

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Veterinária



Dissertação

**Marcadores metabólicos e do fluido ruminal de vacas leiteiras suplementadas
com associação de levedura viva e hidrolisada**

Tatiele Mumbach

Pelotas, 2015

Tatiele Mumbach

**Marcadores metabólicos e do fluido ruminal de vacas leiteiras suplementadas
com associação de levedura viva e hidrolisada**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Sanidade Animal).

Orientador: Marcio Nunes Corrêa

Coorientadores: Fernanda Medeiros Gonçalves

Raquel Fraga e Silva Raimondo

Cássio Cassal Brauner

Viviane Rohrig Rabassa

Francisco Augusto Burkert Del Pino

Pelotas, 2015

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

M962m Mumbach, Tatiele

Marcadores metabólicos e do fluido ruminal de vacas leiteiras suplementadas com associação de levedura viva e hidrolisada / Tatiele Mumbach ; Marcio Nunes Corrêa, orientador. — Pelotas, 2015.

46 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2015.

1. Saccharomyces cerevisiae. 2. Ácidos graxos não esterificados. 3. Ureia. 4. Bactérias ruminais. 5. Balanço energético negativo. I. Corrêa, Marcio Nunes, orient. II. Título.

CDD : 636.2

Tatiele Mumbach

Marcadores metabólicos e do fluido ruminal de vacas leiteiras suplementadas com
associação de levedura viva e hidrolisada

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em
Ciências, Programa de Pós Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária,
Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 11.02.2015

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Marcio Nunes Corrêa (Orientador)
Doutor em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas

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

Prof. Dr. Elizabeth Schwegler
Doutor em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal de Pelotas

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

Dedico este trabalho aos meus pais, Emir e Elisete Mumbach

De vocês recebi o dom mais precioso do universo: a Vida.

Já por isso seria infinitamente grata, mas vocês não se contentaram em presentear-me apenas com ela, revestiram minha existência de amor, abriram as portas do meu futuro e iluminaram o meu caminho com a luz mais brilhante que puderam encontrar: o Estudo.

Trabalharam dobrado, sacrificaram seus sonhos em favor dos meus, não foram apenas pais, mas amigos e companheiros, mesmo nas horas difíceis. Hoje, dia de mais uma conquista, procuro entre as palavras àquela que gostaria que seus corações ouvissem do meu, e só encontro uma, simples e sincera: Obrigada!

Tomara a Deus que eu possa transmiti-la no exercício da minha profissão e ensiná-la aos meus filhos com a mesma dignidade com a qual vocês a fizeram chegar a mim. Se isso eu conseguir, estarei realizada.

Agradecimentos

À Deus por me fortalecer em todos os momentos, e à Nossa Senhora Aparecida, por todas as graças concedidas.

Aos meus pais, Emir e Elisete Mumbach, por estarem sempre ao meu lado, me incentivando a continuar em frente e não desistir. Agradeço pelo amor, carinho e compreensão. Esta conquista também é de vocês.

Ao meu namorado Rafael, por toda paciência, compreensão, carinho, amor, e pelo apoio incondicional durante o mestrado, me ajudando a enfrentar os momentos e ver o lado bom da vida. Além deste trabalho, dedico todo meu amor a você.

Ao meu orientador Marcio Nunes Corrêa, pelo incentivo no decorrer do tempo, pela orientação e supervisão, apoio, amizade e pelos ensinamentos passados durante o mestrado.

À minha coorientadora Fernanda Gonçalves, pela amizade, confiança, orientação e calma transmitidos durante o decorrer do tempo.

À minha coorientadora Raquel Raimondo, por todo incentivo, orientação, supervisão e apoio, durante todos os dias do mestrado.

À minha amiga Raquel Raimondo, pela amizade verdadeira durante esse tempo, e os próximos que virão. Por todos os passeios de carro proporcionados nos finais de semana de tédio, pelas palavras de apoio, por ouvir minhas lamentações, principalmente pela paciência com a Alemoa, e por fim “Quando as almas perdidas se encontram”..

Ao professor Cássio Brauner, por toda ajuda e orientação durante esse tempo.

À minha família, e meus amigos, todos de alguma forma me fizeram sentir mais forte durante minha jornada, tenho minha admiração por cada um de vocês;

À minha amiga Fernanda Tomazi, alemoa lá do Paraná que encontrei por estas bandas, vindo com os mesmos princípios que os meus. Te admiro, pelo tua garra e determinação.

À minha vó do coração, Dona Nossentina, por me acolher em sua casa, me incentivar e dar todo o amor de vó. Ao meu amigo, e colega Fábio Rizzo, pelo incentivo, pelo acolhimento, bem como pela seriedade e ética com que transmitiu seus conhecimentos auxiliando na minha formação. A sua esposa, Eliane, pela acolhida e transmissão de boas energias. Obrigada por serem um pouco da minha família quando mais precisei.

À minha amiga Andressa Maffi, pelo companheirismo durante esse tempo. Sua amizade foi essencial durante a fase mais complicada do mestrado.

À minha amiga Patrícia Mattei, pelos bons momentos vividos durante todos os dias da semana, pelas conversas e desabafos.

À minha amiga, ou melhor, amiga do coração, ou quem sabe comadre, Ritiele Heck, pela verdadeira amizade, apoio, pelas palavras de conforto e pensamentos positivos. Que nossa amizade se fortaleça ainda mais daqui pra frente.

À família Nupeec, e realmente uma família, vou levar um pedacinho de cada um comigo, um diferente do outro, mas deixando sempre uma peculiaridade que fizeram a diferença em algum momento.

Aos meus colaboradores, Rodrigo Grazziotin e Lucas Rafael Barbosa, obrigada por me ajudarem nas tarefas do dia a dia da equipe, e pelo aprendizado que cada um conseguiu me passar.

À turma especial de Medicina Veterinária, pelos aprendizados que tive durante o convívio com vocês, e por me ensinarem a ver o lado simples da vida. Especial agradecimento a Equipe Sustenleite, mais do que ensinei, aprendi muito mais.

Às minhas colegas do mestrado e experimento, Claudia Demarco e Vanessa de Freitas, pelos bons momentos vividos e aprendizados durante essa trajetória. Que consigamos alcançar todos nossos objetivos, com muito sucesso. Até Breve!

Ao veterinário Eduardo Xavier pela contribuição durante os dias do experimento. Aos funcionários da Granjas 4Irmãos, Iara e Fabrício, que não deixaram de atender nenhum pedido, bem como os demais funcionários.

Ao Programa de Pós Graduação em Veterinária, pela oportunidade de realização do mestrado e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsa.

À Armand Hammer Animal Nutrition pelo apoio financeiro.

***“Nossas dúvidas são traidoras e nos fazem perder o que, com frequência, poderíamos ganhar,
por simples medo de arriscar”.***
William Shakespeare

Resumo

MUMBACH, Tatiele. **Marcadores metabólicos e do fluido ruminal de vacas leiteiras suplementadas com associação de levedura viva e hidrolisada.** 2015. 46f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2015.

O período de maior suscetibilidade a doenças em sistemas intensivos de produção de leite é durante o período de transição, o qual corresponde a três semanas antes até três semanas após o parto. O mesmo é caracterizado por um balanço energético negativo devido à mobilização de gordura das reservas corporais e por mudanças no ambiente ruminal pela introdução súbita de grãos na dieta. Com a finalidade de reduzir os efeitos do balanço energético negativo e promover o aumento na produção de leite, algumas medidas têm sido adotadas em relação ao manejo nutricional no período de transição. O uso de leveduras, por exemplo, têm sido uma boa alternativa para tentar melhorar o ambiente ruminal e facilitar às adaptações da microbiota a nova dieta. O objetivo do estudo foi avaliar os efeitos da suplementação de uma associação de levedura viva e hidrolisada nos marcadores metabólicos e do fluido ruminal de vacas leiteiras durante o período de transição. O experimento foi conduzido em um sistema semi-extensivo, utilizando-se 20 vacas da raça Holandesa, divididas igualmente em grupo controle (GC) e grupo Suplementado (GS). O GS recebeu adição diária de 28g/animal/dia da associação de levedura *S. cerevisiae* desde os 20 ± 2 dias pré-parto até o início da lactação (18 ± 3 dias). As coletas de amostras de fluido ruminal e de sangue foram realizadas no pré-parto, e durante seis dias após o parto. No líquido ruminal foi avaliado o pH, Tempo de redução do azul de metileno, contagem de protozoários e avaliação morfo-tintorial das *bactérias*. No soro sanguíneo foram determinadas as concentrações de ácidos graxos não esterificados (AGNE's), albumina e ureia. No metabolismo energético, os AGNE's diminuíram durante o período do colostro nos animais suplementados, assim como a albumina e ureia no período da lactação. Houve mudança no ambiente bacteriano ruminal nos animais suplementados, ocorrendo um predomínio de bactérias Gram negativas. No ambiente ruminal as bactérias Gram negativas aumentaram significativamente no GS durante a lactação. Concluiu-se que a suplementação com uma associação de levedura viva e hidrolisada em vacas durante o período de transição pode influenciar positivamente o metabolismo energético e proteico assim como o ambiente bacteriano ruminal no início da lactação.

Palavras-chave: *Saccharomyces cerevisiae*; ácidos graxos não esterificados; ureia; bactérias ruminais; balanço energético negativo

Abstract

MUMBACH, Tatiele. **Metabolic markers and ruminal fluid examination in dairy cows supplemented with an association of live and hydrolyzed yeast during transition period.** 2015. 46f. Dissertation (Master degree in Sciences) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2015.

The period of greatest susceptibility to disease in intensive milk production systems is during the transition period, which corresponds to three weeks before up to three weeks after delivery. The same is characterized by a negative energy balance due to body fat mobilization and changes in the rumen by the sudden introduction of grain in the diet. In order to reduce the effects of negative energy balance and increase milk production, some measures have been taken into account in nutritional management during the transition period. The use of yeast, for example, have been a good alternative to improve the rumen and facilitating adjustment of the microbiotato the new diet. The aim of the study was to evaluate the effects of association of live and hydrolyzed yeast in the metabolic markers and ruminal fluid examination of dairy cows during the transition period. The experiment was conducted in a semi extensive system, using 20 Holstein cows, divided equally into control group (CG) and Supplemented group (SG). The SG received daily addition of 28 g / animal / day of *S. cerevisiae* yeast association from 20 ± 2 days pre-calving until early lactation (18 ± 3 days). The collections of rumen fluid and blood samples were performed during labor, and for six days after delivery. In ruminal fluid was evaluated pH, time of blue methylene reduction, protozoa count and morpho-dye bacteria evaluation. Serum concentrations of non-esterified fatty acids (NEFA's), albumin and urea were determined. There was a change in rumen bacterial environment in the supplemented animals, experiencing a predominance of gram negative. The number of Gram negative bacteria increased significantly in GS during lactation. In energy metabolism, the NEFA's decreased over the period of colostrum in the supplemented animals as well as albumin and urea in the period of lactation. We conclude that supplementation of an association of live and hydrolyzed yeast to cows during the transition period can positively influence the energy and protein metabolism as well as the rumen bacterial environment in early lactation.

Key-Words: *Saccharomyces cerevisiae*; nonesterified fatty acid; rumen bacterial; urea; negative energy balance

Sumário

1 Introdução.....	10
2 Objetivos e Hipótese	15
2.1 Objetivo Geral.....	15
2.2 Objetivos específicos.....	15
2.3 Hipótese	16
3 Artigo.....	17
4 Considerações Finais	40
Referências	41

1 Introdução

A cadeia produtiva do leite é uma das mais importantes atividades de produção do complexo agroindustrial brasileiro. Segundo dados descritos por MAIA et al. (2013) a produção de leite no Brasil cresce a uma taxa relativamente constante desde 1974, alcançando 32,1 bilhões de litros de leite no ano de 2011. A projeção de produção de leite até o ano de 2022 é de 39,2 bilhões de litros, com crescimento anual de 1,9% ao ano (MAPA, 2012).

A intensificação dos sistemas de produção de leite alavancou o crescimento do setor, contudo, trouxe como consequência o aumento da incidência de transtornos metabólicos pelo nível de exigência dos animais. Ao se tratar da maior suscetibilidade às doenças, o período de transição é considerado o mais crítico. Compreendido entre três semanas antes da parição até três semanas após o parto, é caracterizado por marcantes mudanças no perfil endócrino do animal que são mais expressivas do que qualquer outra fase como lactação e gestação (MOTA et al., 2006).

O principal desafio enfrentado pelas vacas no período de transição é o aumento repentino e acentuado das necessidades de nutrientes para a produção de leite em um momento que ocorre a diminuição da ingestão de matéria seca, associada a fatores de estresse durante o parto, contribuindo para a incidência de problemas de saúde (DRACKLEY, 1999). As vacas passam por um balanço energético negativo, onde a quantidade de energia necessária para a manutenção dos tecidos corporais e produção de leite excedem a quantidade de energia que a vaca obtém a partir de fontes dietéticas (GOFF & HORST, 1997). Para compensar o déficit de energia, há a mobilização de ácidos graxos de cadeia longa a partir das reservas corporais. Os ácidos graxos não esterificados (NEFA) mobilizados para produção de energia nesse período são liberados na corrente sanguínea, mas quando a captação de NEFA pelo fígado se torna excessiva ocorre aumento da produção de corpos cetônicos causando doenças subsequentes (DRACKLEY, 2005).

No período seco as vacas são submetidas a uma dieta de baixa energia, e a população bacteriana de produtoras de lactato desaparece pelo decréscimo de fornecimento de amidos prontamente fermentáveis. A dieta de alta forragem aumenta a população de bactérias celulolíticas e diminui em até 50% a área de absorção do rúmen a qual retorna ao seu crescimento algumas semanas antes do parto, pela introdução de concentrado na dieta (GOFF & HORST, 1997). O pH nesse período é estável em relação ao pós-parto com média máxima de 6,55 e média menor de 6,12 (NOCEK et al. 2002).

No período seguinte, pós-parto, ocorre a introdução súbita de grãos para elevar a produção de leite. A dieta com grãos aumenta a concentração de ácido propiônico, favorecendo o crescimento das papilas ruminais e o efeito mitogênico sobre as mesmas (GOFF & HORST, 1997). Contudo, essa mudança, sem prévia adaptação, pode provocar consequências deletérias, que levam ao aumento da produção de lactato, antes do restabelecimento das bactérias utilizadoras do mesmo. O lactato é a substância mais potente para reduzir o pH do fluido ruminal, inativando protozoários e bactérias do rúmen, limitando assim a absorção dos ácidos graxos voláteis (AGV), (GOFF & HORST, 1997). Segundo Nocek et al. (2002) a diminuição do pH é influenciada pela semana em relação ao parto, ou seja, a extensão da queda aumenta à medida que a vaca muda da dieta do período seco para a dieta de lactação, permanecendo com pH mais baixo por um período de tempo maior nesta alimentação com a menor média de pH no pós-parto de 5,4.

Além disso, com as mudanças abruptas de dieta e adição de concentrado, pode ocorrer o acúmulo dos alimentos no rúmen, provocando alterações na motilidade ruminal reticular, ou seja, diminuindo a frequência e amplitude dos movimentos ruminais, podendo chegar a atonia com diminuição da produção AGV's, contribuindo para a diminuição do pH, e conseqüentemente para a diminuição da digestão dos alimentos (RADOSTITS et al., 2002).

O uso de leveduras, principalmente de *Saccharomyces cerevisiae* têm sido uma alternativa para auxiliar o ambiente ruminal frente às dietas ricas em concentrados utilizadas para vacas de alta produção. Grande número de produtos à base de levedura tem sido introduzido no mercado, e estes produtos incluem leveduras vivas, inativadas, parede celular, conteúdo celular e leveduras enriquecidas por minerais (GRAHAM et al., 2009).

As leveduras secas ativas são bem aceitas por terem uma série de benefícios na produção animal. Esses produtos são geralmente caracterizados por ter uma alta concentração de células viáveis (acima de 10 bilhões ufc/g). A cultura de levedura é um produto de fermentação natural contendo parede de células de levedura como os β -glucanos e mananos-oligossacarídeos (MOS), células, vitaminas, proteínas, peptídeos, aminoácidos, nucleotídeos, lipídios, ácidos orgânicos, oligossacarídeos, ésteres e álcoois (NOCEK et al., 2011).

Os produtos da parede celular hidrolisada enzimaticamente, que contém MOS, 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).

Os beta-glucanos presentes na parede celular do *Saccharomyces cerevisiae* possuem ação ativadora do sistema complemento, fagocitose e produção de citocinas inflamatórias por macrófagos, estimulando ainda neutrófilos e monócitos, além da ação inibitória do fator de crescimento tumoral, fatores estes da imunidade inata. Estudos com mananos em vacas no período seco demonstraram resposta imune ao rotavírus e transferência destes anticorpos aos bezerros (FRANKLIN et al., 2005) e aumento dos níveis de gama globulinas no sangue de bezerros que receberam mananos na dieta (TASSINARI et al., 2007).

O uso de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* promove aumento do pH, da digestibilidade e do consumo e conseqüentemente da produção de leite (DESNOYERS et al., 2009). Contudo, a resposta dos animais frente aos efeitos das leveduras é bastante variável, modificando conforme a natureza da dieta, produtividade dos animais, fase de lactação, dose e cepa da levedura utilizada (FONTY & CHAUCHEYRAS-DURAND, 2006).

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).

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 (CHAUCHEYRAS-DURAND et al., 2008). A suplementação com levedura durante o período de transição, período de estresse que as vacas estão naturalmente expostas pode ser uma alternativa para aumentar a IMS e maximizar a eficiência alimentar e assim favorecendo o desempenho produtivo e a saúde desses animais (EASTRIDGE et al., 2006).

PUTNAM et al. (1997) verificaram o efeito da cultura de levedura em vacas entre seis e oito semanas pré parto, e não encontram efeito da suplementação sobre o pH do fluido ruminal e as concentrações média de amônia. Utilizando vacas canuladas no fim da lactação, com suplementação de cultura viva de *Saccharomyces cerevisiae* BACH et al. (2007), através de monitoração a cada 15 minutos do pH do fluido ruminal, constataram uma média menor em vacas controle, comparando com vacas suplementadas. Da mesma forma THRUNE et al. (2009) verificaram o efeito da cultura viva de *Saccharomyces cerevisiae* no pH do fluido ruminal de vacas canuladas no final da lactação, sendo que as vacas suplementadas apresentaram maior pH do fluido ruminal.

DOLEZAL et al. (2005) através da suplementação de cultura de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*, Strain 47), em trinta e seis vacas no primeiro terço de lactação mostraram correlação significativa entre a dose crescente de cultura de levedura e a atividade metabólica de infusórios, demonstrando aumento significativo do número de protozoários no rúmen.

Em relação a influencia da suplementação com levedura no metabolismo de vacas durante o período de transição AL IBRAHIM et al. (2013), verificaram que vacas com introdução gradual na pastagem com a suplementação de levedura viva, tiveram a diminuição de AGNE's em comparação as vacas que não receberam levedura. Enquanto que AYAD et al. (2013) não verificaram diferença no

metabolismo proteico de vinte vacas suplementadas com *Saccharomyces cerevisiae* (BIOSAF® SC 47), com exceção da albumina, que nos dias 30 e 45 pós-parto, foi maior no grupo suplementado.

Em seu trabalho NOCEK et al. (2011), usaram 150 vacas múltíparas, do parto até quatorze semanas pós-parto. Os animais foram divididos em três grupos, dieta controle; cultura de levedura (suplementação de *Saccharomyces cerevisiae*, A-max, 56g/dia) e cultura de levedura mais levedura hidrolisada enzimaticamente (suplementação de *Saccharomyces cerevisiae*, Celmanax, 28g/dia). Os problemas de saúde, como exemplo, retenção de placenta, cetose e mastite, no pós-parto não sofreram influência pelos tratamentos.

2 Objetivos e Hipótese

2.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos da suplementação com uma associação de cultura viva de levedura *Saccharomyces cerevisiae* e levedura hidrolisada enzimaticamente no ambiente ruminal e no metabolismo de vacas leiteiras durante o período de transição.

2.2 Objetivos específicos

1. Verificar o efeito da suplementação com *Saccharomyces cerevisiae* na concentração de ácidos graxos não esterificados no sangue de vacas leiteiras no período de transição;
2. Verificar o efeito da suplementação com *Saccharomyces cerevisiae* no metabolismo proteico de vacas leiteiras no período de transição.
3. Verificar o efeito da suplementação com *Saccharomyces cerevisiae* no pH do fluido ruminal de vacas leiteiras no período de transição;
4. Verificar o efeito da suplementação com *Saccharomyces cerevisiae* na proporção bacteriana ruminal e no predomínio morfo-tintorial das bactérias ruminais de vacas leiteiras no período de transição;
5. Verificar o efeito da suplementação com *Saccharomyces cerevisiae* na contagem de protozoários no fluido ruminal de vacas leiteiras no período de transição;

2.3 Hipótese

A associação de cultura viva de levedura *Saccharomyces cerevisiae* e levedura hidrolisada enzimaticamente ajudam melhoram o metabolismo energético e proteico, diminuindo os efeitos do balanço energético negativo, e nana adaptação da flora ruminal em vacas leiteiras no período de transição.

3 Artigo

Metabolic and ruminal fluid markers of dairy cows supplemented with a combination of yeast culture and hydrolyzed yeast
Tatiele Mumbach, Raquel F. S. Raimondo, Claudia F. Demarco, Vanessa O. de Freitas, Andressa S. Maffi, Lucas R. D. Barbosa, Fernanda M. Gonçalves, Cassio Cassal Brauner, Carolina B. Jacometo e Marcio N. Corrêa
Submetido à revista: Livistock Science

19 **ABSTRACT**

20 In order to reduce the effects of negative energy balance and increase milk production in early
21 lactation some measures have been taken into account in nutritional management during the
22 transition period. The use of yeast, for example, have been a good alternative to improve the rumen
23 metabolism and facilitating adjustment of the microbiotato the new diet. The aim of the study was
24 to evaluate the effects of combination of yeast culture and hydrolyzed yeast in the metabolic
25 markers and ruminal fluid composition of dairy cows during the transition period. The experiment
26 was conducted in a semi-extensive system, using 20 Holstein cows, divided equally into control
27 group (CG) and Supplemented group (SG). The SG received daily the addition of 28 g / animal /
28 day of combination of yeast culture and hydrolyzed yeast from 20 ± 2 days pre-calving until early
29 lactation (18 ± 3 days). The collections of rumen fluid and blood samples were performed at
30 calving, and for three time points during early postpartum period and three time points during early
31 lactation period. In ruminal fluid was evaluated pH, time of blue methylene reduction, protozoa
32 count and morpho-dye bacteria evaluation. Serum concentrations of non-esterified fatty acids
33 (NEFA), albumin and urea were determined. There was a change in rumen bacterial environment in
34 the supplemented animals, experiencing a predominance of gram negative. The number of gram-
35 negative bacteria increased significantly in GS during early lactation. Regarding energy
36 metabolism, NEFA decreased during early postpartum period in the supplemented animals as well
37 as albumin and urea in the period of lactation. We conclude that the supplementation with
38 acombination of yeast culture and hydrolyzed yeast to cows during the transition period can
39 positively influence the energy and protein metabolism as well as the rumen bacterial environment
40 in early lactation.

41

42 Key words: *Saccharomyces cerevisiae*, nonesterified fatty acids, rumen bacterial, dairy cows,
43 negative energy balance, transition period.

44

45

46 **1. Introduction**

47

48 The higher disease susceptibility in order to the intensification of the production systems has
49 the transition period as the most critical one. From three weeks pre-partum until three weeks
50 postpartum (Mota et al., 2006) the transition period is characterized for an abrupt increase in the
51 energy demand associated with a decrease in dry matter intake (DMI) and stressful factors
52 associated with calving (Drackley, 1999). These factors lead to a negative energy balance (NEB)
53 state, where the energy necessary to milk production and body maintenance exceed the energy that
54 cows obtain from the diet (Goff and Horst, 1997). To compensate the energy deficiency, body fat
55 depots are mobilized increasing circulating concentrations of non-esterified fatty acids (NEFA) to
56 be used as an energy source. When liver NEFA mobilization capacity is exceeded there is an
57 increase in the production of ketone bodies and the susceptibility of diseases (Drackley et al., 2005),
58 as hepatic steatosis, retained placenta and abomasum displacement (Mulligan et al., 2006).

59 Nutritional management tools can be adopted in order to reduce the effects of the NEB and
60 promote an increase in milk production. Thus, the transition period besides being a period of
61 metabolic changes, cows also experience dietary changes (Mota et al., 2006). It is common to have
62 higher inclusion of grains in the postpartum period to promote an increase in milk production,
63 which modifies the ruminal environment and could have harmful consequences to cow's
64 metabolism, increasing lactate production before the establishment of lactilytica bacteria. Lactate is
65 one of the strongest molecules capable to reduce the ruminal fluid pH, inactivating protozoa and
66 gram-negative ruminal populations, limiting volatile fatty acids (VFA) absorption (Goff and Horst,
67 1997).

68 The use of yeast, especially *Saccharomyces cerevisiae* have been adopted as an alternative
69 to enhance ruminal environment promoting an increase in pH, digestibility efficiency, increase in
70 DMI and consequently milk production (Desnoyers et al., 2009). So, its use during the transition

71 period can improve the ruminal environment in situations of abrupt diet changes, contributing to
72 reduce the harmful effects of the NEB.

73 Dry yeast has high concentration of viable cells (higher than 10 billion CFU/g) (Nocek et al.,
74 2011). The yeast culture is the product of natural fermentation composed of yeast cell wall as β -
75 glucans and mannan oligosaccharide (MOS), cells, vitamins, proteins, peptides, amino acids,
76 nucleotides, lipids, organic acids, esters and alcohols (Nocek et al., 2011). The β -glucans found in
77 cellular wall of *Saccharomyces cerevisiae* can contribute to a better animal's metabolism function,
78 as well as an stimulator of the immune response, while studies with MOS offered to dairy cows
79 during the dry period demonstrated increased immune response to rotavirus and transfer of these
80 antibodies to calves (Franklin et al., 2005). The product from the enzymatically hydrolyzed cellular
81 wall, that contains MOS, β -glucans and yeast metabolites can be added to yeast culture medium
82 (Marden et al., 2008). The combination of yeast culture and hydrolyzed yeast enriches the product
83 compared to that ones that contain only yeast culture and can leverage the action of the cellular wall
84 components.

85 The aim of this study was to evaluate the supplementation effects with a combination of
86 yeast culture and hydrolyzed yeast of *Saccharomyces cerevisiae* in blood metabolic biomarkers and
87 ruminal fluid composition of dairy cows during the transition period.

88

89 **2. Material and methods**

90

91 The study was conducted in a commercial farm located at Rio Grande, RS, Brazil (32° 16' S,
92 52° 32' W). The cows were maintained in a semi-extensive management system, which was based
93 on pasture and concentrate supplementation after each milking. Milking was performed twice a day,
94 at 12 h intervals. The Ethics and Animal Experimentation Committee from the Federal University
95 of Pelotas, under the registration number 6780, approved all procedures.

96

2.1 Animals, experimental design and treatments

Twenty Holstein cows were enrolled, selected according to the number of lactations (2 to 4 lactations) and allocated equally in two groups: control group (CG, n=10) and supplemented group (SG, n=10). All cows were managed together during the experimental period and received the same diet, except for the daily inclusion of 28 g/animal/day of a combination of yeast culture of *Saccharomyces cerevisiae* and hydrolyzed yeast of *Saccharomyces cerevisiae* (Celmanax, Arm & Hammer Animal Nutrition, Princeton, NJ) in the SG. The supplementation was performed individually and daily from 20±2 days pre-partum until 18±2 days postpartum. Each cow was observed to ensure totally intake of the yeast supplementation.

Animal's nutritional management was composed of three balanced diets for each period according to NRC (2001): pre-partum diet (20±2 days pre-partum until calving), early postpartum period (from calving until 15±3 days) and early lactation period (from 15 to 18±3 days postpartum).

Diets had the forage:concentrate ratio modified in each period due the increasing inclusion of concentrate. Pre-partum diet had 5 Kg / animal of concentrate (66.67% forage 33.33% concentrate), early postpartum diet had 8.9 Kg / animal of concentrate (44.03% forage 55.97% concentrate) and early lactation diet had 12.5 Kg / animal of concentrate (39.61% forage 60.39% concentrate). After calving the total mixed ration (TMR) containing the concentrated were offered after each milking, and animals were conducted to pasture after eating.

2.2 Sampling, clinical exam and measurements

Samplings from ruminal fluid, blood and clinical exam were performed in three different periods, according to diet changes, totalizing seven samplings in each animal: pre-partum period, one sampling (day 7±2 pre-partum); early postpartum period, three consecutive samplings at 24, 48 and 72 hours after calving; and early lactation period, three consecutive samplings at 24, 48 and 72 hours after diet changing (15±3 days after calving). Postpartum evaluations were performed after milking and before TMR feeding and yeast supplementation.

123 Clinical examination includes the evaluation of the heart rate, respiratory frequency, ruminal
124 movements, body temperature, inspection of capillary refill time, mucosal color and body condition
125 score (BCS).

126 The rumen fluid was obtained by ruminocentese and the content (40mL) was slowly
127 aspirated with a 20 mL syringe, filtered through cheesecloth, identified and stored in aliquots. For
128 the number of protozoa was stored 5mL rumen fluid with 10 ml of formalin (37%) for maintaining
129 the structures of protozoa. We evaluated the pH, methylene blue reduction test (MBRT), bacteria
130 morpho-dye evaluation by Gram staining method carried out according to Dirksen (1990); and
131 quantification of rumen protozoa based on the methodology described by Dehority (1993) and Lima
132 et al. (2012).

133 Blood samples were collected by coccygeal venipuncture using 10 mL vacutainer tubes
134 without clot activator, centrifuged at 1800 × g for 15 min and serum harvested and stored in 1.5
135 mL tubes at -80°C for further biochemical analysis.

136 NEFA concentration was measured through a commercial kit (Wako NEFA-HR, Wako
137 Chemicals USA®, Richmond, USA) according with the method described by Ballou et al. (2009) at
138 day 7 pre-partum, at the 24 h sampling of the early postpartum period and at 24 h sampling of the
139 early lactation period. The protein metabolism was evaluated by serum concentrations of urea and
140 albumin, through a colorimetric analysis using a commercial kit (Labtest, Belo Horizonte, Brazil).
141 All readings were performed in the spectrophotometer BioEspectro® SP 220 (Bioespectro,
142 Curitiba, Brazil).

143

144 *2.3 Statistical analysis*

145 Statistical analysis for pH, NEFA, BCS, albumin and urea were performed using the SAS®
146 9.0 program (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Data were checked for normality. Results are
147 presented as mean and standard error of the mean. For early postpartum and early lactation period
148 data are presented as a mean of the three consecutive samplings for each group. ANOVA with

149 repeated measures and means comparisons by Tukey-Kramer test were used in a MIXED
150 MODELS, having as fixed effects the groups (supplemented x control), time and its interaction,
151 besides the cow random effect. Statistical differences were stated at $P \leq 0.05$. Qualitative variables,
152 such as ruminal movements, MBRT, protozoa counting and bacteria morpho-dye evaluation were
153 analyzed using the NCSS program (2005), by chi-square test in all comparisons.

154

155 3. Results and discussion

156 Pre-partum concentrations of NEFA were higher than the physiological standard ($0.88 \pm$
157 0.17 mmol/L e 0.56 ± 0.19 mmol/L in control and supplemented groups, respectively), while
158 concentrations of 0.04 mmol/L in the pre-partum and 0.7 mmol/L in the postpartum period are
159 desirable in dairy cows (Promkot et al., 2011). Besides no statistical differences were detected, the
160 cows from the control group had the double of the desirable concentration for this period. The
161 increased concentrations of NEFA due fat depots mobilization that happens in the transition period,
162 specially in the postpartum period, is justified for increased milk production in specialized dairy
163 cows (Smith et al. 1997) and reflects cow's adaptation to the NEB (Duffield and Leblanc, 2009).

164 The effect of yeast supplementation during the transition period on NEFA concentration
165 (Fig. 1A) was observed in the early postpartum period ($P = 0.047$). At this period there was an
166 expected increase in NEFA concentration related to pre-partum period (Leblanc et al., 2005), in the
167 SG (0.78 ± 0.16 mmol/L), which was close to recommended value (0.7 mmol/L Promkot et al.,
168 2011), as well as in CG (1.28 ± 0.16 mmol/L), higher than the recommendation, reflecting the
169 mobilization of body fat depots. When the fat mobilization overloads the liver oxidation capacity
170 the ketone bodies are synthesized, promoting further metabolic disorders (Al Ibrahim et al., 2013).

171 The lower concentrations of NEFA observed in SG in early postpartum period could be
172 attributed to the yeast capacity in enhancing the cellulolytic capacity of the ruminal
173 microorganisms, increasing the fiber digestibility and starch utilization, offered in the diet (Dolezal
174 et al., 2005). Consequently there is a lower conversion and efficiency of feed nutrients for milk

175 production during the transition period, without the necessity of mobilizing the fat tissue depots,
176 used as energy source during the NEB (Lopuszanka-Rusek and Bilik, 2011). So, the yeast
177 supplementation performed in this study contributed positively, reducing the NEFA concentrations.
178 NEFA decreases also were observed by Al Ibrahim et al. (2013) in dairy cows supplemented with
179 yeast culture in early postpartum period, and this effect is described by authors as an enhanced
180 ruminal function and increased ruminal VFA (Al Ibrahim et al., 2012).

181 A contrasting effect was observed by Krizóva et al. (2011), which a supplementation with 3
182 g of yeast culture were not effect to alter NEFA concentrations compared to the control ones.
183 Konyves et al. (2005) also did not found effect of supplementing dairy cows with different doses of
184 *Saccharomyces cerevisiae* in early lactation period.

185 Postpartum cows should have a BCS varying from 3 to 3.25 (Roche et al., 2009). The
186 maintenance of an ideal BCS during the transition period determines a pregnancy and beginning of
187 lactation without problems and maintenance of milk production, described in other studies
188 (Mulligan et al., 2006).

189 During the pre-partum period no yeast supplementation effect was observed in BCS (Fig.
190 1B). Control cows had a BCS within the recommended range (3.2 ± 0.12) while the supplemented
191 cows had a BCS (2.9 ± 0.12) close to the minimal limit proposed for this period. In early
192 postpartum period CG had higher ($P < 0.001$) BCS (2.9 ± 0.05) compared to the SG (2.55 ± 0.05).
193 During early lactation period both groups had a similar BCS (2.63 ± 0.05 in the CG and 2.5 ± 0.05
194 in the SG).

195 During the transition period CG reduced 0.7 points of BCS, while SG lost 0.5. Busato et al.
196 (2002) compared cows that had different BCS pre-partum and its losses during the postpartum and
197 concluded that cows with BCS > 3.25 in the pre-partum lost more than 0.75 points of BCS,
198 mobilized more quantity of fat, and consequently had higher NEFA concentrations two weeks
199 postpartum related to other groups (BCS > 3.25 pre-partum lost ≤ 0.75 after calving; BCS 3.25 pre-
200 partum lost ≤ 0.75 after calving; and BCS ≤ 3.25 pre-partum lost > 0.75 after calving). Thus,

201 supplemented cows, lost less BCS during early postpartum period, had a lower BCS loss during the
202 experimental period and had lower NEFA concentration than the CG.

203 Kalmus et al. (2009) also did not observe an effect of yeast culture supplementation
204 (*Saccharomyces cerevisiae*) in BCS of cows from pre-partum until 14 weeks postpartum. Another
205 study that aimed to evaluate the effects of supplementing yeast culture (lineage *Saccharomyces*
206 *cerevisiae* 1026) to dairy cows with high or low BCS (BCS \leq 3.5 and BCS \geq 3.75) demonstrated
207 that yeast supplementation did not affect animal's BCS (Al Ibrahim et al., 2010). In this study
208 authors speculate that yeast supplementation did not affect DMI, thus did not influence the BCS in
209 both groups.

210 The protein metabolism in ruminant animals is mainly determined by serum levels of urea
211 and albumin (Conteras, 2000). The first one determines the protein state in a short period of time,
212 being related to the diet energy:protein ratio, while the second marker is more sensible to determine
213 the protein nutritional state (Conteras, 2000).

214 Concentrations varying from 2.7 to 3.8 g/dL of albumin are considered ideal for dairy cows
215 (Schneider et al., 2010). In the pre-partum period of this study, besides no statistical differences
216 were detected in albumin concentrations between groups (Fig. 1C), SG levels were within the
217 physiological range (2.74 ± 0.12 g/dL), while the CG had levels lower than the physiological
218 standards (2.49 ± 0.11 g/dL). During the early postpartum period both groups had albumin
219 concentrations lower than the recommended (2.47 ± 0.06 g/dL and 2.48 ± 0.06 g/dL, in SG and CG
220 respectively), which could be related to a deviation of serum proteins, mainly albumin and IgG, to
221 the udder at the end of pregnancy for colostrum synthesis (Jain 1993, Feitosa and Birgel, 2000).

222 Yeast supplementation decreased ($P = 0.032$) albumin concentrations during the early
223 lactation period (2.31 ± 0.08 g/L and 2.56 ± 0.08 g/L in SG and CG respectively, Fig. 1C).
224 According to Moorby et al. (2000) the albumin serum concentrations, due the deviation to
225 mammary gland during pre-partum, were kept elevated for eight weeks. Yeast supplementation
226 could act enhancing the nutrient input to mammary gland during the transition period, reflected in

227 lower albumin concentrations in the SG compared to the CG, which in turn increased in early
228 lactation period. Ayad et al. (2013) did not find an effect of yeast culture supplementation in
229 albumin concentration, except at day 30 and 45 postpartum, when the supplemented group had
230 higher concentrations.

231 Pre-partum and early postpartum period urea concentrations were kept between the
232 standards in both groups, 15-40 mg/dL, as suggested by Schneider et al. (2010) (SG: pre-partum =
233 31.03 ± 2.18 mg/dL and early postpartum period = 23.10 ± 1.77 mg/dL; CG: pre-partum = $27.23 \pm$
234 1.95 mg/dL and early postpartum period = 20.11 ± 1.77 mg/dL). The yeast supplementation effect
235 was observed in urea concentrations during the early lactation period (Fig. 1D), with higher ($P =$
236 0.017) concentrations for the SG (18.53 ± 1.19 mg/dL) compared to CG (14.40 ± 1.17 mg/dL).

237 High blood concentration of urea can be an indicative of an inefficient use of diet crude
238 protein (Broderick and Clayton, 1997). Yeast supplementation can increase this efficiency due a
239 positive effect on growth and activity of proteolytic ruminal bacteria (Fonty and Chaucheyras-
240 Durand, 2006).

241 Our results indicated a reduction on blood concentrations of urea during the transition period
242 in the supplemented animals, suggesting that the yeast combination offered can enhance the diet
243 protein use. This result is in accordance with the study from Iwanska et al. (1999), which observed
244 an effect of yeast on dietary nitrogen utilization. Santra and Karim (2003) demonstrated that a
245 reduction in ruminal ammonia concentration reflects in higher transport in microbial protein, and its
246 flux from rumen to duodenum, contributing to lower concentrations of ruminal ammonia nitrogen.
247 Bruno et al. (2009) observed a reduction in blood urea levels of cows supplemented with 30 g of a
248 yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) during the postpartum period, suggesting that this
249 reduction can be related to better dietary protein utilization.

250 A reduction in blood urea of animals supplemented with yeast culture also was observed by
251 Dolezal et al. (2011). Authors attribute this fact to the common fact of cows having high diet
252 content of by-pass protein or a lower concentration of ruminal degradable protein. Zaworski et al.

253 (2014) observed an increase in blood urea concentrations during the transition period with different
254 levels of yeast supplementation, attributing this fact to increased body muscle mobilization and high
255 concentrations of cortisol during this period.

256 All parameters evaluated in the clinical exam were within the physiological range, in all
257 periods. The ruminal movements, reflex of contraction and relaxing of ruminal wall, is influenced
258 by the type of the diet and by the time passed after the last feeding and the exam (Dirksen,1990).
259 Our results demonstrated that yeast supplementation did not affect the ruminal movements,
260 however it was observed an effect of diet change in ruminal motility. During the pre-partum period
261 cows did not show absence of ruminal movements during the 2 minutes of observation, while during
262 the early postpartum period 20% of the SG and 13.3% of the CG had absence of ruminal
263 movements, which can be attributed to calving stressful factors and the abrupt change to a diet rich
264 in concentrate. At the beginning of lactation period only one cow of the SG (3.33%) had absence of
265 ruminal movements, demonstrating a better adaptation to the diet transition compared to early
266 postpartum period.

267 Although these alterations in ruminal movements, no cows demonstrated ruminal acidosis
268 during the study, as the ruminal pH was kept in the normality standard, which can vary from 5.5 to
269 7.4, depending on animal's diet and the interval between the last feeding and the evaluation
270 (Dirksen,1990). The supplementation with the combination of yeast culture and hydrolyzed yeast
271 yeast did not affect cow's ruminal fluid pH (Fig. 2).

272 Regarding ruminal fluid pH, the results available at literature are controversial. Putnam et al.
273 (1997) did not found effect of yeast culture supplementation on ruminal fluid pH, while AlZahal et
274 al. (2014), Thrune et al. (2009) and Bach et al. (2007) observed higher ruminal fluid pH in cows
275 supplemented with dry and/or active yeast. Differences observed in our study response can be
276 attributed to a variability of factors as diet, animal's productivity, lactation stage, dose and lineage
277 of the utilized yeast (Fonty and Chaucheyras-Durand, 2006). The balanced diet offered to these trial
278 animals and the moment of ruminal fluid sampling could have affected the response of yeast in

279 reduced ruminal pH. At sampling time, probably ruminal pH was in the physiological range due the
280 past time from the last feeding.

281 Ruminal protozoa are capable of reduce soluble sugars and many polysaccharides, avoiding
282 the rapid ruminal pH decrease due diets rich in concentrate, there is a stabilization of the bacteria
283 digestive process, removing part of the starch (Dirksen,1990). Animals with digestive problems
284 there is a reduction in the protozoa number, as they are sensible to ruminal pH variations (Feitosa,
285 2008).

286 The protozoa count on ruminal liquid was similar between groups in the three experimental
287 periods. At pre-partum the protozoa number was 301.4 ± 54.71 in the CG and 293.9 ± 65.03 in the
288 SG, then reduced at early postpartum period (CG: 246.39 ± 28.97 and SG: 193.57 ± 29.27) and
289 maintained at early lactation period (CG: 312.28 ± 46.62 and SG: 250.67 ± 42.73).

290 Kamra et al. (2002) also did not found differences in the protozoa number in the ruminal
291 fluid with yeast addition. Dolezal et al. (2005) demonstrated a significant positive correlation
292 between the yeast culture dose and the protozoa metabolic activity. In another study, Dolezal et al.
293 (2012) also observed higher protozoa abundance with higher yeast dose.

294 The MBRT indicates the anaerobic fermentative activity of the bacteria population and it is
295 related with the feeding quality (Dirksen, 1990). The elapsed time should be between three and six
296 minutes, and in animals that receive a diet rich in carbohydrates the reduction happens within three
297 minutes, and in some cases can extent for more than fifteen minutes, characterizing an inactive
298 microbiota (Dirksen,1990). The MBRT in this study was not affected by yeast supplementation
299 during the transition period, demonstrating that the bacteria population was active during the
300 experimental period.

301 Despite the lack of interaction between yeast supplementation and bacteria fermentative
302 activity we could observe that in the bacteria morpho-dye evaluation there was a change in the
303 ruminal bacterial predominance (Table 1). The groups were different in the pre-partum period, as
304 CG had 80% of gram-negative bacteria while SG had 33.3% ($P = 0.03$). During early postpartum

305 period the groups had similar proportions of gram-negative bacteria (SG: 88.9%; CG: 82.8%). At
306 early lactation period the SG had higher ($P = 0.03$) proportion of gram-negative bacteria (96.7%)
307 compared to the CG (73.1%).

308 Generally there is a ruminal predominance of gram-negative bacteria, in health animals and
309 also sick animals that maintain the ruminal pH between the physiological range. Starch rich diets
310 promote higher proliferation of gram-positive bacteria, which could exceed and extinguish the
311 gram-negative ones, promoting ruminal disorders (Dirksen, 1990). It has been described (Fonty and
312 Chaucheyras-Durand, 2006) that the main yeast action to enhance the productive performance of
313 dairy cows is related with the improved ruminal bacteria activity. An example is the increased
314 number of bacteria that use lactate as a substrate, reducing this molecule concentration, as well as
315 the bacteria that that degrade fiber, contributing to feeding efficiency (Chaucheyras-Durand et al.,
316 2008). Besides this, one of the most consist results observed when ruminates are supplemented with
317 yeast is the increase in ruminal bacteria number, which can minimize the VFA increasing
318 concentrations, avoiding the ruminal fluid pH reduction (Pinloche et al., 2013).

319

320 **4. Conclusions**

321 Dairy cows supplementation with an association of an of combination of yeast culture and
322 hydrolyzed yeast during the transition period can benefit the metabolism, reducing the NEFA,
323 albumin and urea concentrations and favor the ruminal bacteria environment.

324

325 **Acknowledgements**

326 To the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), for the
327 scholarship consseccion and to Arm and Hammer Animal Nutrition for partial financial support.

328

329

330

331 **References**

332

333 Al Ibrahim, R.M., Kelly, A.K., O’Grady, L., Gath, V.P., McCarney, C., Mulligan, F.J., 2010. The
334 effect of body condition score at calving and supplementation with *Saccharomyces*
335 *cerevisiae* on milk production, metabolic status, and rumen fermentation of dairy cows in
336 early lactation. J. Dairy Sci.93, 5318–5328.

337 Al Ibrahim, R.M., Gath, V.P., Campion, D.P., McCarney, C., Duffy, P., Mulligan, F.J., 2012. The
338 effect of abrupt or gradual introduction to pasture after calving and supplementation with
339 *Saccharomyces cerevisiae* (Strain 1026) on ruminal pH and fermentation in early lactation
340 dairy cows. Anim. Feed Sci. Technol. 178, 40– 47.

341 Al Ibrahim, R.M., Whelanz, S.J., Pierce, K.M., Campion, D.P., Gath, V.P., Mulligan, F.J.,
342 2013. Effect of timing of post-partum introduction to pasture and supplementation with
343 *Saccharomyces cerevisiae* on milk production, metabolic status, energy balance and some
344 reproductive parameters in early lactation dairy cows. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.97, 105–
345 114.

346 Alzahal, O., Dionissopoulos, L., Laarman, A.H., Walker, N., McBride, W., 2014. Active dry
347 *Saccharomyces cerevisiae* can alleviate the effect of sub-acute ruminal acidosis in lactating
348 dairy cows. J. Dairy Sci. 97, 7751-7763.

349 Ayad, M.A., Benallou, B., Saim, M.S., Smadi, M.A., Meziane, T., 2013. Impact of feeding yeast
350 culture on milk yield, milk components, and blood components in Algerian dairy herds. J.
351 Vet. Sci. Technol. 4, 135.

352 Bach, A., Iglesias, C., Devant, M., 2007. Daily rumen pH pattern of loose-housed dairy cattle as
353 affected by feeding pattern and live yeast supplementation. Anim. Feed Sci. Technol. 136,
354 146–153.

355 Ballou, M.A., Gomes, R.C., Juchem, S.O., Depeters, E.J., 2009. Effects of dietary supplemental fish
356 oil during the peripartum period on blood metabolites and hepatic fatty acid compositions

- 357 and total triacylglycerol concentrations of multiparous Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 92, 657-
358 669.
- 359 Broderick, G.A., Clayton, M.K., 1997. A statistical evaluation of animal and nutritional factors
360 influencing concentrations of milk urea nitrogen. *J. Dairy Sci.* 80, 2964-2971.
- 361 Bruno, R.G.S., Rutigliano, H, Cerri, R.L., Robinson, P.H., Santos, J.E.P., 2009. Effect of feeding
362 *Saccharomyces Cerevisiae* on performance of dairy cows during summer heat stress. *Anim.*
363 *Feed Sci. Technol.* 150, 175–186.
- 364 Busato, A., Faissler, D., Kupfer, U., Blum, J.W., 2002. Body Condition Scores in Dairy Cows:
365 Associations with Metabolic and Endocrine Changes in Healthy Dairy Cows. *Journal*
366 *Veterinary Medicine.* 49, 455–460.
- 367 Chaucheyras-Durand, F., Walker, N.D., Bach, A., 2008. Effects of active dry yeasts on the rumen
368 microbial ecosystem: Past, present and future. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145, 5–26.
- 369 Contreras, P.A., 2000. Indicadores do metabolismo proteico utilizados nos perfis metabólicos de
370 rebanhos, in: González, F.H.D., Barcellos, J., Ospina, H., Ribeiro, L.A. (Ed.), *Perfil*
371 *Nutricional em Ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais.* UFRGS, Porto
372 Alegre, pp. 23-30.
- 373 Dehority, B.A., 1993. Laboratory manual for classification and morphology of rumen ciliate
374 protozoa, first ed. CRC Press Inc, Florida
- 375 Desnoyers, M., Giger-Reverdin, S., Bertin, G., Duvaux-Ponter, C., Sauvant, D., 2009. Meta-analysis
376 of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and
377 milk production of ruminants. *J. Dairy Sci.* 92, 1620–1632.
- 378 Dirksen, G., 1990. Sistema digestivo, in: Dirksen G., Gründer H., Stöber M. (Eds.), *Clinical*
379 *Examination of Cattle,* WileyBlackwell, Hoboken, pp. 166-228.
- 380 Dolezal, P., Dolezal, J., Trinacty, J., 2005. The effect of *Saccharomyces cerevisiae* on ruminal
381 fermentation in dairy cows. *Czech J. Anim. Sci.* 50, 503–510.

- 382 Dolezal, P., Dvoracek, J., Dolezal, J., Cermakova, J., Zeman, L., Szwedziak, K., 2011. Effect of
383 feeding yeast culture on ruminal fermentation and blood indicators of Holstein dairy cows.
384 *Acta Vet. Brno.* 80, 139–145.
- 385 Dolezal, P., Dolezal, J., Szwedziak, K., Dvoracek, J., Zeman, L., Tukiendorf, M., Havlicek, Z.,
386 2012. Use of yeast culture in the TMR of dairy holstein cows. *Iranian J. Appl Anim. Sci.* 2,
387 51-56.
- 388 Drackley, J.K., 1999. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *J. Dairy*
389 *Sci.* 82, 2259–2273.
- 390 Drackley, J.K., Dann, H.M., Douglas, G.N., Guretzky, N.A.J., Litherlans, N.B., Underwood,
391 J.P., Loor, J.J., 2005. Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may
392 increase susceptibility to periparturient diseases and disorders. *Ital. J. Anim. Sci.* 4, 323-
393 344.
- 394 Duffield, T.F., Leblanc, S.J., 2009. Interpretation of serum metabolic parameters around the
395 transition period. Southwest Nutrition and Management Conference, Ontario, Canada.
- 396 Feitosa, F.L.F., Birgel, E.H., 2000. Variação da concentração de imunoglobulinas G e M, de
397 proteína total e suas frações eletroforéticas e da atividade da gamaglutamiltransferase no
398 soro sanguíneo de vacas holandesas, antes e após o parto. *Arq. Bra. Med. Vet. Zoo.* 52, 11-
399 116.
- 400 Feitosa, F.L.F., 2008. Semiologia do Sistema Digestório de Ruminantes, in: Feitosa, F.L.F., (Ed),
401 *Semiologia Veterinária: a arte do diagnóstico*, Roca, São Paulo, pp. 108-138.
- 402 Fonty, G., Chaucheyras-Durand, F., 2006. Effects and modes of action of live yeasts in the rumen.
403 *Biologia.* 6, 741-750.
- 404 Franklin, S.T., Newman, M.C., Newman, K.E., Meek, K.I., 2005. Immune parameters of dry cows
405 fed mannan oligosaccharide and subsequent transfer of immunity to calves. *J. Dairy Sci.* 88,
406 766–775.

- 407 Goff, J.P., Horst, R.L., 1997. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic
408 disorders. *J. Dairy Sci.* 80, 1260–1268.
- 409 Iwanska, S., Strusinska, D., Zalewski, W., 1999. The effect of *Saccharomyces cerevisiae* 1026 used
410 alone or with vitamin-mineral premix on biochemical parameters of blood and milk in dairy
411 cows. *Acta Vet. Hung.* 47, 53-63.
- 412 Jain, N.C., 1993. *Essential of veterinary hematology*, first ed. Lea and Febiger, Philadelphia.
- 413 Kalmus, P., Orro, T., Waldmann, A., Lindjärv, R., Kask, K., 2009. Effect of yeast culture on milk
414 production and metabolic and reproductive performance of early lactation dairy cows. *Acta*
415 *Vet.Scand.* 51, 32.
- 416 Kamra, D.N., Chaudhary, L.C., Neeta-Agarwal, Singh, R., Pathak, N.N., Agarwal, N., 2002. Growth
417 performance, nutrient utilization, rumen fermentation and enzyme activities in calves fed on
418 *Saccharomyces cerevisiae* supplemented diet. *Indian J. Anim. Sci.* 72, 472–475.
- 419 Könyves, L., Brygh, E., Jurkovich, V., Tegzes, L., Tirián, A., Kutasi, J., 2005. Effect of different
420 *Saccharomyces cerevisiae* yeast cultures on ruminal fermentation, metabolic status, and
421 milk production in dairy cows. *ISAH.* 1, 163-166.
- 422 Krizova, L., Richter, M., Trinacty, J., Riha, J., Kumprechtovaz, D., 2011. The effect of feeding live
423 yeast cultures on ruminal pH and redox potential in dry cows as continuously measured by a
424 new wireless device. *Czech J. Anim. Sci.* 56, 37–45.
- 425 Leblanc, S.J., Leslie, K.E., Duffield, T.F., 2005. Metabolic predictors of displaced abomasum in
426 dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 88, 159-170.
- 427 Lima, M.E., Vendraim, L., Hoffmann, D.A.C., Lisboa, F.P., Gallina, T., Rabassa, V.R.,
428 Schwengler, E., Corrêa, M.N., 2012. Alterações na população de protozoários ruminais,
429 quantificados a partir da adaptação da técnica de Dehority, de ovinos submetidos a uma
430 dieta de confinamento. *Acta Sci. Vet.* 40(1), 1019.

- 431 Lopuszanska-Rusek, M., Bilik, K., 2011. Influence of pre- and postpartum supplementation of
432 fibrolytic enzymes and yeast culture, or both, on performance and metabolic status of dairy
433 cows. *Annals Anim. Sci.* 11, 531-545.
- 434 Marden, J.P., Julien, C., Monteiles, V., Auclair, E., Moucoulon, R., Bayourthe, C., 2008. How Does
435 Live Yeast Differ from Sodium Bicarbonate to Stabilize Ruminal pH in High-Yielding
436 Dairy Cows? *J. Dairy Sci.* 91, 3528-3535.
- 437 Moorby, J.M., Dewhurst, R.J., Tweed, J.K.S., Dhanoa, M.S., Beck, N.F.G., 2000. Effects of
438 altering the energy and protein supply to dairy cows during the dry period. 2. Metabolic and
439 Hormonal Responses. *J. Dairy Sci.* 83, 1795-1805.
- 440 Mota, M.F., Pinto-Neto, A., Santos, G.T., Fonseca, J.F., Ciffoni, E.M.G., 2006. Período de
441 transição na vaca leiteira. *Arq. de Ciên. Vet. Zool.* 9, 77-81.
- 442 Mulligan, F.J., O'Grady, L., Rice, D.A., Doherty, M.L., 2006. A herd health approach to dairy cow
443 nutrition and production diseases of the transition cow. *Anim. Reprod. Sci.* 96, 331-353.
- 444 Nocek, J.E., Holt, M.G., Oppy, J., 2011. Effects of supplementation with yeast culture and
445 enzymatically hydrolyzed yeast on performance of early lactation dairy cattle. *J. Dairy Sci.*
446 94, 4046-4056.
- 447 NRC - National Research Council, 2001. Nutrient requirements of dairy cattle, National Academy
448 Press, Washington.
- 449 Pinloche, E., McEwan, N., Marden, J.P., Bayourthe, C., Auclairz, E., Newbold, C.J., 2013. The
450 effects of a probiotic yeast on the bacterial diversity and population structure in the rumen of
451 cattle. *Plos One.* 8, 1-10.
- 452 Promkot, C., Mansathit, J., Wanapat, M., 2011. Metabolic Disorders of Transitional Low Production
453 Dairy Cow. *J. Agr. Sci. Tech. A* 1, 1221-1223.
- 454 Putnam, D.E., Schwab, C.G., Socha, M.T., Whitehouse, N.L., Kierstead, N.A., Garthwaite, B.D.,
455 1997. Effect of yeast culture in the diets of early lactation dairy cows on ruminal

- 456 fermentation and passage of nitrogen fractions and amino acids to the small intestine. J.
457 Dairy Sci. 80, 374–384.
- 458 Roche, J.R., Friggnes, N.C., Kay, J.K., Fischer, M.W., Stafford, K.J., Berry, D.P., 2009. Invited
459 review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and
460 welfare. J. Dairy Sci. 92, 5769–5801.
- 461 Santra, A., Karim, S.A., 2003. Rumen manipulation to improve animal productivity. Asian-
462 Australasian, J. Anim. Sci. 16, 748-763.
- 463 Scheneider, A., Ribeiro, C.L.G., Del Pino, F.A.B., Queiroz-Rocha, G.F., Bouda, J., Martínez, L.P.,
464 2010. Exames complementares para o diagnóstico de doenças metabólicas e ruminais dos
465 bovinos, in: Corrêa, M.N., González, F.H.D., Silva, S.C. (Eds.), Transtornos metabólicos
466 nos animais domésticos. Universitária, Porto Alegre. pp.23-40
- 467 Smith, T.R., Hippen, A.R., Beitz, D.C., Young, J.W., 1997. Metabolic characteristics of induced
468 ketosis in normal and obese dairy cows. J. Anim. Sci. 80, 1569-1581.
- 469 Thrune, M., Bach, A., Ruiz-Moreno, M., Stern, M.D., Linn, J.G., 2009. Effects of *Saccharomyces*
470 *cerevisiae* on ruminal pH and microbial fermentation in dairy cows. Yeast supplementation
471 on rumen fermentation. Livest. Sci. 124, 261–265.
- 472 Zaworski, E.M., Shriver-Munsch, C.M., Fadden, N.A., Sanchez, W.K., Yoon, I., Bob, G.,
473 2014. Effects of feeding various dosages of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product
474 in transition dairy cows. J. Dairy Sci. 97, 3081-3098.
- 475

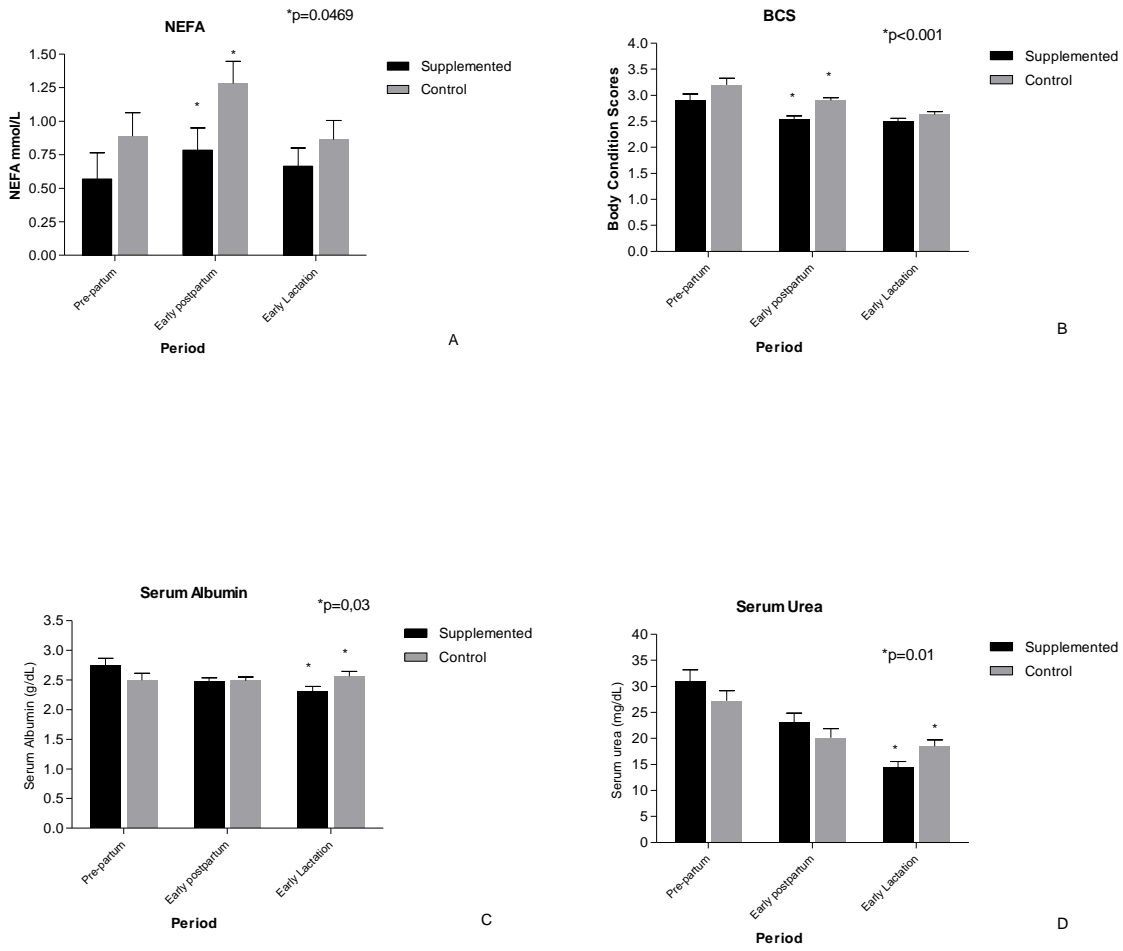
476

477

478

479

Figuras



480

481

Fig.1 Evaluation of metabolic markers of dairy cows supplemented with a combination of yeast

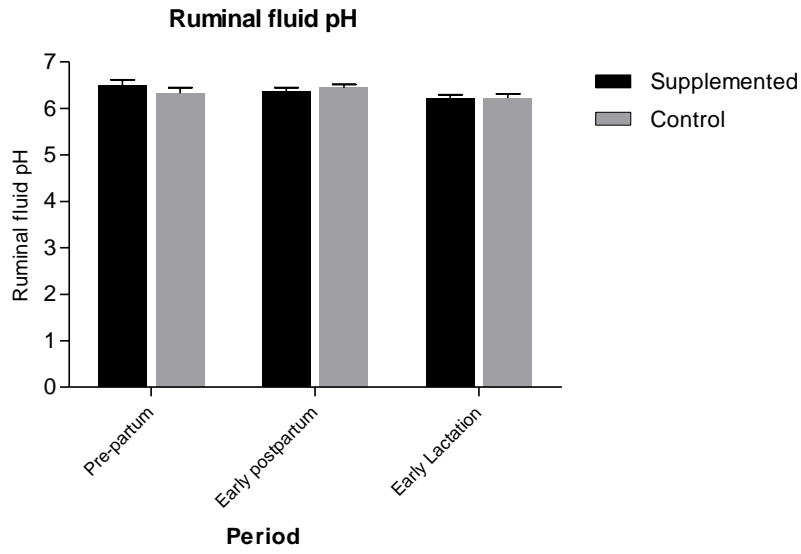
482

culture and hydrolyzed yeast during the transition period.

483

484

485



486

487 Fig.2. Evaluation of ruminal pH of dairy cows supplemented with a combination of yeast culture

488 and hydrolyzed yeast during the transition period.

489

490 Table 1. Evaluation of bacterial population dynamics of dairy cows supplemented with a
 491 combination of yeast culture and hydrolyzed yeast during the transition period.

492

Period	Group	gram-negative	gram-positive	Approximately equal proportions	P
Pre - partum	Supplemented	33,3%* (3/9)	66,7% (6/9)	0% (0/9)	0,03
	Control	80,0%* (8/10)	20,0% (2/10)	0% (0/10)	
Early postpartum	Supplemented	88,9% (24/27)	7,40% (2/27)	3,70% (1/27)	0,33
	Control	82,8% (24/29)	17,20% (5/29)	0% (0/29)	
Early lactation	Supplemented	96,7%* (29/30)	3,30% (1/30)	0% (0/30)	0,03
	Control	73,1%* (19/26)	19,20% (5/26)	7,70% (2/26)	

493

494

4 Considerações Finais

A suplementação de vacas com uma associação de cultura viva de levedura *Saccharomyces cerevisiae* e levedura hidrolisada enzimaticamente durante o período de transição influenciou o ambiente bacteriano ruminal que apresentou predomínio Gram negativo no início da lactação em animais suplementados. Ao contrário do esperado, outras variáveis do ambiente ruminal como a contagem de protozoários e o pH não foram influenciadas pela suplementação. A negação da hipótese da mudança no pH fluido ruminal em vacas suplementadas pode ser atribuída ao tipo e dose de levedura utilizada ou até mesmo o momento da análise que poderia ser realizada algumas horas após a alimentação dos animais, e desta maneira comprovar se a levedura manteria o pH estável. Essas observações podem ser comprovadas em futuros estudos. Em relação ao metabolismo energético e proteico a suplementação com levedura influenciou positivamente e foi favorável para prevenir os efeitos prejudiciais do balanço energético negativo comprovando a hipótese.

Referências

- AL IBRAHIM, R. M., KELLY, A. K.; O'GRADY, L.; GATH, V. P.; MCCARNEY, C.; MULLIGAN, F. J. The effect of body condition score at calving and supplementation with *Saccharomyces cerevisiae* on milk production, metabolic status, and rumen fermentation of dairy cows in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 5318–5328, 2010.
- AL IBRAHIM, R. M.; GATH, V. P.; CAMPION, D. P.; MCCARNEY, C.; DUFFY, P.; MULLIGAN, F. J. The effect of abrupt or gradual introduction to pasture after calving and supplementation with *Saccharomyces cerevisiae* (Strain 1026) on ruminal pH and fermentation in early lactation dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 178, p. 40– 47, 2012.
- AL IBRAHIM, R. M.; WHELANZ, S. J.; PIERCE, K. M.; CAMPION, D. P.; GATH, V. P.; MULLIGAN, F. J. Effect of timing of post-partum introduction to pasture and supplementation with *Saccharomyces cerevisiae* on milk production, metabolic status, energy balance and some reproductive parameters in early lactation dairy cows. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 97, p. 105–114, 2013.
- ALZAHAL, O.; DIONISSOPOULOS, L.; LAARMAN, A. H.; WALKER, N.; MCBRIDE, W. Active dry *Saccharomyces cerevisiae* can alleviate the effect of sub-acute ruminal acidosis in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 97, p. 7751-7763, 2014.
- AYAD, M. A.; BENALLOU, B.; SAIM, M. S.; SMADI, M. A.; MEZIANE, T. Impact of feeding yeast culture on milk yield, milk components, and blood components in Algerian dairy herds. **J Veterinar Sci & Technol.**, v. 4, p. 135, 2013.
- BACH, A.; IGLESIAS, C.; DEVANT, M. Daily rumen pH pattern of loose-housed dairy cattle as affected by feeding pattern and live yeast supplementation. **Animal Feed Science and Technology**, v. 136, p. 146–153, 2007.
- BUSATO, A.; FAISSLER, D.; KUPFER, U.; BLUM, J. W. Body Condition Scores in Dairy Cows: Associations with Metabolic and Endocrine Changes in Healthy Dairy Cows. **J. Vet. Med.**, v. 49, p. 455–460, 2002.

CHAUCHEYRAS-DURAND, F.; WALKER, N. D.; BACH, A. Effects of active dry yeasts on the rumen microbial ecosystem: Past, present and future. **Animal Feed Science and Technology**, v. 145, p. 5–26. 2008

CONTRERAS, P. A. Indicadores do metabolismo proteico utilizados nos perfis metabólicos de rebanhos. In: González, F. H. D.; Barcellos; J.; Ospina, H.; Ribeiro, L. A. (Eds). **Perfil Nutricional em Ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre: UFRGS, 2000. p. 23-30.

DESNOYERS, M.; GIGER-REVERDIN, S.; BERTIN, G.; DUVAUX-PONTER, C.; SAUVANT, D. Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 1620–1632, 2009.

DIRKSEN, G. Sistema digestivo. In: DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H.; STÖBER, M. (Eds). **Exame Clínico dos Bovinos**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. p. 166-228.

DOLEZAL, P.; DOLEZAL, J.; TRINACTY, J. The effect of *Saccharomyces cerevisiae* on ruminal fermentation in dairy cows. **Czech J. Anim. Sci.**, v. 50, p. 503–510, 2005.

DOLEZAL, P.; DVORACEK, J.; DOLEZAL, J.; CERMAKOVA, J.; ZEMAN, L.; SZWEDZIAK, K. Effect of feeding yeast culture on ruminal fermentation and blood indicators of Holstein dairy cows. **Acta Vet. Brno**, v. 80, p. 139–145, 2011.

DOLEZAL, P.; DOLEZAL, J.; SZWEDZIAK, K.; DVORACEK, J.; ZEMAN, L.; TUKIENDORF, M.; HAVLICEK, Z. Use of yeast culture in the tmr of dairy holstein cows. **Iranian Journal of Applied Animal Science**, v. 2, p. 51-56, 2012.

DRACKLEY, J. K. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 2259–2273, 1999.

DRACKLEY, J. K.; DANN, H. M.; DOUGLAS, G. N.; GURETZKY, N. A. J.; LITHERLANS, N. B.; UNDERWOOD, J. P.; LOOR, J. J. Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders. **Ital. J. Anim. Sci.**, v. 4, p. 323-344, 2005.

DUFFIELD, T. F.; LEBLANC, S. J. Interpretation of serum metabolic parameters around the transition period. **South west Nutrition and Management Conference**, Ontario: Canada, p.106-114, 2009.

EASTRIDGE, M. L. Major advances in dairy cattle nutrition. **J. Dairy Sci**, v. 89, p. 1311-1323, 2006.

EDMONSON A.J., LEAN I.J., WEAVER, L.D., FARVER T. & WEBSTER G. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v. 72, p. 68-78, 1989.

FEITOSA, F. L. F.; BIRGEL, E. H. Variação da concentração de imunoglobulinas G e M, de proteína total e suas frações eletroforéticas e da atividade da gamaglutamiltransferase no soro sanguíneo de vacas holandesas, antes e após o parto. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 52, p. 11-116, 2000.

FEITOSA, F. L. F.. Semiologia do Sistema Digestório de Ruminantes. In: FEITOSA, F. L. F. (Ed). **Semiologia Veterinária: a arte do diagnóstico**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2008. p. 108-138.

FONTY, G.; CHAUCHEYRAS-DURAND, F. Effects and modes of action of live yeasts in the rumen. **Biologia, Bratislava**, v. 6, p. 741-750, 2006.

FRANKLIN, S.T., NEWMAN, M.C., NEWMAN, K.E., MEEK, K.I. Immune parameters of dry cows fed mannan oligosaccharide and subsequent transfer of immunity to calves. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 766–775, 2005.

GOFF, J. P.; HORST, R. L. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 1260–1268, 1997.

IWANSKA, S.; STRUSINSKA, D; ZALEWSKI, W. The effect of *Saccharomyces cerevisiae* 1026 used alone or with vitamin-mineral premix on biochemical parameters of blood and milk in dairy cows. **Acta Veterinaria Hungarica**, v. 47, p. 53-63, 1999.

JAIN N.C. **Essencial of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger. Cap.7, 1993.p.133-158.

KALMUS, P.; ORRO, T.; WALDMANN, A.; LINDJÄRV, R.; KASK, K. Effect of yeast culture on milk production and metabolic and reproductive performance of early lactation dairy cows. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.51, p. 32, 2009.

KAMRA, D. N.; CHAUDHARY, L. C.; NEETA-AGARWAL; SINGH, R.; PATHAK, N. N.; AGARVAL, N. Growth performance, nutrient utilization, rumen fermentation and enzyme activities in calves fed on *Saccharomyces cerevisiae* supplemented diet. **Indian J. Anim. Sci.**, v. 72, p. 472–475, 2002.

KÖNYVES, L.; BRYGH, E.; JURKOVICH, V.; TEGZES, L.; TIRIÁN, A.; KUTASI, J. Effect of different *Saccharomyces cerevisiae* yeast cultures on ruminal fermentation, metabolic status, and milk production in dairy cows. **ISAH**, v. 1, p. 163-166, 2005.

KRIZOVA, L.; RICHTER, M.; TRINACTY, J.; RIHA, J.; KUMPRECHTOVAZ, D. The effect of feeding live yeast cultures on ruminal pH and redox potential in dry cows as continuously measured by a new wireless device. **Czech J. Anim. Sci.**, v. 56, p. 37–45, 2011.

LEBLANC, S. J.; LESLIE, K. E; DUFFIELD, T. F. Metabolic predictors of displaced abomasum in dairy cattle. **Journal of Animal Science**, v. 88, p. 159-170, 2005.

LIMA M.E., VENDRAIM L., HOFFMANN D.A.C., LISBOA F.P., GALLINA T., RABASSA V.R., SCHWENGLER E., CORRÊA, M.N. Alterações na população de protozoários ruminais, quantificados a partir da adaptação da técnica de Dehority, de ovinos submetidos a uma dieta de confinamento. **Acta Scientia e Veterinariae**, v. 40, p. 1019, 2012.

LOPUSZANSKA-RUSEK, M.; BILIK, K. Influence of pre-and postpartum supplementation of fibrolytic enzymes and yeast culture, or both, on performance and metabolic status of dairy cows. **Ann. Anim. Sci.**, v. 11, p. 531-545, 2011.

MAIA, G. B. S; PINTO, A. R.; MARQUES, C. Y. T.; ROITMAN, F. B.; LYRA, D. D. Produção leiteira no Brasil. Agropecuária, BNDES Setorial n. 37, 2013. p. 371-398.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Projeções do Agronegócio – Brasil 2011/2012 a 2021/2022. 3. Ed. 2012. 76 p.

MARDEN, J.P.; JULIEN, C.; MONTEILES, V.; AUCLAIR, E.; MOUCOULON, R.; BAYOURTHE, C. How Does Live Yeast Differ from Sodium Bicarbonate to Stabilize Ruminal pH in High-Yielding Dairy Cows? **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 3528-3535, 2008.

MOORBY, J. M.; DEWHURST, R. J.; TWEED, J. K. S.; DHANOA, M. S.; BECK, N. F. G. Effects of altering the energy and protein supply to dairy cows during the dry period. 2. Metabolic and Hormonal Responses. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1795-1805, 2000.

MOTA, M. F.; PINTO-NETO, A.; SANTOS, G. T.; FONSECA, J. F.; CIFFONI, E. M. G. Período de transição na vaca leiteira. **Arq. Ciên. Vet. Zool.**, v.9, p. 77-81, 2006.

MULLIGAN, F. J.; O'GRADY, L.; RICE, D. A.; DOHERTY, M. L. A herd health approach to dairy cow nutrition and production diseases of the transition cow. **Animal Reproduction Science**, v. 96, p. 331–353. 2006.

NRC - National Research Council. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7. Ed. Washington: National Academy Press, 2001. p.184-213.

NOCEK, J. E.; PAS; ACAN; UEDA, T.; SHINZATO, I.; SATA, H.; FUJIEDA, T.; Suzuki, H. Ruminant pH and digestibility profiles during the transition period of the dairy cow. **The Professional Animal Scientist**, v. 18, p. 151-157, 2002.

NOCEK, J. E.; HOLT, M. G.; OPPY, J. Effects of supplementation with yeast culture and enzymatically hydrolyzed yeast on performance of early lactation dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 4046-4056, 2011.

PINLOCHE, E.; MCEWAN, N.; MARDEN, J. P.; BAYOURTHE, C.; AUCLAIRZ, E.; NEWBOLD, C. J. The effects of a probiotic yeast on the bacterial diversity and population structure in the rumen of cattle. **Plos One**, v. 8, p. 1-10, 2013.

PUTNAM, D. E.; SCHWAB, C. G.; SOCHA, M. T.; WHITEHOUSE, N. L.; KIERSTEAD, N. A.; GARTHWAITE, B. D. Effect of yeast culture in the diets of early lactation dairy cows on ruminal fermentation and passage of nitrogen fractions and amino acids to the small intestine. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 374–384, 1997.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. Clínica Veterinária “Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos”. Editora Guanabara Koogan S.A. 9.Ed., 2002. p. 254–256.

ROCHE, J. R.; FRIGGNES, N. C.; KAY, J. K.; FISCHER, M. W.; STAFFORD, K. J.; BERRY, D. P. Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 5769–5801, 2009.

SCHENEIDER, A.; RIBEIRO, C. L. G.; DEL PINO, F. A. B.; QUEIROZ-ROCHA, G. F.; BOUDA, J.; MARTÍNEZ, L. P. Exames complementares para o diagnóstico de doenças metabólicas e ruminais dos bovinos. In: Corrêa, M. N.; González, F. H. D.; Silva, S. C. (Ed). **Transtornos metabólicos nos animais domésticos**. 1. Ed. Pelotas: Universitária. 2010. p.23-40.

SMITH, T. R.; HIPPEN, A. R.; BEITZ, D. C.; YOUNG, J. W. Metabolic characteristics of induced ketosis in normal and obese dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 1569-1581. 1997.

TASSINARI, M.; PASTÒ, L. F.; SARDI, L.; ANDRIEU, S. Effects of mannan oligosaccharides in the diet of beef cattle in the transition period. **ISAH**, p. 810-815, 2007.

THRUNE, M.; BACH, A.; RUIZ-MORENO, M.; STERN, M. D.; LINN, J. G. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* on ruminal pH and microbial fermentation in dairy cows. Yeast supplementation on rumen fermentation. **Livestock Science**, v. 124, p. 261–265, 2009.

ZAWORSKI, E. M.; SHRIVER-MUNSCH, C. M.; FADDEN, N. A.; SANCHEZ, W. K.; YOON, I.; BOB, G. Effects of feeding various dosages of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product in transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 97, p. 3081-3098. 2014.