



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA



PROBIÓTICOS NA ALIMENTAÇÃO DE EQUINOS

CLÍSTENES GOMES DE OLIVEIRA

Mestrado

2017

PROZOOTEC-PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA



CLÍSTENES GOMES DE OLIVEIRA

PROBIÓTICOS NA ALIMENTAÇÃO DE EQUINOS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Sergipe como parte das exigências do Curso de Mestrado em Zootecnia, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientador
Prof. Dr. Gregório Murilo de Oliveira Júnior

Co-orientadora
Prof.^a Dra. Paula Gomes Rodrigues

SÃO CRISTÓVÃO-SE
JULHO/2017

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

O48p Oliveira, Clístenes Gomes de.
Probióticos na alimentação de equinos / Clístenes Gomes de
Oliveira; orientador Gregório Murilo de Oliveira Júnior . – São
Cristóvão, 2017.
70 f.; il.

Dissertação (mestrado em Zootecnia)– Universidade Federal
de Sergipe, 2017.

1. Equino. 2. Suplementos dietéticos. 3. Probióticos. I. Oliveira
Júnior, Gregório Murilo de, orient. II. Título.

CDU 633.2:636.3

CLÍSTENES GOMES DE OLIVEIRA

PROBIÓTICOS NA ALIMENTAÇÃO DE EQUINOS

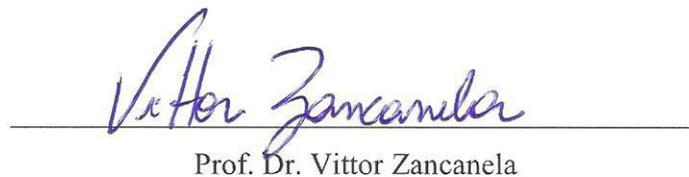
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Sergipe como parte das exigências do Curso de Mestrado em Zootecnia, para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 25 de agosto de 2017


Prof. Dr. Gregório Murilo de Oliveira Júnior


Prof.^a Dr.^a Paula Gomes Rodrigues


Prof.^a Dr.^a Raquel Silva de Moura


Prof. Dr. Vittor Zancanela

SÃO CRISTÓVÃO-SE
JULHO/2017

Dedico esse trabalho à minha
filha e esposa, com amor além
dessa vida.

AGRADECIMENTOS

Primeiro agradeço a Deus, por tudo que ele fez e faz na minha vida, me ajudando a evoluir nessa missão que é existir.

Aos meus pais, pelo exemplo de vida e de caráter na superação dos obstáculos na estrada da vida.

À minha esposa guerreira e paciente, sem você não seria o homem melhor que hoje eu sou, obrigado pelo seu amor e minha filha Lavínia Maria, meu pedacinho de mim, razão pela qual sempre estou melhorando todos os dias. Amo vocês.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Gregório e à minha co-orientadora Prof^a. Dra. Paula, pela ajuda, atenção e paciência.

Aos professores Alexandre Lunna, Ana Paula, Angela, Camisão, Cláudia, Claudson, Flávio, Glasdton, Jailson, Ludmila e Raquel Moura pela atenção e disponibilidade na minha tarefa de aprender, transmitindo conhecimento com dedicação.

Aos meus colegas, Adriano, Carlos Adriano, Dirceu, Gilmar, Saulo, Camilo, Lorena, Grazi, Arlene, Alan, Priscila, Anailton, Juciara, Ubatã, Victor e Fábio que colaboram de alguma forma para o meu estudo.

Aos parceiros de experimentos e laboratórios, Miradelson, Lavínia, Isabela, Dayane, Douglas, Camila Fernanda, Erik, Linamary, Camila Cristina, Diana, Gabi, Joan e Edinete.

Às técnicas de laboratório Amanda, Marta, Carlos e Luciana, que com muita paciência ajudaram do início ao fim.

Ao secretário Luiz pela paciência e atenção.

À Polícia Militar do Estado de Sergipe, pela oportunidade; ao Esquadrão de Polícia Montada pela confiança em ceder o espaço e animais.

Ao meu comandante Major S. Junior pela permissão e confiança para executar a parceria, aos veterinários Ten Célio, Sgt Adicley pela ajuda e ética profissional, aos auxiliares de veterinário Sgt Flávio, Sgt Leite, Cb Santana, Cb Santos pela paciência e ajuda; ao meu GP Padrão com seu apoio.

Aos animais Tyson, Ativo, Flexa, Fantasma, Monterrey, Arante, Bin Laden, Chanceler, Amadeus, Saturno, Destak, Taurus, Arturo, Orochi, Holliday, Mago,

Dragão, Sankal, que com a pureza de suas peculiaridades contribuíram para evolução da alma.

Ao PROMOB - Programa de Estímulo a Mobilidade e ao Aumento da Cooperação Acadêmica da Pós-Graduação em Sergipe -EDITAL CAPES/FAPITEC/SE N° 08/2013, pelo apoio financeiro ao PROZOOTEC.

À empresa Global Saúde pelo apoio financeiro e confiança depositados.

Obrigado a todos que contribuíram de qualquer forma para realização desse meu grande passo e sonho.

SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	i
LISTA DE TABELAS.....	ii
LISTA DE FIGURAS.....	iii
1. Referencial teórico.....	1
2. Referências bibliográficas.....	14
CAPÍTULO I.....	20
DESEMPENHO E DIGESTIBILIDADE DE NUTRIENTES EM EQUINOS SENESCENTES ALIMENTADOS COM <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> NA DIETA.....	20
Resumo.....	21
Abstract.....	22
1. Introdução.....	24
2. Materiais e métodos.....	26
3. Resultados.....	33
4. Discussão.....	36
5. Conclusão.....	42
6. Referências bibliográficas.....	43
CAPÍTULO II.....	46
METODOLOGIAS PARA DETERMINAÇÃO DOS COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE EM DIETAS PARA EQUINOS.....	46
Resumo.....	47
Abstract.....	48
<u>1. Introdução</u>	49
2. Materias e métodos.....	51
3. Resultados.....	55
4. Discussão.....	56
5. Conclusão.....	58
6. Referências bibliográficas.....	59
7. Conclusões gerais.....	61

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1 - Composição química dos alimentos concentrado e volumoso ofertados aos animais com base na matéria seca.....29

Tabela 2 - Peso inicial e final do animal, ganho de peso e variação do peso; consumo de concentrado, de volumoso e total da dieta e relação entre concentrado e volumoso em função do peso de acordo com os tratamentos32

Tabela 3 - Coeficientes de digestibilidade dos nutrientes em função dos tratamentos.....33

Capítulo 2

Tabela 1 - Efeito do método de coleta sobre os coeficientes de digestibilidade de dietas para equinos.....54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Áreas palpáveis para estimacão da gordura corporal e do escore de condio corporal.....	3
Figura 2. Crescimento bacteriano do <i>Lactobacillus spp.</i> por tratamento.....	34

1. REFERENCIAL TEÓRICO

1.1. Sistema Digestório Equino

A espécie equina recebe a denominação de herbívoro não ruminante de ceco funcional por possuir uma anatomia e fisiologia do sistema digestório peculiar e, também, devido à sua capacidade de degradação das fibras vegetais com o auxílio de microrganismos fermentativos alojados no intestino grosso (GOBESSO et al., 2008).

A digestão tem seu início na boca através de processos mecânicos por meio da apreensão, ingestão e modificação na sua estrutura física dos alimentos. Na mastigação há trituração dos alimentos, acompanhada da liberação da saliva, que aumenta a superfície de contato do alimento para posterior ação enzimática e bacteriana nos seguimentos digestivos subsequentes (TARAN et al., 2011).

Após o processo de mastigação o alimento passa pelo esôfago e segue em direção ao estômago, permanecendo em torno de 2 à 6 horas. Este órgão representa cerca 10% do volume total do trato digestivo e que recebe pequenas quantidades de alimento continuamente (TARAN et al., 2011).

É no estômago que tem-se início do processo de digestão da proteína. O ácido clorídrico (HCl) e a pepsina são produzidos como coadjuvantes nessa etapa e ocorrerá uma pequena fermentação realizada por bactérias gram-positivas, em sua região aglandular, principalmente por bactérias do gênero *Lactobacillus* que tem a habilidade de inibir bactérias patogênicas de se fixarem na mucosa gástrica do animal (BRANDI e FURTADO, 2009).

A anatomia gástrica e a ausência do centro do vômito no sistema nervoso central dá ao equino a incapacidade emética (MOORE et al., 2001). Por tais fatores, o fornecimento de alimento em pequenas quantidades é essencial, visto que o animal ingerindo porções grandes de alimento, em uma única refeição; poderá causar sobrecarga gástrica e, por conseqüente, a incorreta digestão do alimento, o predispondo a lesões graves no estômago, como sua ruptura (FERNANDES, 2009).

O intestino delgado do equino é compreendido pelas regiões do duodeno, jejuno e íleo e representa cerca de 30% do total do tamanho do trato digestório. Neste compartimento, o quimo sofre ação das enzimas pancreáticas (proteases, amilases e lipases) mais a da bile de maneira contínua, já que o equino não possui a vesícula biliar; promovendo a degradação dos nutrientes em partículas de menor tamanho capazes de

serem absorvidas pelo organismo (MOORE et al., 2001). Além disso, também se observa uma quantidade considerável de microrganismos anaeróbicos no local, o intestino delgado é o local principal de digestão e absorção de carboidratos solúveis, além de gorduras e proteínas, promovendo fermentação em sua porção distal, realizada principalmente por bactérias gram-positivas anaeróbicas obrigatórias (GOBESSO et al., 2008).

O trânsito dos alimentos ao longo intestino delgado varia em torno de 2 a 3 horas. Ocorrendo alterações digestivas durante essa passagem, que resulte em obstruções ou gases em demasia, possibilita movimentos erráticos das alças ou torções e estrangulamentos, predispondo o animal à cólica (MOORE et al., 2001).

O intestino grosso do equino é constituído de ceco, cólon e reto, representando 60% do trato digestório e recebe o restante dos alimentos não degradados e absorvidos pelo estômago e intestino delgado; sendo que em cada segmento microbiota varia em função do órgão (BRANDI e FURTADO, 2009). A maior parte da fermentação microbiana ocorre nesse segmento e, por esta razão, apresenta bactérias e protozoários em quantidades e ações semelhantes ao pré-estômago dos ruminantes (GOBESSO et al., 2008). Neste compartimento ocorre a digestão dos carboidratos estruturais que são degradados por enzimas produzidas pela microbiota e absorvidos na forma de ácidos graxos voláteis, tais como acetato, propionato e butirato (TARAN et al., 2011), além de vitaminas e aminoácidos.

O tempo médio de retenção do alimento no intestino grosso varia entre 21 à 40 horas em função do tipo de alimento ingerido ou forma de apresentação; assim sendo, o tempo de retenção do alimento pode ser reduzido ao passo que a ingestão aumenta (FRAPE, 2008).

O conhecimento sobre a anatomia digestiva do equino e seu funcionamento representa uma das bases para o estudo nutricional, como também, a elaboração de dietas.

1.2. Demanda nutricional dos equinos

O conhecimento dos valores nutricionais dos alimentos e o efeito destes na dieta, suas restrições e as necessidades nutricionais do equino em função da raça, da aptidão, da atividade realizada e fatores associados são de extrema importância para se formular uma dieta balanceada que seja aceita pelo animal, permitindo assim, a máxima expressão de seu potencial genético (GOBESSO et al., 2008).

O fator peso é um dos itens a ser considerado durante a elaboração da dieta animal, devendo ser monitorado periodicamente. Alguns ajustes devem ser feitos quando houver necessidade. Uma das maneiras de acompanhar o peso ou o desenvolvimento do animal é através da avaliação do sistema de escore da condição corporal (ECC). Este sistema se baseia na quantidade de gordura corporal e sinaliza o quanto de energia está armazenada no corpo do animal (HENNEKE et al, 1983). A diferença entre a energia consumida e a energia que foi gasta, resulta no balanço energético expresso pelo ECC (RODRIGUES et al, 2011)

Henneke et al. (1983), elaboraram uma escala de ECC voltado para fêmeas Quarto de Milha no terço final da gestação, utilizando a palpação e visualização de áreas específicas do corpo onde poderia existir acúmulo de gordura corporal, tais como: a borda dorsal do pescoço, cernelha, costelas, parte posterior das espáduas, processos espinhosos e transversos lombares e área de inserção da cauda. A escala foi estabelecida num intervalo entre 1 a 9, sendo 1 animal extremamente magro e o 9 o máximo da obesidade (Figura 1).

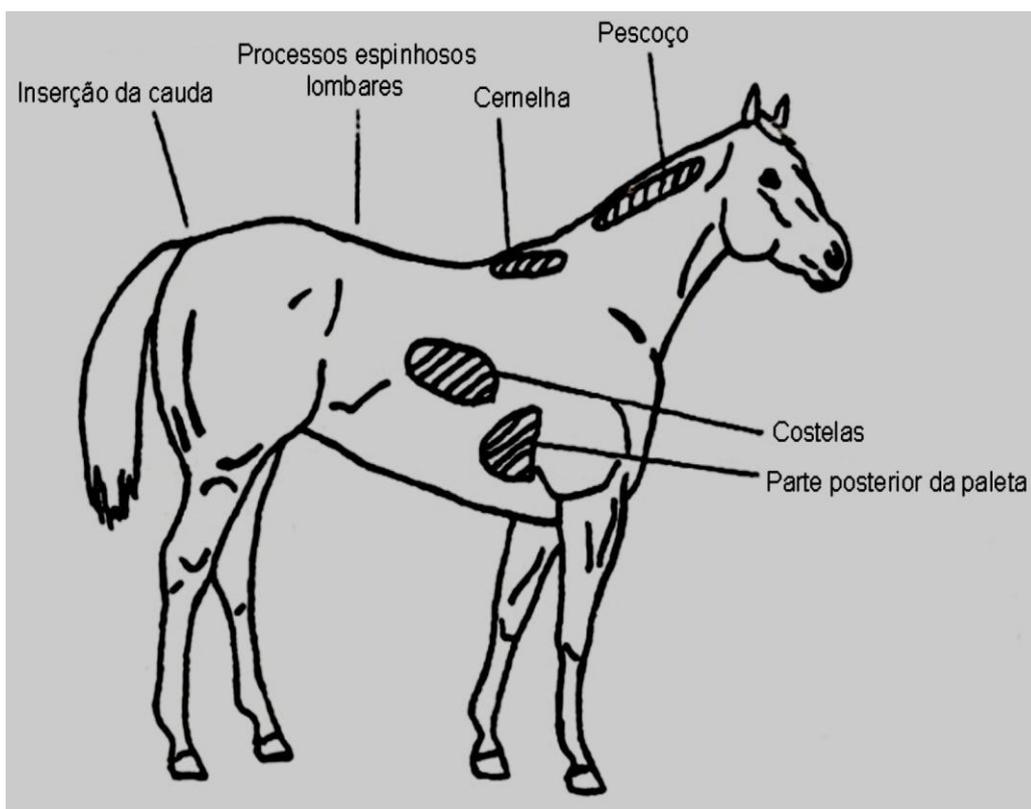


FIGURA 1. Áreas palpáveis para a estimativa da gordura corporal e do escore de condição corporal. Adaptado de Henneke et al. (1983).

O sistema de escore de condição corporal (ECC), segundo Henneke et al. (1983), considera o animal como um todo sem distinção de medidas ou características individuais como a pelagem ou estágio fisiológico e está associado a comprovação da relação da gordura corporal e o ECC.

Carroll & Huntington (1988) desenvolveram um método capaz de determinar o peso corporal de equinos e pôneis de diferentes raças a partir da correlação existente entre altura e ECC, tomando como base metodologia desenvolvida por Leighton-Hardman (1980), sendo a escala com intervalo de 0 (muito magro) a 5 (muito obeso). O número 3 nesta escala, considerado o ideal, significa que o animal possui de pescoço de textura firme, estruturas palpáveis com facilidade (costelas, processos espinhosos e garupa) cobertas por tecido adiposo.

Deste modo, adaptar as dietas ao peso e ao escore corporal dos animal, bem como considerar a camada de gordura dos animais se torna essencial. Estes fatores associados a idade dos animais possibilita a formulação de dietas mais equilibradas, que atenderão as necessidades dos animais e proporcionarão bons desempenhos dos animais.

Assim, a idade é outro fator que influência na formulação das dietas para os animais, pelas necessidades nutricionais específicas para cada faixa etária. Em especial os animais senescentes ou acima de 16 anos, pois esses animais naturalmente reduzem o consumo de alimento pela redução no ritmo metabólico, possuem uma redução na capacidade de triturar os alimentos com eficiência, devido à acentuação do desgaste ou alterações dos dentes (KOHNKE, 2011). Além de estarem mais susceptíveis a problemas de saúde.

Segundo o NRC (2007), a porcentagem de consumo alimentar dos equinos, com base na matéria seca (MS), é de 1,75% a 2,5% do seu peso podendo alcançar até 3%. Essas porcentagens são indicadas para diversas categorias dos animais, variando de acordo com a idade, atividade física ou trabalho e, também, pelo estado fisiológico.

O conhecimento dos fatores citados: peso corporal, camada de tecido adiposo, a condição corporal e a idade permitirá adequar à dieta aos animais e à sua condição corporal. Para tal, conhecer os alimentos que farão parte da dieta e o seu perfil nutricional é essencial.

Na dieta dos equinos, uma parte dos alimentos é fornecida na forma de concentrado e outra parte como volumoso. A primeira possui alta concentração de proteína e baixa quantidade de fibras (<18% de fibra) e, geralmente representada pelas

rações comerciais. A segunda contém maior teor de fibra (>18% de fibra) e são representados por alimentos como o feno e forragens frescas. A proporção entre estes dois alimentos pode variar, entretanto, recomenda-se não ultrapassar a proporção de 50% para cada alimento, sendo o ideal, manter maior proporção do alimento volumoso em relação ao concentrado (BRAGA et al., 2008).

A associação destas duas fontes de nutrientes possibilita formulações de dietas equilibradas, as quais podem atender as necessidades proteicas e ao mesmo tempo à demanda do equinos por fibra, vitaminas e minerais (GOBESSO et al., 2008).

1.3. Carboidratos na nutrição de equinos

Os carboidratos (CHO) compõem aproximadamente 75% da dieta dos equinos, no entanto, é necessário que haja equilíbrio entre carboidratos estruturais (celulose e hemicelulose) e não estruturais (glicose, frutose, lactose, sacarose, amido) (BRAGA et al., 2008).

Hoffman et al., (2001) propuseram um método de classificação dos carboidratos que melhor se adapta à fisiologia digestiva dos equinos, fracionando-os em três diferentes tipos: carboidratos hidrolisáveis, rapidamente fermentáveis e lentamente fermentáveis. Os carboidratos hidrolisáveis abrangem monossacarídeos, dissacarídeos e amido não resistente, os mesmos hidrolisados à açúcares simples no intestino delgado; os carboidratos rapidamente fermentáveis, irão gerar ácidos graxos voláteis no intestino grosso por meio de fermentação microbiana, e compreendem os oligossacarídeos, frutanos, galactanos, B-glucanos e substâncias pécticas; e os carboidratos lentamente fermentáveis, são compostos pela hemicelulose e celulose.

De acordo com Hintz, (2005), dietas ricas em grãos tendem a ter uma maior proporção de carboidratos rapidamente fermentáveis no intestino delgado e maior absorção de glicose, enquanto que uma dieta exclusiva de forragens estimula maior conversão de carboidratos lentamente fermentáveis para ácidos graxos voláteis (acetato, butirato, propionato) pela ação de bactérias no ceco e cólon, representando importante fonte energética para o cavalo, sendo o acetato um dos principais ácidos graxos voláteis formado, além de butirato e propionato (MOURA et al., 2009).

O amido (CHO hidrolisável) em quantidades que não ultrapassem 2g por quilo por refeição é digerido no intestino delgado, já a quantidade excedida será processada no intestino grosso, ocorrendo um desequilíbrio na flora bacteriana, aumento de bactérias anaeróbicas, uso de ácido láctico pelas bactérias *Lactobacillus* e *Streptococcus*, e

decréscimo no quantitativo de bactérias celulolíticas, com consequente prejuízo ao animal devido às alterações gastrointestinais, tal como a cólica ou laminite (MEDINA et al., 2002; BRAGA et al., 2008; GOBESSO et al., 2008).

Uma alternativa para reduzir os prejuízos causados por excesso de amido seria a redução da quantidade e/ou o fracionamento da parte de alimentos concentrados no mínimo em três refeições diárias, como também a oferta de volumoso de boa qualidade (MEDINA et al., 2002). O equilíbrio entre estes dois tipos de alimentos deve ser levado em consideração, pois o equino, por se um animal herbívoro, necessita ingerir fibras em quantidade suficiente para manter o bom funcionamento intestinal e suprir suas necessidades nutricionais (GOBESSO et al., 2008).

1.4. Microbiota intestinal

A microbiota do sistema digestório dos equinos é responsável pela etapa mais longa do processo digestivo, a quebra e consequente aproveitamento da fibra da dieta. Variada e densa, a microbiota disponibiliza nutrientes por meio da fermentação e degradação de alimentos que, sem sua ação, não seriam aproveitados pelo processo de digestão enzimática (SADET-BOURGETEAU e JULLIAND et al., 2010).

Os principais gêneros de bactérias que fazem parte da microbiota intestinal dos equinos são: *Bacillus*, *Bacteriodes*, *Bifidobacterium*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium*, *Ruminococcus*, *Serratia*, *Veillonellae* *Streptococcus* (GUPTA e GARG, 2009).

As bactérias que povoam o ambiente digestório do equino são celulolíticas, proteolíticas, glicolíticas, amilolíticas. Como exemplo, as bactérias *Lactobacillus ssp* e *Streptococcus* *ssp*, são classificadas como amilolíticas e atuam nos carboidratos não digeridos pelas enzimas do intestino delgado; já as bactérias *Ruminococcus flavefacien*, *Fibrobacter succinogenes* são classificadas como celulolíticas e atuam na quebra da celulose (HASTIE et al., 2008)

As bactérias *Lactobacillus* e *Streptococcus*, são os gêneros mais encontrados no trato gastrointestinal de equinos (SILVA et al., 2009; MOREAU et al., 2014) e, alterações nas suas populações, sinalizam que no sistema digestório dos equinos pode haver problemas no processo da digestão quando estas bactérias estão em grandes concentrações, promovendo alterações na fermentação e produção exagerada de ácido

lático, podendo prejudicar o animal e aumentar a chance de ocorrência de afecções como laminite e cólicas (CRAWFORD et al., 2007; AL JASSIM e ANDREWS, 2009).

Devido a esta grande importância da associação das bactérias com o organismo dos equinos, acompanhar os mudanças de manejo e na alimentação dos animais é primordial. Alterações tanto nas proporções dos alimentos, quanto na composição da dieta, podem alterar a microflora intestinal e influenciar no processo de digestão.

Práticas equivocadas no manejo alimentar podem resultar em alterações na microbiota, causando morbidades digestivas. A mudança brusca de alimentação é um desses equívocos, seja pela mudança do alimento concentrado ou volumoso, ou por sua qualidade, o que pode proporcionar alterações na população microbiana, podendo provocar laminite ou cólicas. As mudanças devem sempre ocorrer de forma gradativa com alimentos de boa qualidade (BRANDI et al., 2009; DALY et al, 2012).

Pesquisadores observaram as alterações no quantitativo bacteriano no ceco, quando um equino estava sendo acometido por laminite, desencadeada por excesso de oligofrutose. Os resultados revelaram que, dentro da microbiota, ocorreu um crescimento significativo de bactérias do gênero *Streptococcus spp.* momentos antes dos primeiros sinais da laminite, elevando os níveis de lactato pela degradação da oligofrutose (MILINOVICH et al., 2008).

A microbiota digestiva equina, em relação ao seu desenvolvimento, crescimento e atividade pode ser influenciada pelo substrato apresentado ou seja a alimentação dada ao animal pode alterar positivamente ou negativamente a população bacteriana. Desta maneira, é essencial adequar os tipos de alimentos e as suas proporções para evitar morbidades digestivas e proporcionar mais saúde aos animais.

1.5. Probióticos e dietas

Probióticos são microrganismos vivos, oferecidos na alimentação animal em doses ajustadas propiciando melhorias à saúde do hospedeiro. Para um microrganismo ser considerado um bom probiótico deve possuir alguns atributos como ser capaz de sobreviver ao ambiente gástrico, propriedades antimicrobianas, deve ter taxa de crescimento maior que sua eliminação pelo peristaltismo intestinal, capaz de aderir ao muco e células epiteliais e, é essencial que seja produzido e se mantenha viável por longos períodos (FAO, 2006). Os três primeiros mecanismos são normalmente atribuídos às bactérias produtoras de ácido lático, enquanto que os dois últimos são mais específicos de leveduras (MOURA et al., 2009).

Esses aditivos tornam-se uma opção diferenciada devido a seus atributos, dentre eles sua habilidade de diminuir patologias infecciosas e, por consequência, reduzir o uso de antibióticos (WEESE et al., 2003), bem como reduzir os casos de obstruções intestinais.

As características atribuídas aos microrganismos probióticos são a produção de substâncias que suprimem patógenos ou impedem seu crescimento, concorrência com patógenos por sítios de adesão e nutrientes, impedimento das bactérias em produzir toxinas como também inibição de sua ação; ser inócuo para ao hospedeiro, sem causar qualquer afecção e ser natural do sistema digestório, sendo capaz de resistir a esse ambiente, principalmente a alterações no pH e temperatura (GUPTA & GARG, 2009).

Em equídeos, os probióticos são utilizados para tentar estabelecer um equilíbrio desejável entre os microrganismos intestinais, principalmente aqueles benéficos. Atualmente, vários microrganismos são usados como probióticos, sendo os mais comuns os do gênero *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, além das leveduras vivas como a *Saccharomyces cerevisiae* (OITICICA et al., 2007).

Probióticos como a *Saccharomyces cerevisiae* (fungos) tem duas fases de crescimento ou desenvolvimento celular: em leveduras (unicelulares) ou filamentosas (em situações de baixos níveis ambientais de nitrogênio). *In vitro*, em ambientes controlados, pode-se proporcionar condições para a manutenção da fase unicelular, sendo de fácil reprodução e viabilidade já que podem sobreviver em ambiente com ou sem oxigênio, um dos atributos do probiótico (RAVEN et al., 2007; AMORIM; LOPES, 2009).

Os probióticos são amplamente usados na equinocultura na recuperação de animais que passam ou passaram por algum tipo de estresse, tal como a deficiência no consumo de colostro, durante o processo de desmama, em períodos onde a dieta é alterada, durante o transporte, quando há restrições hídrica e alimentar significativas, alterações climáticas bruscas, morbidades crônicas devido a manejos equivocados tais como laminites ou doenças gastroentéricas, como suplementos para animais com escore corporal baixo e terapia de longa duração, a fim de contornar o uso de antibióticos (TARAN, 2011).

Esses aditivos são ofertados aos animais de diversas formas, tais como pós, pastas, gel e na maioria das vezes por via oral, misturado ao alimento durante a refeição ou fornecido na água (BRAGA et al., 2008).

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* apresenta bons resultados, promovendo o equilíbrio da microbiota intestinal, o que pode ser observado em experimento onde utilizou uma dose de 2g/dia de levedura para animais com 4 anos da raça mini-horse, apresentando equilíbrio na microflora intestinal, e com alteração na população bacteriana (MORAES FILHO et al., 2015).

Outro benefício do uso de probiótico para equinos foi observado através da redução de sintomas da enterocolite constatada em um grupo de animais que receberam 10×10^9 UFC/g de *Saccharomyces boulardii* a cada 12 horas, durante 14 dias, em comparação a um grupo de animais que receberam um placebo (DESROCHERS et al., 2005).

Em potros desmamados a utilização da levedura *Saccharomyces cerevisiae* na dose 5g/dia mostrou resultados positivos na digestibilidade da hemicelulose (MOURA et al., 2009). Em dietas com alimento volumoso de baixa qualidade, suplementados com essa levedura, o aproveitamento do volumoso foi aproximadamente 9% melhor, com acréscimo nos valores dos coeficientes de digestibilidade, quando comparado a dieta sem a levedura (MORGAN et al., 2007; FURTADO et al., 2010; AGAZZI et al., 2011).

Resultados similares foram observados quando se suplementou 20 g do probiótico *Saccharomyces cerevisiae* por dia para equinos sob treinamento, com aumento na digestibilidade da hemicelulose em 4,1% (REZENDE et al., 2012). Desta forma, com o objetivo de melhorar a digestibilidade da porção fibrosa e aumentar a energia disponível para os animais, pode se incrementar a dieta com esses aditivos probióticos.

A digestibilidade da fibra tem sido um fator que demonstra melhora com o acréscimo de aditivos probióticos na dieta dos equinos, proporcionando melhor absorção dos nutrientes (JOUANY et al., 2009; FURTADO et al., 2010), especialmente com o uso de *Saccharomyces cerevisiae*.

Por estes benefícios, a suplementação desses aditivos cria-se expectativa, pós uso, de proporcionar organismos microscópicos viáveis e hábeis para adaptação no ambiente intestinal, atuando de forma benéfica no equilíbrio da microbiota normal do trato digestivo, elevando desempenho zootécnico e/ou prevenção de patologias do trato digestivo (MOURA et al., 2009).

Dentre estes probióticos, a *Saccharomyces cerevisiae* possui potencial para ser utilizada como probiótico em equinos, visto que as pesquisas em outras espécies de

animais demonstraram efeitos positivos (SANTOS et al, 2006; ARAÚJO et al, 2006; GATTASS et al, 2008).

Vários estudos tem demonstrado que a *Saccharomyces cerevisiae* cepa UFMG 905 vem apresentando resultados efetivos para humanos, estimulando a imunidade, reduzindo a resposta inflamatória em certos casos, e equilibrando a flora intestinal (SANTOS MARTINS et al., 2005; GENEROSO et al., 2010; MARTINS et al., 2011; MILANI et al, 2015).

Deste modo, torna-se essencial avaliar de forma mais específica a utilização de levedura na alimentação de equinos como potencial probióticos para a espécie, visto que há indícios destas atuarem positivamente sobre a digestibilidade dos alimentos e saúde dos equinos.

1.6. Métodos de coleta para Avaliação da digestibilidade dos alimentos

Para alcançar melhores resultados no desempenho dos animais, a elaboração de alimentos concentrados deve seguir as necessidades nutricionais do animal, associado ao baixo custo, onde o conhecimento dos alimentos em relação à composição bromatológica e sua digestibilidade torna-se importante (QUADROS et al., 2004). Para tal, torna-se necessário verificar os coeficientes de digestibilidade dos nutrientes dos alimentos, a fim de se utilizar corretamente os valores dos nutrientes e formular dietas que atendam às necessidades nutricionais dos animais.

Van Soest et al., (1994) relataram que a partir da diferença nutricional entre alimento ingerido e as fezes excretadas encontra-se a digestibilidade aparente dos nutrientes. A digestibilidade verdadeira é o balanço entre a dieta e seus resíduos alimentares que não foram digeridos e foram eliminados nas fezes, menos os metabólicos. O valor do coeficiente de digestibilidade aparente é mais baixo que o da digestibilidade verdadeira, pois no valor aparente está incluído o valor da perda metabólica na fezes.

Dentre as técnicas utilizadas para se avaliar o coeficiente de digestibilidade de nutrientes, a mais precisa é a coleta total de fezes, que é um método direto, apesar de possuir alguns requisitos onerosos em relação ao alojamento dos animais (bairas ou gaiolas metabólicas), à necessidade severa de regulação do manejo dos alimentos fornecidos e dos produtos eliminados via fezes; à quantidade elevada de fezes que devem ser coletadas e pesadas e, de períodos de adaptação dos animais aos tratamentos (SILVA et al., 2009).

O método de coleta total de fezes têm sido utilizado para estimar o coeficiente de digestibilidade dos nutrientes da dieta nos animais, sendo muito aplicado em animais de confinamento. Associa-se a este método, o uso de indicadores para demonstrar o período inicial e final da coleta, essenciais para obter resultados confiáveis (MOSS, 2012).

Já os métodos indiretos utilizam algum produto ou material para avaliar a digestibilidade de nutrientes ou o tempo que o alimento transitou pelo trato digestório do animal. Essa estimativa indireta pode ser através de indicadores internos, substâncias indigestíveis pertencentes à composição de algum componente dos alimentos ofertados (BERCHIELLI et al., 2005) ou indicadores externos, definidos por não estarem na composição do alimento; adicionados à dieta ou diretamente na cavidade oral do animal (ZEOULA et al., 2002).

O uso dos indicadores na determinação da digestibilidade pelo método indireto, faz com que manipule-se uma quantidade de fezes reduzida, em comparação ao método de coleta total de fezes. Através da quantidade de indicador que foi fornecido ao animal e o quantificado posteriormente nas fezes, é passível de se calcular a produção fecal diária (RODRIGUEZ et al., 2006).

Os indicadores internos podem ter sua taxa de recuperação diferente da administrada influenciada pela ação fisiológica do animal possibilitando uma instabilidade durante o seu uso, não acontecendo com os indicadores externos, durante a excreção do indicador na fezes (RODRIGUEZ et al., 2006).

Diversos indicadores podem ser utilizados junto com a mensuração dos alimentos consumidos, mensurar a taxa de passagem dos alimentos e estimar a digestibilidade total ou parcial de um determinado nutriente (ARAÚJO et al., 2000). Dentre os indicadores internos utilizados nas metodologias para equinos estão a lignina, cinza insolúvel em detergente ácido e cinza insolúvel em HCl (ARAÚJO et al., 2000). Outros indicadores que também tem sido utilizado na nutrição animal, mais especificamente para suínos, cães e ruminantes são: o celite (cinza insolúvel em ácido), óxido crômico, fibras em detergente ácido e fibras em detergente neutro e ácido indigestível (LOBO JR, et al., 2001; ÍTAVO et al., 2002; SALGUERO et al., 2014).

Nos equinos existem alguns fatores que influenciam a maneira como a digestibilidade ocorre, sendo pela especificidade de sua absorção, digestão, ingestão de alimentos pela espécie e ainda por fatores individuais (QUADROS et al., 2004).

Existem algumas metodologias para se determinar os coeficientes de digestibilidade de alimentos para espécie equina, podendo ser utilizadas técnicas *in vivo* ou *in vitro*, as quais podem ser associadas a cálculos de análises químicas dos alimentos para determinar seu aproveitamento. Uma técnica *in vitro* é a incubação de amostras em frascos com líquido ruminal, em condições que simulam o ambiente ruminal. No caso do método da coleta total de fezes e também do uso de marcadores internos, são considerados métodos *in vivo* (BERGERO et al., 2005).

Estas técnicas *in vivo* podem ser utilizadas para se determinar os coeficientes de digestibilidade em equinos, como exemplo temos a técnica dos sacos móveis e a digestão cecal *in situ* (HYSLOP et al., 2006). Estas técnicas “*in vivo*” podem sofrer interferência pelo consumo e taxa de passagem, dificultando a replicação deste cenário “*in vitro*” (MOSS, 2012).

Em equinos, pesquisadores citam a Lignina Klason, cinza insolúvel em ácido (CIA), celulose indigestível e fibra em detergente neutro (FDNi) ou ácido (FDAi) indigestíveis, como os marcadores internos mais utilizados. Dentre as técnicas que usam indicadores externos, tem-se o LIPE (lignina isolada purificada e enriquecida), indicador externo, derivado da lignina isolada do *Eucalyptus grandise* enriquecida com grupos fenólicos; e também a técnica do Nanolipe, a qual apresenta as mesmas características do material da LIPE, porém com o uso da nanotecnologia (MOSS, 2012).

A técnica da LIPE permite reduzir o tempo de adaptação dos animais para um período de 48 horas e durante a fase de coletas de fezes tem um período adequado para obtenção dos resultados de forma confiável de 3 a 5 dias, o que reduz o período total para coleta de amostras e obter os resultados (LANZETTA, et al., 2009). Neste método, o produto LIPE® não é destruído após a análise para sua dosagem na espectroscopia no infravermelho, de acordo com SALIBA (2005), o que permite manter a interinidade da amostra para posterior análise, se necessário.

De acordo com as informações descritas por Saliba (2005), o uso da LIPE® permite obter resultados confiáveis, similares a outras metodologias de coleta. Pesquisadores realizando trabalhos de comparação entre substâncias de mesma finalidade que a LIPE®, não observaram diferenças entre elas (LANZETTA, et al., 2009; DE MORAES et al. 2010)

Trabalhos que utilizaram a LIPE® em outras espécies, com o objetivo estimar produção fecal, consumo e digestibilidade, realizando coletas de fezes em cinco dias, quando comparado com a coleta total de fezes em três dias, não encontraram diferenças

($P > 0,05$) quando comparados aos resultados obtidos pela técnica *in vivo* (VASCONCELLOS et al. 2007; LANZETTA, et al., 2009; DE MORAES et al. 2010; MOSS et al., 2012; GARCIA et al. 2014;).

Pesquisadores que utilizaram uma relação entre feno de alfafa e concentrado (ração comercial) de 50:50 para potras, avaliaram os indicadores externos na digestibilidade dos nutrientes por meio óxido crômico e LIPE® (coleta de fezes em cinco dias), em comparação com o método da coleta total de fezes. Foi então constatado pelos pesquisadores que a LIPE® não apresentou diferença em relação ao método da coleta total de fezes, podendo ser usado para estimar a produção fecal e o coeficiente de digestibilidade em equinos (LANZETTA et al., 2009).

O óxido crômico é mais uma alternativa de indicador externo e um dos mais utilizados, devido ao seu baixo custo e fácil análise (LANZETTA et al., 2009). Entretanto, este possui algumas dificuldades no seu uso, devido ao percentual de recuperação que é próximo de 90%, instabilidade da quantidade recuperada entre animais e concentração mutável durante o período de 24 horas (TITGEMEYER et al., 1997). Além disso, o óxido crômico pode ser cancerígeno, conforme informações contidas em Saliba (2005).

Sendo assim, comparado à técnica de coleta total de fezes, o óxido crômico torna-se inviável devido a superestimação ou subestimação dos valores da digestibilidade dos nutrientes, enquanto que a LIPE®, pode ser viável na permuta do método de coleta total das fezes (LANZETTA et al., 2009), sendo portanto, necessário avaliá-la em comparação à técnica de coleta total de fezes, como também se há diferença na coleta de fezes com cinco e três dias utilizando a LIPE®.

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL JASSIM, R.A.M., ANDREWS, F. The bacterial community of the horse gastrointestinal tract and its relation to fermentative acidosis, laminitis, colic, and stomach ulcers. **Veterinary clinics of North America: Equine Pract**, v. 25, p.199-215, 2009.
- AGAZZI, A.; FERRONI, M.; FANELLI, A. Evaluation of the effects of live yeast supplementation on apparent digestibility of High-Fiber diet in mature horse using the acid insoluble ash marker modified method., **Equine Veterinary Journal**, v. 31, p. 13-18, 2011.
- AMORIM, H. V.; LOPES, M. L. Tecnologia sobre processamento de leveduras vivas, inativas e seus derivados: conceitos básicos. In: CONGRESSO INTERNACIONAL SOBRE USO DA LEVEDURA NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 1., 2009. Campinas: **Anais...** Campinas: CBNA, 2010 Campinas, p. 5-20.
- ARAÚJO, K. V., LIMA, J. A. F., FIALHO, E. T., MIYAGI, E S., Comparação entre os indicadores internos e o método de coleta total na determinação da digestibilidade dos nutrientes de alimentos volumosos, em equinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 3, p. 745-751, 2000.
- ARAÚJO, L. F., JUNQUEIRA, O. M., LOPES, E. L., SOARES DA SILVA ARAÚJO, C., HERNANDES ORTOLAN, J., & DE LAURENTIZ, A. C. D. Utilização da levedura desidratada (*Saccharomyces cerevisiae*) para leitões na fase inicial. **Ciência Rural**, 36(5), 2006.
- BERCHIELLI, T. T., DE OLIVEIRA, S. G., DE VEGA GARCIA, A. Considerações sobre os principais indicadores utilizados em estudos de nutrição com ruminantes. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 8, n. 2, p. 205-211, 2005.
- BERGERO, D., MEINER, G., MIRAGLIA, N., PEIRETTI, P. G. Apparent digestibility of hays in horses determined by total collection of feces and using internal marker methods. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v. 3, n. 1, p. 199-202, 2005.
- BRAGA, A. C., ARAÚJO, K.V., LEITE, G. G., MASCARENHAS, A. G. Níveis de fibra em detergente neutro em dietas para equinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 11, p. 1965-1972, 2008.
- BRANDI, R. A., FURTADO, C. E. Importância nutricional e metabólica da fibra na dieta de equinos, **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.246-258, 2009.
- CARROLL, C. L., HUNTINGTON, P. J. Body condition scoring and weight estimation of horses. **Equine Veterinary Journal**, Cambridge, v. 20, n. 1, p. 41-45, 1988.
- CRAWFORD, C., SEPULVEDA, M. F., ELLIOTT, J., HARRIS, P. A., BAILEY, S. R. Dietary fructan carbohydrate increases amine production in the equine large intestine:

Implications for pasture-associated laminitis. **Journal Animal Science** v.85, p. 2949–2958, 2007.

DALY, K., PROUDMAN, C. J., DUNCAN, S. H.; FLINT, H. J., DYER, J., SHIRAZI-BEECHEY, S. P. Alterations in microbiota and fermentation products in equine large intestine in response to dietary variation and intestinal disease. **The British Journal of Nutrition**, v. 107, n. 1, p. 989–995, 2012.

DE MORAES, S. A., SALIBA, E., NEIVA, J., SALLA, L., BORGES, I., & de OLIVEIRA, R. G. Validação do LIPE® como indicador externo de estimativa da produção fecal e digestibilidade em caprinos alimentados com subproduto de urucum. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 47., 2010, Salvador. Empreendedorismo e progresso científico na zootecnia brasileira: **Anais**. Salvador, 2010.

DESROCHERS, A. M., DOLENTE, B. A., ROY, M. R., BOSTON, R., CARLISLE, S., Efficacy of *Saccharomyces boulardii* for treatment of horses with acute enterocolitis, **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 227, n.º. 6 ,p. 954-959 , 2005.

FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, World Health Organization. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Córdoba, 2006. 34 p. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/meeting/009/y6398e.pdf >. Acesso em: 22/09/2015.

FERNANDES, C. S., **Fatores de prognóstico da cólica em equinos**, Dissertação, Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa, 2009.
FRAPE, D. **Nutrição & alimentação de equinos**. 3.ed. São Paulo: Roca, 602p. 2008.

FURTADO, C. E., BARBOZA, E. D., BRANDI, R. A., RIBEIRO, L. B., OLIVEIRA, A. A. M. A., Uso de levedura em equinos alimentados com dietas compostas de fenos de diferentes qualidades nutricionais. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.39. P. 2194-2199, 2010.

GATTASS, C. B. A., DA GRAÇA MORAIS, M., DE ABREU, U. G. P., LEMPP, B., STEIN, J., ALBERTINI, T. Z., & FRANCO, G. L. Consumo, digestibilidade aparente e ganho de peso em bovinos de corte confinados suplementados com cultura de levedura (*Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026). **Ciência Animal Brasileira**, 9(3), 535-542, 2008.

GENEROSO, S. V., VIANA, M., SANTOS, R., MARTINS, F. S., MACHADO, J. A., ARANTES, R. M., CARDOSO, V. N., *Saccharomyces cerevisiae* strain UFMG 905 protects against bacterial translocation, preserves gut barrier integrity and stimulates the immune system in a murine intestinal obstruction model. **Archives of microbiology**, v. 192, n.º6, p.477-484, 2010.

GOBESSO, A. A. O., D'AURIA, E., PREZOTTO, L. D., RENNÓ, F. P. Substituição de milho por sorgo triturado ou extrusado em dietas para equinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 11, p. 2011-2016, 2008.

GUPTA V., GARG R. Probiotics. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v.27, p. 202-209, 2009.

HASTIE, P. M., MITCHELL, K, MURRAY, J. M. D. Semi-quantitative analysis of *Ruminococcus flavefaciens*, *Fibrobacter succinogenes* and *Streptococcus bovis* in the equine large intestine using real-time polymerase chain reaction. **British Journal of Nutrition**, v. 100, n. 3, p. 561-568, 2008.

HENNEKE, D. R.; POTTER, G. D.; KREIDER, J. L.; YEATS, B. F., Relationship between body condition score, physical measurements and body fat Percentage in mares. **Equine Veterinary Journal**, Cambridge, v. 15, n. 4, p. 371-372, Nov. 1983.

HINTZ, H. F. Evaluate the entire equine diet. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 25, n. 12, p. 540-541, 2005.

HOFFMAN, R.M.; WILSON, J., KRONFELD, D. S., COOPER, W. L., LAWRENCE, L. A.; SKLAN, D., HARRIS, P. A., Hydrolysable carbohydrates in pasture, hay, and horses feeds: direct assay and seasonal variation. **Journal of Animal Science**, v. 79, p. 500-506, 2001.

HYSLOP, J. J. *In situ* and mobile bag methodology to measure the degradation profile of processed feeds in different segments of the equine digestive tract. **Livestock Prod. Sci.**, v.100, p. 18-32, 2006.

ÍTAVO, L. C. V., VALADARES FILHO, S. D. C., SILVA, F. F. D., VALADARES, R. F. D., PAULINO, M. F., ÍTAVO, C. C. B. F., & MORAES, E. H. B. K. D. ÍTAVO, Comparação de Indicadores e Metodologia de Coleta para Estimativas de Produção Fecal e Fluxo de Digesta em Bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 4, 2002.

JOUANY, J. P.; MEDINA, P.; BERTIN, G.; JULLIAND, V. Effect of live yeast culture supplementation on hindgut microbial communities and their poly saccharidase and glycoside hydrolase activities in horses fed a high-fiber or high-starch diet. **Journal Animal Science**, v. 87, p. 2844-2852, 2009.

JULLIAND, V. ,Pre- and probiotics: potentials for equine practice. In: EUROPEAN EQUINE NUTRITION AND HEALTH CONGRESS, Merelbeke. **Proceedings...** p. 17-18, Merelbeke: Ghent University, 2006.

KOHNKE, J., Nutrition of the Aged Horse, 2011. Disponível em: <http://www.ava.com.au/sites/default/files/AVA_website/pdfs/NSW_Division/EQUINE%20-%20John%20Kohnke%20-%20Feeding%20Old%20Horses.pdf>. Acesso em: 06 de junho de 2017.

LANZETTA, V. A. S.; REZENDE, A. S. C.; SALIBA, E. O. S.; LANA, A. M. Q.; RODRIGUEZ, N. M.; MOSS, P. C. B., Validação do LIPE como método para determinar a digestibilidade dos nutrientes em equinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, n. 1, p. 69-74, 2009.

LEIGHTON-HARDMAN, A. C. **Equine nutrition**. London: Pelham Books, p. 09-17. 1980.

LÔBO JR, M. F., REZENDE, A. S. C., SALIBA, E. O. S., SAMPAIO, I. B. M. Coeficientes de digestibilidade aparente pelos métodos de indicadores e coleta total de fezes em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 2001.

MARTINS, F. S., ELIAN, S. D., VIEIRA, A. T., TIAGO, F. C., MARTINS, A. K., SILVA, F. C., BONJARDIM, C. A.. Oral treatment with *Saccharomyces cerevisiae* strain UFMG 905 modulates immune responses and interferes with signal pathways involved in the activation of inflammation in a murine model of typhoid fever. **International Journal of Medical Microbiology**, v.301n°4, p.359-364, 2011.

MEDINA, B., GIRARD, I. D. , JACOTOT, E., JULLIAND, V., Effect of a preparation of *Saccharomyces cerevisiae* on microbial profiles and fermentation patterns in the large intestine of horses fed a high fiber or a high starch diet. **Journal of Animal Science**. v. 80, p. 2600-2609, 2002.

MILANI, T. M., SILVA, R. Q., CARVALHO, A. P., FONSECA, V. M., SILVA, T. G., VIANNA, E. O., BORGES, M. C.. Dose-Response Effect Of Probiotic Yeast *Saccharomyces Cerevisiae* UFMG 905 For The Prevention Of Asthma In An Animal Model. In D33. **New Basic Science In Asthma: Allergic Inflammation II** (pp. A5660-A5660). American Thoracic Society, 2015.

MILINOVICH, G J., BURRELL, P. C., POLLITT, C. C., KLIEVE, A. V., BLACKALL, L. L., OUWERKERK, D., ... & TROTT, D. J. et al. Microbial ecology of the equine hindgut during oligofructose-induced laminitis. **The ISME journal**, v. 2, n. 11, p. 1089, 2008.

MOORE, J. N.; MELTON, T.; CARTER, W.C.; WRITH, A.L.; SMITH, M.L. A new look at equine gastrointestinal anatomy, function and selected intestinal displacements . In: American Association of Equine Practitioners, 47, **Proceedings...** Genebra, AAEP, p. 53-60, 2001.

MOREAU, M. M., EADES, S. C., REINEMEYER, C. R., FUGARO, M. N., ONISHI, J. C. Illumina sequencing of the V4 hypervariable region 16S rRNA gene reveals extensive changes in bacterial communities in the cecum following carbohydrate oral infusion and development of early-stage acute laminitis in the horse. **Veterinary Microbiology**, V. 168, p. 436-441, 2014.

MORGAN, L. M.; COVERDALE, J. A.; FROETSCHER, M. A.; YOON, I. Effect of yeast culture supplementation on digestibility of varying forage quality in mature horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 27, n. 6, p. 260-265, 2007.

MOSS, P. C. B. **Digestibilidade aparente da dieta em equinos estimada através de coleta total e do uso de indicadores**. 58 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Escola de Veterinária. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2012.

MORAES FILHO, L. A. J.; PALAGI, M. A.; COSTA, R. L., Avaliação da inclusão de *Saccharomyces cerevisiae* e óleos essenciais sobre a digestibilidade dos nutrientes da

dieta em cavalos. **Anais**. Ribeirão Preto: Associação Brasileira dos Médicos Veterinários de Equídeos, 2015.

MOURA, R. S., SALIBA, E. O. S., ALMEIDA, F. Q., LANA, Â. M. Q., SILVA, V. P., REZENDE, A. S. C., Feed efficiency in Mangalarga Marchador foals fed diet supplemented with probiotics or phytase. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 6, p. 1045-1050, 2009.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of horses**. 6.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 2007.

OITICICA, P. C. **Avaliação do efeito da suplementação dietética a base de *Saccharomyces cerevisiae* sobre o ganho de peso, altura, perfil hematológico e índice de cólica de potros em crescimento**. Dissertação (Mestrado em Diagnóstico e Cirurgia de Equinos) - Faculdade de Jaguariúna, São Paulo, 2007.

QUADROS, J. B. D. S., FURTADO, C. E., BARBOSA, E. D., ANDRADE, M. B. D., & TREVISAN, A. G. U.; Digestibilidade Aparente e Desenvolvimento de Equinos em Crescimento Submetidos a Dietas Compostas por Diferentes Níveis de Substituição do Feno de Tifton 85 pela Casca de Soja. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.3, p.564-574, 2004.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 856 p., 2007.

REZENDE, A. S. C.; TRIGO, P.; LANA, A. M. Q.; SANTIAGO, J. M.; SILVA, P.; CASTEJON, F. M., Yeast as a feed additive for training horses. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 36, n. 3, p. 354-362, 2012.

RODRIGUES, P. G.; RAYMUNDO, C. de M.; SOUZA, J. C. ; MIRANDA, M. C. M. G. ; REZENDE, A. S. C. , Gordura Corporal e Eficiência Reprodutiva em Éguas Doadoras de Embrião Mangalarga Marchador. **Ciência e Agrotecnologia** (Online), v. 35, p. 1002-1008, 2011.

RODRIGUEZ, N.M.; SALIBA, E.O.S.; GUIMARÃES, R., Uso de indicadores para estimativa de consumo a pasto e digestibilidade. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. 43, 2006, João Pessoa. **Anais ...** João Pessoa: Sociedade Brasileira de Zootecnia,, p.33-352.2006.

SADET-BOURGETEAU, S.;JULLIAND, V.,Equine microbial gastro-intestinal health. The Impact of Nutrition on the Health and Welfare of Horses, **EAAP Publications**, v. 128, p. 161-82, 2010.

SALGUERO, S. C., ROSTAGNO, H. S., HANNAS, M. I., CARVALHO, T. A., MAIA, R. C., & PESSOA, G. B. Digestibilidade do cálcio de ingredientes para suínos, avaliada por meio de dois métodos. **Arquivo Brasileiro. Medicina Veterinária Zootecnia**, p.1539-1546, 2014.

SALIBA, E.O.S. Palestra – Uso de indicadores: Passado, presente e futuro. In: TELECONFERÊNCIA SOBRE INDICADORES EM NUTRIÇÃO ANIMAL, 1, Belo Horizonte. Escola de Veterinária / UFMG, p. 04-22, 2005

SANTOS, F. A. P., CARMO, C. A., MARTINEZ, J. C., PIRES, A. V., & BITTAR, C. M. M. Desempenho de vacas em lactação recebendo dietas com diferentes teores de amido total, acrescidas ou não de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, 35(4), 1568-1575, 2006.

SANTOS MARTINS, F., SANTOS MARTINS, F., BARBOSA, F. H. F., PENNA, F. J., AUGUSTO, C., ROSA, R. M. D. N., NEVES, M. J., & NICOLI, J. R., Estudo do potencial probiótico de linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* através de testes in vitro. **Revista de biologia e ciências da terra**, 5(2), 0, 2005.

SILVA, V. P., ALMEIDA, F. Q., MORGADO, E. S., FRANÇA, A. B., VENTURA, H. T., & RODRIGUES, L. M., Digestibilidade dos nutrientes de alimentos volumosos determinada pela técnica dos sacos móveis em equinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 1, p. 82-89, 2009.

TARAN, F. M. P.; GONZAGA, I. V. F.; FRANÇOSO, R.; CENTINI, T. N.; GANDRA, J. R.; MOREIRA, C.G.; GOBESSO, A. A. O., Avaliação do efeito da inclusão de *Saccharomyces cerevisiae* sobre a digestibilidade aparente total em dieta para equinos. In: XXII Reunión Latino americana de Producción Animal, , Montevideo. **Anais...** Montevideo, 2011.

TITGEMEYER, E.C., Design and interpretation of nutrient digestion studies. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.75, p.2235-2247, 1997.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583-3597, 1994.

VASCONCELLOS, C. H., VELOSO, J. A., SALIBA, E. O., BAIÃO, N. C., & LARA, L. J. Uso da LIPE® como indicador externo na determinação da energia metabolizável de alimentos em frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 2, p. 459-465, 2007.

WEESE, J. A.; ANDERSON, M.; LOWE, A.; MONTEITH, G. J. Preliminary investigation of the probiotic potential of *Lactobacillus rhamnosus* strain GG in horses: fecal recovery following oral administration and safety. **Canadian Veterinary Medical Association**, v. 44, p. 299-302, 2003.

ZEOULA, L.M.; PRADO, I.N.; DIAN, P.H.M. Recuperação fecal de indicadores internos avaliados em ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1865-1874, 2002.

CAPÍTULO I

DESEMPENHO E DIGESTIBILIDADE DE NUTRIENTES EM EQUINOS SENESCENTES ALIMENTADOS COM *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* NA DIETA

RESUMO

OLIVEIRA, Clístenes Gomes de. **Desempenho e digestibilidade de nutrientes em equinos senescentes alimentados com *Saccharomyces cerevisiae* na dieta**. Sergipe: UFS, 2017. p.17 (Dissertação – Mestrado em Zootecnia).

RESUMO: Objetivou-se avaliar o efeito da suplementação de levedura *Saccharomyces cerevisiae* na dieta de equinos senescentes e seus efeitos sobre o desempenho e coeficientes de digestibilidade aparente de nutrientes. Foram utilizados 18 equinos machos castrados, sem raça definida, com peso médio $426,167 \pm 25,3$ kg e idade média de $17,5 \pm 1,42$ anos. Os tratamentos consistiram na utilização de diferentes fontes de leveduras adicionados a 200g de concentrado, sendo: tratamento controle - sem adição de levedura (10mL meio de cultura estéril); tratamento contendo a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, UFMG 905 na concentração de 3×10^8 UFC/mL/dia; e o tratamento contendo probiótico comercial composto por *Lactobacillus casei* $> 7,9 \times 10^4$ UFC/mL, *Lactobacillus acidophilus* $> 7,9 \times 10^4$ UFC/mL e *Saccharomyces cerevisiae* $> 1,5 \times 10^6$ UFC/mL. A dieta padrão foi composta por concentrado comercial e feno Tifton 85 (*Cynodon* spp) na proporção de 30:70, respectivamente. O experimento teve a duração de 31 dias, sendo 28 dias de adaptação e três dias para o ensaio de digestibilidade. Foi avaliado o desempenho dos animais por meio do peso, consumo de concentrado, de volumoso e da dieta total. Para determinação dos coeficientes de digestibilidade foi utilizado o método de coleta total de fezes. O isolamento de microrganismos *Lactobacillus* spp. usou-se a contagem direta em placas. O delineamento foi inteiramente casualizado, sendo três tratamentos e seis repetições, considerando o animal a unidade experimental. Os dados foram analisados por meio da ANOVA e teste Dunnet, considerando 5% de significância para as variáveis de desempenho e 10% para os coeficientes de digestibilidade. O peso final, consumo de concentrado, volumoso e dieta total não diferiram entre os tratamentos ($P > 0,05$). Entretanto, houve aumento do peso ($P = 0,03$) e maior ganho de peso ($P = 0,03$) nos animais suplementados com a levedura UFMG 905. A matéria orgânica, extrato etéreo, fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido e teor de carboidratos não estruturais não diferiram entre os tratamentos ($P > 0,10$). Entretanto, os coeficientes de digestibilidade da matéria seca ($P = 0,05$) e da proteína bruta ($P = 0,10$) foram maiores no tratamento comercial em relação ao controle e o coeficiente de digestibilidade da hemicelulose foi reduzido ($P = 0,01$) no tratamento comercial em relação ao controle, o crescimento bacteriano nos tratamentos UFMG905 e comercial foram semelhantes entre si com elevação de 10^6 para 10^7 ufc/g. Em conclusão, a suplementação de probiótico contendo *Saccharomyces cerevisiae* em dietas para equinos acima de 16 anos, aumentou o ganho de peso, a digestibilidade da matéria seca e da proteína bruta e favoreceu um crescimento de *Lactobacillus* spp., podendo ser utilizado como probiótico. Mais estudos são necessários no sentido de definir concentrações ótimas de leveduras e seus efeitos em equinos.

Palavras chave: digestibilidade aparente; equinocultura; fermentação; microrganismos; leveduras;

ABSTRACT

OLIVEIRA, Clístenes Gomes de. **Performance and nutrient digestibility in senescent horses fed *Saccharomyces cerevisiae* in the diet.** Sergipe: UFS, 2017. p.17 (Dissertation - Master in Animal Science)

ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate the effect of *Saccharomyces cerevisiae* yeast supplementation on the senescent equine diet and its effect on performance and apparent nutrient digestibility coefficients. Eighteen castrated male horses, with no defined breed, with a mean weight of 426.167 ± 25.3 kg and mean age of 17.5 ± 1.42 years were used. The treatments consisted in the use of different sources of yeasts added to 200g of concentrate, being: control treatment - without addition of yeast (10mL sterile culture medium); Treatment containing yeast *Saccharomyces cerevisiae*, UFMG 905 in the concentration at 3×10^8 CFU/mL/day; And treatment containing commercial probiotic composed of *Lactobacillus casei* $> 7.9 \times 10^4$ CFU/mL, *Lactobacillus acidophilus* $> 7.9 \times 10^4$ CFU/mL and *Saccharomyces cerevisiae* $> 1.5 \times 10^6$ CFU/mL. The standard diet was composed of commercial concentrate and Tifton 85 hay (*Cynodon spp*) in the proportion of 30:70, respectively. The experiment lasted 31 days, with 28 days of adaptation and three days for the digestibility assay. The performance of the animals was evaluated by weight, concentrate feed intake, forage and total diet feed intake. For the determination of the digestibility coefficients, the total fecal collection method was used. The isolation of microorganisms *Lactobacillus spp.* direct plate counting was used. The design was completely randomized, with three treatments and six replicates, considering the animal the experimental unit. The data were analyzed by ANOVA and Dunnet test, considering 5% of significance for the performance variables and 10% for the digestibility coefficients. The final weight, concentrate feed intake, forage and total diet feed intake did not differ between treatments ($P > 0.05$). However, there was an increase in weight ($P = 0.03$) and higher weight gain ($P = 0.03$) in animals supplemented with yeast UFMG 905. Organic matter, ethereal extract, neutral detergent fiber, acid detergent fiber and non-structural carbohydrates did not differ between treatments ($P > 0.05$). However, the digestibility coefficients of the dry matter ($P = 0.05$) and the crude protein ($P = 0.10$) were higher in the commercial treatment compared to the control treatment and for the hemicellulose the coefficient of digestibility was lower in the commercial treatment in relation to the control treatment, bacterial growth in UFMG905 and commercial treatments were similar to each other with elevation from 10^6 to 10^7 cfu/g. In conclusion, probiotic supplementation with *Saccharomyces cerevisiae* in diets for horses older than 16 years increased weight gain, dry matter and crude protein digestibility, and favored a growth of *Lactobacillus spp.* could be used as a probiotic. More studies are needed to define optimal yeast concentrations and their effects on horses.

Keywords: apparent digestibility; echinoculture; fermentation; microorganisms; yeasts;

1. INTRODUÇÃO

O equino é um animal que proporciona ao homem inúmeros benefícios. No setor da saúde, pode auxiliar em tratamentos de saúde através da equoterapia, no setor financeiro movimenta cerca de R\$ 7,3 bilhões de reais ao ano (IBGE, 2014; SILVA, 2015), proporciona lazer e atividades esportivas em diversas modalidades, tais como hipismo, vaquejada, enduro, dentre outros e também pode auxiliar no setor da segurança pública com a polícia militar através do serviço montado.

Estas atividades alteram a demanda nutricional dos animais em função da sua rotina de trabalho, bem como modificam a forma de arraçoamento. Cuidados relacionados à alimentação são essenciais, pois estes animais possuem câmara fermentativa intestinal e dependem do equilíbrio de sua microbiota intestinal para melhorar a eficiência no aproveitamento dos nutrientes da dieta e manter a saúde e bom funcionamento de seu perfil digestório (DALY et. al., 2012).

A microbiota intestinal dos equinos pode sofrer alterações em decorrência de diversos fatores, quer seja devido às mudanças na alimentação ou em seu metabolismo, quer seja em função da idade, por exemplo (SADET-BOURGETEAU e JULLIAND, 2010; DALY et al., 2012).

Os equinos em idade avançada, em especial aqueles acima dos 16 anos, precisam de um cuidado especial devido a redução do ritmo fisiológico digestivo (ARGO et al., 2016), de forma a minimizar os eventos causadores de desequilíbrios na microbiota intestinal, mantendo ou melhorando a digestão dos alimentos, em especial das fibras; reduzindo assim, as incidências de cólica (MCINTOSH, 2012; RAUB, 2017).

Por estes motivos, a suplementação com aditivos, tais como os probióticos (microrganismos vivos que beneficiam o hospedeiro) (FAO, 2006), se faz necessária já que estes auxiliam na manutenção do equilíbrio dos microrganismos intestinais. Os probióticos mais utilizados fazem uso de bactérias ou leveduras, dentre estas as *Saccharomyces cerevisiae*.

Diversos trabalhos já comprovaram o efeito das leveduras sobre a saúde, coeficiente de digestibilidade e desempenho de equinos, entretanto ainda são escassas tais informações, acerca do efeito deste suplemento para equinos senescentes, principalmente sobre as cepas de *Saccharomyces cerevisiae*.

Em experimento realizado por Moraes Filho et al. (2015), o uso da levedura *Saccharomyces cerevisiae* em cavalos da raça mini-horse de quatro anos na dosagem de 2g/dia por animal, promoveu maior equilíbrio da microbiota intestinal. A levedura *Saccharomyces cerevisiae* na dose de 5g/dia, também demonstrou melhora no coeficiente de digestibilidade da hemicelulose em potros no período de desmame (MOURA et al, 2009).

Em outros trabalhos similares, o uso da levedura na dosagem de 15 até 56g/dia/animal também melhorou o coeficiente de digestibilidade de nutrientes em situações onde o alimento volumoso era de baixa qualidade (MORGAN et al., 2007; FURTADO et al., 2010; AGAZZI et al., 2011). Em cavalos em fase de treinamento moderado a intenso, à suplementação de 20g da *Saccharomyces cerevisiae* por dia aumentou o coeficiente de digestibilidade da hemicelulose (REZENDE et al., 2012).

Por estes motivos, a levedura *Saccharomyces cerevisiae* pode se tornar um importante aditivo probiótico para equinos senescentes, visto que estes sofrem alterações em seu metabolismo; tornando tais leveduras, potenciais microrganismos capazes de melhorar a digestibilidade dos nutrientes e reduzir a incidência de cólica nestes animais.

Os trabalhos encontrados voltados para animais senescentes ainda são escassos e os resultados apresentam variações. Por isso, torna-se essencial avaliar a suplementação na alimentação de equinos desses probióticos, haja vista seu potencial probiótico para a espécie.

Assim, objetivou-se avaliar o efeito da suplementação da levedura *Saccharomyces cerevisiae* na dieta e seus efeitos sobre o desempenho e os coeficientes de digestibilidade de nutrientes em equinos senescentes.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Este projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEPAP) da UFS, conforme protocolo nº01/2017.

2.1. Local, data, animais, instalações e manejo pré-experimental

O experimento foi realizado no Esquadrão da Polícia Montada do Estado de Sergipe (EPMON), de abril de 2017 à maio de 2017, localizada a 84 metros de altitude, longitude de 37.0532282 e latitude de 10.880819, na cidade de Aracaju/SE. As temperaturas médias máxima e mínima aferidas durante o período do experimento foram $26,29 \pm 0,85^{\circ}\text{C}$ e $24,59 \pm 0,92^{\circ}\text{C}$, respectivamente. A umidade relativa do ar foi de 78,6%.

As análises laboratoriais foram realizadas em parceria com o Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde, Laboratório de Nutrição Animal e Laboratório de Não Ruminantes do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Sergipe (UFS) e Laboratório de microbiologia do Departamento de Microbiologia (UFMG).

Os animais foram alojados no Esquadrão da Polícia Militar de Sergipe e mantidos em baias de alvenaria com dimensões de 4x4 metros (totalizando uma área de 16m^2), pé direito com 3 metros de altura e telhado composto por telhas de cerâmica, com piso de concreto revestido de borracha, paredes fechadas até a altura de 2,5 metros, com exceção da parte frontal da baia, a qual é composta por uma porteira de madeira até a altura de 1,5 metros. Nas baias haviam dois comedouros revestidos de cerâmica, um utilizado para o fornecimento dos alimentos concentrado e volumoso e um outro de menor tamanho para o sal mineral. O bebedouro é do tipo manual, também revestido por cerâmica.

Os animais utilizados no experimento foram acompanhados por um período mínimo de dois meses antes do início do experimento a fim de comprovar seu estado de higidez. O controle de endo e ectoparasitos foi realizado dois meses antes do experimento. Os animais não receberam antibióticos dois meses antes e até o fim do experimento para evitar possíveis alterações na microbiota intestinal. Os equinos foram soltos uma vez ao dia durante 30 minutos em piquete sem cobertura vegetal de modo a permitir atividade física.

2.2. Dieta e tratamentos

Durante o período pré-experimental todos os animais foram alimentados com o alimento volumoso à vontade (feno de Tifton 85-*Cynodon spp.*). Foi fornecido 2,175g/dia da ração comercial (Proequi Melaçada®, Guabi,) sem probiótico e prebiótico em sua composição, a qual atendeu às exigências nutricionais para a categoria de acordo com as recomendações contidas no NRC (2007) para animais adultos em manutenção. O consumo de água e sal mineral (Centauro 80®, Guabi,) foi à vontade.

Para a análise do desempenho e digestibilidade, foram utilizados 18 equinos machos castrados, sem raça definida, com peso médio de 426,167±25,3kg e idade média de 17,5±1,42 anos. Os animais foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, dentro de três tratamentos e seis repetições, considerando o animal a unidade experimental. Os tratamentos consistiram na inclusão de diferentes fontes de leveduras; sendo:

Tratamento 1 (Controle) – Concentrado (200g) + inclusão de 10 mL/dia de meio de cultura estéril para leveduras;

Tratamento 2 – Concentrado (200g) + 10 mL de probiótico contendo 3×10^8 UFC/mL/dia de levedura *Saccharomyces cerevisiae* cepa UFMG 905;

Tratamento 3 – Concentrado + 80 mL de probiótico comercial contendo *Lactobacillus casei* $>7,9 \times 10^4$ UFC/mL, *Lactobacillus acidophilus* $>7,9 \times 10^4$ UFC/mL e *Saccharomyces cerevisiae* $>1,5 \times 10^6$ UFC/mL.

Todos os animais foram alimentados com o alimento volumoso composto por feno de Tifton 85 (*Cynodon spp.*) e alimento concentrado composto por ração comercial peletizada (Proequi Melaçada®, Guabi).

A relação concentrado/volumoso inicial foi calculada para ser de 30:70, respectivamente, e a porcentagem de ingestão de matéria seca considerada foi de 2% do peso corporal para de cada animal, segundo recomendações contidas no NRC (2007) para animais adultos em manutenção. Após determinação da quantidade diária inicial de volumoso; quando não havia sobras, o seu fornecimento era aumentado em 10% a fim de disponibilizar volumoso à vontade. A quantidade de alimento concentrado não foi modificada ao longo do experimento. O consumo de água e sal mineral foi à vontade.

Os animais receberam o alimento volumoso em três porções, sendo 1/3 às 7:00 horas, 1/3 às 11:00 horas e a última fração às 18:00 horas; o alimento concentrado foi fornecido em duas etapas, sendo metade às 04:00 horas e a outra metade às 14:30 horas.

Diariamente, 30 minutos antes do fornecimento do concentrado da tarde, os probióticos foram adicionados a um recipiente contendo uma alíquota de 200g do alimento concentrado, retirada da quantidade que era oferecida na refeição ao animal e misturados manualmente, sendo os mesmos fornecidos de acordo com o respectivo tratamento para cada animal.

2.3. Reprodução da levedura *Saccharomyces cerevisiae* cepa UFMG 905

Para o cultivo das cepas de levedura foi realizada uma adaptação da metodologia descrita por Martins et al. (2011), no Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde da UFS. A levedura *Saccharomyces cerevisiae* cepa UFMG 905 liofilizada foi reservada e 1grama do material foi transferido para um erlenmeyer contendo 100mL de caldo Sabouraud. Este caldo foi composto de extrato de levedura a 9,09%; peptona a 18,18%; dextrose a 72,72% e a quantidade necessária de água destilada para o preparo.

O caldo contendo a levedura foi então incubado em estufa a 35°C por 24 horas para sua ativação, após isso, fez-se o primeiro repique com a retirada de 1mL desse material para um erlenmeyer contendo 100mL de caldo Sabouraud. Novamente, o caldo contendo a levedura foram incubados em estufa a 35°C por mais 24 horas, para o segundo repique. O processo foi repetido utilizando 1mL do caldo anterior e 1litro de caldo Sabouraud sendo esse incubado em estufa a 35°C por mais 24 horas. Após a incubação, esse volume foi fracionado em porções de 10mL, colocadas nos tubos estéreis com capacidade de 15mL. Todos os procedimentos foram realizados em capela de fluxo laminar de acordo com as indicações contidas em Martins et al., (2011)

Ao final de todo processo, as doses de 10 mL continham 3×10^8 UFC/g da levedura *Saccharomyces cerevisiae* cepa UFMG 905, as mesmas foram mantidas sob refrigeração até o seu fornecimento aos animais. As doses eram produzidas conforme o quantitativo necessário da semana com um acréscimo de 10% de doses para suprir eventuais perdas.

2.4. Procedimentos experimentais

A fim de avaliar o desempenho dos animais, os mesmos foram pesados com auxílio uma fita de pesagem ao início e ao final do experimento para se determinar a variação de peso dos animais (kg).

A quantidade oferecida de alimento concentrado e volumoso foi pesada diariamente, bem como suas sobras, de forma a determinar o consumo diário de alimento (kg/dia). O consumo final de cada alimento foi corrigido de acordo com o teor de matéria seca dos alimentos e foi calculada a ingestão total de matéria seca (kg/dia). Após se conhecer o percentual ingerido de cada alimento na dieta, foi calculada a relação concentrado/volumoso final, após adequação da quantidade de volumoso ingerido pelo próprio animal, pois o mesmo era oferecido *ad libitum*. Posteriormente, foi calculado o percentual de ingestão de matéria seca em função do peso vivo do animal.

O experimento teve duração de 31 dias, sendo 28 dias de adaptação e estabelecimento da flora microbiana e mais três dias para o ensaio de digestibilidade realizado por meio da metodologia da coleta total, com três dias ininterruptos de coleta das fezes. Para efeito de análise do desempenho, considerou-se o período total do experimento. Os animais seguiram as atividades de rotina do Esquadrão de Policiamento Montado.

As temperaturas máximas e mínimas, bem como a umidade relativa foram coletadas diariamente às 9:00 horas utilizando-se termômetros de máxima e mínima e psicrômetro colocados no centro de uma baia na altura correspondente à dos animais.

2.5. Digestibilidade das dietas por meio da coleta total de fezes

Os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes foram estimados através do método de coleta total de fezes. As amostras do alimento concentrado e volumoso foram coletados para análise da composição química realizada no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da UFS, onde avaliou-se os valores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), matéria mineral (MM) e extrato etéreo (EE), seguindo a metodologia descrita em Silva e Queiroz (2012). A fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) de acordo com a metodologia descrita em Van Soest et al. (1991) e estão apresentadas na **Tabela 1**.

Tabela 1 - Composição química dos alimentos concentrado e volumoso ofertados aos animais com base na matéria seca

Nutrientes(%)	Alimentos	
	Concentrado ³	Feno ²
Matéria Seca	90,79	86,63
Matéria Orgânica	78,06	88,15
Matéria Mineral	21,94	11,85
Extrato Etéreo	4,96	1,29
Proteína Bruta	12,26	6,36
Fibra em detergente neutro (FDN)	45,32	71,51
Fibra em detergente ácido (FDA)	14,66	37,80
Hemicelulose ³	30,66	33,70
Carboidratos não estruturais (CNE) ⁴	15,52	8,99

¹ PROEQUI melaçada® (Guabi®); ²Tifton 85 (*Cynodon spp.*); ³Hemicelulose: FDN – FDA; ⁴Carboidratos não estruturais: CNE = [100-(PB+EE+MM+FDN)];

Ao iniciar o período de coleta, aproximadamente 200 gramas de fezes foram coletadas imediatamente após cada a excreção, diretamente do piso baia. A amostra foi coletada sem que houvesse contaminação direta com solo, coletando apenas amostras de fezes que estavam na parte superior do bolo as quais representavam aproximadamente 15% do total das fezes coletadas. A cada 24 horas, todo volume fecal de cada animal foi pesado, inclusive as alíquotas coletadas para análise laboratoriais. As amostras obtidas ao longo de três dias, foram homogeneizadas e congeladas a -10°C para posteriores análises. Posteriormente, estas amostras foram descongeladas e homogeneizadas para compor uma única amostra composta da repetição, com aproximadamente 500 gramas de fezes, conforme proposta descrita em Lanzetta et al. (2009).

Cada amostra composta foi pré-seca em estufa em ventilação forçada a 55°C por 72 horas. Após a pré-secagem as amostras foram moídas em um moinho tipo Willey com peneira de 1mm e acondicionada em recipientes plásticos identificados. As análises seguiram a metodologia para matéria seca (MS), proteína bruta (PB), matéria mineral

(MM), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) descrita em Silva et al. (1981).

Os valores obtidos nas análises laboratoriais foram utilizados para calcular os coeficientes de digestibilidade aparente (CDap) dos nutrientes, de acordo com fórmula descrita abaixo (ANDRIGUETTO et al., 1981):

$$\text{CDap (\%)} = \frac{(\text{Nutriente ingerido} - \text{Nutriente excretado nas fezes}) \times 100}{(\text{Nutriente ingerido})}$$

2.6. Isolamento e caracterizações morfo-tintorial, bioquímica e fisiológica de microrganismos produtores de ácido lático - *Lactobacillus*

As amostras foram acondicionadas e transportadas em tubos de polipropileno (tipo Falcon) selados para evitar trocas gasosas prevenindo a oxidação e mantidas sob congelamento (-20 °C) em meio de preservação (1% Glicerol). À partir de amostras fecais dos animais tratados, realizou-se o plaqueamento das diluições seriadas (-1, -3, -5, -7) em BHI+Dextrose (20 g/L).

Para verificar e confirmar a presença de bactérias lácticas (*Lactobacillus*) utilizou-se o método utilizado de Contagem Direta em Placas. O método consiste em fazer uma diluição seriada das amostras fecais de cada animal tratado e plaquear uma alíquota de cada diluição pelo método de espalhamento em placa. O limite de crescimento microbiológico é de 30 a 300 colônias por placa.

O material coletado foi pesado e recuperado em um tubo contendo solução salina tamponada (5,61 g de NaCl, 1 g de KH₂PO₄, 2 g de Na₂PO₄ e 0,11 g de KCl em 1.000 mL de água destilada). As fezes foram suspensas e homogeneizadas, com auxílio de um bastão de vidro. Em seguida, diluições decimais até 10⁻⁷ foram preparadas com salina tamponada. A partir de diluições adequadas (10⁻⁵ e 10⁻⁷) foi usada uma alíquota de 1,0 mL de cada diluição para semear uma placa de *Petri* contendo ágar MRS, *de Man - Rogosa - Sharpe* (Difco, Darmstadt, Alemanha). Após espalhar o inóculo com alça de *Drigalski*, as placas foram incubadas a 37°C, na câmara aeróbica, durante 24-48 horas, quando foram feitas as contagens (UFC/g de fezes) e o isolamento de acordo com as indicações contidas em Martins et al., (2011).

Para se ter um resultado fidedigno, todos os materiais foram esterilizados antes da execução da técnica. A manipulação foi feita em capelas de fluxo Laminar (Veeco, Campinas-SP), de forma a garantir o estabelecimento de uma zona de esterilidade. É somente nesta zona estéril que os tubos ou recipientes com meios de cultura estéreis e o material a ser inoculado, foram ser abertos ou manipulados, para ser preservada a sua esterilidade. As colônias morfológicamente semelhantes ao crescimento de colônias do gênero *Lactobacillus* sugeriam pertencerem ao gênero *Lactobacillus*.

2.7. Análises Estatísticas

Os resultados obtidos foram analisados por meio da ANOVA ao nível de 5% de probabilidade para as variáveis de desempenho. Os coeficientes de digestibilidade foram analisados a 10% de probabilidade. As diferenças observadas na ANOVA foram avaliadas por meio do teste Dunnet, considerando o tratamento controle o padrão (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA). A relação concentrado:volumoso foi avaliada descritivamente.

3. RESULTADOS

3.1. Desempenho

Os valores referentes ao peso inicial e final, consumos de concentrado, volumoso e do consumo total da dieta em função do peso (PV) encontram-se apresentados na **Tabela 2**.

Tabela 2 – Peso inicial e final do animal, ganho de peso e variação do peso; consumo de concentrado, de volumoso e total da dieta e relação entre concentrado e volumoso em função do peso de acordo com os tratamentos¹

Variáveis	Tratamentos			Valor P ²	CV ³ (%)
	Controle	UFMG905	Comercial		
	Pesos (kg)				
Inicial (kg)	413,000±33,7	427,000±21,5	420,500±22,6	-	6,2
Final (kg)	442,333±33,3	448,333±30,9	437,667±18,9	0,81	6,4
Variação (kg)	5,500±6,15b	18,667±8,96a	14,000±8,00b	0,03	61,3
Ganho de Peso (kg)/dia	0,159±0,17b	0,541±0,24a	0,426±0,24b	0,03	60,4
	Consumo¹ (kg)				
Concentrado	2,177±0,10	2,177±0,10	2,183±0,11	0,99	5,1
Volumoso	5,385±0,80	5,145±1,10	4,296±0,74	0,12	18,2
Total	7,562±0,87	7,322±1,15	6,479±0,78	0,15	13,4
Consumo (%/PV)	1,713±0,18	1,627±0,18	1,482±0,18	0,13	11,6
Rel. Conc:Vol	29,0:71,0	30,4:69,6	34,1:65,9	-	12,6

¹Dados de consumo com base na matéria seca; ²Probabilidade; ³Coefficiente de variação. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste Dunnet a 5%.

Não houve diferença ($P \geq 0,05$) para as variáveis peso final, consumos de concentrado, volumoso e total da dieta. O ganho de peso e a variação do peso foi maior ($P \leq 0,05$) no tratamento UFMG 905 em relação ao controle. A relação concentrado:volumoso observada foi de 29,0:71,0; 30,4:69,6 e 34,1:65,9, respectivamente para os tratamentos controle, UFMG 905 e probiótico comercial.

3.2. Digestibilidade

Os valores de coeficiente de digestibilidade aparente das variáveis MS, MO, EE, PB, FDN e FDA, HEM, CHO'S em função dos tratamentos encontram-se apresentados na **Tabela 3**.

Tabela 3 – Coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes em função dos tratamentos

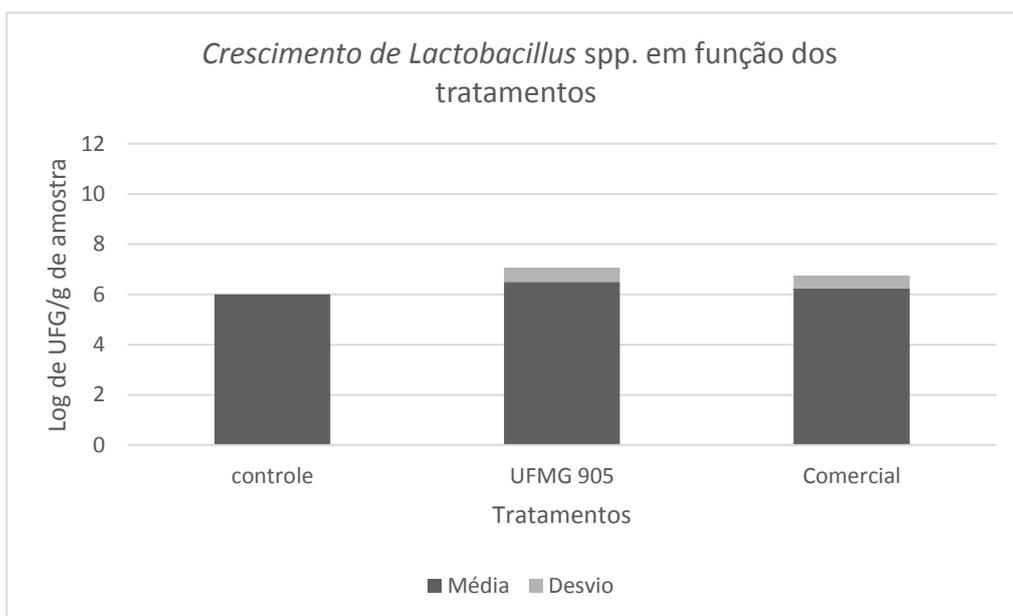
Variáveis (%)	Tratamentos			Valor P ¹	CV ² (%)
	Controle	UFMG905	Comercial		
Coeficientes de digestibilidade aparente (%)					
Matéria Seca	58,962± 1,68b	58,680±2,87b	62,528±3,10a	0,05	4,46
Matéria Orgânica	59,853±2,05	60,395±5,20	64,314±3,25	>0,10	6,21
Extrato Etéreo	64,179±3,50	56,484±6,93	61,676±5,96	>0,10	9,53
Proteína Bruta	74,004±3,60b	77,084±1,90b	78,214±3,47a	0,10	3,98
Fibra em Detergente Neutro	56,620±3,53	60,415±3,70	52,961±3,422	>0,10	6,28
Fibra em Detergente Ácido	35,330±2,877	33,070±3,487	36,336±1,607	>0,10	7,91
Hemicelulose	81,206±7,471a	84,080±4,106a	73,375±2,436b	0,01	6,17
Carboidratos Não Estruturais	65,754±1,997	60,696±5,799	64,238±2,975	>0,10	6,36

¹Probabilidade; ²Coeficiente de variação. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste Dunnet a 10%.

Não houve diferenças ($P \geq 0,05$) para as variáveis: matéria orgânica, extrato etéreo, fibra em detergente neutro e ácido e carboidratos não estruturais. Entretanto, houve aumento no coeficiente de digestibilidade da matéria seca ($P=0,05$) e da proteína bruta do tratamento comercial ($P=0,10$) em relação ao controle. O coeficiente de digestibilidade da hemicelulose foi menor no tratamento comercial ($P=0,01$) em relação ao controle. Não houve diferenças ($P > 0,10$) entre o tratamento controle e UFMG 905.

3.3. Microbiologia

Houve crescimento padrão para os *Lactobacillus* spp. testados. O crescimento dos microrganismos do gênero *Lactobacillus* spp. nos tratamentos comercial e UFMG 905 foram semelhantes entre si; entretanto, estes tiveram aumento na potência de 6 para 7 UFC/g de fezes com base no logaritmo de base 10 quando comparado ao tratamento controle (figura 2).



4. DISCUSSÃO

4.1. Desempenho

O peso final dos animais não variou entre os tratamentos. Estes resultados já eram esperados, visto que os equinos utilizados neste experimento eram animais adultos e com o peso já estabelecido para a sua categoria. Associa-se a isto, o fato de que os animais, em todos os tratamentos apresentaram o mesmo consumo de concentrado e volumoso proporcional ao seu peso. Similar a este experimento, Morgan et al., (2007), trabalhando com suplementação de 56g por animal por dia de *Saccharomyces cerevisiae* para equinos com média de 6,8 anos, em manutenção não observaram alteração nos pesos dos animais que receberam a dieta com suplementação.

Embora o peso final dos animais não ter sido influenciado pelos tratamentos, a suplementação com a levedura UFMG 905 proporcionou aos equinos aumento de peso (+18,667kg) e, conseqüentemente, maior ganho de peso (0,541kg/dia) quando comparados aos tratamento controle.

Como os consumos de concentrado, volumoso e de matéria seca total foram similares entre tratamentos, os dados sugerem que houve maior eficiência na absorção de nutrientes; visto que o ganho de peso do tratamento UFMG 905 foi aproximadamente 340% maior em relação ao controle e, possível alteração na composição corporal dos animais, visto que os coeficientes de digestibilidade foram similares entre os tratamentos. Outro fato a ser considerado é alteração na relação concentrado:volumoso, necessitando de menor proporção de concentrado para atender as demandas nutricionais. Atrela-se a isso o fato de que as leveduras têm tendências a melhorar a digestibilidade de nutrientes (MOURA et al., 2009; FURTADO et al., 2010), conseqüentemente, há maior quantidade de nutrientes circulantes para serem absorvidos e assim, alterar a composição corporal.

Os valores de consumo total de matéria seca não apresentaram diferenças entre os tratamentos. Justifica-se o fato de que o consumo de concentrado, volumoso e o consumo em função do peso, bem como a relação concentrado:volumoso se manteve constante entre os tratamentos.

Estes dados corroboram aos obtidos por Garcia et al., (2014) que, ao utilizarem 20 gramas de *Saccharomyces cerevisiae* (mínimo de $1,0 \times 10^9$ UFC/g) nas dietas para éguas adultas submetidas a treinamento aeróbio, não observaram diferenças no consumo de

matéria seca. Morgan et al., (2007) suplementaram 56 gramas de *Saccharomyces cerevisiae* por dia/animal a fim de avaliar volumosos de diferentes qualidades, e também não observaram alteração no consumo de matéria seca nos equinos avaliados.

Não houve diferença nas proporções de concentrado e volumoso na dieta total entre os tratamentos. Contudo, esta relação foi alterada no tratamento que continha o probiótico comercial, sendo de 34,05:65,95. Estas diferenças se devem ao maior coeficiente de digestibilidade da matéria seca e da proteína bruta neste tratamento, e, por este motivo, os animais tenderam a reduzir a ingestão de alimentos volumosos a fim de atender suas exigências nutricionais, visto que o alimento concentrado era similar entre os tratamentos.

Observou-se que mesmo esta proporção ter sido calculada para ser de 30:70 (concentrado: volumoso); houve regulação do consumo de nutrientes em função do maior coeficiente de digestibilidade de matéria seca e da proteína bruta com a suplementação do probiótico comercial. O uso do probiótico melhorou as ações da microbiota intestinal, ou seja, maior degradação da fibra alimentar, possível produção de AGVs e vitaminas e, conseqüentemente elevando o aproveitamento desses nutrientes pelo animal e; reequilibrando o consumo de alimentos, visto que a dieta foi calculada para atender as exigências nutricionais dos equinos. Atrela-se a isto o aumento numérico de leveduras, proporcionando ao animal, maior equilíbrio da flora intestinal e o predispondo as melhores condições de saúde.

De acordo com pesquisadores, o organismo dos animais ajustou a quantidade de alimentos que ingerem objetivando atender as exigências nutricionais dos mesmos (FURTADO et al., 2010; NRC, 2007). O equilíbrio da flora intestinal reduz a possibilidade de ocorrência de distúrbios, em especial de cólica (CRAWFORD et al., 2007; AL JASSIM e ANDREWS, 2009).

4.2. Digestibilidade

Nesse experimento, os coeficientes de digestibilidade da matéria orgânica, extrato etéreo, fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido e carboidratos não estruturais entre tratamento controle e o UFMG 905 foram semelhantes. Como o consumo total de matéria seca, bem como de outros nutrientes foram similares; possivelmente o efeito da *Saccharomyces cerevisiae* foi reduzido devido à concentração da cepa no organismo dos animais. De acordo com Jouany et al., (2009), a concentração

de $4,5 \times 10^8$ ufc/g é considerada estável para cavalos. Os trabalhos recentes demonstraram resultados positivos com concentrações maiores que a testada (AGAZZI et al., 2011; TARAN et al., 2011).

Associa-se a isto, o fato de que os consumos de concentrado e volumoso não diferiram entre tratamentos. Estes valores são similares aos obtidos por Garcia et al., (2014), que não observaram diferença nos coeficientes de digestibilidade de fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido, hemicelulose, matéria seca, proteína bruta e energia bruta com a suplementação de 20 gramas da *Saccharomyces cerevisiae* para animais em treinamento aeróbico. Costa (2015) também não observou efeito significativo nos coeficientes de digestibilidade da matéria seca, proteína bruta, fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido e matéria orgânica na suplementação de 15 gramas por dia contendo $1,5 \times 10^{10}$ UFC/g de leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, para animais em treinamento de baixa intensidade.

Os resultados em experimentos que utilizaram a adição da levedura *Saccharomyces cerevisiae* na dieta de equinos são divergentes (GARCIA et al., 2014; COSTA et al., 2015; FURTADO et al., 2010; AGAZZI et al., 2011). Há exemplos que a suplementação pode otimizar o processo de digestibilidade de alimentos em uma ou mais variáveis analisadas (NRC, 2007). Segundo Furtado et al., (2010) essa melhora, ou melhor aproveitamento dos nutrientes, está atrelado à alguns fatores como idade dos animais, concentrações das leveduras no probiótico ofertado, composição da dieta e outros.

Embora o desempenho dos equinos que consumiram o probiótico comercial não tenha sido alterado, foi observada maior digestibilidade da matéria seca, sem interferência no consumo em função do peso e maior coeficiente de digestibilidade da proteína bruta. Assim, pode-se inferir que o probiótico melhorou os coeficientes de digestibilidade de nutrientes, levando a alteração na relação concentrado:volumoso do tratamento controle versus o comercial (29,0:71,0 vs 34,1:65,9), relacionado à redução no consumo de volumoso proposto no início do experimento. Este resultado pode estar associado ao produto utilizado, o qual foi composto por uma série de microorganismos, que em associação, melhoraram os coeficientes de digestibilidade de nutrientes, mantendo o equilíbrio microbiano no organismo dos cavalos que o consumiu. Estes dados pode ser reforçados pelo aumento número das cepas de *Lactobacillus spp.* na potência 10^6 para 10^7 UFC/g de fezes quando comparados com o tratamento controle.

O coeficiente de digestibilidade da hemicelulose foi reduzido no tratamento comercial, devido à menor quantidade desta na dieta dos animais. Este resultado foi observado devido ao menor consumo proporcional de volumoso (forragem) em relação ao tratamento controle (29,0:71,0 vs 34,1:65,9) e ratificado ao analisar a composição do feno (33,70% de hemicelulose) em relação a do concentrado (30,66% de hemicelulose). Por este motivo, observou-se redução do coeficiente de digestibilidade da hemicelulose.

De acordo com Jullian et al. (2006) e o NRC (2007), o sucesso do probióticos depende também da cepa do microrganismo utilizado nos aditivos, interferindo nos coeficientes de digestibilidade. O poder de atuação dos probióticos, muitas vezes é aumentado pela associação de cepas benéficas que atuam de maneiras diferentes e levando benefícios aos animais. Neste trabalho, os tratamentos atuaram de forma diferente quanto ao nutriente em que promoveu melhora na digestibilidade. O probiótico comercial melhorou os coeficientes de digestibilidade de proteína bruta e da matéria seca.

Os resultados obtidos são divergentes aos valores encontrados por Agazzi et al., (2011) os quais observaram aumento dos coeficientes de digestibilidade para nutrientes como: matéria seca, matéria orgânica, fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido, com a adição à dieta de 25g/animal/refeição de concentrado, *Saccharomyces cerevisiae* ($4,6 \times 10^{10}$ UFC/g) sendo a relação concentrado:volumoso de 30:70, podendo ser justificados pela vezes da oferta da levedura durante o dia feita aos cavalos, mantendo níveis constantes no trato digestivo dos animais.

Já os experimentos desenvolvidos por Taran et al., (2011) e Furtado et al., (2010), demonstraram que os coeficientes de digestibilidade de proteína bruta foram maiores nos equinos que receberam 56g de *Saccharomyces cerevisiae*. Estes resultados reforçam a atuação dos microrganismos sobre a proteína dietética, visto que o coeficiente foi maior no tratamento comercial.

Furtado et al. (2010) descreveu que o aumento na digestibilidade da proteína com a suplementação *Saccharomyces cerevisiae*, cepa 1026, na dose de 15 g/animal/dia, desse probiótico favorece da ação microbiana no ambiente intestinal, melhorando o processamento de componentes nitrogenados na digestão. De acordo com Medina et al. (2002) com a suplementação de probióticos com leveduras há um incremento na redução dos níveis de amônia cecal, favorecendo o equilíbrio da microbiota intestinal.

Em trabalhos que usaram outras cepas da *Saccharomyces cerevisiae* mostraram que em ambientes com excesso de açúcar ocorreu uma redução da fermentação e

aumento da pressão osmótica aumentando a chance de lise de células devido ao desequilíbrio osmótico disponibilizando mais glicose, por consequente fermentando e resultando em etanol que é tóxico para a levedura (BISSON & BUTZKE, 2000; MALACRINO et al., 2005).

Já no tratamento comercial por conter outros microrganismos em sua composição, pode ter ocorrido uma ação simbiótica que favoreceu o aproveitamento dos nutrientes de forma equilibrada, possibilitando o aumento no coeficiente de nutrientes da dieta.

Em trabalhos realizados por Costa (2015), com suplementação de 15 gramas de *Saccharomyces cerevisiae* por dia/animal e Garcia et al. (2014) com suplementação de 20g/dia/animal não foram observadas diferenças para este parâmetro, assim como os trabalhos realizados por Taran et al. (2011), que utilizaram tratamentos contendo 10g/20g/30g das mesmas leveduras. Estes valores são superiores ao proposto nesta pesquisa, em que se utilizou 3×10^8 UFC/g da levedura *Saccharomyces cerevisiae* cepa UFMG 905, indicando que, embora a levedura em questão possa exercer efeito sobre o desempenho e digestibilidade de nutrientes, mais pesquisas devem ser realizadas a fim de verificar o nível ideal de inclusão do probiótico à dieta.

Os coeficientes de digestibilidade em trabalhos encontrados na literatura demonstram valores bastante divergentes entre si ao avaliar a suplementação de *Saccharomyces cerevisiae* na dieta de equinos. Esta variação pode ser atribuída ao delineamento dos experimentos quanto a escolha dos animais (idade), concentração da levedura e formulação da dieta (quantidade, proporção concentrado:volumoso, tipos de ingredientes utilizados).

Os resultados observados permitem inferir que a suplementação de probióticos contendo *Saccharomyces cerevisiae* na dieta de equinos com idade próxima a 16 anos melhorou o coeficiente da digestibilidade da matéria seca e da proteína bruta, fato importante para o melhor aproveitamento de nutrientes pelos equinos, bem como melhor nutrição dos animais, em especial para a categoria avaliada.

4.3 Microbiologia

Neste trabalho, observou-se aumento na população de *Lactobacillus* spp. na potência 10^6 para 10^7 UFC/g de fezes entre os tratamentos controle versus o UFMG 905 e probiótico comercial. Estes dados reforçam que o fornecimento de leveduras como as

Saccharomyces cerevisiae melhora o equilíbrio da flora intestinal, reduzindo alterações nesta população de microrganismos.

Os resultados encontrados corroboram com os resultados de Furtado et al, (2010) que houve o crescimento na população de *Lactobacillus spp.* em animais que receberam o probiótico (*Saccharomyces cerevisiae*), de $3,5 \times 10^6$ UFC para $8,2 \times 10^6$ UFC por grama de fezes. Em trabalho realizado por Jouany et al., (2009), utilizando 10g de *Saccharomyces cerevisiae* resultou no aumento das concentrações de *Lactobacillus spp.* com valores de 6,8 para 7,2 UFC/mL em log 10.

Estes resultados são importantes para demonstrar o equilíbrio na flora intestinal, bem como o aumento na população de *Lactobacillus spp.* no organismos dos equinos senescentes. Isto evidencia menor possibilidade de ocorrências de distúrbios digestivos, tal como a cólica. Como, com o avançar da idade, estes animais apresentam alterações em sua fisiologia, os predispondo a maior fragilidade a doenças, o uso dos probióticos comerciais e UFMG 905, possivelmente assegura melhores condições de saúde a estes animais.

5. CONCLUSÃO

A cepa UFMG 905 pode ser utilizada como probiótico para equinos senescentes por melhorar o desempenho dos animais, já o probiótico comercial aumentou os coeficiente de digestibilidade de matéria seca e da proteína bruta e refletiu em alterações nas proporções de alimentos consumidos, indicando que a formulação da dieta para animais que consomem probióticos, deve ser revista.

Houve um aumento na população das bactérias do gênero *Lactobacillus* com o uso dos dois probióticos.

O uso da *Saccharomyces cerevisiae* pura ou probióticos comerciais na alimentação de equinos senescentes apresentou resultados satisfatórios, proporcionando melhor equilíbrio da flora intestinal, refletindo de maneira positiva sobre o desempenho e digestibilidade de nutrientes da dieta.

A associação de diferentes microorganismos probióticos demonstrou melhores benefícios para os equinos quando comparado ao probiótico contendo apenas uma cepa.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGAZZI, A. FERRONI, M. FANELLI, A. Evaluation of the effects of live yeast supplementation on apparent digestibility of High-Fiber diet in mature horse using the acid insoluble ash marker modified method. **Journal of Equine Veterinary Science**, New York, v. 31, n. 1, p. 13-18, 2011.
- AL JASSIM, R.A.M., ANDREWS, F. The bacterial community of the horse gastrointestinal tract and its relation to fermentative acidosis, laminitis, colic, and stomach ulcers. **Veterinary clinics of North America: Equine Pract**, v. 25, p.199-215, 2009.
- ANDRIGUETTO, J. M. **Nutrição Animal**. vol.1, 6.ed. São Paulo: Nobel, 1981. 395p.
- ARGO, C. McG. Nutritional Management of older horse. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v.32, n.2, p. 343-354, 2016.
- BISSON, L F.; BUTZKE, C. E. Diagnosis and rectification of stuck and sluggish fermentations. **American jornal of enology and viticulture**, v. 51, n. 2, p. 168-177, 2000.
- COSTA, R. L., **Efeito de treinamento físico e inclusão de levedura viva na dieta sobre a digestibilidade dos nutrientes, parâmetros fisiológicos, de saúde digestiva e condicionamento físico de cavalos Puro Sangue Árabe**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2015.
- CRAWFORD, C., SEPULVEDA, M. F., ELLIOTT, J., HARRIS, P. A., BAILEY, S. R. Dietary fructan carbohydrate increases amine production in the equine large intestine: Implications for pasture-associated laminitis. **Journal Animal Science** v.85, p. 2949–2958, 2007.
- DALY, K.; PROUDMAN, C. J.; DUNCAN, S. H.; FLINT, H. J.; DYER, J.; SHIRAZI-BEECHEY, S. P. Alterations in microbiota and fermentation products in equine large intestine in response to dietary variation and intestinal disease. **The Britihs Journal of Nutrition**, v. 107, n. 1, p. 989–995, 2012.
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations, **World Health Organization**. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Córdoba, 2006. 34 p. Disponível em <<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/meeting/009/y6398e.pdf>>. Acesso em: 22/09/2015.
- FURTADO, C. E., BARBOZA, E. D., BRANDI, R. A., RIBEIRO, L. B., OLIVEIRA, A. A. M. A. Uso de levedura em equinos alimentados com dietas compostas de fenos de diferentes qualidades nutricionais. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 39. p. 2194-2199, 2010.
- GARCIA, T. R., REZENDE, A. S. C., SANTIAGO, TERRA, J. M., R. A., FONSECA, M. G., COSTA, M. L. L., LANA, A. M. Q., ALMEIDA, F. Q., Digestibilidade e consumo dos nutrientes em éguas Mangalarga Marchador suplementadas com

Saccharomyces cerevisiae durante treinamento aeróbico. **Semina: Ciências Agrárias**, 35(4), 2011-2018, 2014.

IBGE, **INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA** - Banco de dados agregados, Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp?t=2&z=t&o=24&u1=1&u3=1&u4=1&u5=1&u6=1&u7=1&u2=1>, 2014. Acesso em: 21/05/2015.

JULLIAND, V. Pre- and probiotics: potentials for equine practice. In: EUROPEAN EQUINE NUTRITION AND HEALTH CONGRESS, Merelbeke. **Proceedings...** p. 17-18, Merelbeke: Ghent University, 2006.

LANZETTA, V. A. S.; REZENDE, A. S. C.; SALIBA, E. O. S.; LANA, A. M. Q.; RODRIGUEZ, N. M.; MOSS, P. C. B., Validação do LIPE como método para determinar a digestibilidade dos nutrientes em equinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, n. 1, p. 69-74, 2009.

MALACRINO, P., TOSI, E., CARAMIA, G., PRISCO, R., & ZAPPAROLI, G. The vinification of partially dried grapes: a comparative fermentation study of *Saccharomyces cerevisiae* strains under high sugar stress. **Letters in applied microbiology**, v. 40, n. 6, p. 466-472, 2005.

MARTINS, F. S., ELIAN, S. D., VIEIRA, A. T., TIAGO, F. C., MARTINS, A. K., SILVA, F. C., BONJARDIM, C. A.. Oral treatment with *Saccharomyces cerevisiae* strain UFMG 905 modulates immune responses and interferes with signal pathways involved in the activation of inflammation in a murine model of typhoid fever. **International Journal of Medical Microbiology**, 301(4), 359-364, 2011.

MCINTOSH, B., Feeding and Nutrition for the Senior Horse, **Tennessee e-QUINE Report**, V. 2, Issue 4, 2012, Disponível em: <https://ag.tennessee.edu/AnimalScience/UTHorse/Nutrition/Volume2Issue4April2012.pdf>>Acesso em 10 de junho de 2017

MEDINA, B.; GIRARD, I. D.; JACOTOT, E.; JULLIAND, V. Effect of a preparation of *Saccharomyces cerevisiae* on microbial profiles and fermentation patterns in the large intestine of horses fed a high fiber or a high starch diet. **Journal of Animal Science**. v. 80, p. 2600-2609, 2002.

MORGAN, L. M.; COVERDALE, J. A.; FROETSCHER, M. A.; YOON, I. Effect of yeast culture supplementation on digestibility of varying forage quality in mature horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, New York, v. 27, n. 6, p. 260-265, 2007.

MOURA, R.S.; SALIBA, E.O.S.; ALMEIDA, F.Q., LANA, Â. M. Q., SILVA, V. P., REZENDE, A. S. C. D., Feed efficiency in Mangalarga Marchador foals fed diet supplemented with probiotics or phytase. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 6, p. 1045-1050, 2009.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of horses**. 6.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 2007.

RAUB R., Nutrition for the Older Horse, **Purina Mills**, Disponível em: <[http://www.heartlandcooperativeservices.com/Feed/Equine/Equine Nutrition for Older horses.pdf](http://www.heartlandcooperativeservices.com/Feed/Equine/Equine%20Nutrition%20for%20Older%20horses.pdf)>, acessado em 10/05/2017.

REZENDE, A. S. C.; TRIGO, P.; LANA, A. M. Q.; SANTIAGO, J. M.; SILVA, P.; CASTEJON, F. M., Yeast as a feed additive for training horses. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 36, n. 3, p. 354-362, 2012.

SADET-BOURGETEAU, S.; JULLIAND, V., Equine microbial gastro-intestinal health. The Impact of Nutrition on the Health and Welfare of Horses, **EAAP Publications**, v. 128, p. 161-82, 2010.

SILVA, D.J., QUEIROZ, A.C., **Análise de alimentos (Métodos químicos e biológicos)**. 3ª edição, Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 15-82p. 1981.

SILVA, R. H. P., **A influência das verminoses no aproveitamento dos nutrientes da dieta por equinos Mangalarga Marchador criados em condições extensivas**, Dissertação (mestrado), UFMG, 2015.

TARAN, F. M. P.; GONZAGA, I. V. F.; FRANÇOSO, R.; CENTINI, T. N.; GANDRA, J. R.; MOREIRA, C.G.; GOBESSO, A. A. O. Avaliação do efeito da inclusão de *Saccharomyces cerevisiae* sobre a digestibilidade aparente total em dieta para equinos. In: XXII Reunión Latinoamericana de Producción Animal,, Montevideo. **Anais...** Montevideo, 2011.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583-3597, 1991.

CAPÍTULO II

METODOLOGIAS PARA DETERMINAÇÃO DOS COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE EM DIETAS PARA EQUINOS

RESUMO

OLIVEIRA, Clístenes Gomes de. **Metodologias para determinação dos coeficientes de digestibilidade em dietas para equinos**. Cap. 2, Sergipe: UFS, 2017. P.10 (Dissertação – Mestrado em Zootecnia)

RESUMO: O objetivo foi avaliar três métodos de coleta de fezes utilizados para estimar os coeficientes de digestibilidade de nutrientes para equinos. Foram utilizados 6 equinos machos castrados, sem raça definida, com peso médio $442,333 \pm 33,3$ kg e idade média em anos de $17,5 \pm 1,42$. Os animais foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, dentro de três tratamentos e seis repetições, considerando o animal a unidade experimental. Os tratamentos foram três métodos de coleta de fezes para estimar os coeficientes de digestibilidade de nutrientes. Os três métodos de coleta foram: método de coleta total (CT), considerado o controle, método da Liginina purificada e enriquecida (LIPE®) com 5 dias de coleta de fezes (LIPE 5) e o método da LIPE® com 3 dias de coleta de fezes (LIPE 3). A dieta padrão foi composta por concentrado comercial e feno Tifton 85 (*Cynodon* spp) na proporção de 30:70, respectivamente. Foram calculados os coeficientes de digestibilidade da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e fibra em detergente neutro (FDN) por meio da fórmula: $CDap (\%) = ((\text{Nutriente ingerido} - \text{Nutriente excretado nas fezes}) / \text{Nutriente ingerido}) \times 100$. O teor do indicador LIPE® nas fezes foi obtido por meio da espectroscopia de infravermelho, estimando-se a produção fecal pela fórmula: $PF (\text{kg}) = (\text{LIPE® fornecido, g} / \text{relação logarítmica das intensidades de absorção das bandas dos comprimentos de onda a } 1050 \text{ cm}^{-1} / 1650 \text{ cm}^{-1}) / \text{matéria seca total}) \times 100$. Os parâmetros avaliados foram submetidos à ANOVA ao nível de 5% de probabilidade. Às diferenças entre os métodos estudados foi avaliada utilizando o teste Dunnett a 5% de significância, considerando o método de coleta total, o padrão. Não houve diferenças ($P \geq 0,05$) entre métodos para os coeficientes de digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica, extrato etéreo, proteína bruta e hemicelulose. Entretanto, o coeficiente de digestibilidade da fibra em detergente neutro e ácido foi maior ($P < 0,01$) nos métodos LIPE (3 e 5 dias de coleta). O coeficiente de digestibilidade dos carboidratos não estruturais foi maior no método LIPE com cinco dias de coleta. O método de coleta total de fezes e os métodos com coleta parcial de fezes durante 3 ou 5 dias com utilização de LIPE® podem ser utilizados para se determinar os coeficientes de digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica, extrato etéreo, proteína bruta e hemicelulose em equinos de forma confiável.

Palavras chave: equinocultura; análise de alimentos; LIPE; coleta total; nutrição de equinos

ABSTRACT

OLIVEIRA, Clístenes Gomes de. **Evaluation of methodologies for determination of digestibility coefficients in diets for horses**. Cap. 2, Sergipe: UFS, 2017. P.10 (Dissertation - Master in Animal Science)

ABSTRACT: The objective was to evaluate three methods of fecal collection used to estimate the nutrient digestibility coefficients for horses. Six male mongrel castrated horses were used, with a mean weight of $442,333 \pm 33.3$ kg and mean age in $17,5 \pm 1,42$ years. The animals were distributed in a completely randomized design, within three treatments and six replicates, considering the animal the experimental unit. The treatments were three methods of fecal collection to estimate the coefficients of nutrient digestibility. The three methods of collection were tested: total collection (CT), control, purified and enriched LIPE® method with 5 days of fecal collection (LIPE 5) and the 3-day LIPE® method of stool collection (LIPE 3). The standard diet was composed of commercial concentrate and Tifton 85 hay (*Cynodon spp*) in the proportion of 30:70, respectively. The dry matter (DM), organic matter (OM), crude protein (CP), ethereal extract (EE) and neutral detergent fiber (NDF) digestibility coefficients were calculated using the formula: $CDap (\%) = ((\text{Nutrient ingested} - \text{Nutrient excreted in the feces}) / \text{Ingested nutrient}) \times 100$. The content of the LIPE® indicator in the feces was obtained by means of infrared spectroscopy, and the fecal production was estimated by the formula: $PF (\text{kg}) = (\text{LIPE}^\circledast \text{ supplied, g} / \log \text{ ratio of wavelength bands at } 1050 \text{ cm}^{-1} / 1650 \text{ cm}^{-1}) / \text{total dry matter}) \times 100$. The evaluated parameters were submitted to ANOVA at the 5% probability level. The differences between the methods studied were evaluated using the Dunnett test at 5% significance, considering the total collection method, the standard. There were no differences ($P \geq 0.05$) between methods for dry matter digestibility coefficients, organic matter, ethereal extract, crude protein and hemicellulose. However, the digestibility coefficient of neutral and acid detergent fiber was higher ($P < 0.01$) in the LIPE methods (3 and 5 days of collection). The coefficient of digestibility of non-structural carbohydrates was higher in the LIPE method with five days of collection. The total fecal collection method and the methods with partial fecal collection for 3 or 5 days using LIPE® can be used to determine the digestibility coefficients of dry matter, organic matter, ethereal extract, crude protein and hemicellulose in reliably.

Key words : echinoculture; food analysis; LIPE; total collection; nutrition of horses

1. INTRODUÇÃO

Na equinocultura, assim como em outras atividades pecuárias, a alimentação representa um dos principais pontos críticos da criação animal por representar grande parte dos custos da produção. Os animais ao receberem uma alimentação correta e específica de acordo com a sua categoria e em conjunto com um manejo adequado, apresentarão melhor desenvolvimento e reprodução, melhores resultados no trabalho e, como consequência, aumento de sua longevidade, sendo esse um dos principais objetivos a ser obtido na equinocultura (SILVA et al., 2009).

A busca por fontes alternativas de alimentos a baixo custo no setor da indústria, demanda estudos para verificar a presença de fatores antinutricionais, para determinação da composição nutricional e estimar os coeficientes de digestibilidade, assegurando a sua utilização e eficiência, bem como tornar a dieta mais econômica (SILVA et al., 2009). Para que isso se torne possível, é necessário utilizar metodologias adequadas para se determinar com confiabilidade e precisão a quantidade de nutrientes disponíveis no alimento em questão.

O método de coleta total de fezes têm sido utilizado para estimar os coeficientes de digestibilidade dos nutrientes da dieta por ser um método direto que consiste em rigoroso controle da quantidade de alimento ingerido e de fezes produzidas pelo animal, sendo muito aplicado para animais de confinamento (SALIBA, 2005). Associado a este método, pode-se utilizar também indicadores na dieta, com o objetivo de se determinar com maior segurança o período inicial e final da coleta de fezes, prática essencial para obter resultados confiáveis (MOSS et al., 2012). A principal função destes indicadores é demonstrar a quantidade de alimentos ou nutriente consumido, mensurar a taxa de passagem dos alimentos, bem como possibilitar estimar a digestibilidade total ou parcial de um determinado alimento (ARAÚJO et al., 2000).

Os indicadores internos podem ser do tipo interno, as quais são substâncias indigestíveis pertencentes à composição de algum componente dos alimentos ofertados; ou indicadores externo, que são substâncias inseridas na composição da dieta ou aplicação oral, conforme informações contidas em Saliba (2005).

Nos últimos anos o indicador LIPE® (lignina purificada de eucalipto) vem sendo utilizado para auxiliar na determinação dos coeficientes de digestibilidade de nutrientes em equinos. A fim de comparar a LIPE® contra o óxido crômico, indicador muito utilizado em pesquisas com não ruminantes, os resultados demonstraram não

haver diferenças entre os indicadores (LAZENTTA, et al.,2009), possibilitando assim, seu uso na determinação de coeficientes de digestibilidade para equinos.

O uso da LIPE® ainda permite reduzir o tempo de adaptação dos animais para um período de 48 horas e de 3 a 5 dias o período para realização das coletas (SALIBA, 2005), obtendo resultados confiáveis, menor manipulação das fezes e otimização do tempo, pois a coleta é realizada uma vez ao dia. Neste método, a amostra não é destruída após a análise para sua dosagem na espectroscopia no infravermelho (SALIBA, 2005), o que permite manter a interinidade da amostra para análises posteriores, se necessário.

O uso da LIPE® em cinco dias de coleta de amostras de fezes em outras espécies foi testada por meio da técnicas *in vivo*, com o objetivo estimar produção fecal, consumo e digestibilidade em comparação com a coleta total de fezes e os autores não encontraram diferenças significativas entre os métodos de coleta (SALIBA, 2005; VASCONCELLOS et al. 2007; LAZENTTA, et al.,2009; DE MORAES et al. 2010; MOSS et al., 2012; GARCIA et al. 2014). Contudo, as pesquisas desenvolvidas utilizaram o indicador por cinco dias de coleta de fezes, sendo portanto, possível avaliar a coleta de fezes por um período de três dias, fato que pode viabilizar redução dos custos.

Outros trabalhos vêm sendo executados com o objetivo de testar o desempenho de indicadores nutrição animal a fim de baratear os custos e obterem resultados confiáveis (LAZENTTA, et al.,2009; MOSS et al.,2012). A precisão dos indicadores e os valores determinados, pode influenciar na escolha das metodologias e, conseqüentemente, mudar as estimativas de produção fecal, consumo e digestibilidade (MOSS et al., 2012). Por isso, torna-se essencial avaliar os indicadores para se determinar de maneira confiável os coeficientes de digestibilidade, em especial a LIPE®.

2. MATERIAS E MÉTODOS

Este projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEPAP) da UFS, conforme protocolo nº01/2017.

2.1. Animais, delineamento e procedimentos experimentais

O experimento foi realizado no Esquadrão da Polícia Montada do Estado de Sergipe (EPMON), a 84 metros de altitude, longitude de 37.0532282 e latitude de 10.880819, na cidade de Aracaju/SE.

As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal e Laboratório de Não Ruminantes do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Sergipe (UFS).

Os animais foram alojados no Esquadrão da Polícia Militar de Sergipe e mantidos em baias de alvenaria com dimensões de 4x4 metros (totalizando uma área de 16m²). Nas baias haviam dois comedouros para o fornecimento dos alimentos concentrado e volumoso e um bebedouro.

Todos os animais foram alimentados com o alimento volumoso à vontade (feno de Tifton 85-*Cynodon spp.*). Foi fornecido 2,175g/dia da ração comercial (Proequi Melaçada®, Guabi,), a qual atendeu às exigências nutricionais para a categoria de acordo com as recomendações contidas no NRC (2007) para animais adultos em manutenção. O consumo de água e sal mineral (Centouro 80®, Guabi,) foi à vontade.

O feno de Tifton 85-*Cynodon spp* continha 86,63% de matéria seca, 88,15% de matéria orgânica, 11,85% de matéria mineral, 1,29% de extrato etéreo, 6,36% de proteína bruta, 71,51% de fibra em deter neutro, 37,8% de fibra em detergente ácido, 33,7% de hemicelulose e 8,99% de carboidratos não estruturais. O alimento concentrado foi fornecido em função do peso dos animais.

Para estimar os coeficientes de digestibilidade, os equinos foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, dentro de três métodos de coleta realizados simultâneos e seis repetições, considerando o animal a unidade experimental. Os tratamentos consistiram em três métodos de coleta de fezes simultâneos; sendo: Tratamento ou método 1 (Controle) – Coleta total de fezes, com três dias de coleta total de fezes;

Tratamento ou método 2 – LIPE 3, sendo cinco dias de fornecimento da LIPE® na dose de 500 mg/animal/dia: duas capsulas 48h antes do início da coleta e mais três dias consecutivos de coleta parcial das fezes; e

Tratamento ou método 3 – LIPE 5, sendo sete dias de fornecimento da LIPE® na dose de 500 mg/animal/dia: duas capsulas 48h antes do início da coleta e mais cinco dias consecutivos de coleta parcial das fezes.

As instalações, animais e procedimentos para este experimento foram similares aos utilizados e já descritos do capítulo I desta dissertação, assim como a metodologia utilizada determinar os coeficientes de digestibilidade.

2.2. Determinação dos coeficientes da digestibilidade utilizando LIPE

Para se determinar os coeficientes de digestibilidade, foi utilizado o método da coleta total de fezes, LIPE® com o período padrão de cinco dias (LIPE 5) e período de três dias de coleta (LIPE 3).

O indicador externo LIPE® foi ofertado 48 horas antes do início das coletas, em forma de capsulas garantindo a ingestão total do indicador, junto com uma alíquota de 200g do concentrado ofertado na refeição, sendo 30 minutos antes da refeição da tarde, na dose de 500 mg/animal/dia, de acordo com as informações contidas em Lanzetta et al., (2009). Para o método do indicador LIPE®, com cinco dias de coleta de fezes, os animais passaram pelo período de adaptação de 48 horas e consumiram o indicador por mais cinco dias totalizando sete dias de administração do indicador, conforme metodologia descrita por Lanzetta et al., (2009). Contudo, para o método em que se utilizou três dias de coleta de fezes, os animais passaram pelo período de adaptação, mas consumiram o indicador apenas por mais três dias, totalizando cinco dias de administração do indicador, adaptando técnica desenvolvida por Lanzetta et al., (2009).

Ao iniciar o período de coleta de fezes, aproximadamente 200 gramas das mesmas foram coletadas imediatamente após cada excreção, diretamente do piso baia. A amostra foi coletada sem que houvesse contaminação direta com solo, coletando apenas amostras de fezes que estavam na parte superior do bolo. A coleta foi realizada durante todo o período determinado em função da metodologia de coleta, para posteriores análises laboratoriais.

Após a administração da LIPE®; as amostras foram coletadas durante três dias ou cinco dias consecutivos e classificadas como LIPE 3 (3 dias de coleta de fezes) ou como

LIPE 5 (5 dias de coleta de fezes). Posteriormente foram homogeneizadas, e congeladas a -10°C para análises. Posteriormente, estas amostras foram descongeladas e homogeneizadas para compor a amostra da repetição, com aproximadamente 500 gramas de fezes (LANZETTA et al.,2009).

Cada amostra foi pré-seca em estufa em ventilação forçada a 55°C por 72 horas. Após a pré-secagem foram moídas em um moinho tipo Willey com peneira de 1mm e acondicionada em recipientes plásticos identificados. As análises seguiram a metodologia para matéria seca (MS), proteína bruta (PB), matéria mineral (MM), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) descrita em Silva et al., (1981).

Os valores obtidos nas análises laboratoriais foram utilizados para calcular os coeficientes de digestibilidade aparente (CDap) dos nutrientes, de acordo com fórmula descrita abaixo (ANDRIGUETTO et al., 1981):

$$\text{CDap (\%)} = \frac{(\text{Nutriente ingerido} - \text{Nutriente excretado nas fezes})}{\text{Nutriente ingerido}} \times 100$$

O teor de LIPE® obtido nas fezes, foi estimando para determinação da produção fecal por meio de espectroscopia de infravermelho de acordo, com descrito por Garcia et al., (2014):

$$\text{PF (kg)} = \frac{\text{LIPE® fornecido (g)} \times 100}{(\text{Ai} / \text{MS}_{\text{total}})}$$

Onde: PF = Produção fecal; Ai = Relação logarítmica das intensidades de absorção das bandas dos comprimentos de onda a 1050 cm⁻¹ / 1650 cm⁻¹; MS total = matéria seca fecal total;

O Ai será obtido através da fórmula: Ai = A1050 / A1650; Sendo que: A = log I0 / I
Onde: I0 > intensidade e I < intensidade.

Foram feitos ainda os cálculos da taxa de recuperação fecal do indicador utilizando-se a fórmula, descrita a seguir (LANZETTA et al.,2009):

$$\text{Taxa de recuperação (\%)} = \frac{\text{PF obs. pela C T}}{\text{PF est. pelo ind.}} \times 100$$

PF est. pelo ind. = produção fecal estimada utilizando-se o indicador (LIPE®).

PF obs. pela CT = produção fecal obtida pelo método da coleta total de fezes.

2.3. Análises Estatísticas

Os resultados obtidos foram analisados por meio da ANOVA ao nível de 5% de probabilidade para as variáveis Métodos de coleta de fezes. As diferenças observadas na ANOVA foram avaliadas por meio do teste Dunnet, considerando o tratamento controle (método de coleta total de fezes) o padrão (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA).

3. RESULTADOS

Não houve diferença ($P>0,05$) entre os métodos de coleta quanto aos coeficientes de digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica, extrato etéreo, proteína bruta e hemicelulose. Entretanto o coeficiente de digestibilidade aparente da fibra em detergente neutro e ácido foram maiores ($P<0,01$) para os métodos LIPE 3 e 5. O método LIPE 5 estimou maior coeficiente de digestibilidade para o carboidrato não estrutural quando comparado ao método controle.

Tabela 1. Efeito do método de coleta sobre os coeficientes de digestibilidade de dietas para equinos

Variáveis(%)	Tratamentos			P	
	Método			Método	CV ¹ (%)
	Coleta total	LIPE®(5)	LIPE®(3)		
Matéria Seca ²	60,12±3,11	60,71±9,40	59,93±6,21	0,94	10,8
Matéria Orgânica ³	61,62±4,13	61,95±8,98	61,58±5,43	0,98	10,3
Extrato Etéreo ⁴	60,58±6,32	65,70±12,52	62,77±15,55	0,49	19,5
Proteína Bruta ⁵	76,58±3,36	76,39±7,42	77,34±5,80	0,89	7,7
Fibra em Detergente Neutro ⁶	56,62±3,53a	66,80±2,82b	68,81±3,96b	<0,01	5,41
Fibra em Detergente Ácido ⁷	35,33±2,87a	49,81±7,21b	44,54±2,48b	<0,01	10,89
Hemicelulose ⁸	81,20±7,47	87,17± 1,08	87,76±3,27	0,09	5,56
Carboidratos Não Estruturais ⁹	65,75± 1,99a	73,27±1,64b	65,27±3,74a	<0,01	3,86

¹CV=Coefficiente de variação; ² Matéria seca; ³MO =Matéria Orgânica; ⁴ EE=Extrato etéreo;

⁵PB=Proteína Bruta; ⁶FDN=Fibra em detergente neutro; ⁷FDA=Fibra em detergente ácido; ⁸HEM=Hemicelulose; ⁹CNE=Carboidratos não estruturais

4. DISCUSSÃO

Não foram observadas diferenças ($P>0,05$) entre os métodos de coleta total, LIPE (3 dias) e LIPE (5 dias) para estimar a digestibilidade dos nutrientes, com exceção do FDN e FDA, que apresentaram valores maiores nos métodos LIPE (3 e 5 dias). Enquanto que o método LIPE (5 dias) possibilitou estimar maior coeficiente de digestibilidade para os carboidratos não estruturais.

Estes resultados demonstraram que o método utilizando a LIPE pode ser utilizado de maneira segura e eficaz para se determinar os coeficientes de digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica, extrato etéreo, proteína bruta e hemicelulose. Ressalta-se ainda, que não houve diferenças no consumo de ração entre tratamentos.

A literatura consultada faz menção de coleta de fezes em cinco dias para o LIPE®, mas este trabalho demonstrou que a opção do uso do indicador com coleta de 3 dias também pode ser usado para determinar a digestibilidade de nutrientes, como também a taxa média de recuperação fecal do LIPE (5 dias) com 93,75% e LIPE (3 dias) com 94,52%.

Autores trabalharam com potras alimentadas com feno de alfafa e concentrado comercial na proporção de 50:50 e constataram que a taxa média de recuperação fecal do LIPE® (5 dias) foi de 95,94%, sendo esta taxa semelhante ($P>0,05$) à coleta total de fezes e para a digestibilidade da matéria seca, proteína bruta, fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido, hemicelulose e carboidratos não estruturais (LANZETTA et al., 2009).

Segundo Pereira et al. (2014), em trabalho com equinos adultos alimentados com cana de açúcar *in natura* ou hidrolisada, o uso do LIPE® (cinco dias) para determinação da digestibilidade foi semelhante ao método da coleta total de fezes. Garcia et al. (2014), em trabalho realizado com éguas atletas suplementadas com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* em treinamento, não encontrou diferença em nenhuma das variáveis de digestibilidade analisadas, entre os métodos de coleta total e LIPE® (cinco dias).

Em pesquisas realizadas com outras espécies, há resultados que também validam o método LIPE®, a exemplo da pesquisa realizada por Vasconcellos et al. (2007),

utilizando o LIPE® (cinco dias) como indicador externo na determinação da energia metabolizável de alimentos em frangos de corte.

De Moraes et al. (2010), em pesquisa com caprinos alimentados com subprodutos de urucum, avaliando os métodos de estimativa coleta total, LIPE® (cinco dias) e óxido crômico demonstrou que não houve diferença estatística para produção fecal e digestibilidades aparentes.

Observa-se ainda que o método LIPE (3 e 5 dias de coleta) superestimaram os coeficientes de digestibilidade da fibra em detergente neutro e ácido. E o método LIPE (5) superestimou o coeficiente de digestibilidade dos carboidratos não estruturais.

Esta diferença observada para a análise das fibras levanta a hipótese de que os métodos LIPE e coleta total de fezes podem estimar valores diferentes para estas variáveis. Como no método da coleta total, o controle do quantitativo do fornecimento da dieta, bem como da quantidade de fezes coletadas é essencial, qualquer descuido pode levar a variações nos resultados obtidos. Por este motivo, mais pesquisas devem ser realizadas a fim de averiguar se estes resultados se mantêm.

Deste modo, o comportamento da técnica utilizando 3 e 5 dias de coleta de fezes para o método da LIPE® se demonstraram semelhantes, com exceção ao coeficiente de digestibilidade dos carboidratos não estruturais; permitindo desta forma, o seu uso.

5. CONCLUSÃO

O método de coleta total de fezes e os métodos com coleta parcial de fezes durante 3 ou 5 dias com utilização de LIPE® podem ser utilizados para se determinar os coeficientes de digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica, extrato etéreo, proteína bruta e hemicelulose em equinos de forma confiável.

Nesta pesquisa, o método LIPE, tanto com 3 quanto com 5 dias de coleta de fezes superestimaram os coeficientes de digestibilidade da fibra em detergente neutro e ácido. O método LIPE com cinco dias de coleta de fezes superestimou o coeficiente de digestibilidade dos carboidratos não estruturais.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRIGUETTO, J. M. **Nutrição Animal**. vol.1, 6.ed. São Paulo: Nobel, 395p. 1981.

ARAÚJO, K. V., LIMA, J. A. F., FIALHO, E. T., MIYAGI, E S., Comparação entre os indicadores internos e o método de coleta total na determinação da digestibilidade dos nutrientes de alimentos volumosos, em equinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n. 3, p. 745-751, 2000.

BERCHIELLI, T. T., DE OLIVEIRA, S. G., DE VEGA GARCIA, A. Considerações sobre os principais indicadores utilizados em estudos de nutrição com ruminantes. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 8, n. 2, p. 205-211, 2005.

DE MORAES, S. A, SALIBA, E., NEIVA, J., SALLA, L., BORGES, I., & de OLIVEIRA, R. G. Validação do LIPE® como indicador externo de estimativa da produção fecal e digestibilidade em caprinos alimentados com subproduto de urucum. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 47, 2010, Salvador. Empreendedorismo e progresso científico na zootecnia brasileira: **Anais**. Salvador, 2010.

GARCIA, T. R., REZENDE, A. S. C., SANTIAGO, TERRA, J. M., R. A., FONSECA, M. G., COSTA, M. L. L., LANA, A. M. Q., ALMEIDA, F. Q., Digestibilidade e consumo dos nutrientes em éguas Mangalarga Marchador suplementadas com *Saccharomyces cerevisiae* durante treinamento aeróbico. **Seminário: Ciências Agrárias**, v. 35n.4, p. 2011-2018, 2014.

LANZETTA, V. A. S.; REZENDE, A. S. C.; SALIBA, E. O. S.; LANA, A. M. Q.; RODRIGUEZ, N. M.; MOSS, P. C. B., Validação do LIPE como método para determinar a digestibilidade dos nutrientes em equinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 1, p. 69-74, 2009.

MOSS, P. C. B., **Digestibilidade aparente da dieta em equinos estimada através de coleta total e do uso de indicadores**. 58 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Escola de Veterinária. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2012.

PEREIRA, R. V. G. **Cana-de-açúcar in natura ou hidrolisada com óxido de cálcio para equinos adultos estabulados**. Tese de Doutorado. Escola De Veterinária – UFMG. Belo Horizonte – Minas Gerais, 2014.

SALIBA, E.O.S. Palestra – Uso de indicadores: Passado, presente e futuro. In: TELECONFERÊNCIA SOBRE INDICADORES EM NUTRIÇÃO ANIMAL, 1, 2005, Belo Horizonte. Escola de Veterinária / UFMG, p. 04-22, 2005.

SILVA, D.J., QUEIROZ, A.C., **Análise de alimentos (Métodos químicos e biológicos)**. 3ª edição, Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 15-82p. 1981.

SILVA, V. P., ALMEIDA, F. Q., MORGADO, E. S., FRANÇA, A. B., VENTURA, H. T., & RODRIGUES, L. M., Digestibilidade dos nutrientes de alimentos volumosos determinada pela técnica dos sacos móveis em equinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 1, p. 82-89, 2009.

VASCONCELLOS, C. H., VELOSO, J. A., SALIBA, E. O., BAIÃO, N. C., & LARA, L. J. Uso da LIPE® como indicador externo na determinação da energia metabolizável de alimentos em frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 2, p. 459-465, 2007.

7. CONCLUSÕES GERAIS

O uso da *Saccharomyces cerevisiae* pura ou associada a outros microorganismos na alimentação de equinos senescentes apresentou resultados satisfatórios, refletindo positivamente na digestibilidade de nutrientes da dieta e na população das bactérias do gênero *Lactobacillus*.

Mais estudos são necessários no sentido de definir concentrações, frequência de oferta do probiótico contendo a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, cepa UFMG 905 e seus efeitos em equinos.

O método de coleta total de fezes e os métodos com coleta parcial de fezes durante 3 ou 5 dias com utilização de LIPE® podem ser utilizados para se determinar os coeficientes de digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica, extrato etéreo, proteína bruta e hemicelulose em equinos de forma confiável.