

EFEITO DE UM COMPOSTO DE LEVEDURA (*Saccharomyces cerevisiae*) E PAREDE CELULAR DE LEVEDURA (MOS) SOBRE A PRODUÇÃO E A SANIDADE DA GLÂNDULA MAMÁRIA DE VACAS LEITEIRAS DE ALTA PRODUÇÃO

*Effect of a Yeast Culture (**Saccharomyces cerevisiae**) and a Yeast Cellular Wall (MOS) on Milk Production and Mammary Gland Healthiness in High Production Cows*

Marcos Elias Traad da Silva¹
Odaír A. Coelho²
André Ostrewsky³

Resumo

O presente trabalho avaliou os efeitos de uma combinação de uma cultura de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) e parede celular de *S. cerevisiae* (mananoligossacarídeos – MOS) sobre parâmetros de produtividade e sanidade da glândula mamária de vacas de alto desempenho, submetidas ao manejo intensivo de produção. O experimento foi realizado durante 90 dias, na Fazenda Experimental Galha Azul da PUCPR, utilizando 26 vacas, divididas em dois grupos (tratadas e controle), alojadas em estábulo do tipo *free stall*. A alimentação, *ad libitum*, foi em sistema de dieta total misturada. Os ingredientes foram: silagem de milho, feno de tifton, resíduo úmido de cervejaria, ração comercial, farelo de soja, soja grão crua, tritcale grão moído, gordura protegida, bicarbonato de sódio, calcário calcítico e suplemento mineral-vitâmico. Analisou-se a composição do leite mensalmente pelo Programa de Análise de Rebanhos Leiteiros, da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa. Os parâmetros avaliados foram: produção diária de leite; percentagens de gordura, proteína, lactose e sólidos totais no leite; produção de gordura e proteína; contagem de células somáticas e *Californian Mastitis Test* – CMT. Os parâmetros avaliados estão apresentados sob a forma de média (μ) \pm desvio padrão, com seus coeficientes de variação, para ambos os grupos de animais. Pelos resultados apresentados, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos tratados e controle. Isso indica que não houve resposta da inclusão da combinação da cultura de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) e parede celular de *S. cerevisiae* (MOS) sobre os parâmetros estudados, nas condições aqui utilizadas.

Palavras-chave: Células somáticas, Produção de leite, Manooligosacarídeo, *Free stall*.

¹ Professor Orientador – CCAA – PUCPR. BR 376, km 14, Caixa postal 129, Costeira, São José dos Pinhais, Brasil, CEP 83010-500, traad@onda.com.br

² Bolsista PIBIC PUCPR

³ Professor Colaborador – CCAA

Abstract

The basic goal of this work was to evaluate the effect of a diet containing a mix of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) and cellular wall of *S. cerevisiae* (mannan oligosaccharides – MOS) over the productivity and the mammary gland health, in high production dairy cows on an intensive production system. The trial was conducted over 90 days, at Gralha Azul Experimental Farm (Pontifical Catholic University of Parana), using 26 Holstein cows, divided in two groups (treated and control animals) on a *free stall* barn. An *ad libitum* total mixed diet system was fed, containing: corn silage, tifton hay, wet brewers grain, commercial concentrate, soybean meal, raw soybean, triticale grain, rumen inert fat, sodium bicarbonate, limestone and mineral vitamin supplement. The milk composition was evaluated monthly using the Parana's Holstein Association analysis system. The herd parameters evaluated was: milk production; fat, protein, lactose and total solids percentage; fat and protein production; somatic cell cont (SCC) and *Californian Mastitis Test* – CMT. All data were presented as average (μ) \pm standard error (s.e.) and the respective variation coefficients. The results, for all analyzed parameters, did not show statistic difference between the treated and control animals. It indicates that the inclusion of the yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) and cellular wall of *S. cerevisiae* (MOS) did not improve the evaluated parameters, considering the experimental conditions.

Keywords: Somatic cell, Milk production, Mannan oligosaccharides – MOS, *Free stall*.

Introdução

A expectativa de vida do homem no mundo tem apresentado acréscimo significativo, o que, em parte, se deve ao aumento dos cuidados dedicados à saúde e a valorização da qualidade de vida. Tais exigências referem-se ao controle dos riscos inerentes à existência de resíduos nas carcaças e nos produtos de origem animal, principalmente, deixados por toxinas diversas, tanto de origem química quanto biológica.

Desta forma, a busca por alternativas para o uso de promotores de crescimento nas rações animais (antibióticos e quimioterápicos) tem sido focada por inúmeros trabalhos de pesquisa, objetivando evitar os riscos à saúde humana e animal, bem como reduzir impactos ambientais pela redução da excreção de resíduos resultantes do metabolismo animal e contaminações diversas. Uma das opções de importância considerável, neste particular, é a inclusão de leveduras e ou extratos provenientes da ação fermentativa de leveduras sobre diferentes substratos nas dietas dos animais, que não tragam conseqüências negativas aos consumidores, não deixando resíduos na carne e no leite.

As leveduras são organismos unicelulares, facilmente manipuláveis, normalmente não patogênicos, capazes de crescer em várias fontes de carbono e de fornecer grande quantidade de biomassa em tempo relativamente pequeno (ANGIER, 1986).

Os mananoligossacarídeos (MOS) possuem características químicas que permitem a redução da prevalência de certas bactérias patogênicas, impedindo a colonização do trato gastrointestinal (SPRING et al., 1998). Segundo Dawson; Pirvulescu (1999), a maior parte dos patógenos ligase à manana para facilitar a colonização do trato gastrointestinal. Contudo, as mananas derivadas de leveduras não são digeridas no trato gastrointestinal. Assim, as mananas atuam como um substrato ao qual se aderem os patógenos, de modo que agem seqüestrando-os e eliminando-os. No que concerne ao mananoligossacarídeo, preparações de parede celular de leveduras contendo este carboidrato, quando adicionadas a dietas de animais, demonstraram estimular a função de defesa imunológica (DAWSON; PIRVULESCU, 1999). Miranda et al. (1999) relataram que as culturas de leveduras vivas, especialmente *Saccharomyces cerevisiae*, e seus extratos são utilizadas na alimentação animal com o objetivo de aumentar a digestibilidade e a eficiência de utilização das dietas. Atualmente, *Saccharomyces cerevisiae* tem sido utilizada em sistemas alimentação de ruminantes, por exibir determinado grau de viabilidade ruminal (MARTIM; NISBET, 1992). Essa levedura promove a melhoria no desempenho, possivelmente devido aos efeitos nos processos digestivos, na degradação da parede celular, na manutenção níveis adequados de amônia no rúmen, na estabilização do pH ruminal e nos maiores rendimentos microbianos (HUHTANEN, 1991; YOON; STERN, 1995; DO-

REAU; JOUANY, 1998). Segundo Newbold; Wallace; Macintosh (1996) existem variações na eficiência de diferentes cepas de *S. cerevisiae* de promover melhora no desempenho dos bovinos. Um dos motivos é a existência de diversas variedades de leveduras *S. cerevisiae*. A cepa 1026, por exemplo, tem sido utilizada em sistemas de alimentação de ruminantes e, provavelmente, estimula a fermentação ruminal em virtude da sua atividade respiratória. Esta levedura atua protegendo as bactérias anaeróbicas (fibrolíticas) dos danos promovidos pelo oxigênio. O oxigênio é tóxico para a maior parte dos microorganismos do rúmen. Ao diminuir o nível de oxigênio, aumenta a eficiência destas bactérias. Segundo Newbold; Wallace; Macintosh (1996), as leveduras estimulam a captação de oxigênio em função de sua grande afinidade por este elemento, melhorando assim as condições do rúmen para os microorganismos anaeróbios e ocorrendo o aumento no número de bactérias ruminais. Conforme Martim; Streeter (1995), a taxa de crescimento das leveduras parece ser regulada também pelo crescimento da flora microbiana, tendo em vista que os nutrientes acumulados com o desenvolvimento das primeiras podem ser utilizados por grupos de bactérias ruminais. De fato, Newbold et al. (1995), Newbold; Wallace; Macintosh (1996) e Kung et al. (1997) mencionaram que as leveduras devem ser suplementadas continuamente. De acordo com Miranda et al. (1999), o pH ótimo para o melhor desenvolvimento de *S. cerevisiae* é de aproximadamente 4,5. No rúmen, a taxa de crescimento das leveduras é menor quando os valores de pH situam-se de 6,0 a 6,5. Willians; Newbold (1990) mostraram que uma das habilidades destes microorganismos é atuar na redução no nível de amônia. Entretanto, segundo Wallace (1996), a resposta dos bovinos à suplementação com leveduras pode ser influenciada por diversos fatores, como os tipos de forrageiras, e a proporção de concentrado na dieta e o estágio de lactação, o período e nível de suplementação. Em um estudo conduzido por Soder et al. (1999), vacas lactantes foram suplementadas com leveduras ou enzimas no período de 28 dias pré-parto até 13 semanas pós-parto, mas não foi observado efeito do uso de leveduras com ou sem enzimas sobre o consumo de matéria seca, produção e composição do leite. Os autores concluíram que é difícil predizer em que condições o uso de levedura melhoraria o consumo e a produção das vacas lei-

teiras. Dann et al. (2000) observaram que vacas suplementadas com uma fonte de *S. cerevisiae* dos 21 dias pré-parto aos 140 dias pós-parto apresentaram maior ingestão de matéria seca e perda de peso mais lenta, quando comparadas a vacas não suplementadas. Porém, não houve diferença na produção e na composição do leite, contrariando alguns relatos da literatura.

Materiais e métodos

O experimento foi realizado na Região Metropolitana de Curitiba, Município de Fazenda Rio Grande (25°41'32" S e 25°41'33" S de latitude; 49°15'29" W e 49°17'27" W de longitude, com altitude de 870 a 920 m), com clima do tipo Cfb, segundo a classificação de Köppen, caracterizando-se como subtropical super-úmido, mesotérmico, com verões frescos e geadas severas demasiadamente freqüentes e sem estação seca definida. Foram utilizadas 26 vacas em lactação, alojadas em estábulo do tipo *free stall*. Os animais saíam do estábulo para descanso um pouco antes da ordenha da tarde, mas permaneciam em um piquete sem o fornecimento de forragens. A ordenha era realizada em sala de ordenha às 6h e 18h. Os ingredientes utilizados na alimentação foram: silagem de milho, feno de tifton, resíduo úmido de cervejaria, ração comercial, farelo de soja, soja grão crua, triticale grão moído, gordura protegida (gordura inerte no rúmen), bicarbonato de sódio, calcário calcítico e suplemento mineral-vitamínico. A produção de leite foi registrada automaticamente pelo programa computacional que gerencia o sistema de ordenha. As pesagens das vacas foram feitas por fita de pesagem apropriada, quinzenalmente, juntamente com o escore de condição corporal. Os parâmetros avaliados foram: produção de leite (kg/vaca/dia), percentagens de gordura, proteína, lactose e sólidos totais no leite, produção de gordura e proteína (kg/vaca/dia), contagem de células somáticas (CCS) por vaca ($\times 10^3$ /mL), *Californian Mastitis Test* (CMT) por cada quarto mamário (graduação negativo, suspeito, positivo 1 e positivo 2), condição de escore corporal e peso vivo (kg/vaca), estas duas últimas em aferições quinzenais.

Foram estabelecidos dois grupos, um controle e outro tratamento, cada um com treze animais, respeitando-se a reciprocidade entre os dois

grupos, somente da raça Holandesa, ordem da lactação, peso corporal, estágio de lactação, produção e histórico de CCS e CMT. Todo o manejo, rotina e alimentação habitual dos animais foram mantidas para ambos os grupos, já que os animais permaneceram em seus lotes de manejo. Houve um período inicial de 15 dias para coleta dos dados preliminares para adaptação. A seguir, o composto *S. cerevisiae* e MOS (Organnact sheep Indústria e comércio de Produtos Agropecuários Ltda., Curitiba) foi fornecido na quantidade 14 g/cabeça/dia, durante 90 dias, por via oral individualmente, para o grupo controle. O CMT foi feito quinzenalmente na primeira ordenha do dia, de todos os quartos das vacas envolvidas no experimento.

O produto foi fornecido para o grupo tratamento via oral, misturado à água, com o uso de uma garrafa de 350 ml e fornecido para cada vaca individualmente, sempre no período da manhã.

Resultados

Na Tabela 1 são apresentados os resultados obtidos (valores expressos por médias com os seus respectivos erros-padrão) para a produção de leite, porcentagem de gordura, produção de gordura, porcentagem de proteína, produção de proteína, porcentagem de lactose, porcentagem de sólidos totais, CCS, peso vivo das vacas e escore de condição corporal, entre o grupo tratado e controle.

TABELA 1 – Médias e erros-padrão ($\mu \pm$ s.e.) para a produção de leite (PL), porcentagem de gordura (GO), produção de gordura (PG), porcentagem de proteína (PT), produção de proteína (PP), porcentagem de lactose (LA), porcentagem de sólidos totais (ST), controle de células somáticas (CCS), peso vivo das vacas (PV) e escore de condição corporal (ECC), em vacas holandesas, alimentadas com uma combinação da cultura de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) e parede celular de *S. cerevisiae* (MOS).

*Table 1 – Milk production (PL), fat percentage (GO), fat production (PG), protein percentage (PT), protein production (PP), lactose percentage (LA), total solids percentage (ST), control of somatic cells (CCS), cow alive weight (PV) and score of body condition (ECC) average and standard error ($\mu \pm$ s.e.) of dutch cows, feed with a culture of leavenings combination (*Saccharomyces cerevisiae*) and *S. cerevisiae* (MOS) cellular wall.*

Variável	Tratamento $\mu \pm$ s.e. ⁽²⁾	Controle $\mu \pm$ s.e. ⁽²⁾
PL (kg)	36,27 \pm 0,52 a	37,47 \pm 0,52 a
GO (%)	3,14 \pm 0,08 a	3,14 \pm 0,09 a
PG (kg)	1,16 \pm 0,04 a	1,17 \pm 0,04 a
PT (%)	2,92 \pm 0,04 a	2,94 \pm 0,04 a
PP (kg)	1,06 \pm 0,03 a	1,09 \pm 0,03 a
LA (%)	4,66 \pm 0,04 a	4,82 \pm 0,04 a
ST (%)	11,80 \pm 0,11 a	11,69 \pm 0,11 a
CCS ⁽¹⁾	101,60 \pm 37,98 a	195,24 \pm 38,73 a
PV (kg)	652,62 \pm 7,50 a	654,98 \pm 7,50 a
ECC	2,95 \pm 0,08 a	2,82 \pm 0,08 a

(1) CCS= 1000/ml; (2) Valores seguidos de letras semelhantes, na linha, não diferem estatisticamente (P > 0,05).

A média de produção de leite do grupo tratado foi ligeiramente menor, em valores absolutos, que o grupo controle. Tal resultado não condiz com o que era esperado, visto que, segundo alguns trabalhos de pesquisa revisados, as leveduras podem otimizar a fermentação ruminal, ao melhorarem a degradação da parede celular e auxiliarem a estabilização do pH, além de reduzirem as concentrações de oxigênio (HUHTANEN, 1991; YOON; STERN, 1995; DOREAU; JOUANY, 1998). A consequência direta disto é o aumento da população de bactérias celulolíticas e, portanto, esperava-se aumento do aporte de AGV para a produção de leite, o que aparentemente não ocorreu.

A literatura cita ainda o aumento do consumo com o uso de leveduras vivas na alimentação de ruminantes. Contudo, não foi possível estimar o consumo individual no rebanho em pautas, visto que os animais são alojados em lotes. Desta forma, um parâmetro importante como o consumo, que pode evidenciar a ação das leveduras, não pôde ser estudado, o que seria uma forma de complementar a avaliação do desempenho dos animais por meio da produção de leite.

Outro aspecto importante é o pH ideal para crescimento das leveduras, descrito por Miranda et al. (1999) como próximo a 4,5. Como o experimento foi realizado dentro das condições rotineiras do rebanho, todas as alternativas para estabilização do pH ruminal normalmente adotadas foram mantidas. Portanto, o fornecimento da dieta total misturada, a disponibilidade de alimentos no cocho praticamente durante 24 horas do dia, a adição de tamponantes na dieta, a manutenção dos critérios mínimos de fibra em detergente neutro (FDN) e relação volumosa: concentrado acima de 40: 60, podem ter contribuído para um pH próximo a 6,0. Desta forma, a ação das leveduras pode ter sido inibida.

As médias de peso vivo dos animais também foram muito próximas, inclusive como reflexo das médias de peso ao início do experimento, respectivamente iguais a 643 kg e 645 kg para os grupos tratamento e controle. Ambos os grupos apresentaram ganho de peso, condizente com a evolução dos respectivos estágios de lactação. Como poderia haver maior aporte de substrato energético para os animais, seria esperado um ganho de peso maior no grupo tratamento, como relatado por Dann et al. (2000). Mas, pelos motivos descritos acima para a inferioridade numérica da produção, isso não ocorreu.

No que se refere à composição do leite, os resultados também foram semelhantes, sendo que a literatura consultada praticamente não se refere aos teores de lactose e de sólidos totais no leite, o que por um lado dificulta qualquer comparação. Assim, o presente estudo apresenta uma contribuição inicial sobre o assunto. A lactose é descrita como o componente do leite que apresenta menos variação (LARANJA DA FONSECA; SANTOS, 2000), em razão de esta atuar como um agente de regulação da pressão osmótica do leite. Assim, esperava-se que não houvesse diferença estatística. Já o teor de sólidos totais é influenciado principalmente pelos valores de gordura, proteína e lactose. Os outros componentes, como minerais, vitaminas e demais substâncias dissolvidas no leite têm pouca influência sobre esta variável.

As médias de gordura e de proteína foram semelhantes entre os animais. Quanto aos teores de gordura, deve-se evidenciar que, com o uso das leveduras e seu possível benefício na estabilização do pH ruminal, pode-se reduzir a possibilidade de produção de ácido linoléico conjugado trans-10 cis-12, cuja produção é dependente do pH ruminal baixo e resulta em menor síntese de gordura na glândula mamária (BAUMAN; GRIGNARI, 2003). Já a maior percentagem de proteína pode ser explicada pelo maior aporte de aminoácidos essenciais ao abomaso e intestino, oriundos do aumento da população de bactérias celulolíticas, como descrito por Erasmus et al. (1992).

Quanto aos parâmetros sanitários da glândula mamária, não houve diferença significativa nas médias de CMT e CCS. De acordo com HARMON (1998), o principal efeito que determina a variação na CCS é a presença de um processo inflamatório na glândula mamária. Portanto, como a CCS já era baixa ao início do experimento, acredita-se que a contaminação bacteriana na glândula das vacas em questão já era reduzida e isto pode ter contribuído para dificultar o real efeito desta combinação sobre a sanidade da glândula.

Conclusões

As médias obtidas com o referido experimento nas condições experimentais propostas foram semelhantes entre os grupos, contrariando a expectativa inicial, tendo em vista que a literatura indica alguns efeitos da adição de leveduras sobre

as características do ambiente ruminal e, por consequência, sobre o desempenho animal.

A ação das leveduras pode ter sido inibida pelas medidas de tamponamento do pH ruminal dos animais experimentais.

Quanto aos parâmetros sanitários da glândula mamária, o uso do MOS não apresentou diferença significativa nas médias do CMT e CCS, embora este parâmetro, para o grupo tratado, tenha mostrado um valor absoluto inferior ao do controle.

É necessário dar continuidade aos trabalhos de pesquisa para melhor evidenciar os efeitos do uso de leveduras e de parede celular de leveduras (MOS) sobre os indicadores de desempenho de vacas leiteiras, especialmente em condições de desafios do pH ruminal.

Referências

- ANGIER, N. A. Stupid Cell with all the answers. **Discover**, p. 71-83, nov. 1986.
- BAUMAN, D. E.; GRIINARI, J. M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. **Annual Review Nutrition**, v. 23, p. 203-227, 2003.
- DANN, H. M.; et al. Effects of yeast culture (*saccharomyces cerevisiae*) on prepartum and postpartum intake and milk production of Jersey cows. **Journal Dairy Science**, v.83, p.123-127, jan. 2000.
- DAWSON, K. A.; PIRVULESCU, M. Mananoligossacarídeos derivados de leveduras como moduladores da resposta Imunológica e alternativas aos promotores de crescimento antimicrobianos. In:_____. RONDA LATINA-AMERICANA DA ALLTECH. Campinas, 1999. **Anais...** Campinas: ALTECH, 1999. p. 33-41.
- DOREAU, M., JOUANY, J.P. Effect of a *Sacharomyces cerevisiae* culture on nutrient digestion in lactating dairy cows. **Journal Dairy Science**, v. 81, p. 3214-3221, dez. 1998.
- ERASMUS, L. J.; BOTHA, P. M.; KISTNER A. Effect on yeast culture supplementation production, remen fermentation and duodenal nitrogen flow in dairy cows. **Journal Dairy Science**, v. 75, p. 3056-3065, nov. 1992.
- HUHTANEN, P. Effects of yeast culture supplement on digestion of nutrients and rumen fermentation in cattle fed on grass silage barley diet. **Journal Agricultural Science**, v. 71, p. 443-453, 1991.
- KUNG, F.; CHEN, W.; CHOU, H. et al. Conservative management of early endometrial adenocarcinoma with repeat curettage and hormone therapy under assistance of hysteroscopy and laparoscopy. **Hum. Reprod.** v.12, 1649-1653, 1997
- LARANJA DA FONSECA, L. F.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo,SP: Lemos, 2000.
- MARTIM, S. A.; STREETER. M. N. Effect of malate on in vitro mixed ruminal microorganism fermentation. **Journal of Animal Science**, v.73, p. 2141-2145, jun. 1995.
- MARTIM, S. A., NISBET, D. J. Effect of direct-fed microbials on rumen microbial fermentation. **Journal Dairy Science**, v. 75, p. 1736-1744, jun. 1992.
- MIRANDA, L. F.; et al. Desempenho e desenvolvimento ponderal de novilhas leiteiras alimentadas com dietas à base de cana-de açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 28, p. 598-604, maio, 1999.
- NEWBOLD, C. J.; WALLACE, R. J.; MACINTOSH, F. M.; Mode of action the yeast *saccharomyces cerevisiae* as a feed additive for ruminants. **British Journal of Nutrition**, v. 76, p. 49-261, fev. 1996.
- NEWBOLD, C. J.; et al. Different strains of *Saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on ruminal bacterial numbers in vitro and in sheep. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 1811-1818, jun. 1995.
- SODER, K. J.; HOLEN, L. A.; Dry matter intake and milk yeild and composition of cows fe yast prepartum and post partum. **Journal Dairy Science**, v. 82, p. 605-610, mar. 1999.
- SPRING, S.; AMANN, R.; LUDWIG, W.; SCHLEIFER, K.; VAN GEMERDEN, H.; PETERSEN, N. Dominating roll of an unusual magnetotactic bacterium in the microaerobic zone of a freshwater sediment. **Appl. Environ. Microbiol.** v.58, n. 8, p. 2397-2403, 1993

WALLACE, R J; Ruminal microbiology, biotechnology, and ruminant nutrition: progress and problems. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 2992-3003, nov. 1996.

WILLIAMS, P. E. V.; NEWBOLD, C. J.; Rúmen probiosis: The effects of novel microorganisms on rúmen fermentation and ruminant productivity. In: _____. **Recent advances in animal nutrition**. London: W. Haresing e D.J.A. Cole, 1990. p. 211-227.

YOON, I K; STERN, M D; Influence of direct-fed microbials on ruminant microbial fermentation and performance of ruminants. A review. **Journal Animal Science**, v.71, p. 533-555, ago. 1995.

Recebido em: 02/03/2005

Aprovado em: 30/06/2005