

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



Dissertação

Efeito da suplementação de uma associação de levedura viva e hidrolisada sobre a qualidade do leite e desempenho produtivo de vacas leiteiras

Claudia Faccio Demarco

Pelotas, 2015

CLAUDIA FACCIO DEMARCO

Efeito da suplementação de uma associação de levedura viva e hidrolisada sobre a qualidade do leite e desempenho produtivo de vacas leiteiras

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal de Pelotas como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências (Área do conhecimento: Produção Animal).

Orientador: Dr. Cassio Cassal Brauner
Co-Orientador: Dra. Raquel Fraga e Silva Raimondo
Co-Orientador: Dr. Marcio Nunes Corrêa
Co-orientador: Viviane Rohrig Rabassa
Co-orientador: Francisco Augusto Burkert Del Pino

Pelotas, 2015.

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

D372e Demarco, Claudia Faccio

Efeito da suplementação de uma associação de levedura viva e hidrolisada sobre a qualidade do leite e desempenho produtivo de vacas leiteiras / Claudia Faccio Demarco ; Cassio Cassal Brauner, orientador. — Pelotas, 2015.

65 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2015.

1. Levedura. 2. Metabolismo. 3. Produção de leite. 4. Periparto. I. Brauner, Cassio Cassal, orient. II. Título.
CDD : 636.234

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

Claudia Faccio Demarco

Efeito da suplementação de uma associação de levedura viva e hidrolisada sobre a qualidade do leite e desempenho produtivo de vacas leiteiras

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 11 de Fevereiro de 2015.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Cassio Cassal Brauner (Orientador). Doutor em Produção Animal pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dra. Beatriz Riet Correa Rivero. Dra. em Sanidade Animal pela Universidade Federal de Campina Grande.

Prof. Dr. Henrique Mendonça Nunes Ribeiro Filho. Doutor em Produção Animal pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Prof. Dr. Vinicius Coitinho Tabeleão. Doutor em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas.

Banca Examinadora

Dra. Beatriz Riet Correa Rivero

Dr. Henrique Mendonça Nunes Ribeiro Filho

Dr. Vinicius Coitinho Tabeleão

Dr. Rogerio Fôlha Bermudes (Suplente)

Agradecimentos

A toda minha família, que sempre foi e será a base de tudo,

Ao Rafael, pela paciência, companheirismo e apoio desde sempre,

Ao meu orientador, Dr. Cassio Cassal Brauner, pela competência, pela disponibilidade nesses dois anos de pesquisa, pelas críticas, correções e sugestões feitas durante a orientação,

Aos meus co-orientadores e professores do NUPEEC, pelos ensinamentos técnicos e profissionais,

Ao Professor Dr. Marcio Corrêa, pelo apoio, incentivo e ensinamentos,

Aos meus colegas de trabalho do NUPEEC, pela ajuda na execução do projeto e companheirismo nas horas difíceis e àqueles que se tornaram meus amigos pelo incondicional apoio em todos os momentos,

A Granja 4 Irmãos, especialmente ao gerente da Pecuária Leiteira, Eduardo Xavier, por proporcionar a realização do experimento,

A todos que de alguma forma, nesses dois anos, acreditaram e me fizeram crescer.

Resumo

DEMARCO, Claudia Faccio. **Efeito da suplementação de uma associação de levedura viva e hidrolisada sobre a qualidade do leite e desempenho produtivo de vacas leiteiras.** 2015. 65f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós Graduação em Zootecnia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

A suplementação com levedura é associada com alterações no rúmen para auxiliar a digestibilidade da fibra e com isso gerar impactos sobre a saúde e o desempenho animal. Além de melhorar a microflora ruminal, os componentes de parede celular da levedura apresentam um potencial imunomodulador. O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito sobre o desempenho produtivo, saúde da glândula mamária e perfil metabólico de vacas leiteiras suplementadas com cultura de levedura mais cultura de levedura hidrolisada enzimaticamente (YC-EHY) durante o período de transição e lactação. Trinta vacas da raça Holandês foram divididas em dois grupos: grupo Controle que recebia a dieta necessária para suprir as necessidades segundo o NRC 2001, e grupo YC-EHY que recebeu a mesma dieta do controle mais 28 g de cultura de levedura mais levedura hidrolisada enzimaticamente de *Saccharomyces cerevisiae* (YC-EHY; Celmanax[®], Vi-COR, Mason City, IA). Os animais iniciaram a suplementação aos 35 dias da previsão do parto e permaneceram recebendo até 150 dias pós-parto. O escore de condição corporal (ECC), peso corporal, contagem de células somáticas, composição e produção de leite foram avaliados semanalmente. Amostras de sangue coletadas aos -21, -7, 0, 3, 7, 14, 21, 35 e 42 dias da previsão do parto e analisada para albumina, ureia, β -hidroxibutirato (BHBA) e ácidos graxos não esterificados (AGNE). Os dados foram analisados usando Mixed Models com medidas repetidas. A produção de leite foi maior (27.88 ± 0.98 , 24.58 ± 0.99 kg/dia para o grupo YC-EHY e Controle respectivamente; $P=0,03$) durante os primeiros 50 dias em lactação, sem diferença na composição do leite com exceção de uma diminuição nos teores de proteína ($P=0,03$) no grupo YC-EHY. Não houve efeito nos valores de CCS ($P=0,55$), porém ao fazer uma distribuição de frequência dos valores de CCS, houve uma tendência de maior frequência de valores abaixo de 250.000 células/mL no grupo YC-EHY ($P=0,08$). A suplementação com levedura não afetou as concentrações de albumina, ureia, AGNE e BHBA. A suplementação com levedura não mostrou efeitos adicionais ao ECC. A suplementação com cultura de levedura associada à levedura hidrolisada no período de transição foi eficaz ao melhorar a produção de leite, sem alterar o perfil metabólico desses animais no período de transição e pode apresentar benefícios à imunidade da glândula mamária ao apresentar uma frequência menor de CCS.

Palavras-chave: levedura, metabolismo, produção de leite, periparto.

Abstract

DEMARCO, Claudia Faccio. **Effect of supplementation with an association of live and hydrolyzed yeast on milk quality and production performance in dairy cows.** 2015. 65p. Dissertation (Master) – Programa de Pós Graduação em Zootecnia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Supplementation with yeast is associated with changes in the rumen to the auxiliary fiber digestibility and thus generating impacts on health and animal performance. In addition to improving ruminal microflora, components of the yeast cell wall having immunomodulating potential. The aim of this study was to evaluate the effect on performance, health of the mammary gland and metabolic profile of dairy cows supplemented with yeast culture plus enzymatically hydrolyzed yeast (YC-EHY) during the transition period and lactation. Thirty multiparous Holstein dairy cows were divided into two groups: control group receiving the diet necessary to meet the needs according to the NRC 2001 and YC-EHY group who received the same diet than the control group plus 28 g of yeast plus hydrolyzed enzymatically yeast of *Saccharomyces cerevisiae* (YC-EHY; Celmanax[®], Vi-COR, Mason City, IA). The animals began supplementation at 35 days for the expected calving date. Cows remained on their respective treatment through 150 days postpartum. Body condition score (BCS), body weight, composition, somatic cell count (SCC) and milk production were evaluated weekly. Plasma samples collected on -21, -7, 0, 3, 7, 14, 21, 35 and 42 d relative to calving were analyzed for albumin, β -hydroxybutyrate (BHB), urea and nonesterified fatty acids (NEFA). Data were analyzed using mixed models with repeated measures over time. Milk production was higher (27.88 ± 0.98 , 24.58 ± 0.99 kg/day for the YC-EHY group and control respectively; $P=0,03$) during the first 50 days in milk with no differences in milk composition except a decrease in protein content ($P=0,03$) in the YC-EHY group. There was no effect on SCC values ($P=0,55$), but in a frequency distribution of a range of CCS, there was a trend of higher frequency values below 250,000 cells / mL when cows were supplemented with yeast ($P = 0,08$). Supplementing YC-EHY but did not affect albumin, BHB, urea and NEFA concentrations. Feeding yeast culture did not show additional effects on BSC.

The supplementation of yeast culture associated with hydrolyzed yeast during the transition period was effective in improving milk production without altering the metabolic profile of the animals during the transition period and may have benefits for animal immunity reflected in a lower frequency of SCC.

Keywords: yeast culture, metabolism, milk production, peripartum.

Sumário

1. Introdução	8
2. Projeto de Pesquisa	13
2.1. Caracterização do Problema.....	14
2.2. Objetivos e Metas	16
2.2.1. Objetivo Geral	16
2.2.2. Objetivos específicos	16
2.3. Metodologia.....	17
2.4. Resultados e Impactos esperados	22
2.5. Cronograma do Projeto.....	23
2.6. Aspectos Éticos.....	24
2.7. Referências Bibliográficas.....	25
3. Relatório de Trabalho de campo	27
3.1. Local das Instalações.....	27
3.2. Animais e tratamentos	27
3.3. Alimentação	27
3.4. Coleta de amostras	29
3.5. Análises	29
4. Artigo.....	32
5. Conclusão geral	60
6. Referências Bibliográficas.....	61

1. Introdução Geral

Vacas no período de transição, este compreendido entre as três semanas anteriores até três semanas após o parto (Overton e Waldron, 2004), passam por uma mudança súbita, de um estado gestacional não lactante para não gestacional lactante. Devido a isso, esses animais sofrem alterações nas funções metabólicas e imunes ocasionadas pelo aumento da necessidade energética que é direcionada para o crescimento fetal e lactogênese (Herdt et al., 2000). O período de transição refletirá diretamente na saúde, desempenho reprodutivo e rentabilidade da lactação futura, tornando-se a passagem desse período um grande desafio para a vaca leiteira (Overton e Waldron, 2004).

Ao mesmo tempo em que ocorre uma diminuição na ingestão de matéria seca (IMS) relacionada às mudanças físicas, comportamentais, metabólicas e hormonais (Allen et al, 2005; Grummer et al, 2004), a alta demanda energética direcionada à glândula mamária, para a síntese e secreção de leite é observada (Yuan et al., 2015; Grummer et al., 1995).

Essa alta demanda por nutrientes para a manutenção da lactação é acompanhada pela mobilização das reservas corporais para suportar a produção de leite (Esposito et al., 2014) resultando em um declínio acentuado do peso e escore de condição corporal (ECC) (Bobe et al., 2004) e aumento nos níveis plasmáticos de ácidos graxos não esterificados (AGNE) e β -hidroxibutirato (BHBA) (Grummer et al., 1995). Esse aumento nos níveis de AGNE está relacionado com efeitos negativos no sistema imune levando ao aumento de doenças no periparto (Melendez et al., 2009).

Entre as doenças no pós-parto, a mastite é a que acarreta os maiores prejuízos econômicos à produção de leite (Santos et al., 2004) pela redução da quantidade e qualidade do leite produzido, ou pela perda da capacidade secretora da glândula mamária (Bradley et al., 2002).

Um grande desafio para as vacas leiteiras é se adaptar ao aumento das necessidades de nutrientes e energia após o parto (Overton e Waldron, 2004) e para isso uma grande variedade de estratégias nutricionais para facilitar as adaptações metabólicas e fisiológicas da gestação até o início da lactação têm sido propostas (Friggens et al., 2004; Roche et al., 2013) como a utilização de ionóforos (Petersson-Wolfe et al., 2007), aminoácidos protegidos como a

metionina e lisina (Vargas-Rodriguez et al., 2014), butafosfan e cianocobalamina (Pereira et al., 2013). Entre elas se encontra os aditivos alimentares como os direct fed microbial, que são produtos compostos por microrganismos vivos (viáveis), sejam eles bactérias ou leveduras (FDA 2014). Nessa classe, se destacam os produtos derivados da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, que utilizados como promotores de saúde animal são adicionados às dietas com objetivos de melhorar a fermentação ruminal e refletir na produção de leite (Yuan et al., 2015).

Os produtos da parede celular hidrolisada enzimaticamente, que contém MOS e β -glucanos e metabólitos da levedura são adicionados ao meio de cultura da levedura. Essa adição diferencia daqueles produtos que são unicamente a levedura viva, em que devem estar viáveis para terem um efeito direto no rúmen, utilizando o oxigênio (Marden et al., 2008).

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é comumente utilizada em dietas para vacas lactantes para alterar a fermentação e promover mudanças nos processos ruminais (Piva et al., 1993; Newbold et al., 1996). Muitos estudos têm demonstrado que a levedura pode aumentar a IMS, digestibilidade dos nutrientes, auxiliar a estabilizar o pH ruminal e por consequência aumentar a produção de leite (Callaway e Martin, 1997; Dann et al., 2000; Shaver e Garrett, 1997; Wohlt et al., 1998).

Os efeitos e o modo de ação das leveduras na microbiota ruminal ainda estão em estudo e muitos mecanismos já foram descritos, sendo os três efeitos principais identificados: melhoria na maturação do rúmen pelo estabelecimento da microbiota; estabilização do pH ruminal e a interação com bactérias lactato-metabolizantes e por último o aumento da degradação da fibra e interação da parede celular com microrganismos degradadores (Chaucheyras-Durand et al., 2008). A partir dessa atuação no ambiente ruminal, há melhora na disponibilidade nutricional e energética da dieta e na produção de leite pela promoção no rúmen de bactérias celulolíticas e utilizadoras de lactato (Harrison et al, 1988; Callaway e Martin, 1997).

O mecanismo mais aceito para explicar o modo de ação da levedura no rúmen é pela otimização da degradação da fibra através da eliminação do oxigênio dissolvido presente no rúmen e melhorando o metabolismo do lactato (produção e utilização), criando com isso um ambiente anaeróbico ótimo para o

crescimento das bactérias celulolíticas (AlZahal et al., 2014). Embora o ambiente ruminal seja estritamente anaeróbio, Newbold et al. (1995) demonstrou que 16L por dia de oxigênio podem entrar no rúmen através da alimentação, consumo de água e salivação. Além de fornecer fatores de crescimento para bactérias incluindo ácidos orgânicos, vitamina B e aminoácidos que estimulam o crescimento microbiano principalmente das bactérias utilizadoras de lactato (Chaucheyras-Durand et al., 2008).

Com o consumo de carboidratos rapidamente fermentáveis, uma queda no pH ruminal é observada pós prandial, levando a um aumento na concentração de ácidos graxos voláteis o que contribui para a queda deste. Com a queda do pH ruminal, as espécies de bactérias produtoras de lactato (como *Streptococcus bovis*) ultrapassam o número de bactérias utilizadoras de lactato (*Megasphaera elsdenii*) levando a um acúmulo de lactato no rúmen (Chaucheyras-Durand et al., 2008).

Quando o pH está baixo, a diversidade da microbiota diminui, o número de protozoários diminui e a população microbiana está alterada, havendo um prejuízo na digestibilidade da fibra. A maioria das espécies degradadoras de fibra são sensíveis à queda do pH. Na acidose subclínica, as endotoxinas e lipolissacarídeos (LPS) são liberadas pela lise das bactérias gram negativas, sensíveis ao baixo pH. O LPS pode se translocar para a circulação e iniciar uma resposta inflamatória (Chaucheyras-Durand et al., 2008). A suplementação com levedura durante o período de transição pode ser uma alternativa para aumentar a IMS e maximizar a eficiência alimentar e assim afetando o desempenho produtivo e a saúde desses animais (Eastridge et al., 2006).

Os efeitos da levedura viva na estabilização do pH ruminal foram demonstrados em estudos *in vitro*, em que cepa de *Saccharomyces cerevisiae* foi capaz de competir com *Streptococcus bovis* pela utilização de açúcar, limitando conseqüentemente o lactato produzido por essa espécie de bactéria. Esse efeito foi observado quando utilizado levedura viva. Além disso, a estimulação do crescimento e metabolismo das bactérias utilizadoras de lactato foi observado *in vitro* na presença de leveduras vivas através de um aporte de fatores de crescimento como aminoácidos, peptídeos, vitaminas e ácidos orgânicos (Chaucheyras-Durand et al., 2008).

Um recente estudo de Pinloche et al. (2013) demonstrou que a suplementação com um produto a base de levedura viva aumentou as concentrações de ácidos graxos voláteis, o pH, e diminuiu os níveis de lactato e essas mudanças podem estar associadas com a manutenção da população microbiana do grupo das bactérias fibrolíticas e das utilizadoras de lactato.

Leveduras vivas influenciam o crescimento e a atividade de microrganismos degradadores de fibra no rúmen. Foi demonstrado através do estudo de Fonty e Chaucheyras-Durand (2006) um aumento no número e crescimento das principais bactérias do grupo celulolíticas (*F. succinogenes*, *R. albus* e *Ruminococcus flavefaciens*). Alguns autores sugerem que a levedura pode incrementar a colonização fúngica das paredes celulares das plantas e estimular o crescimento de bactérias fibrolíticas (Chaucheyras-Durand et al., 2008). Esse mecanismo pode ser a explicação da melhoria na digestibilidade da fibra, resultando em maior aproveitamento do alimento ingerido e um aporte nutricional maior para as várias demandas que o animal no pós-parto recente requer (Yuan et al., 2015).

Todos esses efeitos positivos no rúmen como a estabilização do pH, maior digestibilidade da fibra e maior equilíbrio da microbiota fazem com que o animal passe pelo período de transição em um BEN menos acentuado, uma vez que a disponibilidade energética do alimento ingerido é aumentada. Além disso, os componentes da parede da levedura tem ação imunomoduladora.

Muitos componentes da cultura de levedura tem demonstrado ter capacidade imunomodulatória. Os mananos oligossacarídeos (MOS), um componente da parede celular, podem atuar como um ligante de alta afinidade sendo um competidor pelo sitio de ligação das bactérias gram-negativas (Ofek et al., 1977). Os benefícios imediatos estão associados com a remoção dos patógenos do sistema digestivo sem que haja a colonização. Esse fenômeno pode provocar respostas antigênicas significativas, aumentando assim a imunidade humoral contra patógenos específicos através da apresentação de antígenos atenuados para as células imunes (Ballou et al., 1970; Ferket et al., 2003). Outro componente da parede celular da levedura é o β -1,3/1,6-glucano (β -glucano), que tem demonstrado efeitos imunomoduladores, podendo ativar macrófagos, neutrófilos, células natural killers, linfócitos B e T e aumentar a fagocitose e a produção de citocinas nos macrófagos (Jensen, 2008).

Estudos como o de Zaworski et al. (2014) e Yuan et al. (2015) que demonstram a utilização de leveduras e seus produtos durante o período de transição com efeitos indiretos no aumento da produção de leite e em seus componentes como a gordura vão de acordo com estudos que avaliam somente a ação da levedura no rúmen estabilizando seu pH, aumentando a digestibilidade da fibra, a ingestão de matéria seca (DeVries et al., 2014; AlZahal et al., 2014; Chauheyra-Durand et al., 2008). No entanto, trabalhos investigando a suplementação com leveduras e seus produtos em sistemas semiextensivo de produção de leite e seus impactos na produção e saúde da vaca ainda são escassos.

2. Projeto de Pesquisa

Universidade Federal de Pelotas

PPGZ – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia

Efeito da Suplementação com *Saccharomyces cerevisiae* sobre a Saúde e Performances Produtiva e Reprodutiva de Vacas Leiteiras

Pelotas, Março de 2014.

2.1 Caracterização do Problema

Devido ao aumento da produção do gado leiteiro, tanto em número de animais quanto em produtividade por área, faz-se necessário o aumento da concentração dos nutrientes nas dietas, principalmente proteína e energia (WALLACE, 1994). Aliado ao alto consumo de alimentos concentrados pelos animais de alta produção busca-se cada vez mais trabalhar com produtos que melhorem o desempenho animal, principalmente aqueles que atuam no rúmen, controlando ou modificando o padrão de fermentação, evitando assim os distúrbios metabólicos que são cada vez mais freqüentes nestes animais e aumentando a eficiência alimentar dos mesmos (ENJALBERT et al., 1999).

Estudos recentes têm demonstrado que a suplementação com leveduras aumenta a ingestão de alimento, produção de leite, produção de AGV e digestibilidade da matéria orgânica (DESNOYERS et al., 2009). Estes microrganismos têm sido usados na nutrição animal, tradicionalmente, considerando-se sua composição nutricional. Nas últimas décadas, um grande número de produtos à base de levedura com características diferenciadas têm sido introduzido no mercado. Tais produtos incluem leveduras vivas, inativadas, parede celular, conteúdo celular e leveduras enriquecidas por minerais. (GRAHAM, et al 2012), usados principalmente para ruminantes.

Conforme Lund (1974), leveduras estão presentes no rúmen, no entanto a espécie *Saccharomyces cerevisiae* é uma espécie não encontrada naturalmente. Descrita em 1925, como suplemento protéico (ECKLES e WILLIAMS, 1925), a sua adição atual na dieta visa sua contribuição para o melhor funcionamento do metabolismo animal, bem como estimulador da resposta imune (FRANKLIN, et al., 2005).

Produtos que combinam levedura hidrolisada, extrato de levedura e da cultura de levedura da espécie *Saccharomyces cerevisiae* vêm sendo muito utilizados. A parede de levedura, incorretamente chamada “manano-oligossacarídeo”, tem também o uso consolidado para organismos aquáticos, aves e leitões. Esses produtos são essencialmente complexos de proteínas, β -glucanos e mananos. Os mananos presentes podem inibir a ligação de

bactérias à mucosa intestinal, ajudando a prevenir o aparecimento de doenças, principalmente diarreias, enquanto os β -glucanos estimulam a imunidade animal, como imunomoduladores (GRAHAM, et. al. 2012).

Enfermidades causadas por disfunções ruminais estão associadas a elevados níveis de proteínas de fase aguda, que são indicadores de distúrbios com consequente resposta inflamatória. A liberação de citocinas pró-inflamatórias foi citada por Drackley et al., (2005), como efeito principal na liberação de proteínas de fase aguda, como a haptoglobina. Este evento é representado por estresse imunológico e desvio metabólico. Citocinas pró-inflamatórias também são responsáveis por menor IMS pelos animais, exacerbando assim o balanço energético negativo, bem como por menor eficiência reprodutiva e diminuição na produção de leite (BERTONI, 2000). Diante do exposto, diversas doenças assumem considerável importância, sendo que as enfermidades relacionadas ao manejo alimentar recebem destaque sobre a diminuição da eficiência produtiva e aumento do intervalo entre partos em vacas leiteiras (LUCY, 2001; SARTORI, 2007).

Quando se trata de vacas leiteiras, a saúde da glândula mamária deve receber muita atenção, e a contagem de células somáticas (CCS) tem sido amplamente utilizada como indicadora da sanidade da glândula mamária e da qualidade do leite em diversos países (O'BRIEN et al., 2001). A relação direta entre a ocorrência de mastite e a perda das características do leite justifica o interesse por estudos que avaliem o impacto da CCS sobre a qualidade do produto e seus derivados. Higginbotham et al. (2000) observaram que vacas leiteiras suplementadas com levedura viva tiveram redução de CCS no leite de aproximadamente 50 mil células/ml, justificando assim o seu uso também com este propósito.

2.2 Objetivos e Metas

2.2.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos do uso de levedura hidrolisada na produção e qualidade do leite, sanidade da glândula mamária e desempenho reprodutivo de vacas leiteiras no período de transição.

2.2.2 Objetivos específicos

1. Avaliar o efeito de levedura hidrolisada sobre a produção de leite.
2. Avaliar o efeito de levedura hidrolisada na Contagem de Células Somáticas.
3. Avaliar o efeito de levedura hidrolisada na composição do leite.
4. Relação da suplementação com levedura hidrolisada sobre proteínas de fase aguda (haptoglobulina, paraoxanase, e albumina) e o balanço energético pós-parto.
5. Buscar os efeitos da suplementação com levedura hidrolisada no intervalo parto-1ª ovulação, taxa de concepção no 1º serviço, intervalo parto-concepção e perdas gestacionais entre 30 e 60 dias pós Inseminação Artificial.

2.3. Metodologia

O estudo será dividido em dois experimentos, os quais serão realizados no setor de pecuária de leite da Granja 4 Irmãos S/A, propriedade localizada no município de Rio Grande - RS e que dispõe de todos os requisitos necessários para a melhor realização deste projeto, uma vez que possui atualmente a 10º maior produção leiteira do país, contando com um rebanho de aproximadamente 1.000 vacas em lactação. A propriedade possui acordo de cooperação firmado junto a UFPel, o qual trata de interações em pesquisa envolvendo bovinos de leite.

Os procedimentos experimentais serão realizados com o produto Celmanax® (Vi-COR, USA), que é um produto comercial que combina levedura hidrolisada, extrato de levedura e da cultura de levedura da espécie *Saccharomyces cerevisiae*. Os dois experimentos ocorrerão de forma concomitante, e os mesmos animais descritos no experimento 1, serão utilizados para as avaliações do experimento 2.

Experimento I

Animais e grupos experimentais:

Serão selecionadas 50 vacas em lactação da raça Holandês, mantidas em sistema de criação a pasto, com duas ordenhas diárias e suplementação de concentrado após cada ordenha. Os animais serão segregados em dois grupos experimentais: grupo controle, composto por 25 animais recebendo dieta com a proporção volumoso x concentrado de 50:50, e grupo Celmanax®, composto por 25 animais que receberão a mesma dieta, porém com a inclusão de 28g/vaca/dia de cultura de levedura hidrolisada por enzimas (Celmanax®, Vi-COR, USA) desde os 45 dias pré parto, até os 150 dias pós parto. Serão mantidas as homogeneidades quanto aos dias em lactação, escore de condição corporal e número de partos, entre os grupos. As vacas de ambos os grupos serão manejadas conjuntamente durante o período experimental.

Análises laboratoriais sanguíneas:

Serão coletadas amostras de sangue semanais, de todos os animais, através de punção do complexo vascular coccígeo, em sistema do tipo *vaccuntainer* e a amostra dividida em 2 frascos: 1 contendo EDTA 10% (5 ml de sangue), e 1 frasco contendo apenas o sangue (10 ml). Imediatamente, as amostras de sangue serão centrifugadas a 3000 rpm durante 15 minutos e o soro repassado para tubos *ependorf*. As amostras provenientes do sangue serão congeladas a -80°C para posteriores análises bioquímicas. As amostras contendo EDTA 10% serão refrigeradas e enviadas para laboratório para realização de hemograma e leucograma num prazo máximo de 24 horas após a coleta.

- Concentração de proteínas de fase aguda (paraoxonase, haptoglobina e albumina): A concentração de paraoxonase será determinada utilizando um kit comercial (Zeptometrix, Buffalo, NY, EUA) e a absorbância será lida usando técnica enzimática espectrofotométrica (T80 UV / VIS Spectrometer PG Instruments Ltd, acoplado ao sistema de aquecimento PTC-2 Controlador de temperatura de Peltier) e software (software UVW in 80 v 5.0.5). A haptoglobina será analisada pela técnica colorimétrica descrita por Jones e Mould, 1984 e absorbância será lida em um leitor de placas (Thermo Plate® TP-Reader, São Paulo, Brasil). As concentrações de albumina serão medidas colorimetricamente utilizando kits comerciais, Albumina (Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa, SP, Brasil).

- Hemograma e Leucograma: visando o acompanhamento do perfil hematológico dos animais, serão realizados hemogramas e leucogramas. As contagens do número absoluto de células do sangue serão realizadas usando um analisador hematológico veterinário Poch-100iVDiff (Sysmex® - São Paulo, Brasil). Serão avaliadas as contagens totais de leucócitos, hemácias, plaquetas e também o volume globular (VG). As contagens de leucócitos diferenciais serão determinadas por contagem de 200 células em esfregaços de sangue corados com Panótico Rápido (LaborClin® - Paraná, Brasil). A contagem absoluta de leucócitos será calculada utilizando a contagem de leucócitos totais obtidos a partir do sistema Poch-100iVDiff.

- Avaliação do balanço energético

Esta avaliação será feita através de mensurações dos níveis de ácidos graxos não esterificados (NEFA), beta hidroxibutirato (BHBA) e de IGF-1. Serão realizadas coletas de sangue semanalmente, desde 45 dias pré-parto até 63 dias pós-parto. As concentrações plasmáticas de NEFA e BHBA serão medidas por kits comerciais (Wako NEFA-HR, Wako Chemicals EUA ®, Richmond, EUA e BHBA: Ranbut, Randox ® Laboratories Ltd, UK) de acordo com o método descrito por Ballou et al. (2009). Para determinação do genótipo e avaliação da concentração plasmática de IGF-I, no momento da IA será realizada punção da veia coccígea para coleta de sangue. As amostras serão coletadas em tubos *vacutainer* contendo EDTA. Parte do sangue total será centrifugada e o plasma separado e congelado a -20° C para análise de IGF-I. O restante do sangue total será mantido a 4° C até o momento da extração de DNA.

A concentração plasmática de IGF-I será mensurada utilizando um kit comercial de ELISA do tipo sanduíche DSL-10-280 ACTIVE Non-extraction IGF-I ELISA (Diagnostics Systems Laboratories Inc.)

Análise do Leite

Semanalmente, desde o dia do parto até 150 dias pós parto, serão realizadas coletas de leite de todos os animais para análise da composição (proteína, gordura e lactose) e contagem de células somáticas (CCS) que serão realizadas no Lableite da EMBRAPA Clima Temperado, de Pelotas – RS.

Análises zootécnicas

Dados de produção de leite por vaca/dia, peso corporal, escore de condição corporal e estimativa da IMS serão realizadas semanalmente durante todo o período experimental. Os dados de produção serão obtidos através do programa Alpro®, De Laval.

Análise estatística

Os dados obtidos deste experimento serão analisados no programa estatístico SAS (SAS Institute Inc., Cary, EUA). As médias serão analisadas através do método MIXED MODELS, considerando o animal, os dias em

lactação, escore de condição corporal e o número de partos como efeitos fixos. A comparação de médias individuais será feita através do teste de Tukey-Kramer. Serão considerados significativos valores de $P < 0,05$.

Experimento II:

Animais e grupos experimentais:

Serão utilizadas 200 vacas leiteiras da raça Holandês durante os períodos pré e pós parto, com duas ordenhas diárias, mantidas em sistema de criação a pasto e dieta com a proporção volumoso x concentrado de 50:50. Destes 200 animais, 50 serão os mesmos utilizados e descritos no experimento 1. As vacas serão distribuídas em dois grupos: grupo controle, composto por 100 animais (dos quais 25 serão os mesmos usados como controle no experimento 1), e grupo Celmanax[®], composto por 100 animais (dos quais 25 serão suplementados desde o pré-parto, pois são os mesmos do experimento 1) que receberão a dieta com a inclusão de 28g/vaca/dia de cultura de levedura hidrolisada por enzimas (Celmanax[®], Vi-COR, país) desde o dia do parto até 150 dias pós-parto.

Avaliações de Saúde

A casuística clínica do rebanho será monitorada por um Médico Veterinário, sendo registrada a ocorrência de qualquer enfermidade durante o período experimental, e assim poderá ser avaliada a incidência de afecções clínicas.

Análises sanguíneas

Será avaliado o nível de progesterona plasmática pós parto semanalmente (até 50 dias pós-parto (DPP)), para constatação do intervalo parto-1^o ovulação, de 20 animais de cada grupo.

Análises zootécnicas

Dados de produção de leite por vaca/dia serão colhidos através do programa Alpro[®].

Performance Reprodutiva

Aos 50 dias pós-parto todas as vacas serão submetidas a um exame ginecológico completo e começarão um protocolo de sincronização da ovulação, sendo inseminadas aos 60 DPP. A partir deste momento, ocorrerá a observação de estro duas vezes por dia, durante todo o restante da lactação. Serão realizados por ultrassonografia diagnósticos de gestação aos 30 e 60 dias após a inseminação artificial (IA), formando-se a taxa de concepção no 1º serviço pós-parto e perdas gestacionais entre 30 e 60 dias pós IA. Ao final do período experimental, também será possível avaliar o intervalo parto-concepção (IPC), taxa de prenhez ao primeiro serviço e o número de serviços por concepção, de todos os animais pertencentes ao experimento.

Análise estatística

Os dados serão analisados no programa estatístico SAS (SAS Institute Inc., Cary, EUA). As médias serão analisadas através do método MIXED MODELS, considerando o animal, escore de condição corporal e o número de partos como efeitos fixos. A comparação de médias individuais será feita através do teste de Tukey-Kramer. Serão considerados significativos valores de $P < 0,05$.

Estrutura a ser utilizada

Os estudos serão conduzidos junto ao Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC) e ao Hospital de Clínicas Veterinária da UFPel. O NUPEEC mantém convênio com os laboratórios de análise de leite da Embrapa, de Bioquímica Clínica da UFPel, de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia e também com o Centro de Biotecnologia da mesma Universidade.

2.4. Resultados e Impactos esperados

Espera-se que o uso de suplementação com levedura aumente a produção de leite e a resposta imunológica de vacas leiteiras no período de transição, diminuindo assim a prevalência de enfermidades comuns nesta fase produtiva e proporcionando desta forma também uma melhora da qualidade do leite, com redução na CCS. Esta melhora orgânica provavelmente repercutirá na melhora na eficiência reprodutiva, devido aos efeitos benéficos da cultura de levedura sobre a ingestão de alimento, o pH ruminal e na diminuição da incidência de acidose ruminal (CALLAWAY e MARTIN, 1997; DANN, et al., 2000)

2.5. Cronograma do Projeto

Quadro 1– Cronograma de atividades e compra de materiais para a execução do projeto (24 meses).

Atividades	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
Revisão da Literatura	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Reunioes semanais sobre o andamento do projeto	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Seleção dos Animais			x																						
Ajuste de metodologias laboratoriais				x	x																				
Execução do experimento I no campo						x	x	x																	
Execução do experimento II no campo						x	x	x	x	x	x														
Processamento das amostras												x	x	x											
Organização dos dados e análises estatísticas														x	x	x	x								
Organização de trabalhos para eventos científicos da área																			x	x					
Confecção dos artigos e da tese																					x	x	x	x	

2.6. Aspectos Éticos

Todos os procedimentos que serão realizados com os animais estarão de acordo com os princípios éticos na experimentação animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. Após o término do experimento, todos os animais permanecerão na fazenda dando continuidade à produção.

2.7. Referências Bibliográficas

BERTONI, G., E. Trevisi, X. Han, and M. Bionaz. 2008. Effects of inflammatory conditions on liver activity in puerperium period and consequences for performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91:3300-3310.

CALLAWAY, E.S., Martin, S.A., 1997. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on ruminal bacteria that utilize lactate and digest cellulose. *J. Dairy Sci.* 80, 2035–2044.

DANN, H.M., Drackley, J.K., McCoy, G.C., Hutjens, M.F., Garrett, J.E., 2000. Effects of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on prepartum intake and postpartum intake and milk production of Jersey cows. *J. Dairy Sci.* 83, 123-127.

DESNOYERS M. et al., Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. American Dairy Science Association, 2009.

DRACKLEY, J.K., Dann, H.M., Douglas, G.N., Janovick-Guretzky, N.A., Litherland, N.B., 2005. Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders. *Ital. J. Anim. Sci.* 4:323-344.

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

ENJALBERT, F., Garret, J.E., Moncoulon, R., Bayourthe, C., Chicoteau, P. Effects of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on ruminal digestion in non-lactating dairy cows. *Anim. Feed.* 1999.

FRANKLIN, S.T.; Newman, K.E.; Meek, K.I. Immune parameters of dry cows fed mannanoligosaccharide and subsequent transfer of immunity to calves. *Journal of Dairy Science*, 2005.

GRAHAM, H., Santos, T. T., Wadt, G. Modo de ação de produtos à base de leveduras na nutrição animal. <http://www.avisite.com.br/cet/trabalhos.php?codigo=169> acesso em 21/09/2012.

HIGGINBOTHAN, G.; Merrian, J.; Sullivan, J. Efecto de una levedura viva o in cultivo de levedura sobre producción de leche y parámetros relacionados en vacas al inicio de la lactancia. In: Seminario Internacional de Microbiología Aplicada a Nutrición Animal, 2, 2000. Guadalajara. Anais...Guadalajara, 2000.

LUCY, M. C. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? J. Dairy Sci. 84:1277–1293, 2007.

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

O'BRIEN, B.; MEANEY, W. J.; McDonagh, D.; Kelly, A. Influence of somatic cell count and storage interval on composition and processing characteristics of milk from cows in late lactation. Australian Journal of Dairy Technology, v. 56, n. 3, p. 213-218, 2001.

SARTORI, R. Manejo reproductivo da fêmea leiteira. Reprod. Anim., 31, 153-159, 2007.

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

3. Relatório de Trabalho de campo

3.1 Local das Instalações

O estudo foi realizado em uma propriedade comercial leiteira no município de Rio Grande, Rio Grande do Sul, nas coordenadas geográficas 32°16'S, 52°32'E, nos meses de agosto de 2013 a fevereiro de 2014. Com sistema de criação a pasto, semiextensivo com ordenha mecânica realizada duas vezes ao dia.

3.2 Animais e tratamentos

Foram utilizadas 30 vacas da raça Holandês segregadas em dois grupos, acompanhadas durante os 35 dias que antecederam o parto até 150 dias de lactação. Para manter a homogeneidade dos grupos foi considerado número de lactações (entre 2 e 4), média de peso corporal ($641,46 \pm 22,3\text{kg}$), escore de condição corporal (ECC) em $3,15 \pm 0,05$ e ausência de mastite na última lactação. Os grupos foram manejados conjuntamente durante o período experimental. O tratamento consistia em 0 (controle) e 28g/dia/vaca de um produto contendo Cultura de Levedura mais Levedura Hidrolisada Enzimaticamente (YC-EHY; Celmanax[®], Vi-COR, Mason City, IA).

3.3 Alimentação

Os animais no período pré-parto permaneciam em pastagem de campo nativo, recebendo concentrado e volumoso no cocho. Após o parto os animais recebiam a dieta da fase colostro, recebendo concentrado e volumoso após a ordenha até aproximadamente 12 dias quando passavam a receber a dieta da fase de lactação também com fornecimento de concentrado e volumoso após a ordenha onde permaneceram até o final do período experimental. As dietas foram formuladas para exceder ou igualar os requerimentos segundo o NRC, 2001 e está demonstrada na tabela 1.

Tabela 1. Estimativa de oferta dos ingredientes da dieta fornecida aos animais desde o pré-parto (-21 dias) até 150 dias pós-parto, para os grupos Controle e YC-EHY. (YC-EHY: Celmanax[®], Vi-COR, Mason City, IA).

Dieta	Itens	Estimativa (kg de MS/dia)
Pós-parto		

Azevém	7.8
Pré secado azevém	3
Concentrado	11.7
Pré-parto	
Silagem de sorgo	4.8
Palha de arroz	3.5
Campo Nativo	5
Concentrado	4.5

Mensalmente foi realizada a análise bromatológica da dieta das vacas utilizadas conforme a tabela 2 e na tabela 3 discriminando o concentrado utilizado.

Tabela 2. Ingredientes e composição da dieta fornecida aos animais desde o pré-parto (-21 dias) até 150 dias pós-parto, para os grupos Controle e YC-EHY.

Ingredientes, %MS na dieta	Dieta	
	pré-parto	pós-parto
Concentrado	17,99	52,00
Volumoso ¹	82,01	48,00
Composição nutricional %		
MS	87,14	74,86
Cinzas	8,23	8,47
PB	9,69	10,39
FDN	50,50	53,56
FDA	27,22	28,82
EE	1,92	2,29

¹Pré-secado de azevém, silagem de sorgo, palha de arroz, campo nativo e pastagem de azevém.

Tabela 3. Composição do concentrado fornecido junto ao volumoso para os animais desde 21 dias antes do parto até 150 dias pós-parto, para os grupos Controle e YC-EHY.

Ingrediente	% MS
Casca de Soja	26.73
Farelo de Arroz	22.12
Milho moído	21.02
Sorgo moído	12.78
Farelo de soja	11.86
Calcáreo	2.20
Bicarbonato de sódio	2.20

NNBI MON BIOTINA	0.76
Ureia	0.22
Sal Branco	0.11

3.4 Coleta de amostras

Amostras de sangue foram coletadas semanalmente de todos os animais, através de punção do complexo vascular coccígeo, em sistema do tipo *vacutainer* divididas em dois tubos: um tubo vacuolizado contendo anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) de capacidade 5mL, e outro tubo, também vacuolizado sem anticoagulante de capacidade 10mL. Imediatamente após a coleta, as amostras de sangue foram centrifugadas a 1800 g durante 15 minutos, o soro e o plasma separados, e acondicionados em microtubos de 1,5mL e congeladas a -80°C para posteriores análises.

As amostras de leite foram realizadas semanalmente, com amostra de leite composto, ou seja, das duas ordenhas para a análise da composição e a coleta de leite de uma ordenha para análise de CCS, desde os 15 dias pós-parto até 150 dias pós-parto. As coletas foram intercaladas, mantendo um intervalo quinzenal para ambas as amostras de leite. As amostras de leite foram colhidas em frascos contendo conservante bronopol, mantidas sob refrigeração e enviados para o laboratório Lableite da EMBRAPA Clima Temperado, de Pelotas – RS.

3.5 Análises

Análises bioquímicas

Para a avaliação do metabolismo proteico foi determinado os teores séricos de ureia e albumina através de análise colorimétrica por kit comercial (Labtest, Belo Horizonte, Brasil). As leituras das amostras foram realizadas em espectrofotômetro BioEspectro® SP 220 (Bioespectro, Curitiba, Brasil).

O balanço energético foi avaliado através das mensurações dos níveis de AGNE e BHBA através de kits comerciais (Wako NEFA-HR, Wako Chemicals EUA®, Richmond, EUA e BHBA: Ranbut, Randox® Laboratories Ltd, UK) de acordo com o método descrito por Ballou et al. (2009).

Análise do Leite

A análise de composição do leite foi realizada por espectrometria de absorção no infravermelho médio (MID) e a CCS por citometria de fluxo. A produção de leite foi obtida semanalmente através do programa Alpro®, De Laval. A produção corrigida para 4% de gordura (FCM) foi calculada (NRC, 2001) como $[0,4 \times \text{leite (kg/dia)} + 15,0 \times \text{gordura (kg/dia)}]$. Já a produção corrigida para energia (ECM) foi calculada segundo a equação: $\text{ECM} = [(0,327 \times \text{leite (Kg/dia)}) + (12,95 \times \text{gordura (kg /dia)}) + (7,65 \times \text{proteína (kg/dia)})]$ (Dairy Records Management Systems, 2014). O cálculo para persistência à lactação foi realizado de acordo com a taxa em que a produção de leite diminui a partir da produção máxima (Sanders, 1930). Semanalmente foi mensurado o peso corporal e o escore de condição corporal de todos os animais do experimento.

Análises zootécnicas

Semanalmente foi mensurado o peso corporal, através de balança eletrônica e o escore de condição corporal de todos os animais do experimento. Para o escore de condição corporal, utilizou-se a escala de 1 a 5 (Edmonson et al., 1989), sendo realizada por ter técnicos capacitados e a média das três avaliações em casa ponto estimado foi considerada.

Análises Bromatológicas

As amostras dos alimentos foram coletadas semanalmente. Após a coleta, as mesmas eram enviadas ao Laboratório de Nutrição Animal (UFPEl) para serem secas e moídas. Após isso, as amostras foram analisadas no Laboratório de Nutrição Animal e Bromatologia (Udesc). Os teores de MS total foram determinados por secagem em estufa (135°C; AOAC Internacional, 2000; método 930.15). As cinzas foram obtidas por incineração (535°C; AOAC Internacional, 2000; método 942.05). A proteína bruta foi medida por método Kjeldhal (AOAC Internacional, 1995; método 984.13). As análises do teor de FDN e FDA foram realizadas de acordo com Mertens, (2002), exceto que as amostras foram pesadas em saquinhos de filtro e tratadas com detergente neutro em um analisador de fibra Ankom (ANKOM Technology, Macedon NY, USA) com o uso de α -amilase, mas sem sulfito de sódio. O extrato etéreo foi

determinado em um sistema de refluxo com éter etílico a 180°C, por 4 horas (AOAC Internacional, 1996; método 4.5.01).

Análise Estatística

Antes de qualquer análise, os dados bioquímicos, zootécnicos e dados da produção e composição foram selecionados para distribuição normal através do teste de normalidade Shapiro-Wilk, do programa estatístico NCSS (2005). Os dados de CCS foram transformados em log por não apresentarem distribuição normal. Todos os valores reportados são das médias dos quadrados mínimos, com significância declarada quando $P < 0.05$ ou tendência quando $P \leq 0.10$.

As médias semanais de peso, ECC, metabólitos (NEFA, BHB, ureia e albumina), produção e composição do leite foram analisadas utilizando análise de medidas repetidas do NCSS (2005). O modelo inclui os efeitos fixos de tratamento (YC-EHY ou controle), tempo e suas interações, além do efeito casualizado da vaca. Além disso, produção de leite na lactação anterior também foi levada em consideração no modelo estatístico e as mesmas foram iguais entre os dois grupos estudados. Para análise de frequência de células somáticas (maior ou menor de 250.000 células/mL entre os grupos) foi utilizado o teste qui-quadrado.

4. Artigo

Preparado para ser submetido na revista *Journal of Dairy Science*

Interpretive Summary

Efeitos da suplementação com associação de levedura viva e hidrolisada enzimaticamente sobre o metabolismo no período transicional, desempenho produtivo e qualidade de leite em vacas leiteiras. Demarco, F.C. The yeast supplementation for dairy cows during the transition period can be an alternative for maximizing the feed utilization and thereby improve the milk production and reduce the risk of diseases. The aim of this study was to evaluate the effect on performance, health of the mammary gland and metabolic profile of dairy cows supplemented with yeast culture plus enzymatically hydrolyzed yeast (YC-EHY) during the transition period and lactation.

LEVEDURA E EFEITOS NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO

Associação de levedura viva e hidrolisada enzimaticamente e seus reflexos no metabolismo no período transicional, desempenho produtivo e qualidade de leite em vacas leiteiras

C. F. Demarco,* T. Mumbach,* V. O. de Freitas,* R. R. F. Silva,† F. M. Gonçalves,

*** M. N. Corrêa,* F. A. B. Del Pino,* C. C. Brauner,* H. M. N. Ribeiro, ‡ B. R. C.**

Rivero,* V. C. Tabeleão, § and Sangita#

***Departamento de Clínicas Veterinária, Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS,**

† Departamento de Medicina Animal, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves 9090, RS 91540-000

‡Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, SC

§Universidade do Sul de Santa Catarina, Tubarão, SC

#Vi-COR Inc., Mason City, IA 50402

ENDEREÇO COMPLETO DO AUTOR, CORRESPONDENTE

ABSTRACT

The yeast supplementation for dairy cows during the transition period can be an alternative for maximizing the feed utilization and thereby improve the milk production and reduce the risk of diseases. The aim of this study was to evaluate the effect on performance, health of the mammary gland and metabolic profile of dairy cows supplemented with yeast culture plus enzymatically hydrolyzed yeast (YC-EHY) during the transition period and lactation. Thirty multiparous Holstein dairy cows were divided into two groups. The animals were fed twice a day, after the milking and held in grazing during the day, with water ad libitum. Treatment consisted of 0 (Control) and 28g/cow/day of a product containing Yeast Culture Yeast more Hydrolyzed Enzymatically (YC-EHY; Celmanax®, Vi-COR, Mason City, IA). The animals began supplementation at 35 days for the expected calving date. Cows remained on their respective treatment through 150 days postpartum. Body condition score, body weight, composition, somatic cell count and milk production were evaluated weekly. Plasma samples collected on -21, -7, 0, 3, 7, 14, 21, 35 and 42 d relative to calving were analyzed for albumin, β -hydroxybutyrate, urea and nonesterified fatty acids. Data were analyzed using mixed models with repeated measures over time. Milk yields were affected (27.75 ± 0.98 , 24.98 ± 0.99 kg/d for YC-EHY and Control respectively) by treatments throughout the supplementation period, no differences in milk composition except a decrease in protein content in the YC-EHY group. In a frequency distribution of a range of somatic cell count, there was a trend of higher frequency values below

250,000 cells / mL when cows were supplemented with yeast. Supplementing YC-EHY but did not affect albumin, β -hydroxybutyrate, urea and nonesterified fatty acids concentrations. Feeding yeast culture did not show additional effects on body score condition. The supplementation of yeast culture associated with hydrolyzed yeast during the transition period was effective in improving milk production without altering the metabolic profile of the animals during the transition period and may have benefits for animal immunity reflected in a lower frequency of somatic cell count.

Keywords: hydrolyzed yeast, milk production, metabolism, transition period.

INTRODUÇÃO

O período de transição é caracterizado por um momento de estresse em que a vaca passa do final de uma gestação para o início de uma lactação e alta demanda energética e de nutrientes para a síntese e secreção de leite (Grummer et al., 1995; Yuan et al., 2015). Essa alta demanda por nutrientes para a manutenção da lactação é acompanhada pela mobilização das reservas corporais para suportar a produção de leite (Esposito et al., 2014) resultando em um declínio acentuado do peso e ECC (Bobe et al., 2004) e aumento nos níveis plasmáticos de NEFA e BHBA (Grummer et al., 1995). Esse aumento nos níveis de NEFA está relacionado com efeitos negativos no sistema imune levando ao aumento de doenças no periparto (Melendez et al., 2009).

A mastite é uma das doenças mais comuns que afetam animais leiteiros e é responsável por grande perda econômica para a indústria láctea (Nocek et al., 2011). O impacto econômico da mastite nos rebanhos leiteiros está relacionado às perdas na produção de leite, na qualidade com aumento da CCS, aumento dos custos com tratamento e descarte do leite e aumento do risco de descarte de animais (DeGraves e Fetrow, 1993). A contagem de células somáticas é um índice comumente utilizado para

avaliar a qualidade do leite e é um indicador usual para diagnóstico de mastite subclínica e seus efeitos conhecidos na produção (Santos et al., 2004).

Uma grande variedade de estratégias nutricionais para facilitar as adaptações metabólicas e fisiológicas da gestação até o início da lactação têm sido propostas (Friggens et al, 2004; Roche et al., 2013). Entre elas a suplementação com aditivos alimentares, como os direct fed microbial. Nessa classe, se destacam os produtos derivados da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, que utilizados como promotores de saúde animal são adicionados às dietas com objetivos de melhorar a fermentação ruminal e a produção de leite (Yuan et al, 2015).

Os benefícios da suplementação com levedura na nutrição de ruminantes podem ser justificados pelos efeitos positivos no ambiente ruminal como melhora da fermentação ruminal através do aumento da digestibilidade de nutrientes, alteração na proporção dos ácidos graxos voláteis produzidos no rúmen, redução da amônia e aumento da população microbiana ruminal (Chaucheyras-Durand et al., 2008). Os resultados da suplementação com produtos da levedura sobre a produção em vacas leiteiras ainda são inconsistentes. Em alguns estudos, a levedura gerou melhora na produção de leite (Piva et al., 1993; Wohlt et al., 1998), entretanto em outros não houve resposta à suplementação (Putnam et al., 1997; Soder e Holden, 1999; Schingoethe et al., 2004) .

Entretanto, os efeitos da suplementação com levedura no metabolismo intermediário durante o período de transição em vacas leiteiras não são completamente conhecidos. Sendo assim, o objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos da suplementação com levedura hidrolisada na produção e composição do leite, na CCS e sobre perfil metabólico de vacas leiteiras durante o período de transição em um sistema semiextensivo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os procedimentos envolvendo os animais deste estudo foram de acordo com o estabelecido pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas, estando registrado e aprovado sob número 6040. O estudo foi realizado em uma propriedade comercial leiteira no município de Rio Grande, Rio Grande do Sul, em um sistema de produção semiextensivo com ordenha mecânica realizada duas vezes ao dia. Foram utilizadas 30 vacas da raça Holandês segregadas em dois grupos, acompanhadas durante os 35 dias que antecederam o parto até 150 dias de lactação. Para manter a homogeneidade dos grupos foi considerado número de lactações, entre duas e quatro, média de peso corporal ($641,46 \pm 22,3\text{kg}$), ECC em $3,15 \pm 0,05$ e ausência de mastite na última lactação.

O peso corporal foi mensurado a fim de homogeneizar os pesos dos animais nos grupos, e no pós-parto utilizando-se balança eletrônica de pesagem de bovinos para realizar o acompanhamento e desempenho dos animais. Para o ECC, utilizou-se a escala de 1 a 5 (Edmonson et al., 1989), sendo realizada por três técnicos capacitados e considerando a média das três avaliações.

Os animais recebiam alimentação no cocho duas vezes, após as ordenhas diárias e permaneciam em pastejo durante o dia, com água *ad libitum*. O tratamento consistia em 0 (controle) e 28g/dia/vaca de um produto contendo Cultura de Levedura mais Levedura Hidrolisada Enzimaticamente (YC-EHY; Celmanax[®], Vi-COR, Mason City, IA). Os grupos foram manejados conjuntamente durante o período experimental e receberam a mesma dieta (Tabela 1), mensalmente foi realizada a análise bromatológica da dieta.

Embora não tenha sido possível quantificar a ingestão de matéria seca neste experimento, o manejo nutricional da propriedade utilizava-se de um programa que

calcula a disponibilidade de forragem e no período de experimento foram quantificados 5 kg de MS/dia/vaca no período pré-parto, em uma pastagem de campo nativo, bem como um consumo de concentrado mais volumoso no cocho de 12,8 kg de MS/dia, enquanto que no pós-parto, os animais permaneciam em uma pastagem de azevém estimando uma oferta de 7,8 kg de MS/dia/vaca e no cocho 14,7 kg de MS/dia/vaca, segundo as exigências do NRC, 2001 para uma vaca de 660kg, com ECC de 3,0 e produção de 28kg/leite diária de composição 3,4% teor de gordura, 3,2% de proteína e 4,85% de lactose. Esses valores eram calculados com base no lote de maior produção da propriedade e no qual os animais do experimento foram incluídos.

As amostras dos alimentos foram coletadas semanalmente. Após a coleta, as mesmas eram enviadas ao Laboratório de Nutrição Animal (UFPEL) para serem secas e moídas. Após isso, as amostras foram analisadas no Laboratório de Nutrição Animal e Bromatologia (UDESC). Os teores de MS total foram determinados por secagem em estufa (135°C; AOAC Internacional, 2000; método 930.15). As cinzas foram obtidas por incineração (535°C; AOAC Internacional, 2000; método 942.05). A proteína bruta foi medida por método Kjeldhal (AOAC Internacional, 1995; método 984.13). As análises do teor de FDN e FDA foram realizadas de acordo com Mertens, (2002), exceto que as amostras foram pesadas em saquinhos de filtro e tratadas com detergente neutro em um analisador de fibra Ankom (ANKOM Technology, Macedon NY, USA) com o uso de α -amilase, mas sem sulfito de sódio. O extrato etéreo foi determinado em um sistema de refluxo com éter etílico a 180°C, 4 horas (AOAC Internacional, 1996; método 4.5.01).

Tabela 1: Ingredientes e composição da dieta utilizada durante o período experimental.

Amostras de sangue foram coletadas semanalmente de todos os animais, através de punção do complexo vascular coccígeo, em sistema do tipo *vacutainer* divididas em

dois tubos: um tubo vacuolizado contendo anticoagulante EDTA e outro tubo, também vacuolizado sem anticoagulante. Imediatamente após a coleta, as amostras de sangue foram centrifugadas a 1800 x g durante 15 minutos, o soro e o plasma separados, e acondicionados em microtubos de 1,5mL e congeladas a -80°C para posteriores análises.

Para a avaliação do metabolismo proteico foram determinados os teores séricos de ureia e albumina através de análise colorimétrica por kit comercial (Labtest, Belo Horizonte, Brasil). As leituras das amostras foram realizadas em espectrofotômetro BioEspectro[®] SP 220 (Bioespectro, Curitiba, Brasil). O balanço energético foi avaliado através da mensuração dos níveis de NEFA e BHBA através de kits comerciais (Wako NEFA-HR, Wako Chemicals EUA[®], Richmond, EUA e BHBA: Ranbut, Randox[®] Laboratories Ltd, UK) de acordo com o método descrito por Ballou et al. (2009).

O leite era coletado semanalmente, com amostras de leite composto, ou seja, das duas ordenhas do dia para a análise da composição e a coleta de leite de somente uma ordenha para análise de CCS, desde os 15 dias pós-parto até 150 dias pós-parto. As coletas foram intercaladas, mantendo um intervalo quinzenal para ambas as amostras de leite. As amostras de leite foram colhidas em frascos contendo conservante bronopol, mantidas refrigeradas e enviados para o laboratório Lableite da EMBRAPA Clima Temperado, de Pelotas – RS.

A análise de composição do leite foi realizada por espectrometria de absorção no infravermelho médio (MID) e a CCS por citometria de fluxo. A produção de leite foi obtida semanalmente através do programa Alpro[®], De Laval. A produção corrigida para 4% de gordura foi calculada segundo a equação $FCM = [0,4 \times \text{leite (kg/dia)} + 15,0 \times \text{gordura (kg/dia)}]$ (NRC, 2001). A produção corrigida para energia foi calculada segundo a equação: $ECM = [(0,327 \times \text{leite (kg/dia)}) + (12,95 \times \text{gordura (kg /dia)}) +$

(7,65 x proteína (kg/dia))] (Dairy Records Management Systems, 2014). O cálculo para persistência à lactação foi realizado de acordo com a taxa em que a produção de leite diminui a partir da produção máxima (Sanders, 1930). Semanalmente foi mensurado o peso corporal e o escore de condição corporal das vacas.

Antes de qualquer análise, os dados bioquímicos, zootécnicos e dados da produção e composição foram analisados para distribuição normal através do teste de normalidade Shapiro-Wilk, do programa estatístico NCSS (2005). Os dados de CCS foram transformados em log por não apresentarem distribuição normal. Todos os valores reportados são das médias dos quadrados mínimos, com significância declarada quando $P < 0.05$ ou tendência quando $P \leq 0.10$. As médias semanais de peso, ECC, metabólitos (NEFA, BHB, ureia e albumina), produção e composição do leite foram analisadas utilizando análise de medidas repetidas do NCSS (2005). O modelo inclui os efeitos fixos de tratamento (YC-EHY ou controle), tempo e suas interações, além do efeito casualizado da vaca. Além disso, produção de leite na lactação anterior também foi levada em consideração no modelo estatístico e as mesmas foram iguais entre os dois grupos estudados. Para análise de frequência de células somáticas (maior ou menor de 250.000 células/mL entre os grupos) foi utilizado o teste qui-quadrado.

RESULTADOS

Produção e Composição de leite

Houve aumento na produção de leite dos animais suplementados comparado ao grupo controle durante os primeiros 50 dias em lactação (27.88 ± 0.98 vs 24.58 ± 0.99 kg/dia; $P = 0.03$; Figura 1). Não houve efeito ($P > 0.10$) na composição do leite, com exceção da proteína que foi menor no grupo tratamento comparado ao controle (2.87 ± 0.03 vs $2.97 \pm 0.03\%$; $P = 0.03$; Tabela 2). Não houve efeito na persistência à

lactação ($P > 0.10$) nos dois grupos, em que o grupo YC-EHY diminuiu sua produção a partir do pico de lactação em -0.173 kg/dia e o grupo controle -0.167 kg/dia.

Tabela 2. Médias \pm erro padrão para produção e componentes do leite de animais do grupo YC-EHY (cultura de levedura e levedura hidrolisada enzimaticamente (Celmanax[®], Vi-COR, Mason City, IA) e Controle. Animais suplementados com 28g/vaca/dia de levedura hidrolisada do dia 21 antes da previsão do parto aos 150 dias pós-parto (n=15).

Figura 1. Curva de Lactação das vacas do grupo Controle e YC-EHY, durante o período pós-parto. Suplementação com 28g/vaca/dia de levedura hidrolisada do dia 21 antes da previsão do parto aos 150 dias pós-parto. Efeito do tratamento ($P = 0.03$) e período ($P < 0.01$) foi observado, porém sem efeito de interação tratamento x período ($P = 0.48$). Valores são médias dos quadrados mínimos \pm erro padrão das médias, n=15. YC-EHY: Cultura de levedura mais levedura hidrolisada enzimaticamente (Celmanax[®], Vi-COR, Mason City, IA).

Em uma distribuição de frequência, categorizando a CCS como alta e baixa contagem em 352 amostras analisadas e considerando o valor de 250×10^3 células/ml como ponto de corte (Swinckles, 2005), o grupo suplementado apresentou uma tendência de 53.2% das amostras coletadas permanecerem abaixo do ponto de corte e o grupo Controle 46.8% ($P = 0.08$), conforme mostra Figura 2.

Figura 2. Distribuição de frequência das amostras coletadas durante o período pós-parto dos grupos YC-EHY e Controle, tendo como ponto de corte o valor de CCS abaixo de 250×10^3 células/mL. Suplementação com 28g/vaca/dia de levedura hidrolisada do dia 21 antes da previsão do parto aos 150 dias pós-parto. n=15. YC-EHY: Cultura de

levedura mais levedura hidrolisada enzimaticamente (Celmanax[®], Vi-COR, Mason City, IA).

Metabólitos e Condição Corporal

Não houve efeito da suplementação sobre os metabólitos analisados. Em todo o período do experimento ou em um ponto específico, a suplementação não afetou as concentrações séricas dos metabólitos energéticos, BHBA e NEFA e também não houve efeito nos metabólitos proteicos, albumina e ureia.

Não houve efeito da suplementação sobre o peso corporal e ECC no estudo. Apesar de o ECC e o peso diminuir após o parto ($P < 0.001$), não sofreu efeito da suplementação ($P > 0.10$).

DISCUSSÃO

Produção e Composição de Leite

Um dos efeitos finais da suplementação com levedura é o aumento na produção de leite e uma melhora na eficiência de conversão alimentar por alterar a microbiota ruminal (Longuski et al., 2009; Poppy et al., 2012). O modo de ação atribuído à levedura para alteração na produção de leite e na composição pode ser explicado pela modificação do padrão da fermentação ruminal (Robinson et al., 1997), aumentando a população e o crescimento de bactérias celulolíticas, melhorando e promovendo uma maior digestibilidade da fibra ao manter um ambiente favorável para as bactérias celulolíticas e lácticas, pois cria um ambiente anaeróbico ao utilizar o oxigênio que esteja presente no ambiente ruminal (Newbold et al., 1996; Nocek et al., 2011).

Corroborando com os efeitos esperados do suplemento no rúmen e de que o sistema de produção de leite investigado apresentava uma maior proporção de volumoso

na dieta, uma vez que os animais permaneciam a pasto a maior parte do dia, o presente estudo demonstrou um aumento na produção de leite no grupo suplementado (Tabela 2), da mesma forma no estudo realizado por Zaworski et al. (2014), que encontrou aumento da produção de leite nas vacas suplementadas com 56 ou 112 g/dia de levedura viva mais produtos da fermentação da cultura de levedura durante o período de transição, com aumento durante as quatro primeiras semanas pós parto.

Uma resposta similar foi reportada por Moallem et al. (2009) quando vacas receberam 6 g/vaca/dia de levedura viva com a concentração de 1×10^{10} ufc/g de *S. cerevisiae* aumentaram a produção de leite, porém o produto utilizado continha em sua composição somente a levedura viva diferindo do presente estudo que utilizou como produto a cultura de levedura mais levedura hidrolisada enzimaticamente, que contém além da levedura viva, fatores de crescimento produzidos pela levedura que podem alterar a fermentação ruminal (Callaway e Martin, 1997).

O efeito da suplementação com leveduras e seus produtos parece estar relacionados a outros fatores e isso pode ser representado pela grande variação na resposta da produção de leite à suplementação com levedura como os autores Robinson e De Vries e Chevaux, (1997 e 2014) que não encontraram efeito na produção de leite. Diferenças como o número de partos, estágios de lactação, idade, composição da dieta e manejo nutricional além dos produtos derivados da levedura podem diferir na sua composição e dosagem e os sistemas de produção contribuem para essa discrepância de resultados (Piva et al., 1993; Desnoyers et al., 2009; Yuan et al., 2015).

Dietas com grãos rapidamente fermentáveis podem diminuir a ingestão (Oba e Allen, 2003), a digestibilidade da fibra (Hoover et al., 1986) e aumentar o fluxo de ácidos graxos resultando em depressão na gordura do leite produzido (Bradford e Allen, 2004; Longuski et al., 2009). Uma correlação positiva entre as taxas de acetato e

propionato e a taxa de gordura foi reportado por Erdman (1988) e Ferrareto et al. (2012). Uma medida de potencial ajuste nos níveis de gordura no leite pode ser a adição de leveduras vivas possivelmente por apresentar efeitos nos microrganismos que estão envolvidos na biohidrogenação ruminal e na síntese *de novo* (Chaucheyras-Durand et al., 2008). Os aumentos mais consistentes nos teores de gordura do leite é atribuído às melhorias na fermentação ruminal, como aumento do pH ruminal, que evitará mudanças nas vias de biohidrogenação, reduzindo a produção do isômero *trans*-10,*cis*-12 do CLA (Choi et al., 2005) e com isso promovendo aumento na síntese de gordura (Bauman and Griinari, 2001).

Como resultado da suplementação com levedura e seus efeitos no rúmen, há um aumento na população microbiana, principalmente de bactérias celulolíticas (Harrison et al., 1988; Newbold et al., 1995), aumento na síntese de proteína microbiana com consequente saída do rúmen e aumento do fluxo de proteína microbiana e do teor de proteína do leite (Erasmus et al., 1992) e esse era o resultado esperado para os teores de proteína do leite de animais suplementados com levedura. Nesse atual experimento houve diminuição da porcentagem de proteína no leite no grupo suplementado (Tabela 2). A falta de resposta à suplementação com levedura na porcentagem de proteína já foi demonstrada em outros estudos (Dann et al., 2000; Moallem et al., 2009), entretanto, o aumento no percentual de proteína pela suplementação com levedura hidrolisada ainda não foi demonstrada (Nocek et al., 2011).

Outros componentes do leite avaliados como sólidos totais e lactose não sofreram efeito da suplementação, porém houve interação entre tratamento e período para a lactose e ECM e uma tendência para FCM. O estudo de Zaworski et al. (2014), encontrou aumento nos níveis de proteína, lactose e sólidos totais. O ECM e o FCM, por ser derivado de um cálculo que utiliza a produção e também alguns componentes do

leite também não foram alterados, de concordância com o estudo de Yuan et al. (2015) onde o ECM e sólidos totais não sofreram efeito da suplementação. Os efeitos de período observados nos componentes do leite (lactose, proteína, ECM, FCM e sólidos totais) são biologicamente esperados em uma curva de lactação.

A média de CCS dos dois grupos do experimento não demonstrou diferença entre os tratamentos ($P = 0,55$). Porém, avaliando-se a frequência de animais com uma CCS superior a 250×10^3 células/mL houve uma tendência de menor porcentagem de animais com contagem alta no grupo suplementado. Assim, é possível que a suplementação com levedura viva mais levedura hidrolisada enzimaticamente tenha influenciado de alguma forma o sistema imune dos animais suplementados e, portanto, podendo reduzir a frequência de possíveis mastites subclínicas neste grupo.

O efeito da levedura hidrolisada na CCS pode estar relacionado a uma resposta imune potencializada. O estudo de Jensen et al. (2008) demonstra através de três achados a ação da levedura na resposta imune. Primeiro, os produtos da levedura apresentam atividade antioxidante e anti-inflamatória em ensaios de culturas celulares. Esses produtos podem promover proteção intracelular contra danos oxidativos em células vermelhas e também em neutrófilos. Segundo, os produtos de levedura desencadeiam a ativação de células natural killers e aumentaram a resposta citotóxica dos NK. E por último, houve aumento na ativação da resposta de células B contra um ativador conhecido de células B. Esse estudo sugere que a levedura tenha um efeito antioxidante, anti-inflamatório e imunomodulador *in vitro*.

Ainda nesse sentido, a relação entre CCS, mastite e a suplementação com levedura foi demonstrada em estudo conduzido por Proudfoot et al. (2009). Zaworski et al. (2014), encontrou que vacas suplementadas com produtos da fermentação de levedura e levedura viva tiveram menor valor de CCS durante o período do

experimento. Resultado que difere do encontrado por Nocek et al. (2011), em que a CCS durante as 14 semanas do período experimental foi menor nas vacas suplementadas com levedura hidrolisada. Além disso, estes autores observaram que não houve diferença entre os grupos durante as primeiras 7 semanas do experimento, entretanto, nas semanas de 8 a 14 de experimento as vacas suplementadas tiveram menor CCS que o grupo controle. Outros estudos não observaram efeito da suplementação na CCS (Dann et al. 2000; Bruno et al. 2009), o mesmo observado nesse experimento.

Metabólitos e Condição Corporal

Embora o NEFA seja uma fonte energética importante como precursor para a síntese de gordura no leite, em concentrações altas ele compromete as funções hepáticas, tendo de ser transportado para fora do fígado, armazenado nos hepatócitos ou oxidado (Bobe et al., 2004). No início da lactação, no entanto, a oxidação do acetil coA que originado do NEFA é limitada, pois tanto a gliconeogênese como o ciclo do ácido tricarbóxico competem pela oxaloacetato mitocondrial. Como rota alternativa, o BHBA é sintetizado pela oxidação incompleta dos ácidos graxos, e pode ser usado também como fonte energética, porém em altas concentrações é prejudicial à função imune e metabólica (Bobe et al., 2004). A suplementação com levedura ao melhorar a utilização e a absorção energética da dieta faz com que o período em balanço energético negativo seja mais curto (Zaworski et al., 2014) e com isso não sofra com as mudanças geradas nesse período, como mobilização lipídica que é acompanhada por alterações na resposta inflamatória que modifica a função imune (Contreras e Sordillo, 2011).

A quantificação dos níveis de NEFA plasmáticos é usada como ferramenta para quantificar o nível de balanço energético em vacas em transição. Durante o final da lactação e período seco, a média de NEFA plasmático se mantém em menos de 0.2

mmol/L. Os níveis plasmáticos aumentam duas semanas antes do parto com concentrações maiores de 0.75 mmol/L, dependendo do nível de mobilização lipídica (Adewuyi et al., 2005).

Ambos os grupos no atual estudo apresentaram o mesmo comportamento de adaptação homeorética à lactação, havendo assim um efeito de período. No entanto, a suplementação não foi capaz de modificar os padrões de fermentação ruminal a ponto de modificar o metabolismo energético das vacas tratadas. Porém, mesmo não havendo uma interação entre período e tratamento, houve numericamente picos em diferentes dias entre os grupos, onde o grupo suplementado apresentou a o pico de NEFA no dia do parto e o grupo controle no terceiro dia pós-parto. De qualquer forma, ambos os grupos apresentaram redução gradual dos níveis de NEFA após os picos, onde a alta concentração de NEFA se manteve nos dias próximos ao parto nos dois grupos e se estabilizou a partir da terceira semana e esses mesmos resultados foram descritos por outros autores (Nocek et al., 2003; Nocek et al., 2006; Francisco et al., 2002).

A primeira adaptação homeorética do metabolismo lipídico para a lactação é a mobilização de reservas corporais para suprir os requerimentos energéticos da vaca durante o balanço energético negativo no início da lactação. A gordura corporal é mobilizada e vai para a corrente sanguínea na forma de NEFA, que é utilizado para sintetizar mais de 40% da gordura do leite durante os primeiros dias de lactação (Bell et al., 1995).

No estudo de Yuan et al. (2015) houve aumento nos níveis de BHBA circulante nos animais suplementados durante todo o período experimental, comparado com o grupo controle, observando também efeito da dose utilizada, em que 30 g de levedura hidrolisada resultou em maior nível de BHBA circulante, ou seja, a dose utilizada, semelhante ao estudo atual, não foi capaz de impedir uma mobilização das reservas

corporais ou segundo o autor, uma fonte de BHBA circulante é advinda do epitélio ruminal, onde o butirato produzido ruminalmente pode ser convertido em BHBA. Porém, poucas evidências, *in vitro* e *in vivo* demonstram o aumento na produção de butirato pela suplementação com leveduras (Yuan et al., 2015).

Os níveis séricos de NEFA e BHBA se mantiveram alto no pós-parto recente, enquanto que o ECC diminuiu rapidamente, indicando mobilização lipídica nesse período, concordando com Ferrareto et al. (2012) e Yuan et al. (2015). Como não houve efeito da suplementação nesses indicadores, como ECC, NEFA e BHBA durante o período experimental (Robinson e Garret, 1999; Ramsing et al., 2009; Zaworski et al., 2014), porém como houve aumento da produção de leite sugere-se que com a suplementação há uma melhoria na utilização ou absorção energética da dieta, o que pode ser ou não dependente da ingestão desse animal (Robinson e Garret, 1999; Dann et al., 2000; Zaworksi et al., 2014).

A concentração de ureia na circulação está intimamente ligada com a eficiência que a proteína da dieta é utilizada (Ayad et al., 2003). A adição de levedura pode não ter efeito sobre o metabolismo proteico da vaca. O resultado desse estudo pode ser confirmado pela diminuição nos teores de proteína no leite. Bruno et al. (2009) observou uma redução nos níveis séricos de ureia nos animais suplementados com levedura, sugerindo que essa redução pode estar relacionada com uma melhor utilização da proteína metabolizável.

No estudo de Zaworski et al. (2014) não foi observado efeito nos níveis séricos de ureia, a não ser nas primeiras 48 horas pós-parto, em que os níveis de ureia foram maiores que o grupo controle. Spaniol et al. (2014) não observaram efeito da suplementação com levedura sobre os níveis de ureia, proteína e albumina. No período periparto, observou-se um aumento nas concentrações de ureia, o que pode refletir a

mobilização de proteína corporal e as concentrações de cortisol no periparto (Bell e Baumann, 1997; Ingvarlsen e Andersen, 2000). Após esse período, as concentrações de ureia e albumina no soro refletem o estado do metabolismo proteico, digestão e absorção de proteínas e função hepática.

A suplementação com cultura de levedura e levedura hidrolisada durante o periparto pode aumentar a produção de leite, sem acentuar o balanço energético negativo no período de transição e pode apresentar benefícios à imunidade na glândula mamária com reflexos em uma frequência menor de CCS.

REFERÊNCIAS

Adeuwuyi A, Gruys E, van Eerdenburg F. 2005. Non-esterified fatty acids (NEFA) in dairy cattle. A review. *Vet Q.* 27:117–26.

Ayad, M. A., Benallou, B., Saim, M. S., Smadi, M. A. and Meziane, T. 2013. Impact of Feeding Yeast Culture on Milk Yield, Milk Components, and Blood Components in Algerian Dairy Herds. *J. Veterinar Sci Technolo*, 4:2.

Ballou, M. A., Gomes, R. C., Juchem, S. O., Depeters, E. J. 2009. Effects of dietary supplemental fish oil during the peripartum period on blood metabolites and hepatic fatty acid compositions and total triacylglycerol concentrations of multiparous Holstein cows. *J. Dairy Sci*, v. 92, p. 657-669.

Bauman, D. E., and J. M. Griinari. 2001. Regulation and nutritional manipulation of low milk fat: Low fat syndrome. *Livest. Prod. Sci.* 70:15–29.

Bell, A. W. 1995. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation A. W. Bell *J Anim Sci* 73:2804-2819.

- Bell, A. W., and D. E. Bauman. 1997. Adaptations of glucose metabolism during pregnancy and lactation. *J. Mamm. Gland Biol. Neoplasia* 2:265–278.
- Bobe, G., J. W. Young, and D. C. Beitz. 2004. Invited review: Pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87:3105–3124.
- Bradford, B. J., and M. S. Allen. 2004. Milk fat response to a change in diet fermentability vary by production level in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 87:3800–3807.
- Bruno, R.G.S., Rutigliano, H., Cerri, R.L., Robinson, P.H., Santos, J.E.P., 2009. Effect of feeding yeast culture on reproduction and lameness in dairy cows under heat stress. *Anim. Reprod. Sci.* 113, 11–21.
- Callaway, E. S., and S. A. Martin. 1997. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on ruminal bacteria that utilize lactate and digest cellulose. *J. Dairy Sci.* 80:2035–2044.
- Chaucheyras-Durand, F., N. D. Walker, and A. Bach. 2008. Effects of active dry yeasts on the rumen microbial ecosystem: Past, present and future . *Anim. Feed Sci. Technol.* 145:5-26.
- Choi, N. J., J. Y. Imm, S. J. Oh, B. C. Kim, H. J. Hwang, and Y. J. Kim. 2005. Effect of pH and oxygen on conjugated linoleic acid (CLA) production by mixed rumen bacteria from cows fed high concentrate and high forage diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 123–124:643–653.
- Contreras, G.A. and Sordillo, L.M. 2011. Lipid mobilization and inflammatory responses during the transition period of dairy cows *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 34: 281–289.

Dairy Records Management Systems. 2014. DHI glossary. Accessed January 11, 2015.
<http://www.drms.org/PDF/materials/glossary.pdf>.

Dann, H. M., J. K. Drackley, G. C. McCoy, M. F. Hutjens, and J. E. Garrett. 2000.
Effects of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on prepartum intake and postpartum
intake and milk production of Jersey cows. *J. Dairy Sci.* 83:123–127.

DeGraves, F.J., Fetrow, F., 1993. Economics of mastitis and mastitis control. *The
Veterinary Clinics of North America: Update on Bovine Mastitis*, vol. 9, pp. 421–434.

Desnoyers, M., S. Giger-Reverdin, G. Bertin, C. Duvaux-Ponter, and D. Sauvant. 2009.
Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on
ruminal parameters and milk production of ruminants. *J. Dairy Sci.* 92:1620–1632.

DeVries, T. J. and Chevaux, E. 2014. Modification of the feeding behavior of dairy
cows through live yeast supplementation. *J Dairy Sci*, vol 97, 10:6499-6510.

[Edmonson](#), A.J., [Lean](#), I. J., [Weaver](#), L. D., [Farver](#), T., [Webster](#), G. 1989. A Body
Condition Scoring Chart for Holstein Dairy Cows. *J Dairy Sci.* Vol 72, 1:68–78.

Erasmus LJ, Botha BM, Kistner A. 1992. The effects of yeast culture supplement on
production, rumen fermentation and duodenal nitrogen flow in dairy cows. *J Dairy Sci*,
75:3056.

Erdman, R. A. 1988. Dietary buffering requirements of the lactating dairy cow: A
review. *J. Dairy Sci.* 71:3246–3266.

Esposito, G., Ironsa, P.C., Webbb, E.C., Chapwanya, A. 2014. *Animal Reproduction
Science* 144 (2014) 60– 71.

FDA. 2014. CPG Sec. 689.100 Direct-Fed Microbial Products.

Ferraretto, L. F., R. D. Shaver, and S. J. Bertics. 2012. Effect of dietary supplementation with live-cell yeast at two dosages on lactation performance, ruminal fermentation, and total tract nutrient digestibility in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95:4017–4028.

Francisco CC, Chamberlain CS, Waldner DN, Wettemann RP, Spicer LJ. 2002. Propionibacteria fed to dairy cows. Effects on energy balance, plasma metabolites and hormones, and reproduction. *J Dairy Sci*, 85:1738-1751.

Friggens NC, Andersen JB, Larsen T, Aaes O, Dewhurst RJ. 2004. Priming the dairy cow for lactation: a review of dry cow feeding strategies. *Animal Research* 53, 453–473.

Grummer, R. R. 1995. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *J. Anim. Sci.* 73:2820–2833.

Harrison, G. A., R. W. Hemken, K. A. Dawson, R. J. Harmon, and K. B. Barker. 1988. Influence of addition of yeast culture supplement to diets of lactating cows on ruminal fermentation and microbial populations. *J. Dairy Sci.* 71:2967–2975.

Hoover, W. H. 1986. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. *J. Dairy Sci.* 69:2755–2766.

Jensen, G. S., Patterson, K. M., Yoon, I. 2008. Yeast culture has antiinflammatory effects and specifically activates NK cells. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases* 31:487–500.

Ingvartsen, K. L., and Andersen, J.B. 2000. Integration of metabolism and intake regulation: A review focusing on periparturient animals. *J. Dairy Sci.* 83:1573–1597.

Longuski, R. A., Y. Ying, and M. S. Allen. 2009. Yeast culture supplementation prevented milk fat depression by a short-term dietary challenge with fermentable starch. *J. Dairy Sci.* 92:160–167.

Melendez, P., Marin, M. P., Robles, J., Rios, C., Duchens, M. and Archbald, L., 2009. Relationship between serum nonesterified fatty acids at calving and the incidence of periparturient diseases in Holstein dairy cows, *Theriogenology*, 72 826--833.

Mertens, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: Collaborative study. *Journal of AOAC International*. 85(6):1217-1240, 2002.

Moallem, U., Lehrer, H., Livshitz, L., Zachut, M. and Yakoby S. 2009. The effects of live yeast supplementation to dairy cows during the hot season on production, feed efficiency, and digestibility. *J. Dairy Sci.* 92:343–351.

NCSS. HINTZE, J. 2005. NCSS and PASS Number Cruncher Statistical Kaysville, Utah.

Newbold, C. J., R. J. Wallace, and F. M. McIntosh. 1996. Mode of action of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a feed additive for ruminants. *Br. J. Nutr.* 76:249–261.

Newbold, C. J., R. J. Wallace, X. B. Chen, and F. M. McIntosh. 1995. Different strains of *Saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on ruminal bacterial numbers in vitro and in sheep. *J. Anim. Sci.* 73:1811–1818.

Nocek JE, Kautz WP, Leedle JA, Block E. 2003. Direct-fed microbial supplementation on the performance of dairy cattle during the transition period. *J Dairy Sci*, 86:331-335.

Nocek JE, Kautz WP. 2006. Direct-fed microbial supplementation on ruminal digestion, health, and performance of pre-and postpartum dairy cattle. *J Dairy Sci*, 89:260-266.

Nocek, J. E., Holt, M. G. and Oppy, J. 2011. Effects of supplementation with yeast culture and enzymatically hydrolyzed yeast on performance of early lactation dairy cattle *J. Dairy Sci.* 94 :4046–4056.

NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. National Acad. Sci., Washington, DC.

Oba, M., and M. S. Allen. 2003. Effects of corn grain conservation method on feeding behavior and productivity of lactating dairy cows at two dietary starch concentrations. *J. Dairy Sci.* 86:174–183.

Piva, G., S. Belladonna, G. Fusconi, and F. Sicbaldi. 1993. Effects of yeast on dairy cow performance, ruminal fermentation, blood components, and milk manufacturing properties. *J. Dairy Sci.* 76:2717–2722.

Poppy, G. D., A. R. Rabiee, I. J. Lean, W. K. Sanchez, K. L. Dorton, and P. S. Morley. 2012. A meta-analysis of the effects of feeding yeast culture produced by anaerobic fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* on milk production of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95:6027–6041.

- Proudfoot, K., D. Weary, and M. von Keyserlink. 2009. The effect of enzymatically hydrolyzed yeast on feeding behavior and immune function in early lactation dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91(Suppl. 1):279.
- Putnam, D. E., C. G. Schwab, M. T. Socha, N. L. Whitestone, N. A. Kierstead, and B. D. Gaithwaite. 1997. Effect of yeast culture in the diets of early lactation dairy cows on ruminal fermentation and passage of nitrogen fractions and amino acids to the small.
- Ramsing, E. M., J. A. Davidson, P. D. French, I. Yoon, M. Keller, and H. Peters Fleckenstein. 2009. Effect of yeast culture on peripartum intake and milk production of primiparous and multiparous Holstein cows. *Prof. Anim. Sci.* 25:487–495.
- Robinson, P. H. 1997. Effect of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on adaptation of cows to diets postpartum. *J. Dairy Sci.* 80:1119–1125.
- Robinson, P. H., and J. E. Garrett. 1999. Effect of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on adaptation of cows to postpartum diets and on lactational performance. *J. Anim. Sci.* 77:988–999.
- Roche, J. R., Bell, A. W., Overton, T. R. and Loor, J. J. 2013. Nutritional management of the transition cow in the 21st century – a paradigm shift in thinking. *Animal Production Science*, 53:1000–1023.
- Sanders, H.G. 1930. The analysis of the lactation curve into maximum yield and persistency. *J. Agric. Sci.* 20:145-185.

Santos, J. E. P., R. Cerri, M. Ballou, G. Higginbotham, and J. Kirk. 2004. Effect of time of first clinical mastitis occurrence on lactational and reproductive performance of Holstein dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 80:31–45.

Schingoethe, D. J., K. N. Linke, K. F. Kalscheur, A. R. Hippen, D. R. Rennich, and I. Yoon. 2004. Feed efficiency of mid-lactation dairy cows fed yeast culture during summer. *J. Dairy Sci.* 87:4178–4181.

Soder KJ, Holden LA. 1999. Dry matter intake and milk yield and composition of cows fed yeast prepartum and postpartum. *JDairy Sci*, 82:605-610.

Spaniol, J. S., Oltramari, C. E., Locatelli, M., Volpato, A., Campigotto, G., Stefani, L. M., Da Silva, A. S. 2014. Influence of probiotic on somatic cell count in milk and immune system of dairy cows. *Comp Clin Pathol* 2014.

Van Soest, P.J. 1981. Limiting factors in plant residues of low biodegradability. *Agricultural and Environmental*, v.6, p.135-143.

Van Soest, P.J. et al. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, v.74, n.10, p.3583-3597.

Wohlt, J. E., T. T. Corcione, and P. K. Zajac. 1998. Effect of yeast on feed intake and performance of cows fed diets based on corn silage during early lactation. *J. Dairy Sci.* 81:1345–1352.

Yuan, K., Liang, T., Muckey, M .B., Mendonça, L. G. B, Hulbert, L. E., Elrod, C. C. and Bradford, B. J. 2015. Yeast product supplementation modulated feeding behavior and metabolism in transition dairy cows. *J. Dairy Sci.* 98:532-540.

Zaworski, E. M., Shriver-Munsch, C. M., Fadden, N. A., Sanchez, W. K., Yoon, I. and Bobe, G. 2014. Effects of feeding various dosages of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product in transition dairy cows. *J. Dairy Sci.* 97:3081–3098.

TABELAS E FIGURAS

Tabela 1: Ingredientes e composição da dieta utilizada durante o período experimental.

Ingredient, % of DM	Diet	
	prepartum	postpartum
Concentrate ¹	17,99	52,00
Volumoso ²	82,01	48,00
Nutrient, % of DM		
DM,	87,14	74,86
Ash	8,23	8,47
CP	9,69	10,39
NDF	50,50	53,56
ADF	27,22	28,82
Ether extract	1,92	2,29

¹ Casca de soja, farelo de arroz, milho moido, sorgo moido, farelo de soja, calcário, bicarbonato de sódio, premix vitamínico, ureia e NaCl.

² Pré-secado de azevém, silagem de sorgo, palha de arroz, campo nativo e pastagem de azevém.

Tabela 2. Médias \pm erro padrão para produção e componentes do leite de animais do grupo YC-EHY (cultura de levedura e levedura hidrolisada enzimaticamente (Celmanax[®], Vi-COR, Mason City, IA) e Controle. Animais suplementados com 28g/vaca/dia de levedura hidrolisada do dia 21 antes da previsão do parto aos 150 dias pós-parto (n=15)¹.

Item	YC-EHY	S.E	Control	S.E	P – Value		
					Group	Period	G*P
Milk Lactose, %	4,470	0,043	4,430	0,044	0,474	<0,001	0,000
Milk Fat, %	2,920	0,122	3,145	0,125	0,550	0,127	0,117
Milk Protein, %	2,871 ^a	0,031	2,979 ^b	0,032	0,036*	<0,001	0,183
ECM ² , kg/d	23,656	2,010	20,040	2,040	0,238	<0,001	0,057
FCM ³ , kg/d	21,736	1,850	18,320	1,880	0,226	<0,001	0,070
Total Solids, %	11,116	0,139	11,443	0,141	0,137	<0,001	0,127
SCC ⁴ (log)	1,904	0,115	2,010	0,117	0,557	0,018	0,536

¹ Values are least square means \pm standard error of the mean.

² Energy Corrected Milk = [(0,327 X milk yield) + (12,95 x fat yield) + (7,65 x protein yield)]; (Dairy Records Management System, 2014)

³ Fat Corrected Milk = [(0,4 x milk yield) + (15,0 x fat yield)]; (NRC,2001)

⁴ Somatic Cell Count

^{ab} Values within rows that not share a common superscript are significantly different ($P < 0.05$)

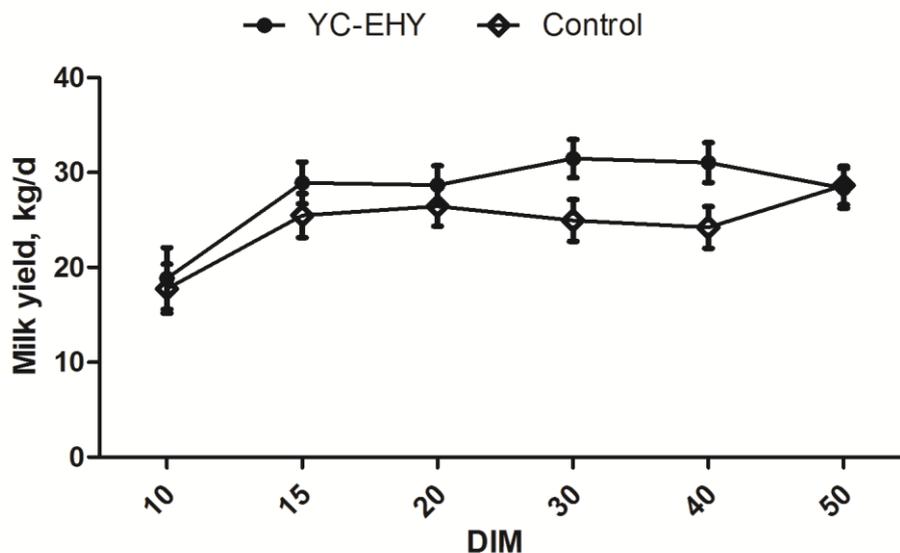


Figura 1. Curva de Lactação das vacas do grupo Controle e YC-EHY, durante o período pós-parto. Suplementação com 28g/vaca/dia de levedura hidrolisada do dia 21 antes da previsão do parto aos 150 dias pós-parto. Efeito do tratamento ($P = 0,03$) e período ($P < 0,01$) foi observado, porém sem efeito de interação tratamento x período ($P = 0,489$). Valores são médias dos quadrados mínimos \pm erro padrão das médias, $n=15$. YC-EHY: Cultura de levedura mais levedura hidrolisada enzimaticamente (Celmanax[®], Vi-COR, Mason City, IA).

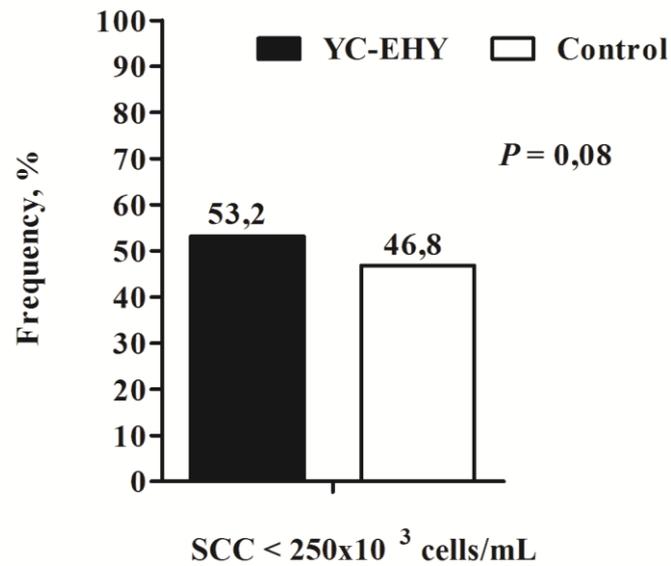


Figura 2. Distribuição de frequência das amostras coletadas durante o período pós-parto dos grupos YC-EHY e Controle, tendo como ponto de corte o valor de CCS abaixo de 250×10^3 células/mL. Suplementação com 28g/vaca/dia de levedura hidrolisada do dia 21 antes da previsão do parto aos 150 dias pós-parto. n=15. YC-EHY: Cultura de levedura mais levedura hidrolisada enzimaticamente (Celmanax[®], Vi-COR, Mason City, IA).

5. Conclusão geral

Em conclusão, a suplementação com cultura de levedura e levedura hidrolisada enzimaticamente durante o período de transição em um sistema semiextensivo pode ser eficaz para melhora no desempenho produtivo e na saúde da glândula mamária sem alterar o estado metabólico desses animais no início da lactação, porém mais estudos são necessários para identificar a dose ideal para cada situação de rebanho existente.

6.Referências Bibliográficas

- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. 15th ed., AOAC, Arlington, VA.
- AOAC. 1996. Official Methods of Analysis. 16th ed., AOAC, Arlington, VA.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis. 17th ed., AOAC, Arlington,VA.
- AlZahal, O., Dionissopoulos, L., Laarman, A. H., Walker, N., and McBride, B. W. 2014. Active dry *Saccharomyces cerevisiae* can alleviate the effect of subacute ruminal acidosis in lactating dairy cows. **J. Dairy Sci.** 97:1–13.
- Allen, M. S., B. J. Bradford, and K. J. Harvatine. 2005. The cow as a model to study food intake regulation. **Annu. Rev. Nutr.** 25:523–547.
- Ballou, C. E. 1970. A study of the immunochemistry of three yeast mannans. **J. Biol. Chem.** 245:1197–1203.
- Butler, S.T., Marr, A.L., Pelton, S.H., Radcliff, R.P., Lucy, M.C., Butler, W.R. 2003. Insulin restores GH responsiveness during lactation-induced negative energy balance in dairy cattle: effects on expression of IGF-I and GH receptor 1A. **J. Endocrinol.** 176, 205-217.
- Bobe, G., J. W. Young, and D. C. Beitz. 2004. Invited review: Pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. **J. Dairy Sci.** 87:3105-3124.
- Callaway, E. S., and S. A. Martin. 1997. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on ruminal bacteria that utilize lactate and digest cellulose. **J. Dairy Sci.** 80:2035-2044.
- Chaucheyras-Durand, F., N. D. Walker, and A. Bach. 2008. Effects of active dry yeasts on the rumen microbial ecosystem: Past, present and future. **Anim. Feed Sci. Technol.**145:5-26.
- Dann, H. M., J. K. Drackley, G. C. McCoy, M. F. Hutjens, and J. E. Garrett. 2000. Effects of yeast culture (*Saccaromyces cerevisiae*) on prepartum intake and postpartum intake and milk production of Jersey cows. **J. Dairy Sci.** 83:123-127.
- DeVries, T. J. and Chevaux, E. 2014. Modification of the feeding behavior of dairy cows through live yeast supplementation. **J. Dairy Sci.** 97:6499-6510.
- Eastridge, M. L. 2006. Major advances in dairy cattle nutrition. **J. Dairy Sci.** 89:1311-1323.

- Esposito, G., Irons, P. C., Webb, E.C. 2014. Interactions between negative energy balance, metabolic, diseases, uterine health and immune response in transition. **Animal Reproduction Science**. 144:60-71.
- FDA CPG Sec. 689.100 Direct-Fed Microbial Products.
- Ferket, P. R. 2003. Controlling gut health with the use of antibiotics. in Proc. 30th. **Annu. Carolina Poultry Nutr. Conf.**, 57–68. Research Triangle Park, NC. North Carolina State University, Raleigh.
- Fonty, G., and F. Chaucheyras-Durand. 2006. Effects and modes of action of live yeasts in the rumen. **Biologia (Bratisl)**. 61:741–750.
- Friggens NC, Andersen JB, Larsen T, Aaes O, Dewhurst RJ. 2004. Priming the dairy cow for lactation: a review of dry cow feeding strategies. **Animal Research**. 53, 453–473.
- Grummer, R. R. 1995. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. **J. Anim. Sci**. 73:2820–2833.
- Grummer RR, Mashek DG, Hayirli A. 2004. Dry matter intake and energy balance in the transition period. **Vet Clin North Am Food Anim Pract**. 20:447-70.
- Harrison, G. A., R. W. Hemken, K. A. Dawson, R. J. Harmon, and K. B. Barker. 1988. Influence of addition of yeast culture supplement to diets of lactating cows on ruminal fermentation and microbial populations. **J. Dairy Sci**. 71:2967-2975.
- Herdt, T. H. 2000. Ruminant adaptation to negative energy balance. Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. **Vet Clin North Am Food Anim Pract**. 16:215–30.
- Jensen, G. S., Patterson, K. M., Yoon, I. 2008. Yeast culture has antiinflammatory effects and specifically activates NK cells. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**. 31:487–500.
- Kehrli Jr., M., Neil, J., Burvenich, C., Goff, J., Lippolis, J., Reinhardt, T., Nonnecke, B. **Energy and Protein Effects on the Immune System: Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism and Impact of Nutrition on Gene Expression, Immunology and Stress**. Wageningen Academic Pub. 2006. 600p.
- Lacetera, N., Scalia, D., Bernabucci, U., Ronchi, B., Pirazzi, D., Nardone, A., 2005. Lymphocyte functions in overconditioned cows around parturition. **J. Dairy Sci**. 88, 2010-2016.

- Marden, J. P., Julien, C., Monteils, V., Auclair, E., Moncoulon, R., and Bay, C. 2008. How does live yeast differ from sodium bicarbonate to stabilize ruminal pH in high-yielding dairy cows? **J. Dairy Sci.** 91:3528–3535.
- Miller-Webster, T., Hoover, W.H., Holt, M. and Nocek, J.E. 2002. Influence of yeast culture on ruminal microbial metabolism in continuous culture. **J. Dairy Sci.** 85:2009-2014.
- NCSS. HINTZE, J. 2004. **NCSS and PASS Number Cruncher Statistical.** Kaysville, Utah.
- NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. **7th rev. ed. National Acad. Sci.** Washington, DC.
- Newbold, C. J., Wallace, R.J and McIntosh, F.M. 1996. Mode of action of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a feed additive for ruminants. **Br. J. Nutr.** 76:249–261.
- Newbold, C. J., Wallace, R.J., Chen, X.B., and McIntosh, F.M. 1995. Different strains of *Saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on ruminal bacterial numbers in vitro and in sheep. **J. Anim. Sci.** 73:1811–1818.
- Nocek, J. E., Holt, M. G. and Oppy, J. 2011. Effects of supplementation with yeast culture and enzymatically hydrolyzed yeast on performance of early lactation dairy cattle **J. Dairy Sci.** 94:4046–4056.
- Ofek, I., Mirelman, D. and Sharon, N. 1977. Adherence of *Escherichia coli* to human mucosal cells mediated by mannose receptors. **Nature.** 265:623–625.
- Overton, T. R., and Waldron, M.R 2004. Nutritional management of transition dairy cows: Strategies to optimize metabolic health. **J. Dairy Sci.** 87(E. Suppl.):105-119.
- Pereira, R. A., Silveira, P. A., Montagner, P., Schneider, A., Schmitt, E., Rabassa, V. R., Pfeifer, L. F., Del Pino, F. A., Pulga, M. E., Corrêa, M. N. 2013. Effect of butaphosfan and cyanocobalamin on postpartum metabolism and milk production in dairy cows. **Animal**, 7(7):1143-1147.
- Petersson-Wolfe, C. S., Leslie, E., Osborne, T., McBride, B. W., Bagg, R., Vessie, G., Dick, P., Duffield, T. F. 2007. Effect of Monensin Delivery Method on Dry Matter Intake, Body Condition Score, and Metabolic Parameters in Transition Dairy Cows. **J. Dairy Sci.** 90:1870–1879.
- Pinloche, E., McEwan, N., Marden, J.P., Bayourthe, C., Auclair, E., and Newbold, C.J. 2013. The effects of a probiotic yeast on the bacterial diversity and population structure in the rumen of cattle. **PLoS ONE.**8:e67824.

- Piva, G., Belladonna, S., Fusconi, G., and Sicbaldi, F. 1993. Effects of yeast on dairy cow performance, ruminal fermentation, blood components, and milk manufacturing properties. **J. Dairy Sci.** 76:2717–2722.
- Ramsing, E. M., J. A. Davidson, J.A., French, P.D., Yoon, I., Keller, M., and Peters, H. 2009. Effect of yeast culture on peripartum intake and milk production of primiparous and multiparous Holstein cows. **Prof. Anim. Sci.** 25:487–495.
- Robinson, P. H., and Garrett, J.E. 1999. Effect of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on adaptation of cows to postpartum diets and on lactational performance. **J. Anim. Sci.** 77:988–999.
- Roche, J. R., Bell, A. W., Overton, T. R. and Looor, J. J. 2013. Nutritional management of the transition cow in the 21st century – a paradigm shift in thinking. **Animal Production Science**, 53:1000–1023.
- Sanders, H.G. 1930. The analysis of the lactation curve into maximum yield and persistency. **J. Agric .Sci.** 20:145185.
- Shaver, R. D., and Garrett, J.E. 1997. The effect of yeast culture on milk yield, composition, and component yields at commercial dairies. **Prof. Anim. Sci.** 12:204–207.
- Vargas-Rodriguez, C. F., Yuan, K., Titgemeyer, E. C., Mamedova, L. K., Griswold, K. E., Bradford, B. J. 2014. Effects of supplemental chromium propionate and rumen-protected amino acids on productivity, diet digestibility, and energy balance of peak-lactation dairy cattle. **J. Dairy Sci.** 97:3815-3821.
- Wohlt, J. E., Corcione, T.T.,and Zajac, P.K. 1998. Effect of yeast on feed intake and performance of cows fed diets based on corn silage during early lactation. **J. Dairy Sci.** 81:1345–1352.
- Yoon, I. K., and Stern, M.D. 1996. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* cultures on ruminal fermentation in dairy cows. **J. Dairy Sci.** 79:411–417.
- Yuan, K., Liang, T., Muckey, M .B., Mendonça, L. G. B, Hulbert, L. E., Elrod, C. C. and Bradford, B. J. 2015. Yeast product supplementation modulated feeding behavior and metabolism in transition dairy cows. **J. Dairy Sci.** 98:532-540.
- Zaworski, E. M., Shriver-Munsch, C. M., Fadden, N. A., Sanchez, W. K., Yoon, I. and Bobe, G. 2014. Effects of feeding various dosages of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product in transition dairy cows. **J. Dairy Sci.** 97:3081–3098.