

Suplementação de vacas leiteiras com *Saccharomyces cerevisiae* cepa KA500

[Supplementation of dairy cows with *Saccharomyces cerevisiae* strain KA500]

B.M.L. Oliveira¹, L.L. Bitencourt¹, J.R.M. Silva¹, G.S. Dias Júnior¹, I.C.C. Branco¹
R.A.N. Pereira², M.N. Pereira^{1*}

¹Universidade Federal de Lavras
Caixa Postal 3037
37200-000 - Lavras, MG

²Fazenda São Francisco - Ijaci, MG.

RESUMO

Avaliaram-se o desempenho e a eficiência digestiva de vacas leiteiras suplementadas com levedura viva, cepa KA500. Vinte vacas da raça Holandesa formaram 10 blocos de dois animais com base na produção diária de leite e foram aleatoriamente alocadas em uma sequência de dois tratamentos, em delineamento de reversão simples, com períodos de 28 dias e mensurações na quarta semana. Os tratamentos foram: 10g de levedura (2×10^{10} ufc/g) ou controle. A composição das dietas foi (% da MS): silagem de milho (45,0), feno de tifton (4,1) e concentrado à base de milho, polpa cítrica e farelo de soja (50,9). O consumo de matéria seca foi de 21,3kg com levedura e de 21,8kg no controle ($P=0,01$), e a produção de leite de 29,6 e 29,3kg, respectivamente ($P=0,45$). A produção de leite por unidade de consumo foi de 1,37 com levedura e de 1,32 no controle ($P=0,05$). A suplementação de levedura reduziu a contagem de células somáticas do leite ($P=0,02$). Não houve efeito da suplementação sobre as variáveis que descreveram a função ruminal ou a digestibilidade dos nutrientes no trato digestivo total. A suplementação com levedura aumentou a eficiência alimentar e reduziu a contagem de células somáticas do leite.

Palavras-chave: vaca de leite, células somáticas do leite, digestibilidade, eficiência alimentar, levedura

ABSTRACT

Performance and digestive efficiency of dairy cows supplemented with live yeast strain KA500 were evaluated. Twenty Holstein cows formed ten blocks of two animals based on daily milk production and were randomly assigned to a sequence of two treatments, in a cross-over design, with 28-day periods, and measurements on the fourth week. Treatments were: 10g of yeast (2×10^{10} /cfu/g) or control. The composition of the diets were (% of DM): corn silage (45.0), tifton hay (4.1), and a corn, citrus pulp, soybean meal-based concentrate (50.9). The dry matter intake was 21.3kg with yeast and 21.8kg for the control ($P=0.01$), and milk yield was 29.6 and 29.3kg, respectively ($P=0.45$). Milk yield per unit of intake was 1.37 with yeast and 1.32 for the control ($P=0.05$). The supplementation of yeast reduced ($P=0.02$) the somatic cell count in milk. There was no effect of the supplementation upon variables related to the rumen function or the total tract digestibility of nutrients. Yeast supplementation increased feed efficiency and reduced milk somatic cell count.

Keywords: dairy cow, milk somatic cells, digestibility, feed efficiency, yeast

Recebido em 21 de fevereiro de 2009

Aceito em 10 de agosto de 2010

*Autor para correspondência (*corresponding author*)

E-mail: mpereira@ufla.br

INTRODUÇÃO

A suplementação dietética de aditivos microbianos pode aumentar a eficiência da produção de ruminantes, sem se contrapor à tendência naturalista do mercado consumidor. O uso de leveduras como aditivo alimentar se baseia nos possíveis efeitos benéficos da sua suplementação sobre o metabolismo animal (Wallace, 1994). Hutjens (2005) relatou que, em 1983, cerca de 17% dos rebanhos leiteiros norte-americanos eram suplementados com levedura e que, em 1992, este valor era ao redor de 51%. Leveduras estão naturalmente presentes no rúmen, entretanto a temperatura do ambiente ruminal não favorece seu crescimento ótimo, ao redor de 25°C, necessitando que estas sejam continuamente introduzidas no rúmen com a dieta (Lund, 1974).

O principal mecanismo pelo qual leveduras induziriam ganho no desempenho animal seria por atuação sobre a função ruminal (Dawson et al., 1990). Leveduras também podem modular a função imune por ação sobre as células intestinais (Franklin et al., 2005). Entretanto, a resposta depende da dosagem, do tipo de microrganismo, da dieta basal e do manejo alimentar adotado (Williams et al., 1991; Newbold et al., 1995). A eficácia em ruminantes de cepas produzidas industrialmente deve ser comprovada experimentalmente.

O objetivo deste experimento foi avaliar o efeito da suplementação de *Saccharomyces cerevisiae* cepa KA500 sobre o desempenho e a eficiência alimentar de vacas leiteiras alimentadas com dieta baseada em silagem de milho e alta inclusão de polpa cítrica peletizada em substituição parcial ao milho do concentrado.

MATERIAL E MÉTODOS

Vinte vacas da raça Holandesa, com 144±70 dias em lactação no início do experimento, formaram 10 blocos de dois animais cada, com base na produção diária de leite, e foram aleatoriamente alocadas em uma sequência de dois tratamentos, em delineamento de reversão simples (cross-over). Os tratamentos foram: 10g de levedura viva (Levumilk[®], 2x10¹⁰ ufc/g de *Saccharomyces cerevisiae* cepa KA500 (Kera Nutrição Animal, Bento Gonçalves, Brasil) ou controle. Cada

animal recebeu um tratamento por 28 dias de dois períodos experimentais realizados sequencialmente, e variáveis-resposta foram mensuradas na quarta semana de cada período.

As vacas foram alimentadas individualmente em confinamento total com camas de areia e foram ordenhadas duas vezes por dia. A mistura de todos os ingredientes dietéticos foi realizada duas vezes por dia, imediatamente antes de as dietas serem oferecidas às seis e às 13 horas, em quantidade aferida diariamente e suficiente para prover, pelo menos, 15% do oferecido como sobra diária (Tab. 1). A dose de levedura de cada vaca foi alocada sobre a dieta oferecida pela manhã e pela tarde.

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

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

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

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

O consumo de matéria seca, entre os dias 22 e 27 de cada período, foi utilizado para comparar tratamentos. Nesse período, amostras de silagem de milho, de cada ingrediente concentrado e das sobras alimentares de cada vaca, foram coletadas diariamente e congeladas. Uma amostra composta de cada ingrediente e das sobras por vaca foi formada, por período, por união de

amostras diárias e idênticas de matéria natural. As amostras compostas foram pré-secas a 55°C, por 72 horas, em estufa ventilada, trituradas em peneira de 1mm em moinho estacionário do tipo Thomas-Willey, e uma subamostra foi desidratada por 24 horas a 100°C para a determinação do teor de matéria seca. A proteína bruta foi analisada por um destilador a vapor do tipo Mikrokjeldhal (Official..., 1975). As análises de extrato etéreo foram realizadas segundo o AOAC (Official..., 1990). As cinzas foram determinadas por incineração da amostra em mufla, a 550°C, por oito horas. O teor de FDN foi determinado por um ANKON[®] Fiber Analyser (ANKON Technology Corporation, Fairport, EUA).

A produção diária de leite entre os dias 22 e 25 de cada período foi mensurada. Amostras de leite foram obtidas de seis ordenhas consecutivas. Essas amostras foram preservadas em frascos contendo 2-bromo-2-nitropropano-1-3-diol e analisadas em laboratório (Clínica do Leite, Esalq-USP, Piracicaba, SP). Nessas amostras, foram determinados os teores de proteína, gordura, lactose e N-ureico e a contagem de células somáticas (CCS). A raiz quadrada da CCS foi calculada. A secreção diária de energia no leite (SDEL) foi estimada segundo o NRC (Nutrient..., 2001) como: $SDEL = [(0,0929 \times \% \text{ gordura}) + (0,0547 \times \% \text{ de proteína}) + (0,0395 \times \% \text{ de lactose})] \times \text{kg de leite}$.

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

O consumo de matéria orgânica digestível foi calculado multiplicando-se o consumo de matéria orgânica, mensurado entre os dias 22 e 27 de cada período, pela digestibilidade da matéria orgânica, mensurada entre os dias 25 e

27. A eficiência de utilização energética foi avaliada dividindo-se a secreção diária de energia no leite tanto pelo consumo diário de matéria orgânica digestível (eficiência 1) quanto pelo consumo de matéria seca (eficiência 2). A eficiência alimentar foi calculada pela produção de leite dividida pelo consumo de matéria seca (eficiência 3).

No dia 27 de cada período, foram obtidas amostras de fluido ruminal por meio de sonda flexível orogástrica, com auxílio de uma bomba de sucção a vácuo acoplada a um Kitassato (Rosenberger, 1993). As amostras foram obtidas 13 horas±30min após o fornecimento matinal de alimentos, aleatoriamente dentro de bloco. O pH ruminal foi mensurado imediatamente. As amostras tiveram a fermentação inibida por congelamento imediato em nitrogênio líquido e foram armazenadas sob congelamento para posterior análise de ácidos graxos voláteis por cromatografia gás-líquida (CP 3800 Gas Chromatography Varian, Varian Chromatography Systems, Califórnia, EUA).

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

A concentração de derivados purínicos na urina foi mensurada para indicar a produção de proteína microbiana no rúmen. Uma amostra de urina foi coletada no início e no final de cada um dos três períodos de oito horas de coleta total de fezes, nos dias 25 a 27 de cada período. Ao volume de urina coletado foram imediatamente adicionados 10% de ácido sulfúrico a 10%, e a amostra foi armazenada a 4°C. Uma amostra composta foi formada para cada vaca no final de cada período. As amostras compostas foram diluídas com água destilada na proporção 1:3 (urina:água) e congeladas, a -20°C, até a realização das análises de alantóina e creatinina. Para a análise de alantóina, o procedimento

adotado foi semelhante ao sugerido por Chen e Gomes (1995). Para a análise de creatinina, foi utilizado um *kit* de análise laboratorial (Labtest Diagnóstica S.A., Cat. 35-100; Lagoa Santa, MG).

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

$Y_{ijklm} = \mu + B_i + V_{j(i)} + P_k + T_l + e_{ijkl}$, em que:
 μ = média geral; B_i = efeito de bloco ($i = 1$ a 10).
 $V_{j(i)}$ = efeito de vaca dentro de bloco ($j = 1$ a 20);
 P_k = efeito de período ($k = 1$ ou 2); T_l = efeito de tratamento (1 = Levumilk[®], Controle); e_{ijkl} = erro experimental, assumido independente e identicamente distribuído em distribuição normal com média zero e variância σ^2 . A frequência de pH ruminal acima ou abaixo de 6,2 foi avaliada pelo teste de qui-quadrado,

utilizando-se o procedimento *FREQ* do SAS/1985.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A suplementação com levedura reduziu o consumo de matéria seca, sem afetar a produção diária de leite, resultando em aumento na conversão do alimento consumido em leite (Tab. 2). Apesar de aumento no consumo ser a resposta mais frequentemente observada ao uso de leveduras para gado leiteiro (Dann et al., 2000; Lesmeister et al., 2004; Bitencourt et al., 2008), possivelmente vinculado a ganho em digestão fibrosa (Williams et al., 1991; Wallace e Newbold, 1992; Bitencourt et al., 2008), existem relatos de resposta negativa em consumo (Harris et al., 1992; Schingoethe et al., 2004), similar ao aqui observado.

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

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

EPM: erro-padrão da média; CMS: consumo de matéria seca; CMOD: consumo de matéria orgânica digestível. Eficiência 1: energia no leite/CMOD; eficiência 2: energia no leite/CMS; eficiência 3: leite/CMS.

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

Apesar de o ganho em eficiência alimentar ser uma resposta plausível ao uso de leveduras, os dados disponíveis são insuficientes para tecer comentários sobre tipos de dieta (Williams et al., 1991) ou cepas e produtos (Newbold et al., 1995)

capazes de aumentar a probabilidade de detecção de respostas favoráveis. Também parece não existir um padrão definido de variação na produção e no consumo em que ocorre resposta favorável em eficiência alimentar.

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

Tabela 3. Perfil de fermentação ruminal de vacas leiteiras suplementadas (Levumilk®) ou não (controle) com leveduras vivas

	Levumilk®	Controle	EPM	P Trat
	% do AGV total			
Acetato	66,6	66,8	0,60	0,92
Propionato	21,1	21,0	0,35	0,96
Butirato	12,3	12,2	0,45	0,92
	mM			
AGV total	177,4	173,3	8,06	0,73
Acetato/Propionato	3,20	3,21	0,07	0,93
pH ruminal	6,43	6,50	0,043	0,26

EPM: erro-padrão da média; AGV total: acetato + propionato + butirato.

Os dados sugerem que a resposta observada em eficiência alimentar não foi mediada pela ação da levedura sobre a função ruminal e a digestibilidade. O postulado efeito positivo das leveduras sobre a fermentação ruminal (Dawson et al., 1990; Wallace, 1994), capaz de atuar sobre a síntese microbiana (Wallace e Newbold, 1992),

sobre a perda ruminal de amônia (Harrison et al., 1988) e sobre o pH (Martin e Nisbet, 1992), resultando em ganho em digestão, principalmente fibrosa (Wiedmeier et al., 1987; Bitencourt et al., 2008), não foi evidenciado neste trabalho (Tab. 3 e 4).

Suplementação de vacas...

Tabela 4. Relação entre alantoína e creatinina na urina, digestibilidade aparente de nutrientes no trato digestivo total, e atividade mastigatória de vacas leiteiras suplementadas (Levumilk[®]) ou não (controle) com leveduras vivas

	Levumilk [®]	Controle	EPM	P Trat
Alantoína/Creatinina	3,9	3,8	0,67	0,91
	% do ingerido			
DMS	69,0	69,0	0,55	0,95
DMO	71,0	71,3	0,53	0,63
DFDN	39,5	41,5	1,04	0,19
DMOnFDN	89,9	89,0	0,47	0,21
	min/d			
Ruminação	429	416	12,7	0,48
Ingestão	305	286	9,1	0,15
Mastigação ¹	734	702	15,8	0,16
	min/kg de CMS ²			
Ruminação	21,6	21,5	0,79	0,94
Ingestão	15,3	14,8	0,43	0,41
Mastigação	36,9	36,3	0,97	0,67

EPM: erro-padrão da média; DMS: digestibilidade da matéria seca; DMO: digestibilidade da matéria orgânica; DFDN: digestibilidade da fibra em detergente neutro; DMOnFDN: digestibilidade da matéria orgânica não FDN.

¹Ruminação + ingestão.

²Atividade mastigatória em minutos por kg de consumo de matéria seca (CMS).

O pH ruminal não respondeu à suplementação com leveduras (Tab. 3). A frequência de pH abaixo ou acima de 6,2 não foi diferente entre tratamentos ($P=0,31$ para qui-quadrado). Também não foi evidenciada uma possível resposta em metabolismo ruminal de compostos nitrogenados, a se julgar pela secreção proteica no leite ou pela concentração de nitrogênio ureico (Tab. 2). A relação entre alantoína e creatinina na urina também não foi capaz de dar suporte ao efeito do suplemento sobre a síntese de proteína microbiana no rúmen (Tab. 4). A digestibilidade aparente de nutrientes no trato digestivo total não foi determinada pelos tratamentos, e a mensuração da atividade mastigatória também não evidenciou um possível efeito dos tratamentos sobre a digestão fibrosa.

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

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

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

No trabalho de Bitencourt et al. (2008), realizado não simultaneamente, mas nas mesmas condições experimentais e pela mesma equipe deste experimento, foi verificado efeito favorável da suplementação com leveduras vivas sobre o consumo, a produção de leite e a digestibilidade

aparente da fibra no trato digestivo total de vacas leiteiras. Além da diferença na dose e na cepa de levedura utilizada, uma explicação plausível para a diferença na resposta observada (Newbold et al., 1995), houve diferença nas dietas experimentais. Naquele trabalho não foi utilizado tamponante, e a fonte dietética de amido oriundo do concentrado foi milho flocculado.

No presente trabalho, uma condição mais típica de rebanhos comerciais foi obtida pelo uso de bicarbonato de sódio e amido de milho de textura dura do endosperma, colhido em estágio maduro de maturação e finamente moído (Tab. 1). Na dieta teoricamente mais acidogênica de Bitencourt et al. (2008), foi detectada resposta em volume de leite e digestão, enquanto neste trabalho a resposta foi caracterizada por ganho em eficiência alimentar e contagem de células somáticas do leite. Um questionamento pertinente e frequentemente presente na literatura refere-se à repetibilidade e à capacidade de predição da resposta à suplementação com leveduras em dietas específicas (Wang et al., 2001). Os dados até o momento existentes sugerem que qualquer recomendação é puramente especulativa.

CONCLUSÕES

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

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BITENCOURT, L.L.; PEREIRA, M.N.; OLIVEIRA, B.M.L. et al. Response of lactating cows to the supplementation with live yeast. *J. Dairy Sci.*, v.91, Suppl.1, p.264, 2008.

CHAGOYÁN, J.C.V.; CUARÓN, J.A.; SALAZAR, H.G.M. et al. Estudio de los efectos de la Sc47 proporcionada vía oral sobre el sistema inmunocompetente en cerdos infectados naturalmente con *E. coli*. In: SEMINARIO INTERNACIONAL DE MICROBIOLOGIA APLICADA A LA NUTRICION ANIMAL, 5., 2002, Guadalajara. *Anais...*, Guadalajara, 2002.

CHAUCHEYRAS, F.; FONTY, G.; BERTIN, G. et al. *In vitro* H₂ utilization by a ruminal acetogenic bacterium cultivated alone or in association with an archae methanogen is stimulated by a probiotic strain of *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.61, p.3466-3467, 1995.

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

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

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

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

DANN, H.M.; DRACKLEY, J.K.; McCOY, G.C. et al. Effects of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on prepartum intake and postpartum intake and milk production of Jersey cows. *J. Dairy Sci.*, v.83, p.123-127, 2000.

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

- FRANKLIN, S.T.; NEWMAN, M.C.; NEWMAN, K.E. et al. Immune parameters of dry cows fed mannan oligosaccharide and subsequent transfer of immunity to calves. *J. Dairy Sci.*, v.88, p.766-775, 2005.
- GUNTER, K.D. Yeast culture's success under German dairy conditions. In: BIOTECHNOLOGY IN FEED INDUSTRY, ALLTECH'S ANNUAL SYMPOSIUM, 5., 1989, Nicholasville. *Proceedings...* Nicholasville: Alltech Technical Publications, 1989. p.39-46.
- HARRIS, Jr., B.; DORMINEY, D.E.; SMITH, W.A. et al. Effects of feather meal at two protein concentrations and yeast culture on production parameters in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.75, p.3524-3530, 1992.
- HARRISON, G.A.; HEMKEN, R.W.; DAWSON, K.A. et al. Influence of addition of yeast culture supplement to diets of lactating cows on ruminal fermentation and microbial populations. *J. Dairy Sci.*, v.71, p.2967-2975, 1988.
- HEINRICH, A.J.; JONES, C.M.; HEINRICH, B.S. Effects of mannan oligosaccharide or antibiotics in neonatal diets on health and growth of dairy calves. *J. Dairy Sci.*, v.86, p.4064-4069, 2003.
- HEUGTEN, E. van; SPEARS, J.W.; COFFEY, M.T. The effect of dietary protein on performance and immune response in weaning pigs subject to an inflammatory challenge. *J. Anim Sci.*, v.72, p.2661-2669, 1994.
- HIGGINBOTHAM, G.; MERRIAM, J.; SULLIVAN, J. Efecto de una levadura viva o un cultivo de levadura sobre producción de leche y parámetros relacionados en vacas al inicio de la lactancia. In: SEMINARIO INTERNACIONAL DE MICROBIOLOGIA APLICADA A LA NUTRICION ANIMAL, 2., 2000, Guadalajara. *Anais...*, Guadalajara, 2000.
- HUTJENS, M.F. Feed additives in dairy nutrition an industry and farm perspective. In: NUTRITION CONFERENCE, 2005, Urbana. *Proceedings...* Urbana, 2005.
- LEEDLE, J.A.Z.; GREENING, R.C. Postprandial changes in methanogenic and acidogenic bacteria in the rumens of steers fed high- or low-forage diets once daily. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.54, p.502-506, 1988.
- LESMEISTER, K.E.; HEINRICH, A.J.; GABLER, M.T. Effects of supplemental yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) culture on rumen development, growth characteristics, and blood parameters in neonatal dairy calves. *J. Dairy Sci.*, v.87, p.1832-1839, 2004.
- LILA, Z.A.; MOHAMMED, N.; YASUI, T. et al. Effects of a twin strain of *Saccharomyces cerevisiae* live cells on mixed ruminal microorganism fermentation *in vitro*. *J. Anim Sci.*, v.82, p.1847-1854, 2004.
- LUND, A. Yeasts and moulds in the bovine rumen. *J. Gen. Microbiol.*, v.81, p.453-462, 1974.
- MAGALHÃES, V.J.A.; SUSCA, F.; LIMA, F.S. et al. Effect of feeding yeast culture on performance, health, and immunocompetence of dairy calves. *J. Dairy Sci.*, v.91, p.1497-1509, 2008.
- MARTIN, S.A.; NISBET, D.J. Effect of direct-fed microbials on rumen microbial fermentation. *J. Dairy Sci.*, v.75, p.1736-1744, 1992.
- MORAN, C.A. Functional components of the cell wall of *Saccharomyces cerevisiae*: applications for yeast glucan and mannan. In: ALLTECH'S ANNUAL SYMPOSIUM, 2004, Nicholasville. *Proceedings...* Nicholasville: Alltech Technical Publications, 2004. p.283-296.
- NEWBOLD, C.J.; WALLACE, R.J.; CHEN, X.B. et al. Different strains of *Saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on ruminal bacterial numbers *in vitro* and in sheep. *J. Anim Sci.*, v.73, p.1811-1818, 1995.
- NUTRIENT requirements of dairy cattle. 7.ed. Washington: National Academy of Sciences, 2001.
- OFFICIAL methods of analysis. 12.ed. v.1, Washington: AOAC, 1975.
- OFFICIAL methods of analysis. 15.ed., v.1, Washington: AOAC, 1990.
- ROSEMBERGER, G. *Exame clínico dos bovinos*. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993.
- SCHINGOETHE, D.J.; LINKE, K.N.; KALSCHUR, K.F. et al. Feed efficiency of mid-lactation dairy cows fed yeast culture during summer. *J. Dairy Sci.*, v.87, p.4178-4181, 2004.

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

WALLACE, R.J. Ruminal microbiology, biotechnology, and ruminant nutrition: progress and problems. *J. Anim Sci.*, v.72, p.2992-3003, 1994.

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

WANG, Z.; EASTRIDGE, M.L.; QIU, X. Effects of forage neutral detergent fiber and yeast culture on performance of cows during early lactation. *J. Dairy Sci.*, v.84, p.204-212, 2001.

WIEDMEIER, R.D.; ARAMBEL, M.J.; WALTERS, J.L. Effect of yeast culture and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on ruminal characteristics and nutrient digestibility. *J. Dairy Sci.*, v.70, p.2063-2068, 1987.

WILLIAMS, P.E.V.; TAIT, C.A.G.; INNES, G.M. et al. Effects of the inclusion of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae* plus growth medium) in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of steers. *J. Anim Sci.*, v.69, p.3016-3026, 1991.