (1999). Effects of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on
 1076 ruminal digestion in non-lactating dairy cows. *Animal Feed Science and*
 1077 *Technology*. 76(3–4), p. 195–206.
- 1078 ERASMUS, L. J., BOTHA, P. M. & KISTNER, A. (1992). Effect of Yeast Culture
 1079 Supplement on Production, Rumen Fermentation, and Duodenal Nitrogen Flow in
 1080 Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*. 75(11), p. 3056–3065.
- 1081 FERKET, P. R. (2003). Controlling gut health without the use of antibiotics.
 1082 *Proceedings of the 30th Annual Carolina Poultry Nutrition Conference*. p. 57–68.
- 1083 FERRARETTO, L. F., SHAVER, R. D. & BERTICS, S. J. (2012). Effect of dietary
 1084 supplementation with live-cell yeast at two dosages on lactation performance,
 1085 ruminal fermentation, and total-tract nutrient digestibility in dairy cows. *Journal of*
 1086 *Dairy Science*. 95(7), p. 4017–4028.
- 1087 FONTY, G. & CHAUCHEYRAS-DURAND, F. (2006). Effects and modes of action of
 1088 live yeasts in the rumen. *Biologia*. 61(6), p. 741–750.
- 1089 FONTY, G. & JOBLIN, K. N. (1991). Rumen anaerobic fungi: Their role and interactions
 1090 with other rumen microorganisms in relation to fiber digestion. *Physiological*
 1091 *Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants*. p. 655–680.
- 1092 GALVÃO, K.N., SANTOS J.E.P., COSCIONI, A., VILLASEÑOR, M., SISCHO, W.M. &
 1093 BERGE, A.C.B. (2005). Effect of feeding live yeast products to calves with failure
 1094 of passive transfer on performance and patterns of antibiotic resistance in fecal
 1095 *Escherichia coli*. *Reproduction Nutrition Development*. 45, p. 427–440.
- 1096 GIGER-REVERDIN, S. (2018). Recent advances in the understanding of subacute

- 1097 ruminal acidosis (SARA) in goats, with focus on the link to feeding behaviour.
1098 *Small Ruminant Research*. 163, p. 24–28.
- 1099 HARRISON, G. A., HEMKEN, R.W., DAWSON, K.A., HARMON, R.J. & BARKER, K.B.
1100 (1988). Influence of addition of yeast culture supplement to diets of lactating cows
1101 on ruminal fermentation and microbial populations. *Journal of Dairy Science*.
1102 71(11), p. 2967–2975.
- 1103 JAMI, E., WHITE, B. A. & MIZRAHI, I. (2014). Potential role of the bovine rumen
1104 microbiome in modulating milk composition and feed efficiency. *PLoS ONE*, 9(1).
- 1105 JENSEN, G. S., PATTERSON, K. M. & YOON, I. (2008). Yeast culture has anti-
1106 inflammatory effects and specifically activates NK cells. *Comparative*
1107 *Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 31(6), p. 487–500.
- 1108 JIANG, Y., OGUNADE, I.M., ARRIOLA, K.G., QI, M., VYAS, D., STAPLES, C.R., &
1109 ADESOGAN, A.T. (2017). Effects of the dose and viability of *Saccharomyces*
1110 *cerevisiae*. 2. Ruminal fermentation, performance of lactating dairy cows, and
1111 correlations between ruminal bacteria abundance and performance measures.
1112 *Journal of Dairy Science*. 100(10). p. 8102–8118.
- 1113 JOUANY, J. P. (2006). Optimizing rumen functions in the close-up transition period
1114 and early lactation to drive dry matter intake and energy balance in cows. *Animal*
1115 *Reproduction Science*. 96(3–4), p. 250–264.
- 1116 KLEEN, J. L., HOOIJER, G.A., REHAGE, J. & NOORDHUIZEN, J.P.T.M (2003).
1117 Subacute ruminal acidosis (SARA): A review. *Journal of Veterinary Medicine*
1118 *Series A: Physiology Pathology Clinical Medicine*. 50(8). p. 406–414.
- 1119 LESMEISTER, K. E., HEINRICHS, A. J. & GABLER, M. T. (2004). Effects of
1120 supplemental yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) culture on rumen development,
1121 growth characteristics, and blood parameters in neonatal dairy calves. *Journal of*
1122 *Dairy Science*. 87(6), p. 1832–1839.
- 1123 LILA, Z.A., MOHAMMED, N., YASUI, T., KUROKAWA, Y., KANDA, S. & ITABASHI,
1124 H. (2004). Effects of a twin strain of *Saccharomyces cerevisiae* live cells on mixed
1125 ruminal microorganism fermentation in vitro. *Journal of Animal Science*. 82. p.
1126 1847–1854.
- 1127 LYNCH, H. A. & MARTIN, S. A. (2002). Effects of *Saccharomyces cerevisiae* culture
1128 and *Saccharomyces cerevisiae* live cells on in vitro mixed ruminal microorganism
1129 fermentation. *Journal of Dairy Science*. 85(10), p. 2603–2608.
- 1130 MARDEN, J. P., JULIEN, C., MONTEILS, V., AUCLAIR, E., MONCOULON, R., &
1131 BAYOURTHE, C. (2008). How does live yeast differ from sodium bicarbonate to
1132 stabilize ruminal pH in high-yielding dairy cows? *Journal of Dairy Science*. 91(9).
1133 p. 3528–3535.
- 1134 MATHIEU, F., JOUANY, J. P., SENAUD, J., BOHATIER, J., BERTIN, G. & MERCIER,
1135 M. (1996). The effect of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* on

- 1136 fermentations in the rumen of faunated and defaunated sheep; protozoal and
1137 probiotic interactions. *Reproduction Nutrition Development*. 36(3). p. 271–287.
- 1138 MENDOZA, G. D., BRITTON, R. A. & STOCK, R. A. (1993). Influence of ruminal
1139 protozoa on site and extent of starch digestion and ruminal fermentation. *Journal*
1140 *of Animal Science*. 71(6), p. 1572–1578.
- 1141 MILLER-WEBSTER, T., HOOVER, W. H., HOLT, M. & NOCEK, J. E. (2002). Influence
1142 of yeast culture on ruminal microbial metabolism in continuous culture. *Journal of*
1143 *Dairy Science*. 85(8). p. 2009–2014.
- 1144 MOALLEM, U., LEHRER, H., LIVSHITZ, L., ZACHUT, M. & YAKOBY, S. (2009). The
1145 effects of live yeast supplementation to dairy cows during the hot season on
1146 production, feed efficiency, and digestibility. *Journal of Dairy Science*. 92(1). p.
1147 343–351.
- 1148 MOSONI, P., CHAUCHEYRAS-DURAND, F., BÉRA-MAILLET, C. & FORANO,
1149 E. (2007). Quantification by real-time PCR of cellulolytic bacteria in the rumen of
1150 sheep after supplementation of a forage diet with readily fermentable
1151 carbohydrates: Effect of a yeast additive. *Journal of Applied Microbiology*. 103(6).
1152 p. 2676–2685.
- 1153 MUTSVANGWA, T., EDWARDS, I. E., TOPPS, J. H. & PATERSON, G. F. M. (1992).
1154 The effect of dietary inclusion of yeast culture (Yea-Sacc) on patterns of rumen
1155 fermentation, food intake and growth of intensively fed bulls. *Animal Production*.
1156 55(1). p. 35–40.
- 1157 NEWBOLD, C. J., WALLACE, R. J., CHEN, X. B. & MCINTOSH, F. M. (1995). Different
1158 strains of *Saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on ruminal bacterial
1159 numbers in vitro and in sheep. *Journal of Animal Science*. 73(6). p. 1811–1818.
- 1160 NEWBOLD, C. J., WALLACE, R. J. & MCINTOSH, F. M. (1996). Mode of action of the
1161 yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a feed additive for ruminants. *British Journal*
1162 *of Nutrition*. 76(2). p. 249–261.
- 1163 NOCEK, J. E. (1997). Bovine Acidosis: Implications on Laminitis. *Journal of Dairy*
1164 *Science*. 80(5). p. 1005–1028.
- 1165 NOCEK, J. E., HOLT, M. G. & OPPY, J. (2011). Effects of supplementation with yeast
1166 culture and enzymatically hydrolyzed yeast on performance of early lactation dairy
1167 cattle. *Journal of Dairy Science*. 94(8). p. 4046–4056.
- 1168 OEZTUERK, H. (2009). Effects of live and autoclaved yeast cultures on ruminal
1169 fermentation in vitro. *Journal of Animal and Feed Sciences*. 18(1). p. 142–150.
- 1170 OKEF, I., MIRELMAN, D & SHARON, N. (1977). Adherence of *Escherichia coli* to
1171 human mucosal cells mediated by mannose receptors. *Nature*. 265. p. 623–625.
- 1172 DE ONDARZA, M. B., SNIFFEN, C. J., DUSSERT, L., CHEVAUX, E., SULLIVAN, J.
1173 & WALKER, N. (2010). Multiple-study analysis of the effect of live yeast on milk

- 1174 yield, milk component content and yield, and feed efficiency. *Professional Animal*
1175 *Scientist*. 26(6). p. 661–666.
- 1176 OPSI, F., FORTINA, R., TASSONE, S., BODAS, R. & LÓPEZ, S. (2012). Effects of
1177 inactivated and live cells of *Saccharomyces cerevisiae* on in vitro ruminal
1178 fermentation of diets with different forage:concentrate ratio. *Journal of Agricultural*
1179 *Science*. 150(2). p. 271–283.
- 1180 OWENS, F. N., SECRIST, D. S., HILL, W. J. & GILL, D. R. (1998). Acidosis in Cattle:
1181 A Review. *Journal of Animal Science*. 76(1). pp 275–286.
- 1182 PINLOCHE, E., MCEWAN, N., MARDEN, J. P., BAYOURTHE, C., AUCLAIR, E. &
1183 NEWBOLD, C. J. (2013). The effects of a probiotic yeast on the bacterial diversity
1184 and population structure in the rumen of cattle. *PLoS ONE*. 8(7).
- 1185 POPPY, G. D., RABIEE, A. R., LEAN, I. J., SANCHEZ, W. K., DORTON, K. L. &
1186 MORLEY, P. S. (2012). A meta-analysis of the effects of feeding yeast culture
1187 produced by anaerobic fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* on milk
1188 production of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 95(10). p. 6027–
1189 6041.
- 1190 RAMSING, E. M., DAVIDSON, J. A., FRENCH, P. D., YOON, I., KELLER, M. &
1191 PETERS-FLECKENSTEIN, H. (2009). Effects of Yeast Culture on Peripartum
1192 Intake and Milk Production of Primiparous and Multiparous Holstein Cows.
1193 *Professional Animal Scientist*. 25(4). p. 487–495.
- 1194 ROBINSON, P. H. & ERASMUS, L. J. (2009). Effects of analyzable diet components
1195 on responses of lactating dairy cows to *Saccharomyces cerevisiae* based yeast
1196 products: A systematic review of the literature. *Animal Feed Science and*
1197 *Technology*. 149(3–4). p. 185–198.
- 1198 ROGERS, M., JOUANY, J. P., THIVEND, P. & FONTENOT, J. P. (1997). The effects
1199 of short-term and long-term monensin supplementation, and its subsequent
1200 withdrawal on digestion in sheep. *Animal Feed Science and Technology*. 65(1–4).
1201 p. 113–127.
- 1202 ROSSI, F., DI LUCCIA, A., VINCENTI, D. & COCCONCELLI, P. S. (2004). Effects of
1203 peptidic fractions from *Saccharomyces cerevisiae* culture on growth and
1204 metabolism of the ruminal bacteria *Megasphaera elsdenii*. *Animal Research*. 53.
1205 p. 177–186.
- 1206 SHEN, Y., WANG, H., RAN, T., YOON, I., SALEEM, A. M., & YANG, W. (2018).
1207 Influence of yeast culture and feed antibiotics on ruminal fermentation and site
1208 and extent of digestion in beef heifers fed high grain rations. *Journal of Animal*
1209 *Science*. 96(9). p. 3916–3927.
- 1210 STONE, W. C. (2004). Nutritional approaches to minimize subacute ruminal acidosis
1211 and laminitis in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 87(SUPPL. 1). p. E13–E26.
- 1212 VYAS, D., UWIZEYE, A., MOHAMMED, R., YANG, W.Z., WALKER, N.D. &

- 1213 BEAUCHEMIN, K.A. (2014). The effects of active dried and killed dried yeast on
1214 subacute ruminal acidosis, ruminal fermentation, and nutrient digestibility in beef
1215 heifers. *Journal of Animal Science*. 92(2). p. 724–732.
- 1216 YUAN, K., LIANG, T., MUCKEY, M.B., MENDONÇA, L.G.D., HULBERT, L.E., ELROD,
1217 C.C. & BRADFORD, B.J. (2015). Yeast product supplementation modulated
1218 feeding behavior and metabolism in transition dairy cows. *Journal of Dairy*
1219 *Science*. 98(1). p. 532–540.
- 1220 VAN SOEST, P.J. (1994). *Nutritional Ecology of the Ruminant*. 2nd ed., New York:
1221 Cornell University Press.
- 1222
- 1223
- 1224
- 1225
- 1226
- 1227
- 1228
- 1229
- 1230
- 1231
- 1232
- 1233
- 1234
- 1235
- 1236
- 1237
- 1238
- 1239
- 1240

1241 8 ANEXOS

1242 ANEXO A – Parecer de aprovação do CEEA



Pelotas, 08 de agosto de 2017

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada "*Saccharomyces cerevisiae* pode auxiliar na manutenção da saúde ruminal em situações de mudanças bruscas de dieta?", registrada com o nº 23110.004100/2017-10, sob a responsabilidade de Cássio Cassal Brauner - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e recebeu parecer FAVORÁVEL a sua execução pela Comissão de Ética em Experimentação Animal, em reunião de 10/07/2017.

| Finalidade | (X) Pesquisa () Ensino |
|-------------------------|--|
| Vigência da autorização | Início: 08/2017 Término: 09/2017 |
| Espécie/linhagem/raça | Ovinos / Texel e Corriedale |
| Nº de animais | 27 |
| Idade | 36 – 48 meses |
| Sexo | Feminino |
| Origem | Fazenda – Centro Agropecuário da Palma, Capão do Leão/RS - UFPel |

Solicitamos, após tomar ciência do parecer, reenviar o processo à CEEA.

Salientamos também a necessidade deste projeto ser cadastrado junto ao CORALTO para posterior registro no COCEPE (código para cadastro nº CEEA 4100-2017).


 M.V. Dra. Anelize de Oliveira Campello Felix
 Presidente da CEEA

Ciente em: ____/____/2017

Assinatura do Professor Responsável: _____

1243