

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

USO DE CULTURA DE LEVEDURA (*Saccharomyces cerevisiae*) COMO PROBIÓTICO NA ALIMENTAÇÃO DE EQUINOS RECEBENDO DIETAS COMPOSTAS POR VOLUMOSOS DE DIFERENTES QUALIDADES NUTRICIONAIS

Autor: Eder Dias Barboza

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Furtado

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Curso de Mestrado em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de concentração Produção Animal.

MARINGÁ
Estado do Paraná
setembro – 2007

DEDICO

Aos meus pais, Oswaldo e Lourdes, minha fortaleza diante dos desafios sempre presentes em minha vida.

À minha tia, pelo carinho e ajuda nos momentos difíceis.

Aos meus irmãos, Igor e Suellen, pela amizade e amor.

À Shayla, companheira inseparável...

AGRADECIMENTOS

À DEUS, pela vida.

Ao meu pai Oswaldo e minha mãe Lourdes, por uma vida de esforços e plena confiança.

Ao Prof. Dr. Carlos Eduardo Furtado, pela valiosa orientação, ensinamentos, estímulo e grande amizade.

À Universidade Estadual de Maringá e ao Departamento de Zootecnia, pela oportunidade de realização deste Curso.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UEM, pela amizade e ensinamentos transmitidos durante todo o Curso.

Aos funcionários da Fazenda Experimental de Iguatemi, especialmente ao Sr. Nelson, pelo auxílio e dedicação aos experimentos durante a fase de campo.

Aos funcionários do Laboratório de Nutrição Animal, Dilma F. Botter e Cleuza Volpato, pela ajuda nas análises e também pela amizade.

A todos os colegas do Curso de Mestrado, pelo companheirismo, apoio e amizade.

Aos funcionários do PPZ, Waldyrene R. Baquette e Denílson S. Vicentin, por estarem sempre prontos a nos ajudar.

Aos meus amigos de república Guido Peternelli, Cleyton Sperini e Luis Eduardo Gracia, pela amizade e bons momentos juntos.

À minha linda, Thammy Pupulin Sotto Maior, pelo companheirismo, carinho e paciência.

A todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA DO AUTOR

EDER DIAS BARBOZA, filho de Oswaldo Dias Barboza e Maria de Lourdes Fernandes, nasceu em São José do Rio Preto, São Paulo, no dia 20 de março de 1981.

Em março de 2005, concluiu o curso de Zootecnia pela Universidade Estadual de Maringá.

Em março de 2005, iniciou o Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de nutrição de eqüinos.

No dia 03 de setembro de 2007, submeteu-se à banca para defesa da Dissertação.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
I – INTRODUÇÃO.....	12
1.1 - Introdução Geral.....	12
1.2 - Eficiência dos Eqüinos na Utilização de Alimentos Volumosos.....	14
1.3 - <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	15
1.4 - Utilização de Probióticos (leveduras) na Alimentação de Eqüinos... 16	16
1.4.1 - Efeito da cultura de levedura na digestibilidade dos nutrientes da dieta.....	16
1.4.2 - Efeito da cultura de levedura na população microbiana e no pH do ceco e cólon de eqüinos.....	19
1.4.3 - Efeito do Uso de Probióticos na Alimentação de Eqüinos Considerando Outros Parâmetros de Avaliação.....	20
1.4.3.1 - Composição e produção de leite.....	20
1.4.3.2 - Desempenho dos animais.....	21
1.4.3.3 - Reprodução.....	22
Literatura Citada.....	23
II - OBJETIVOS GERAIS.....	26
III - Efeito da Utilização de Levedura (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) na Digestibilidade Aparente dos Nutrientes de Dietas para Eqüinos Compostas por Volumosos de Diferentes Valores Nutricionais.....	27

Resumo.....	27
Abstract.....	28
Introdução.....	29
Material e Métodos.....	30
Resultados e Discussão.....	33
Conclusões.....	38
Literatura Citada.....	39
IV - Efeito do Uso de Cultura de Levedura (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) na	
Microbiologia e no pH das fezes de Equinos Alimentados com Volumosos de	
Diferentes Valores Nutricionais.....	41
Resumo.....	41
Abstract.....	42
Introdução.....	43
Material e Métodos.....	44
Resultados e Discussão.....	47
Conclusões.....	52
Literatura Citada.....	53

LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1. Composição percentual e química do concentrado utilizado nas dietas experimentais.....	31
TABELA 2. Composição química dos fenos de Alfafa e de Tifton 85 utilizados nas dietas experimentais (%MS).....	31
TABELA 3. Concentrações de leveduras rotuladas e analisadas no probiótico.....	31
TABELA 4. Coeficientes da digestibilidade aparente da matéria seca (CDMS), proteína bruta (CDPB), fibra em detergente neutro (CDFDN), fibra em detergente ácido (CDFDA) e extrato etéreo (CDEE) das dietas com diferentes valores nutricionais de feno, com ou sem probiótico.....	34
TABELA 5. Composição percentual e química do concentrado.....	45
TABELA 6. Composição química dos fenos de Alfafa e Tifton 85 utilizados nas dietas.....	45
TABELA 7. Concentrações de leveduras rotuladas e analisadas no probiótico.....	46
TABELA 8. Número total de unidades formadoras de colônias de <i>Lactobacillus</i> e <i>Streptococcus</i> nas fezes de equinos, recebendo dietas com diferentes qualidades de feno, sem ou com adição de cultura de levedura.....	48
TABELA 9. Valores do pH das fezes em três horários diferentes e média do pH entre os tratamentos.....	49

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Valores do pH fecal dos tratamentos com diferentes qualidades de feno, recebendo ou não suplementação com cultura de levedura.....	49
Figura 2. Valores do pH fecal dos tratamentos em diferentes horários com diferentes qualidades de feno, recebendo ou não suplementação com cultura de levedura.....	50

RESUMO

Foram utilizados quatro equinos machos adultos, sem raça definida, com peso vivo de 400 kg, em delineamento em quadrado latino (4 x 4). Os tratamentos foram compostos de concentrado e volumoso de baixa qualidade (feno de Tifton 85), sem e com probiótico (tratamentos TSP e TCP, respectivamente), e concentrado e volumoso de boa qualidade (feno de Alfafa), sem e com probiótico (tratamentos ASP e ACP, respectivamente). A cultura de levedura utilizada foi desenvolvida a partir de cepas de *Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026. O período experimental teve duração de 36 dias e foram utilizadas metodologias de coleta total de fezes para determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente das dietas, e coleta de fezes direto do reto, para determinação do pH e microbiologia das fezes. Os valores dos coeficientes de digestibilidade aparente foram: Matéria Seca: 50,95; 54,83; 61,12 e 66,21%; Proteína Bruta: 67,22; 73,20; 69,74 e 75,76%; Fibra em Detergente Neutro: 40,10; 39,51; 42,84 e 46,42%; Fibra em Detergente Ácido: 32,52; 32,09; 34,97 e 42,01%; Extrato Etéreo: 54,88; 66,85; 57,80 e 68,15%, respectivamente, para os tratamentos TSP, TCP, ASP e ACP. O número total de unidades formadoras de colônias por grama de fezes foi de $3,5 \times 10^6$; $8,2 \times 10^6$; $4,53 \times 10^6$ e $5,9 \times 10^6$ UFC/g para os *Lactobacillus* e de $5,7 \times 10^6$; $9,2 \times 10^6$; $7,85 \times 10^6$ e $1,86 \times 10^7$ para os *Streptococcus*, nos tratamentos TSP, TCP, ASP e ACP, respectivamente. A utilização de probiótico não alterou significativamente ($P > 0,05$) os coeficientes de digestibilidade aparente entre os mesmos fenos, com exceção do CDEE entre os tratamentos TSP e TCP. Entretanto, a quantidade de UFC/g dos microorganismos *Lactobacillus* e *Streptococcus* apresentaram aumentos significativos quando a cultura de levedura foi usada e paralelamente promoveu um aumento e estabilização do pH. Apesar de a inclusão de cultura de levedura em dietas para equinos não ter alterado significativamente alguns valores de coeficiente de digestibilidade aparente das dietas, houve melhoria na utilização dos nutrientes das dietas com probiótico compostas por feno de baixa qualidade. O aumento significativo das colônias de *Lactobacillus* e *Streptococcus* nas fezes dos animais, e também o aumento e estabilização do pH fecal, indicam que o uso de probiótico contribuiu efetivamente para melhoria da atividade microbiana do trato digestório dos equinos.

Palavras-chave: cavalos, digestibilidade, microbiologia, pH, probiótico

ABSTRACT

Were used four adult male equines, without defined race, with body weight of 400 kg, in latin square (4x4). The treatments were composites of concentrate and low quality hay (Tifton 85 hay), without and with probiotic (treatments TSP and TCP, respectively), and concentrate and high quality hay (Alfalfa hay), without and with probiotic (treatments ASP and ACP, respectively). The yeast culture used was *Saccharomyces cerevisiae*¹⁰²⁶. The experimental period lasted 36 days and it was used methodologies of total feces collection, for determination of the apparent digestibility coefficients and feces collection direct from the rectum, for determination of pH and microbiology. The values of apparent digestibility coefficients were: Dry Matter: 50.95; 54.83; 61.12 and 66.21%; Crude protein: 67.22; 73.20; 69.74 and 75.76%; Neutral Detergent Fiber: 40.10; 39.51; 42.84 and 46.42%; Acid Detergent Fiber: 32.52; 32.09; 34.97 and 42.01%; Ether extract: 54.88; 66.85; 57.80 and 68.15%, respectively, for the treatments TSP, TCP, ASP and ACP. The total number of colony-forming unit per gram of feces (CFU/g) was $3,5 \times 10^6$; $8,2 \times 10^6$; $4,53 \times 10^6$ and $5,9 \times 10^6$ CFU/g for *Lactobacillus*, and $5,7 \times 10^6$; $9,2 \times 10^6$; $7,85 \times 10^6$ e $1,86 \times 10^7$ for *Streptococcus*, respectively, for the treatments TSP, TCP, ASP and ACP. The probiotic use did not modify significantly ($P > 0,05$) the apparent digestibility coefficients between same hays, except to CDEE between treatments TSP and TCP. With relation to the treatments with hays of different nutritional qualities, it had significant effect ($P < 0,05$) for CDMS, CDPB and CDEE, between treatments TSP and ACP. However, the number of UFC/g of *Lactobacillus* and *Streptococcus* microorganisms was increase when yeast culture was used, and parallel promoted an increase and stabilization of pH. The significant increase of *Lactobacillus* and *Streptococcus* colonies in animals feces, and also the increase and stabilization of fecal pH, indicate that the probiotic use contribute effectively for improvement of microbial activity in the equine digestive tract.

Key words: equine, digestibility, microbiology, pH, probiotic

I - INTRODUÇÃO

1.1 - Introdução Geral

Nos últimos anos a Eqüideocultura brasileira tem se apresentado como um mercado consumidor interno em expansão, em especial para as raças de trabalho/esporte (dentre outras, a raça Quarto de Milha, a Mangalarga, a Crioulo e a Brasileiro de Hipismo). O Brasil também tem se firmado no cenário internacional como país exportador de cavalos, principalmente para outros países do continente americanos, tanto de hipismo (adestramento, salto e CCE) quanto de corrida, e de várias raças específicas como o Puro Sangue Árabe, o Puro Sangue Inglês, o Puro Sangue Lusitano, entre outras.

No Brasil, o rebanho de eqüinos é de, aproximadamente, 6.500.000 cabeças, sendo deste total, um milhão são cavalos registrados nas diversas associações de criadores, demonstrando, desta forma, um nicho para o mercado consumidor de rações. Portanto, são necessários estudos que proporcionem aos criadores opções de novos alimentos para compor as rações desta espécie, bem como baratear o custo da alimentação.

Os cavalos são capazes de utilizar grandes quantidades de volumoso para atender as suas exigências nutricionais, entretanto, para maximizar o crescimento e a produtividade dos eqüinos, são usadas dietas com altas porcentagens de grãos e de suplementos. Porém, a utilização de concentrado na alimentação de eqüinos é um dos fatores que mais onera o custo de produção (OLIVEIRA et al. 2003). CARVALHO & HADDAD (1987) citam que em um país com solos de alto potencial de produção de alimentos no verão, não se justifica a adoção de sistemas de produção de outros países, com o uso excessivo de grãos na alimentação e sim maior aproveitamento de forragens na alimentação para os eqüinos.

Desta forma, a busca de fontes ou ingredientes alternativos para compor rações para esta espécie, no sentido de diminuir os custos de alimentação, torna-se uma

alternativa promissora na criação de cavalos. Além disso, o uso de aditivos na ração para eqüinos também pode contribuir para um melhor aproveitamento dos nutrientes digestíveis.

Dentre os aditivos utilizados na ração animal, destacam-se os probióticos. O conceito de probiótico tem mudado através do tempo. Para FULLER (1989) e KAUR et al. (2002), os probióticos são suplementos alimentares compostos de microrganismos vivos que beneficiam a saúde do hospedeiro através do equilíbrio da microbiota intestinal. SALMINEN et al. (1999) os definem como preparados de microrganismos, ou de seus componentes, que tem um efeito benéfico sobre a saúde e o bem estar do hospedeiro. SCHREZENMEIR & DE VRESE (2001) consideraram que o termo probiótico deveria ser usado para designar preparações ou produtos que contenham microrganismos viáveis definidos e, em quantidade adequada que alteram a microbiota própria das mucosas por colonização de um sistema do hospedeiro, produzindo efeitos benéficos em sua saúde.

Independentemente do conceito utilizado, os probióticos trazem benefícios à saúde do hospedeiro, não deixam resíduos nos produtos de origem animal e não favorecem resistência às drogas (NEPOMUCENO & ANDREATTI, 2000). Os probióticos são empregados ainda para prevenir ou tratar diversas disfunções gastrintestinais, tais como a intolerância à lactose, constipação, hipersensibilidade alimentar e gastroenterite. Os probióticos vêm sendo utilizados há anos na alimentação humana, tanto com finalidade profilática como terapêutica.

Segundo SANTOS (1998), os probióticos vêm sendo utilizados como promotores de crescimento em substituição aos antibióticos. O probiótico contém microrganismos e substâncias que propiciam o balanceamento microbiano intestinal adequado e contribuem de forma efetiva para a melhoria na absorção dos nutrientes pelo organismo animal.

Um mecanismo extremamente importante de ação dos probióticos é produzir enzimas, as quais facilitam a digestão dos nutrientes. Com a utilização dos probióticos, há melhoria na absorção dos alimentos e na taxa de crescimento devido a absorção de ácidos graxos, assim como a transformação de compostos razoavelmente solúveis em compostos facilmente solúveis (SANTOS, 1998). De acordo com JORGENSEN (1989), os probióticos proporcionam melhor decomposição do alimento, o que conseqüentemente melhora a digestão no trato gastrointestinal.

Segundo FRAPE (1998), para eqüinos em crescimento, o uso de probióticos estimula o crescimento da flora intestinal, melhora a digestibilidade da fibra bruta e da proteína bruta, assim como reduz a perda endógena fecal de nitrogênio, favorecendo o aumento na retenção deste nutriente. Favorece também o aumento na concentração plasmática de arginina, de glutamina, de glicina, de isoleucina, de leucina, de metionina e de valina, e diminuição na de amônia, de hidroxiprolina e de histidina.

Nos EUA existe grande divulgação de produtos comerciais à base de culturas de levedura, produzidas por empresas de biotecnologia, como aditivos para melhorar a digestibilidade dos alimentos nas mais diversas espécies, tais como, eqüinos, aves, suínos e bovinos (RIBEIRO, 1998). As leveduras, por não colonizarem os animais e sim exercerem suas ações durante a passagem pelo trato, se enquadram como uma das melhores alternativas para o criador.

1.2 – Eficiência dos Eqüinos na Utilização de Alimentos Volumosos

O aparelho digestivo dos eqüinos caracteriza-se por apresentar um estômago relativamente pequeno e um intestino grosso bem desenvolvido, com ceco e cólon funcionais (HINTZ et al.,1973; WOLTER, 1977 e MARTIN-ROSSET, 1990).

MEYER (1995) divide a digestão nos eqüinos, sob o ponto de vista fisiológico, em: região pré-cecal, incluindo o estômago e o intestino delgado, com predomínio de digestão enzimática, e região pós-ileal, incluindo o intestino grosso, com digestão microbiana. Segundo MEYER (1995), o intestino grosso (IG) ocupa aproximadamente 65% do trato gastrointestinal. O tempo de retenção da digesta é mais prolongado, de 50 a 60 horas, tempo suficiente para a ação da digestão microbiana. Os constituintes da dieta que escapam à digestão pré-cecal são oportunamente fermentados por microorganismos do IG. A intensidade dos processos de fermentação depende da quantidade dos constituintes da dieta que chegam ao IG e do tempo de permanência no mesmo. Portanto, os eqüinos têm capacidade de aproveitamento da fração fibrosa da dieta por apresentarem uma flora microbiana no ceco e no cólon, capaz de digerir a fibra de maneira semelhante ao que ocorre nos ruminantes. VANDER NOOT et al. (1967), ao compararem os coeficientes de digestibilidade aparente total entre eqüinos e bovinos, não encontraram diferenças significativas nos valores para proteína bruta (PB) e extrativo não nitrogenado (ENN), entretanto a digestibilidade da fibra bruta (FB) foi superior para os bovinos.

ROBINSON & SLADE (1974), acrescentam que em alimentos com até 15% de FB a eficiência da digestão da matéria orgânica e da fibra bruta é similar entre eqüinos, ovinos e bovinos e, em alimentos com teores de fibra bruta acima de 15%, a eficiência da digestão da matéria orgânica e da fibra bruta, nos eqüinos, reduz-se a 75% dos valores obtidos com ruminantes.

Com relação à digestibilidade dos alimentos, MEYER (1995) relata que para eqüinos o teor em fibra é o fator de maior importância, sendo que, via de regra, quanto mais alto o teor em fibra em um alimento, menor a sua digestibilidade. Acrescenta ainda que, como a fibra não é uma substância homogênea, quanto maior a lignificação e/ou suberização desta fibra, menor é a digestibilidade. Isto porque estes dois elementos (lignina e suberina) não podem ser degradados pelos microorganismos e eventualmente revestem parcialmente os demais nutrientes de maneira a dificultar o acesso das enzimas próprias do organismo ou das enzimas produzidas pelos microorganismos.

Segundo LEWIS (1995), os microorganismos presentes no ceco e no cólon, degradando a fibra dos alimentos para suas próprias funções, convertem a fibra em ácidos graxos de cadeia curta ou em ácidos graxos voláteis (AGV): acético; propiônico; láctico; isobutírico; butírico; isovalérico e valérico. Estes AGV são absorvidos e fornecem de 30 a 70% das necessidades de energia digestível total nos eqüinos, dependendo da dieta conter maior teor de fibra ou maior teor de carboidratos solúveis ou amido.

1.3 – *Saccharomyces cerevisiae*

Na década de 1980, uma empresa de biotecnologia introduziu no mercado de alimentação animal um aditivo natural (de nome comercial Yea-Sacc1026[®], contendo *Saccharomyces cerevisiae*) metabolicamente ativo. Este produto foi pesquisado extensivamente nos anos de 1980 e de 1990 em ruminantes e em monogástricos (LYONS, 1997). Entretanto a quantidade de pesquisas avaliando o efeito da suplementação de cultura de levedura na dieta de eqüinos é pouco expressiva, em especial em dietas utilizando alimentos de baixo valor nutricional, como os alimentos volumosos (fenos).

A levedura é um microorganismo predominante unicelular e apresenta grau de complexidade intermediário entre as bactérias e os fungos filamentosos. Desta forma, esta única célula tem a capacidade de existência independente, onde todas as reações químicas essenciais à sua vida, à sua reprodução e à transmissão de suas características

hereditárias são executadas harmoniosamente (CRUZ, 1990). A *Saccharomyces cerevisiae* tem a habilidade de crescer em temperaturas altas e em condições adversas, possuindo alto conteúdo protéico. Apresentam tempo de geração muito curto, ou seja, dobram sua massa num intervalo de tempo de uma a três horas. O substrato utilizado na obtenção da *Saccharomyces* é o melaço, a vinhaça e os licores sulfúricos.

Existem diversas características que tornam as culturas de levedura atraentes para o uso como suplementos alimentares. As leveduras são reconhecidas como fontes ricas em vitaminas, em enzimas, em nutrientes e em outros co-fatores importantes que as tornam atraentes como auxiliares da digestão e também fonte básica e barata de nutrientes. As células de levedura mantêm suas atividades metabólicas em condições anaeróbicas e suportam o estresse físico associado à secagem, ao aquecimento e à exposição a pH baixo (DAWSON, 1990). Isso sugere que o uso de levedura adapta-se aos processos industriais de alimentos para animais, bem como pode contribuir para a atividade metabólica no trato gastrintestinal. Desta forma a suplementação de cultura de levedura é usada em larga escala na produção de alimentos para animais.

1.4 - Utilização de Probióticos (leveduras) na Alimentação de Equinos

1.4.1 – Efeito da cultura de levedura na digestibilidade dos nutrientes da dieta

Em trabalho com potros de um ano, GLADE & BIESIK (1986) testaram a adição de uréia e cultura de levedura nas rações com objetivo de verificar alterações na digestibilidade das mesmas. Foram feitos quatro tratamentos diferentes, com milho, ração comercial, levedura e uréia. Os resultados mostraram que a digestibilidade da MS, FDN e FDA não foi afetada com adição de uréia ou de levedura. Aumento bastante significativo foi detectado quanto a digestibilidade da hemicelulose em função da adição de levedura em comparação com o tratamento de milho mais ração sem levedura, e também houve tendência de aumento da digestibilidade da hemicelulose quando comparados os resultados do tratamento que continha uréia e levedura, contra o que continha apenas uréia. Os autores ponderam que o valor biológico não pode ser atribuído apenas à adição de levedura, pois esta participou com apenas 2,5 g do nitrogênio da dieta. Os autores concluem que aumento da absorção no intestino grosso de compostos nitrogenados poderia ter ocorrido apenas por meio do aumento da liberação de amônia microbiana e pela síntese de aminoácidos.

GLADE & SIST (1988) utilizando potros com idade média de um ano, objetivaram verificar a digestibilidade de rações com e sem a suplementação de cultura de levedura. Os animais permaneceram em regime de pasto, recebendo ração concentrada com 12% de PB, duas vezes ao dia. Após a determinação da digestibilidade das rações sem suplementação, os animais passaram a receber em suas dietas quatro gramas de cultura de levedura viva, quando então procederam as novas determinações de digestibilidade. Os autores confirmaram que a cultura de levedura age primariamente aumentando a fermentação da porção fibrosa. Os autores concluíram ainda que o aumento da digestibilidade do nitrogênio ocorreu juntamente com a diminuição na excreção de nitrogênio fecal em função de estímulo na reciclagem do nitrogênio endógeno (que ocorre no trato digestivo posterior), em decorrência do uso de cultura de levedura. DAWSON (1990), relatou que estudos “*in vitro*” realizados com fluido ruminal, sugeriram que a cultura de levedura provavelmente age estimulando a fermentação indiretamente, através da manutenção do pH do trato digestivo que favorece o crescimento e o metabolismo de bactérias hemicelulolíticas e celulolíticas. Nesses estudos ocorreu aumento na densidade de bactérias celulolíticas e mudança na produção de ácido acético sobre o de ácido propiônico.

A influência da suplementação de cultura de levedura na digestão de ração para cavalos foi testado por HALL et al. (1990), utilizando machos castrados de três anos de idade, com propósito de determinar a digestibilidade de dieta basal com 4 níveis diferentes de cultura de levedura, com 0, 10, 20 e 40 gramas por animal por dia. A digestibilidade aparente da MS, da MM, da PB, do EE, da FDN, da FDA, da hemicelulose e da lignina não foram diferentes ($P>0,05$) entre as dietas suplementadas e as não suplementadas. Todos os animais permaneceram em balanço de nitrogênio positivo durante o experimento. Os autores relataram ainda que o aumento na quantidade de cultura de levedura no concentrado da dieta de 0 para 40 gramas por animal por dia, não influenciou ($P>0,05$) a digestibilidade aparente de nenhum dos componentes químicos da ração. Segundo estes autores a falta de diferença significativa entre os tratamentos utilizados sugere que, ou os animais não ingeriram quantidade suficiente de levedura oralmente, ou que a levedura foi digerida e utilizada como fonte de nutriente, ao invés de estimular a fermentação no intestino grosso.

MORGAN et al. (2007), trabalhando com 16 equinos adultos, avaliaram a adição de 56 g de cultura de levedura em dietas compostas por feno de bermuda de alta e baixa qualidade (13,13 e 8,08% de PB, respectivamente) e ração comercial (12,56% de PB)

com relação volumoso:concentrado de 75:25. A digestibilidade da MS não foi influenciada pela adição da cultura de levedura (média de 39,30% e 45,40% para feno de baixa e alta qualidade, respectivamente), entretanto os autores relataram uma tendência de aumento para esse coeficiente. Com relação aos coeficientes de digestibilidade aparente da PB e FDN, os autores observaram aumentos significativos apenas para os tratamentos onde o feno de baixa qualidade foi utilizado (de 47,50 para 53,05% e de 25,10 para 30,40% para PB e FDN, respectivamente). Os autores não observaram diferenças significativas para o coeficiente de digestibilidade aparente da FDA.

HAUSENBLASZ et al. (1993), conduziram um estudo para verificar o efeito da suplementação da cultura de levedura na digestibilidade de nutrientes de cavalos em crescimento. A dieta basal continha feno de capim, aveia e concentrado. Foram adicionados ao concentrado da dieta oito gramas por dia de cultura de levedura (Yea-Sacc¹⁰²⁶). Os autores demonstraram que a digestibilidade da proteína bruta foi a mais influenciada com a suplementação, com aumento de 12% (de 50,37 para 56,55%). A adição de cultura de levedura aumentou substancialmente a digestibilidade da MS, da FB e do ENN (56,29, 47,24 e 63,87%, respectivamente).

MOORE et al. (1994) utilizando pôneis fístulados no ceco e no cólon avaliaram a adição de 10 g de cultura de levedura em dieta à base de 65% de feno de capim e 35% de concentrado. Os autores demonstraram que, além do uso de leveduras, o período de adaptação mais longo também influenciou positivamente a digestibilidade da matéria seca, com tendência de aumento da digestibilidade para a proteína bruta, a FDN e a FDA (63,80, 68,60, 59,34 e 56,13%, respectivamente).?

No Brasil, RIBEIRO (1998), utilizando potros com 22 meses de idade, recebendo dieta composta por 50% de feno de coast-cross e 50% de concentrado, com e sem adição de 30 gramas de cultura de levedura relatou que não houve melhoria na digestibilidade da fração fibrosa do alimento. Por outro lado, houve maior eficiência na digestibilidade da proteína bruta, que segundo o autor pode ter ocorrido em virtude do eventual aumento na atividade microbiana no intestino grosso, favorecendo a digestibilidade de compostos nitrogenados. Neste estudo não houve o aparecimento de distúrbios digestivos como também na aceitabilidade das dietas experimentais.

GUTSELL (1998), utilizando cavalos consumindo dieta a base de feno de alfafa como volumoso (dieta controle), com a adição de 10g de cultura de levedura (Yea Sacc 1026) (dieta teste), não observou efeitos significativos entre os tratamentos (controle x

levedura) quanto a digestibilidade aparente da MS, da MO, da FDN, da FDA e da PB, entretanto, relatou aumento significativo na digestibilidade da hemicelulose da dieta com levedura.

MEDINA et al. (2002) trabalhando com oito cavalos fistulados no ceco e no cólon, alimentados com dietas com alto teor de fibra ou de amido, estudaram o efeito da cultura de levedura (Yea-Sacc¹⁰²⁶) na digestibilidade aparente e na atividade fibrolítica *in vitro* do conteúdo do fluído do intestino grosso. Não foi observado efeito da adição de cultura de levedura na digestibilidade das dietas, entretanto, o aumento significativo na degradabilidade *in vitro* da fibra sugere que a atividade fibrolítica do intestino grosso foi estimulada pela adição de levedura.

É notória a discrepância dos resultados entre os trabalhos encontrados atualmente na literatura, entretanto, deve-se ressaltar que todos os autores citados utilizaram animais de diferentes idades, raças e sexo, diferentes doses de cultura de levedura e diferentes formulações e qualidades de dietas.

1.4.2 - Efeito da cultura de levedura na população microbiana e no pH do ceco e do cólon de eqüinos

Para determinar o efeito da adição de cultura de levedura na digestão, na população microbiana, nas concentrações de AGV e no pH do ceco e cólon, MOORE et al. (1994) utilizaram quatro pôneis com fístulas no ceco e cólon. As dietas consistiram de 65% de feno de capim triturado e 35% de concentrado com ou sem adição de 10 gramas de cultura de levedura. Os autores relataram que, o aumento no número de levedura no ceco e cólon demonstrou a habilidade da levedura em sobreviver à passagem pelo trato digestório, e que a suplementação com cultura de levedura resultou em maior concentração de bactérias celulolíticas e protozoários totais no ceco, maior população de lactato-utilizadores no ceco e diminuição de acetato no cólon.

MOORE & NEWMAN (1993) realizaram experimentos para determinar o efeito da cultura de levedura Yea-Sacc¹⁰²⁶ no pH do intestino grosso de pôneis fistulados. Os animais foram alimentados uma vez por dia com feno de capim e concentrado, com ou sem 20 gramas de cultura de levedura. Os autores demonstraram que a adição de cultura de levedura na dieta auxiliou na manutenção de valores mais altos de pH, alterando, portanto, significativamente os padrões de pH observados.

Uma diminuição do pH, abaixo de 6,5, afeta bactérias celulolíticas e com isso afeta digestão das fibras. A estabilização do pH ajuda também a prevenir cólica e laminite,

por impedir rápida diminuição do pH (MOORE & NEWMAN,1993).

NEWMAN & SPRING (1993) conduziram estudo “*in vitro*” para medir a habilidade de duas variedades diferentes de *Saccharomyces cerevisiae* (NCYC 1026 e ATCC 38618) em alterar a fermentação cecal de equinos. Os autores relataram que a cultura de levedura preparada com a variedade 38618 foi incapaz de alterar a fermentação cecal e que o pH cecal foi maior em culturas recebendo Yea-Sacc¹⁰²⁶. As concentrações de levedura foram significativamente maiores com a adição de Yea-Sacc¹⁰²⁶.

MEDINA et al. (2002) utilizando cavalos alimentados com dietas constituídas por alto teor de fibra ou de concentrado, com ou sem adição de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*), observaram aumento das concentrações de células vivas de levedura no ceco e no cólon ($4,3 \times 10^6$ e $4,5 \times 10^4$ ufc/g, respectivamente) nos animais que receberam suplementação de leveduras. No ceco, a suplementação com leveduras não causou efeito na contagem de bactérias, entretanto, interação significativa entre dieta e leveduras foi observada para a concentração de *Lactobacilli*, com efeito positivo de leveduras no grupo de bactéria específico quando a dieta com alta fibra foi consumida. A dieta com alto concentrado aumentou a concentração de anaeróbias totais, bactérias utilizadoras de ácido lático, *Lactobacilli* e *Streptococci* no ceco. Ao contrário, o número de bactérias celulolíticas no ceco diminuiu com dieta com alto concentrado. No cólon, uma interação significativa entre dieta e suplementação com leveduras foi observada para anaeróbias totais, ou seja, a suplementação diminuiu a concentração deste tipo de bactérias na dieta com alta fibra. Os autores relataram ainda que a concentração de *Streptococci* e *Lactobacilli* foi menor no cólon quando a dieta com alta fibra foi consumida, e que ocorreu diminuição da contagem de *Streptococci* com a suplementação com leveduras para a dieta com alta fibra.

1.4.3 - Efeito do uso de probióticos na alimentação de equinos considerando outros parâmetros de avaliação

1.4.3.1 - Composição e produção de leite

Em trabalho com éguas, GLADE (1991) estudou o efeito da cultura de levedura durante a gestação e a lactação, e na composição e na produção de leite. A cultura de levedura (20 g) foi adicionada na dieta de éguas prenhes seis semanas antes do parto e no período de lactação até o potro atingir oito semanas de idade. As éguas foram

alimentadas com uma dieta composta por feno e concentrado. Concluiu-se que o leite sofreu mudanças que resultaram em aumento da transferência de nutrientes do leite da égua para o potro, em aumento da produção e na composição do leite. O leite de éguas alimentadas com cultura de levedura teve maior quantidade de energia bruta, maiores concentrações de açúcares, de lipídeos totais, de proteína e de aminoácidos.

1.4.3.2 – Desenvolvimento e desempenho

GLADE (1991), afirmou que o peso corporal de potros filhos de éguas alimentadas com cultura de levedura eram significativamente maiores com quatro semanas de idade, e eram em média 8,8 centímetros mais altos à seis semanas de idade. Com oito semanas eram 11 centímetros mais altos que os outros da mesma idade. A eficiência em converter alimento da égua para o peso corporal do potro foi 24% maior para potros filhos de éguas que receberam cultura de levedura em suas dietas. Segundo o autor estes dados fornecem amplas evidências de que alimentando-se éguas em lactação com cultura de levedura se consegue maior fornecimento de nutrientes para os potros, aumentando as taxas de ganho de peso.

Trabalho feito por HAUSENBLASZ et al. (1993) demonstrou que potros alimentados com cultura de levedura tiveram um ótimo desenvolvimento. A dieta basal continha feno de capim, aveia e concentrado, sendo adicionado ao concentrado 8 g/dia de Yea-Sacc¹⁰²⁶. Após 79 dias de experimento os potros alimentados com cultura de levedura foram 7,8 kg mais pesados do que animais do grupo controle (sem adição de levedura), bem como o ganho diário foi de 108,5 g a mais por dia no grupo que recebeu levedura. Os autores concluíram que a adição de cultura de levedura aumentou substancialmente a digestibilidade dos nutrientes, refletindo em maior ganho de peso nos potros alimentados com levedura.

Em cavalos de esporte, LEWIS (1995) relata que experimento com animais da raça Quarto de Milha recebendo cultura de levedura na ração de 1% da dieta total durante 6 semanas, exercitados durante as últimas 3 semanas apresentaram, significativamente, menor concentração de lactato plasmático após o exercício e 15 a 20% de redução no batimento cardíaco, comparativamente aos animais que não receberam cultura de levedura. O estudo indicou ainda que a cultura de levedura pode melhorar a condição física do equino, favorecendo o aumento da concentração de hemoglobina plasmática e o volume de células. Em outro experimento, no qual equinos receberam cultura de levedura adicionada ao concentrado, não houve efeito significativo na concentração do

hematócrito ou de hemoglobina, no batimento cardíaco, na concentração plasmática de glicose ou de lactato antes, durante e após o exercício teste conduzido antes, após 6 semanas e novamente 12 semanas de treinamento. Por outro lado, os animais que receberam cultura de levedura apresentaram concentração superior de triglicerídeos e glicerol, indicando que o probiótico melhorou a utilização da gordura corporal, beneficiando o desempenho atlético dos animais.

1.4.3.3 - Reprodução

GEIST (1995) utilizando 174 éguas, forneceu feno, aveia e grãos. Metade destas éguas receberam suplementação diária de 50 g de mistura de cultura de levedura por dois meses. As éguas restantes não receberam o suplemento, constituindo-se o grupo controle. Das éguas do grupo teste (com suplemento), 78% delas tomaram-se prenhes comparadas com 58% do grupo controle. O autor relatou ainda que a reabsorção fetal foi bastante alta (6,2% em éguas sem potro ao pé e 16,7% em éguas com potro) e que a suplementação não influenciou a diarreia dos potros.

Literatura Citada

- CARVALHO, R.T.; HADDAD, C.M. **Pastagens e alimentação de Equinos**. Piracicaba: FEALQ, 1987. 85p.
- CRUZ, S.N. **Obtenção de Proteína Microbiana para Ração Animal a Partir da Hidrilização de Bagaço de Cana-de-Açúcar**. Piracicaba: ESALQ, 1990, 89p.
- DAWSON, K.A. Designing the Yeast Culture of Tomorrow – Mode of Action of Yeast Culture for Ruminants and Non-ruminants. In: **Biotechnology in the Feed Industry**, v.5, Alltech Technical Publication. Nicholasville, 1990.
- FRAPE, D. **Equine nutrition and feeding**. Estados Unidos: Blackwell Science, 1998. 404p.
- FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, v.66, n.5, p.365-378, 1989.
- GEIST, S. **Investigation on the trace element supply of breeding mares and the influence of a mixture of yeast culture and mineral proteinates on mare fertility**. Bonn, 1995, (Tese) Rheinische-Friedrich Wilhelm-Universitat, Boon, Germany. 127p.
- GLADE, M.J. Dietary yeast culture supplementation of mares during late gestation and early lactation. Effects on milk production, milk composition, weight gain and linear growth of nursing foals. **Journal of Equine Veterinary Science**. v.11, n.2, p.89-95, 1991.
- GLADE, M.J. and SIST, M.D. Dietary yeast culture supplementation enhances urea recycling in the equine large intestine. **Nutrition Reports International**. v.37, n.1, p.11-17, 1988.
- GLADE, M.J. and BIESKI, L.M. Enhanced nitrogen retention in yearling horses supplemented with yeast culture. **Journal of Animal Science**. v.62, p.1635-1640, 1986.
- GUTSELL, S. J. The effect of the addition of a yeast culture (Yea Sacc1026 TM) to the diet given to 2 and 3-year old horses on the apparent digestibilities of certain dietary components. In: 14TH ANNUAL SYMPOSIUM ON BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, Lexington, KY. 1998.
- HALL, R. R.; JACKSON, S. G.; BAKER, J. P. et al. Influence of yeast culture supplementation on ration digestion by horses. **Journal of Equine Veterinary Science**. v.10, n.2, p.130-133, 1990.
- HAUSENBLASZ, J.; SZUCO, J. & MEZES, M. Effect of viable yeast culture. Supplementation on nutrient digestibility and feed utilization of growing cold-blooded horses. In: ANUAL BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY SIMPOSIUM ALLTECH, 9, 1993.
- HINTZ, H.F.; SCRYNER, H.F.; LOWE, J.E. Digestion in the horse. **Feedstuffs**, v.45, n.27, p.25-26, 1973.
- JORGENSEN, M. Probiotics – a survey. An alternative to antibiotics in the feed of furbeaning animals? **Scientifur**, v.12, n.4, p.247-249, 1989.

- KAUR, I.P. et al. Probiotics: potential pharmaceutical applications. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.15, p.1-9, 2002.
- LEWIS, L.D. 1995. **Feeding and care of the horse**. 2.ed. Media: Willians and Wilkins, 446 p.
- LYONS, T.P. 1997. A new era in animal production: the arrival of the scientifically proven natural alternatives. In: *Biotechnology in the Feed Industry (Proceedings of the 13th Annual Symposium*. (T.P. Lyons and K.A. Jacques, eds) Nottingham University Press, Nottingham, UK.
- MARTIN-ROSSET, W. 1990. **L'alimentation des chevaux**. Paris, Institut Nacional de la Recherche Agronomique, 232 p.
- MEDINA, B., GIRARD, I. D., JACOTOT, E. et al. 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.
- MEYER, H. 1995. **Alimentação de Cavalos**. São Paulo : Varela. 302p.
- MOORE, B.E.; NEWMAN, K.E.; SPRING, P. et al. Effect of yeast culture (Yea Sacc1026) on microbial populations and digestion in the cecum and colon of the equine. **Journal of Animal Science**. v.72, p.252 (Abstr.), 1994.
- MOORE, B. E., and NEWMAN, K. E. Influence of feeding yeast culture (Yea-Sacc) on cecum and colon pH of the equine. **Journal of Animal Science**. v.71, p.261 (Abstr.), 1993.
- MORGAN, L.M.; COVERDALE J.A.; FROETSCHER, M.A. et al. 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.
- NEPOMUCENO, E.S.; ANDREATTI, R.L.F. Probióticos e prebióticos na avicultura. In: II SIMPÓSIO DE SANIDADE AVÍCOLA, 2000, Santa Maria, RS. **Anais...** Concórdia, SC: EMBRAPA SUÍNOS E AVES, v.1, p.45-55, 2000.
- NEWMAN, K. E. & SPRING P. A. A comparasion of two different strains of yeast in their ability to alter ruminal and cecal fermentation. **Journal of Animal Science**, v.71, n.1, p. 289, 1993.
- OLIVEIRA, C. A. A.; ALMEIDA, F. Q.; VIEIRA, A. A., et al. Cinética de passagem da digesta, balanço hídrico e de nitrogênio em eqüinos consumindo dietas com diferentes proporções de volumoso e concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.1, p.140-149, 2003.
- OLIVEIRA, A.A.M.A. **Digestão total e pré-cecal dos nutrientes em potros fistulados no íleo**. Viçosa, MG, 1995, 69p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal de Viçosa, 1995.
- RIBEIRO, A. C. A. **Efeitos da Adição de Cultura de Levedura na Digestibilidade de Nutrientes para Eqüinos**. Pirassununga-SP: FZEA-USP, 1998. 38 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – USP, 1998.
- ROBINSON, D. W., SLADE, L. M. The current status of knowledge on the nutrition of equines. **Journal of Animal Science**, v.39, n.6, p.1047-1066, 1974.

- SALMINEN, S. Probiotics: how should they be defined? **Trends in Food Science & Technology**, v.10, p.107-110, 1999.
- SANTOS, C., P. **Utilização de Probióticos na Alimentação de Equinos: Uma Revisão Bibliográfica**. Maringá-PR: UEM, 1998. 40 p. Dissertação (Especialização em Zootecnia) -Universidade Estadual de Maringá, 1998.
- SCHREZENMEIR, J; DE VRESE, M. Probiotics, prebiotics and symbiotics-approaching a definition. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.73, p.361-364, 2001.
- VANDER NOOT, G.W. et al. Rate of passage of various feedstuffs through the digestive tract of horses. **Journal of Animal Science**, v.26, n.6, p.1309-11, 1967.
- WOLTER, R. 1977. **Alimentación del caballo**. Zaragoza: Acribia, 172p.

II – OBJETIVOS GERAIS

O objetivo do presente trabalho foi o de avaliar o uso de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) como probiótico (Yea-Sacc®1026®) para equinos recebendo dietas compostas por volumosos de baixo e de alto valor nutricional, através de ensaio de digestibilidade aparente dos nutrientes das dietas e alterações nos padrões fermentativos das fezes.

III – Efeito da Utilização de Levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) na Digestibilidade Aparente dos Nutrientes de Dietas para Equinos Compostas por Volumosos de Diferentes Valores Nutricionais

RESUMO: Foram utilizados quatro equinos machos adultos, sem raça definida, com peso vivo de aproximadamente 400 kg, em delineamento em quadrado latino (4 x 4). Os tratamentos foram compostos de: concentrado e volumoso de baixa qualidade (feno de Tifton 85, 4,22% de proteína bruta), sem e com probiótico (Tratamentos TSP e TCP, respectivamente), e volumoso de boa qualidade (feno de Alfafa, 15,64% de proteína bruta), sem e com probiótico (Tratamentos ASP e ACP, respectivamente). A cultura de levedura utilizada foi desenvolvida a partir de cepas de *Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026. O período experimental teve duração de 36 dias e foi usada metodologia de coleta total de fezes. Os valores dos coeficientes de digestibilidade aparente foram: Matéria Seca: 50,95; 54,83; 61,12 e 66,21%; Proteína Bruta: 67,22; 73,20; 69,74 e 75,76%; Fibra em Detergente Neutro: 40,10; 39,51; 42,84 e 46,42%; Fibra em Detergente Ácido: 32,52; 32,09; 34,97 e 42,01%; Extrato Etéreo: 54,88; 66,85; 57,80 e 68,15%, respectivamente, para os tratamentos TSP, TCP, ASP e ACP. A utilização de probiótico não alterou significativamente ($P > 0,05$) os coeficientes de digestibilidade aparente entre os mesmos fenos, com exceção do CDEE entre os tratamentos TSP e TCP. Com relação aos tratamentos com fenos de diferentes qualidades nutricionais, houve efeito significativo ($P < 0,05$) para CDMS, CDPB e CDEE, entre os tratamentos TSP e ACP. Conclui-se que a adição de cultura de levedura mostrou-se satisfatória, e pode ser usada como estratégia na alimentação de equinos.

Palavras-chave: cavalos, digestibilidade, probiótico, *Saccharomyces cerevisiae*

III - Effect of the Use of Yeast Culture (*Saccharomyces cerevisiae*) in the Apparent Digestibility Coefficients of Diets Composed for Different Nutritional Values of Hays

ABSTRACT: Four adult male equines were used, without defined race, with body weight of 400 kg, in latin square (4x4). The treatments were composts of concentrate and low quality hay (Tifton 85 hay), without and with probiotic (treatments TSP and TCP, respectively), and high quality hay (Alfalfa hay), without and with probiotic (treatments ASP and ACP, respectively). The yeast culture used was *Saccharomyces cerevisiae*¹⁰²⁶. The experimental period lasted 36 days and it was used methodology of total feces collection. The values of apparent digestibility coefficients were: Dry Matter: 50.95; 54.83; 61.12 and 66.21%; Crude protein: 67.22; 73.20; 69.74 and 75.76%; Neutral Detergent Fiber: 40.10; 39.51; 42.84 and 46.42%; Acid Detergent Fiber: 32.52; 32.09; 34.97 and 42.01%; Ether extract: 54.88; 66.85; 57.80 and 68.15%, respectively, for the treatments TSP, TCP, ASP and ACP. The probiotic use did not modify significantly ($P>0,05$) the apparent digestibility coefficients between same hays, except to CDEE between treatments TSP and TCP. With relation to the treatments with hays of different nutritional qualities, it had significant effect ($P<0,05$) for CDMS, CDPB and CDEE, between treatments TSP and ACP. Conclude that the addition of yeast culture revealed satisfactory, and can be used as strategy in the feeding of equines.

Keywords: digestibility, horses, probiotic, *Saccharomyces cerevisiae*

Introdução

Os eqüinos são capazes de utilizar grandes quantidades de volumosos para atender as suas exigências nutricionais, entretanto, para maximizar crescimento e produtividade dos eqüinos, as dietas contêm altos níveis de grãos e suplementos. Porém a utilização de concentrado na alimentação de eqüinos é um dos fatores que mais onera o custo de produção OLIVEIRA et al. (2001).

Via de regra, os fenos de gramíneas ou leguminosas constituem a principal fonte de fibra na composição de rações destinadas aos eqüinos. Os fenos de leguminosas, normalmente, possuem valores nutricionais mais elevados comparativamente aos de gramíneas (LEWIS,1995). Entretanto, os altos custos dos mesmos e a dificuldade de produção em diversas regiões do país dificultam sua utilização. Os fenos de gramíneas, por outro lado, são produzidos mais facilmente e apresentam custos menores, entretanto, com qualidades nutricionais inferiores. Desta forma, a busca de fontes ou produtos alternativos para compor rações para esta espécie, no sentido de diminuir os custos de alimentação, torna-se, atualmente, fator limitante na criação de cavalos. Neste âmbito, surge como alternativa o uso de aditivos nas rações, tornando-as, direta ou indiretamente, mais aproveitáveis pelo animal.

Dentre os aditivos utilizados na produção animal, destacam-se os probióticos, os quais trazem benefícios à saúde do hospedeiro, não deixam resíduos nos produtos de origem animal e não favorecem resistência às drogas (NEPOMUCENO & ANDREATTI, 2000). Os probióticos são empregados ainda para prevenir ou tratar diversas disfunções gastrintestinais, tais como a intolerância à lactose, constipação, hipersensibilidade alimentar e gastrenterite (LOSADA & OLLEROS, 2002).

Segundo SANTOS (1998), os probióticos vêm sendo utilizados em outros monogástricos (aves e suínos) como promotores de crescimento em substituição aos antibióticos. Contem microorganismos e substâncias que propiciam o balanceamento microbiano intestinal adequado e contribuem de forma efetiva para a melhoria na absorção dos nutrientes pelo organismo animal. Um mecanismo importante de ação dos probióticos é produzir enzimas, as quais facilitam a digestão dos nutrientes do alimento, o que conseqüentemente melhora a digestão no trato gastrintestinal. Com a utilização dos probióticos há melhora na absorção dos alimentos e na taxa de crescimento, devido à absorção de ácidos graxos, assim como a transformação de compostos razoavelmente solúveis em compostos facilmente solúveis.

Segundo FRAPE (1998), para equinos em crescimento, o uso de probióticos estimula o crescimento microbiano, melhora a digestibilidade da fibra bruta e da proteína bruta, como também reduz a perda endógena fecal de nitrogênio, favorecendo o aumento na retenção deste nutriente.

As leveduras, por não colonizarem os animais e sim exercerem suas ações durante a passagem pelo trato digestório, se enquadram como uma das melhores alternativas para o criador. Segundo RIBEIRO (1998), o uso de probiótico na alimentação de equinos recebendo volumoso de alta qualidade não afeta significativamente a digestibilidade dos nutrientes, sugerindo volumosos de baixa qualidade para melhor avaliação deste aditivo.

O equino está fisiologicamente preparado para consumir grande quantidade de alimento volumoso, porém, a digestibilidade dos nutrientes depende da sua qualidade, principalmente com relação à porção fibrosa deste alimento (OLIVEIRA et al. 2003). A maioria dos trabalhos utilizando probióticos com enfoque nutricional, em equinos, realizados principalmente em outros países, utilizaram alimentos de boa qualidade (MEDINA et al., 2002; RIBEIRO, 1998; GUTSELL, 1998; HAUSENBLASZ et al. 1993). Temos de considerar que estes trabalhos utilizaram ainda diferentes categorias e raças, bem como diferentes protocolos experimentais, entretanto apresentando ao final resultados díspares. Recentemente, MORGAN et al. (2007) relata que não há trabalhos avaliando a suplementação com cultura de levedura utilizando-se volumosos de baixa qualidade.

O objetivo deste trabalho foi o de avaliar a utilização de probiótico em dietas para equinos, compostas por volumosos de diferentes qualidades nutricionais, através da digestibilidade aparente dos nutrientes das dietas.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Setor de Equideocultura da Fazenda Experimental de Iguatemi, da Universidade Estadual de Maringá. Foram utilizados quatro equinos machos adultos, sem raça definida, com peso vivo ao redor de 400 kg. Foi utilizado um delineamento em quadrado latino (4 x 4), com fatorial (2x2), descrito por COCHRAN & COX (1967). Os animais foram vermifugados no início do experimento com vermífugo de amplo espectro.

Os tratamentos foram compostos por quatro dietas experimentais: concentrado e volumoso de baixa qualidade (feno de Tifton 85 com 4,22% de proteína bruta), sem e

com probiótico (Tratamentos TSP e TCP, respectivamente), e concentrado e volumoso de boa qualidade (feno de Alfafa com 15,64% de proteína bruta), sem e com probiótico (Tratamentos ASP e ACP, respectivamente) (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1. Composição percentual e química do concentrado utilizado nas dietas experimentais

Ingredientes	Quantidade (%)
Milho	46,95
Farelo de Soja	9,94
Farelo de Trigo	39,57
Fosfato Bicálcico	0,41
Calcário	2,00
Sal comum	0,92
Suplemento Mineral	0,10
Suplemento Vitamínico	0,10
Total	100
Proteína Bruta	15,73
Lisina ¹	0,63
Fibra em Detergente Neutro	20,30
Fibra em Detergente Ácido	6,06
Extrato Etéreo	2,61
Matéria Mineral	4,45
Energia Digestível (kcal/ kg) ¹	2.471

¹Valores calculados

Tabela 2. Composição química dos fenos de Alfafa e de Tifton 85 utilizados nas dietas experimentais (%MS)

Nutrientes (%)	Feno de Alfafa	Feno de Tifton
Matéria Seca	90,78	92,45
Proteína Bruta	15,64	4,22
Fibra em Detergente Neutro	51,98	83,30
Fibra em Detergente Ácido	40,18	45,48
Extrato Etéreo	1,18	0,86
Matéria Mineral	8,18	3,95

A cultura de levedura utilizada foi desenvolvida a partir de cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, por empresa de biotecnologia, com o nome comercial Yea-Sacc[®]1026, à base de *Saccharomyces cerevisiae*, cepa 1026 (Tabela 3). A quantidade de cultura de levedura fornecida foi de 15 g por animal por dia, fornecido de uma só vez durante a primeira refeição diária.

Tabela 3. Concentrações de leveduras rotuladas e analisadas no probiótico

Microorganismo	Contagem Populacional Global	
	Rotulado	Analisado
Leveduras (UFC/g) ¹	5x10 ⁸	1,36x10 ⁷

¹Unidades formadoras de colônias por grama

A quantidade de alimento fornecida aos animais foi estabelecida segundo as recomendações do NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC,1989), visando atender às exigências nutricionais para a categoria. A ingestão diária de matéria seca (kg/dia) foi de 2,0% do peso vivo durante as fases de adaptação, correspondendo a 70% de volumoso e 30% de concentrado, e reduzida para 85% do total nas fases de coleta total de fezes. As dietas foram fornecidas em três refeições diárias, às 8:00, 13:00 e 17:00 horas, e as sobras eventuais foram retiradas e pesadas 15 minutos antes de cada refeição.

O período experimental teve duração de 36 dias, correspondendo os cinco primeiros dias de cada período à fase de adaptação às dietas, instalações, alimentação e condições de manejo e os últimos quatro dias ao período de coleta total de fezes. Durante este período os animais permaneceram confinados individualmente em uma área de 10 m² com piso de cimento, sem cama e provida de comedouro para concentrado e feno e bebedouro plástico (balde).

Amostras dos alimentos foram coletadas no início e no final da fase de adaptação, em todos os tratamentos, e enviadas para o Laboratório de Alimentos e Nutrição Animal - LANA do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, para avaliação bromatológica segundo metodologia proposta por SILVA (1990).

As fezes destinadas às análises laboratoriais foram coletadas três vezes ao dia, diretamente do reto para não ocorrer contaminação. Em seguida foram acondicionadas em sacos plásticos, devidamente identificados e armazenados em freezer a -10°C. O restante das fezes era depositado em um recipiente plástico para cada animal e pesado todos os dias às oito horas da manhã.

Ao final da fase experimental, as amostras foram descongeladas à temperatura ambiente, homogeneizadas por tratamento, para a obtenção de uma amostra composta para cada animal, das quais foram retiradas alíquotas de 10%, pesadas e pré-secas em estufa de ventilação forçada à 55°C, por 72 horas. Após secagem e equilíbrio com a umidade do meio ambiente, foram novamente pesadas, moídas em peneira de 1mm, em seguida foram devidamente acondicionadas para posterior análise, realizadas no Laboratório de Nutrição Animal, do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, segundo metodologia proposta por SILVA (1990).

Os cálculos para determinação dos coeficientes da digestibilidade aparente, da matéria seca (CDMS), proteína bruta (CDPB), fibra em detergente ácido (CDFDA),

fibra em detergente neutro (CDFDN) e extrato etéreo (CDEE) foram feitos de acordo com CHURCH (1988).

O modelo estatístico utilizado para a análise do coeficiente de digestibilidade dos nutrientes foi:

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + A_j + T_k + e_{ijk}$$

Onde:

Y_{ijk} = é a observação do animal j que recebeu o tratamento i ;

μ = constante geral;

P_i = efeito dos períodos, sendo $i = 1, 2, 3$ e 4 ;

A_j = efeito dos animais, sendo $j = 1, 2, 3$ e 4 ;

T_k = efeito dos tratamentos, sendo $k = 1, 2, 3$ e 4 ;

e_{ijk} = erro aleatório associado à cada observação.

Os valores obtidos foram comparados pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Os valores médios obtidos no presente experimento para os coeficientes de digestibilidade aparente da MS, PB, FDN, FDA e EE (respectivamente de 58,28; 71,48; 42,22; 35,40 e 61,92%) (Tabela 4) podem ser considerados satisfatórios para eqüinos segundo o NRC (1989), e se mostraram próximos daqueles obtidos por outros autores que também utilizaram probióticos na alimentação de eqüinos (MOURA, 2007; RIBEIRO, 1998; MOORE et al., 1994; HILL et al., 2001 e HAUSENBLASZ et al., 1993).

Os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca (CDMS), proteína bruta (CDPB), fibra em detergente neutro (CDFDN), fibra em detergente ácido (CDFDA) e extrato etéreo (CDEE) das dietas com diferentes qualidades de feno, com ou sem adição de probiótico, estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Coeficientes da digestibilidade aparente da matéria seca (CDMS), proteína bruta (CDPB), fibra em detergente neutro (CDFDN), fibra em detergente ácido (CDFDA) e extrato etéreo (CDEE) das dietas com fenos de diferentes valores nutricionais, com ou sem probiótico

Variável	TSP ¹	TCP ²	ASP ³	ACP ⁴	Média	CV ⁵ (%)
CDMS (%)	50,95b	54,83ab	61,12ab	66,21a	58,28	9,39
CDPB (%)	67,22b	73,20ab	69,74ab	75,76a	71,48	6,46
CDFDN (%)	40,10a	39,51a	42,84a	46,42a	42,22	17,11
CDFDA (%)	32,52a	32,09a	34,97a	42,01a	35,40	19,92
CDEE (%)	54,88b	66,85a	57,80ab	68,15a	61,92	9,21

¹TSP-Feno de baixa qualidade sem probiótico

²TCP- Feno de baixa qualidade com probiótico

³ASP- Feno de alta qualidade sem probiótico

⁴ACP- Feno de alta qualidade com probiótico

⁵Coefficiente de Variação

Valores seguidos por letras iguais na mesma linha não diferem a 5% entre si

No presente experimento a utilização de probiótico não alterou significativamente ($P>0,05$) os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes das dietas quando considerado fenos de mesmo valor nutricional (feno de Tifton 85 e feno de Alfafa), com exceção do CDEE entre os tratamentos TSP e TCP. Com relação aos tratamentos com fenos de diferentes qualidades nutricionais, houve efeito significativo ($P<0,05$) para CDMS, CDPB e CDEE, apenas entre os tratamentos TSP e ACP.

Entretanto, considerando os coeficientes de digestibilidade aparente da MS, PB e EE, ocorreu, no presente trabalho, um aumento numérico nos valores dos CD com a inclusão da cultura de levedura, tanto no feno de baixa qualidade como no de alta qualidade. Quando considerado os coeficientes de digestibilidade aparente da PB e do EE, observou-se, no presente trabalho, também aumento numérico nos CD quando comparados os tratamentos TCP e ASP, e valores semelhantes nos coeficientes de digestibilidade aparente quando considerados os tratamentos TCP e ACP, indicando, portanto, tendência de melhoria nos coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes com a inclusão do probiótico nas dietas utilizadas no presente trabalho.

Considerando os coeficientes de digestibilidade aparente da fração fibrosa (CDFDN e CDFDA) das dietas utilizadas no presente trabalho, não houve diferenças significativas ($P>0,05$) entre todos os tratamentos avaliados. Entretanto, numericamente observou-se maiores valores para o coeficiente de digestibilidade aparente da FDN e da FDA das dietas com adição de probiótico quando consideramos volumosos de boa qualidade (feno de Alfafa). Entretanto, LOSADA & OLLEROS (2002), afirmaram que a utilização de probióticos na dieta de equinos pode melhorar a digestibilidade da fibra.

A literatura consultada apresenta resultados díspares quanto ao uso de probiótico (*Saccharomyces cerevisiae*) na alimentação de equinos. Esta constatação pode ser originária do fato de que diversos autores utilizaram animais de diferentes idades, raças e sexo, diferentes doses de cultura de levedura e diferentes formulações e qualidades de dietas quando comparados aos utilizados no presente trabalho. Entretanto, nos experimentos onde o uso de probiótico não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos, observou-se um aumento numérico de todos os valores de coeficiente de digestibilidade aparente, semelhantes ao obtido no presente trabalho.

Recentemente MORGAN et al. (2007), trabalhando com 16 equinos adultos, avaliaram a adição de 56 g de cultura de levedura em dietas compostas por feno de bermuda de alta e baixa qualidade (13,13 e 8,08% de PB, respectivamente) e ração comercial (12,56% de PB) com relação volumoso:concentrado de 75:25. A digestibilidade da MS não foi influenciada pela adição da cultura de levedura (média de 39,30% e 45,40% para feno de baixa e alta qualidade, respectivamente), entretanto os autores relataram uma tendência de aumento para esse coeficiente, assim como observado no presente trabalho. Com relação aos coeficientes de digestibilidade aparente da PB e FDN, os autores observaram aumentos significativos apenas para os tratamentos onde o feno de baixa qualidade foi utilizado (de 47,50 para 53,05% e de 25,10 para 30,40% para PB e FDN, respectivamente). Os autores não observaram diferenças significativas para o coeficiente de digestibilidade aparente da FDA.

MOURA (2007), avaliando a adição de cinco gramas por animal por dia de cultura de levedura em dietas (pastagem de *Cynodon* com 4,13% de PB e concentrado) para 24 potros, obteve coeficientes de digestibilidade da MS, PB, FDN e FDA de 53,23; 68,80; 42,40 e 37,01%, respectivamente. Não foram observadas diferenças significativas com relação à dieta teste, entretanto, houve uma melhora no coeficiente de digestibilidade aparente apenas quando a cultura de levedura foi associada a um probiótico com bactérias.

MEDINA et al. (2002) trabalhando com cavalos fistulados no ceco e cólon, alimentados com dietas com alta quantidade de fibra e alta quantidade de amido, estudaram o efeito da adição de 10 g de cultura de levedura (Yea-Sacc¹⁰²⁶) na digestibilidade aparente e na atividade fibrolítica *in vitro* do conteúdo do fluído do intestino grosso. Não foi observado efeito da adição da cultura de levedura na digestibilidade das dietas, entretanto, o aumento significativo na degradabilidade *in*

vitro da fibra sugere que a atividade fibrolítica do intestino grosso foi estimulada pela adição de levedura.

RIBEIRO (1998), utilizando potros, recebendo dieta composta por 50% de feno de coast-cross, 50% de concentrado e 30 g de cultura de levedura, relataram a adição de levedura não proporcionou melhora na digestibilidade da fração fibrosa da dieta (38,45% e 30,28% para FDN e FDA, respectivamente), valores os quais se aproximam dos valores obtidos no presente trabalho. Por outro lado, houve maior eficiência ($P < 0,05$) na digestibilidade da proteína bruta, de 70,90% para 74,48% com a inclusão da cultura de levedura, valores também bem próximos aos observados no presente trabalho. O autor relata que este fato pode ser fruto de eventual aumento na atividade microbiana no intestino grosso, favorecendo a digestibilidade de compostos nitrogenados.

GUTSELL (1998), utilizando cavalos adultos consumindo dieta à base de feno de alfafa como volumoso e adicionando 10 g de cultura de levedura, não observou efeitos significativos na digestibilidade aparente da MS, PB, FDN e FDA.

HALL et al. (1990), utilizando cavalos com três anos de idade, determinou a digestibilidade de uma dieta basal suplementadas com quatro níveis diferentes de cultura de levedura (0, 10, 20 e 40 g/animal/dia). A digestibilidade aparente de MS, MM, PB, EE, FDN e FDA, hemicelulose e lignina (valores médios de 56,34; 19,83; 68,86; 60,59; 28,71; 25,05; 46,50 e 14,56%, respectivamente) não foram diferentes ($P > 0,05$) entre as dietas suplementadas e as não suplementadas. Todos os animais estavam em balanço de nitrogênio positivo durante o experimento, e não foi afetada ($P > 0,05$) pelos tratamentos. Os mesmos autores, relataram que o aumento na quantidade de cultura de levedura no concentrado da dieta de 0 grama/animal/dia para 40 g/animal/dia, não influenciou ($P > 0,05$) a digestibilidade aparente de nenhum dos componentes químicos da ração.

Outros autores têm demonstrado efeitos positivos em cavalos quando suplementados com cultura de levedura. GLADE & SIST (1998), em estudo com nove potros de um ano de idade, em regime de pasto e recebendo ração concentrada (12% de PB), com adição de quatro gramas de cultura de levedura por dia, observaram efeito significativo na digestibilidade da MS, FDN e FDA, de 68,60; 51,70 e 51,20% para 73,40; 60,70 e 58,20%, respectivamente.

MOORE et al. (1994) utilizando pôneis avaliaram a adição ou não de 10 g de cultura de levedura em dieta à base de 65% de feno de capim e 35% de concentrado,

demonstraram que o uso de leveduras influenciou positivamente a digestibilidade da matéria seca (62,09%), proteína bruta (68,60%), FDN (59,34%) e FDA (56,13%).

Os altos valores obtidos no presente trabalho para CDPB dos tratamentos TCP e ACP, em relação aos tratamentos TSP e ASP, podem ter ocorrido por uma diminuição na excreção de nitrogênio fecal, em função de um estímulo na reciclagem de nitrogênio endógeno, como confirmado por GLADE e SIST (1998), e também sugerido por KIM et al. (1991).

HILL et al. (2001), trabalhando com cavalos consumindo dietas com alta relação volumoso:concentrado e suplementados com cultura de levedura, observaram aumento significativo na digestibilidade da proteína bruta, de 64,30% (sem suplementação) para 72,80% (com suplementação).

HAUSENBLASZ et al. (1993), conduziram um estudo para verificar o efeito da suplementação da cultura de levedura na digestibilidade de nutrientes de cavalos em crescimento. A dieta basal continha feno de capim, aveia e concentrado. Foram adicionados ao concentrado da dieta 8 g por dia de cultura de levedura. Os autores demonstraram que a digestibilidade da proteína bruta foi a mais afetada, com aumento de 6%. A adição de cultura de levedura aumentou substancialmente a digestibilidade da MS, PB e FB, de 53,48; 50,37 e 44,06 para 56,29; 56,55 e 47,24%, respectivamente.

Durante todo o período experimental, não se verificou efeitos negativos de ingestão e/ou palatabilidade no uso da cultura de levedura, como também não foram observados distúrbios do trato digestório.

Conclusões

Apesar de a inclusão de cultura de levedura em dietas para eqüinos não ter alterado significativamente alguns valores de coeficiente de digestibilidade aparente das dietas, houve melhoria na utilização dos nutrientes das dietas com probiótico compostas por feno de baixa qualidade.

A utilização de cultura de levedura em dietas para eqüinos mostrou-se satisfatória, indicando que este aditivo pode ser usado como estratégia nutricional para esses animais.

Literatura Citada

- CHURCH, D.C. **The ruminant animal. Digestive physiology and nutrition.** Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1988. 564p.
- COCHRAN, W.G. e COX, G.M. **Experimental designs.** New York:John Wiley and Sons, 1967. 617p.
- FRAPE, D. **Equine nutrition and feeding.** Estados Unidos: Blackwell Science, 1998. 404p.
- GLADE, M.J. and SIST, M.D. Dietary yeast culture supplementation enhances urea recycling in the equine large intestine. **Nutr. Rep. Intl.** V. 37, n 1, p. 11-17, 1988.
- GUTSELL, S. J. The effect of the addition of a yeast culture (Yea Sacc1026 TM) to the diet given to 2 and 3-year old horses on the apparent digestibilities of certain dietary components. In: 14TH ANNUAL SYMPOSIUM ON BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, Lexington, KY. 1998.
- HALL, R. R.; JACKSON, S. G.; BAKER, J. P. et al. Influence of yeast culture supplementation on ration digestion by horses. **Journal of Equine Veterinary Science.** v.10, n.2, p.130-133, 1990.
- HAUSENBLASZ, J.; SZUCO, J. & MEZES, M. Effect of viable yeast culture. Supplementation on nutrient digestibility and feed utilization of growing cold-blooded horses. In: ANUAL BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY SIMPOSIUM ALLTECH, 9., 1993.
- HILL, J.; TRACEY, S. V.; WILLIS, M. et al. Yeast culture in equine nutrition and physiology. **Science and Technology in the Feed Industry.** In: Proceedings of Alltech's 17^a Annual Symposium. Nottingham University Press, UK, 2001.
- KIM, S.M.; KIM, C.M.; LEE, H.K. et al. Evaluation of nutrients values of some feedstuffs, and the effect of yeast culture supplementation on digestibilities of nutrients an blood parameter in horse. **Korean Animal Nutrition Feeding,** v.15, n.5, p.272-280, 1991.
- LEWIS, L.D. 1995. **Feeding and care of the horse.** 2.ed. Media: Willians and Wilkins, 446 p.
- LOSADA, M.A.; OLLEROS, T. Towards a Healthier Diet for the Colon: the Influence of Fructooligosaccharides and Lactobacilli on Intestinal Health. **Nutrition Research,** v.22, n.1, p.71-84, 2002.
- MEDINA, B., GIRARD, I. D., JACOTOT, E. et al. 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.
- MOORE, B. E., and NEWMAN, K. E. Influence of feeding yeast culture (Yea-Sacc) on cecum and colon pH of the equine. **Journal of Animal Science.** v.71, p.261 (Abstr.), 1994.
- MORGAN, L.M.; COVERDALE J.A.; FROETSCHER, M.A. et al. 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.

- MOURA, R.S. **Avaliação Nutricional de Dietas com Probióticos ou Enzima Fitase para Potros Desmamados da Raça Mangalarga Marchador.** Belo Horizonte-MG: UFMG, 2007. 74p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG, 2007.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Requeriments of domestic animals. Nutrient Requeriments of Horses.** 5^a ed. Washington, N.A.S, 1989. 100p.
- RIBEIRO, A. C. A. **Efeitos da Adição de Cultura de Levedura na Digestibilidade de Nutrientes para Eqüinos.** Pirassununga-SP: FZEA-USP, 1998. 38p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – USP, 1998.
- SANTOS, C., P. **Utilização de Probióticos na Alimentação de Eqüinos: Uma Revisão Bibliográfica.** Maringá-PR: UEM, 1998. 40 p. Dissertação (Especialização em Zootecnia) -Universidade Estadual de Maringá, 1998.
- SILVA, D.J. **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos).** Viçosa: Imprensa Universitária, 1990. 165p.

IV - Efeito do Uso de Cultura de Levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) na Microbiologia e no pH das fezes de Equinos Alimentados com Volumosos de Diferentes Valores Nutricionais

RESUMO: Foram utilizados quatro equinos machos adultos, sem raça definida, com peso vivo de 400 kg, em delineamento em quadrado latino (4 x 4). Os tratamentos foram compostos de concentrado e volumoso de baixa qualidade (feno de Tifton 85), sem e com probiótico (tratamentos TSP e TCP, respectivamente), e volumoso de boa qualidade (feno de Alfafa), sem e com probiótico (tratamentos ASP e ACP, respectivamente). A cultura de levedura utilizada foi desenvolvida a partir de cepas de *Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026. O período experimental teve duração de 36 dias e foi utilizada metodologia de coleta de fezes direto do reto, para determinação do pH e da microbiologia. O número total de unidades formadoras de colônias por grama de fezes foi de $3,5 \times 10^6$; $8,2 \times 10^6$; $4,53 \times 10^6$ e $5,9 \times 10^6$ UFC/g para os *Lactobacillus* e de $5,7 \times 10^6$; $9,2 \times 10^6$; $7,85 \times 10^6$ e $1,86 \times 10^7$ para os *Streptococcus*, nos tratamentos TSP, TCP, ASP e ACP, respectivamente. a quantidade de UFC/g dos microorganismos *Lactobacillus* e *Streptococcus* apresentaram aumentos significativos quando a cultura de levedura foi usada e paralelamente promoveu um aumento e estabilização do pH. O aumento significativo das colônias de *Lactobacillus* e *Streptococcus* nas fezes dos animais, e também o aumento e estabilização do pH fecal, indicam que o uso de probiótico contribuiu efetivamente para melhoria da atividade microbiana do trato digestório dos equinos.

Palavras-chave: cavalos, microbiologia, pH, probiótico

IV - Effect of the Use of Yeast Culture (*Saccharomyces cerevisiae*) in the Microbiology and fecal pH feeding with Diets Composed for Different Nutritional Values of Hays

ABSTRACT: Four adult male equines were used, without defined race, with body weight of 400 kg, in latin square (4x4). The treatments were composts of concentrate and low quality hay (Tifton 85 hay), without and with probiotic (treatments TSP and TCP, respectively), and high quality hay (Alfalfa hay), without and with probiotic (treatments ASP and ACP, respectively). The yeast culture used was *Saccharomyces cerevisiae*¹⁰²⁶. The experimental period lasted 36 days and it was used methodology of faeces collection direct from the rectum, for determination of pH and microbiology. The total number of colony-forming unit per gram of faeces (CFU/g) was $3,5 \times 10^6$; $8,2 \times 10^6$; $4,53 \times 10^6$ and $5,9 \times 10^6$ CFU/g for *Lactobacillus*, and $5,7 \times 10^6$; $9,2 \times 10^6$; $7,85 \times 10^6$ e $1,86 \times 10^7$ for *Streptococcus*, respectively, for the treatments TSP, TCP, ASP and ACP. The number of UFC/g of *Lactobacillus* and *Streptococcus* microorganisms was increase when yeast culture was used, and parallel promoted an increase and stabilization of pH. The significant increase of *Lactobacillus* and *Streptococcus* colonies in animals faeces, and also the increase and stabilization of fecal pH, indicate that the probiotic use contribute effectively for improvement of microbial activity in the equine digestive tract.

Key words: equine, microbiology, pH, probiotic

Introdução

A incorporação de novos ingredientes à dieta dos animais domésticos pode acarretar alterações fisiológicas no organismo animal, que podem perturbar a homeostasia e/ou promover o surgimento de distúrbios que prejudicam o desempenho. De acordo com HOOVER & STOKES (1991), o crescimento de microorganismos no rumem é influenciado pela interação de fatores químicos, fisiológicos e nutricionais. A colonização das superfícies e cavidades corporais, incluindo o trato gastrointestinal, ocorre após o nascimento.

Segundo SAKAITANI (1999), em potros neonatos saudáveis a colonização ocorre numa seqüência bem definida. Aparecem primeiramente bactérias anaeróbias facultativas, seguidas por anaeróbias estritas e bactérias produtoras de ácido láctico (gênero *Lactobacillus*), que passam a predominar na segunda semana de vida.

YUKI et al. (2000) ao estudarem a microflora normal eqüina, mostraram que o gênero *Lactobacillus* é a predominante bactéria natural e produtora de ácido láctico do organismo. A microflora normal varia, dentre os diferentes segmentos que constitui o trato digestório, quanto à sua composição e densidade. Essa variabilidade ocorre devido a vários fatores, tais como secreções digestivas, pH, secreções de sais biliares, integridade da mucosa intestinal e glicocálice, motilidade do trato digestório e composição química da dieta.

A disponibilidade de energia para o crescimento microbiano depende da composição da dieta e do grau de sua fermentação, o qual é dependente da quantidade de carboidratos rapidamente fermentáveis, como açúcares, amido e pectina, e, posteriormente, da quantidade e composição dos componentes da parede celular. O pH e a taxa de renovação são fatores químicos e fisiológicos que influenciam o crescimento microbiano, e ambos são influenciados pela dieta e por outros fatores correlacionados, como o nível de consumo, o manejo alimentar e a qualidade da forragem, além da relação volumoso/concentrado. Para eqüinos, o pH do ceco é muito importante no desenvolvimento e manutenção da atividade celulolítica, e rápidas mudanças no pH podem conduzir para uma proliferação de população microbiana com pouca eficiência de utilização da fibra da dieta (VERMOREL & MARTIN-ROSSET, 1997).

A diminuição do pH reduz a degradabilidade da proteína, celulose, hemicelulose e pectina, ou seja, reduz a eficiência de síntese microbiana (OLIVEIRA et al, 2003).

Nas últimas décadas, muita atenção tem sido dada à modulação da microbiota intestinal normal por adjuvantes microbianos vivos chamados de probióticos, pois esta terapia possibilita a ausência de efeitos secundários, como a seleção de bactérias resistentes. Isto é possível pois utiliza-se produtos que contém compostos normais da microbiota, como é o caso das bifidobactérias e dos lactobacilos, ou não, como a levedura. Além do mais, uma das principais preocupações da Organização Mundial da Saúde é a implementação de novas terapias que não atuem com forte pressão seletiva, propiciando a geração de patógenos cada vez mais agressivos e resistentes (MARTINS et al., 2005). Na literatura consultada sobre a ação de probióticos na microbiota do trato digestório nota-se poucas pesquisas utilizando eqüinos.

O objetivo deste trabalho foi o de avaliar a utilização de probiótico em dietas para eqüinos, compostas por volumosos de baixa e de alta qualidade, através da análise microbiológica das fezes e do pH fecal.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Setor de Eqüideocultura da Fazenda Experimental de Iguatemi, da Universidade Estadual de Maringá. Foram utilizados quatro eqüinos machos adultos, sem raça definida, com peso vivo ao redor de 400 kg, em delineamento em quadrado latino (4 x 4), com fatorial (2x2), descrito por COCHRAN & COX (1967). Os animais foram vermifugados no início do experimento com vermífugo de amplo espectro.

Os tratamentos foram compostos de concentrado e volumoso de baixa qualidade (feno de Tifton 85 com 4,22% de proteína bruta), sem e com probiótico (tratamentos TSP e TCP, respectivamente), e concentrado e volumoso de boa qualidade (feno de Alfafa com 15,64% de proteína bruta), sem e com probiótico (tratamentos ASP e ACP, respectivamente) (Tabelas 5 e 6).

Tabela 5 - Composição percentual e química do concentrado utilizado nas dietas experimentais

Ingredientes	Quantidade (%)
Milho	46,95
Farelo de Soja	9,94
Farelo de Trigo	39,57
Fosfato Bicálcico	0,41
Calcário	2,00
Sal comum	0,92
Suplemento Mineral	0,10
Suplemento Vitamínico	0,10
Total	100
Proteína Bruta	15,73
Lisina ¹	0,63
Fibra em Detergente Neutro	20,30
Fibra em Detergente Ácido	6,06
Extrato Etéreo	2,61
Matéria Mineral	4,45
Energia digestível (kcal/ kg) ¹	2.471

¹Valores calculados

Tabela 6 – Composição química dos fenos de Alfafa e Tifton 85 utilizados nas dietas

Nutrientes (%)	Feno de Alfafa	Feno de Tifton
Matéria Seca	90,78	92,45
Proteína Bruta	15,64	4,22
Fibra em Detergente Neutro	51,98	83,30
Fibra em Detergente Ácido	40,18	45,48
Extrato Etéreo	1,18	0,86
Cinzas	8,18	3,95

A cultura de levedura utilizada foi desenvolvida a partir de cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, por empresa de biotecnologia, com o nome comercial Yea-Sacc@1026 (tabela 00), à base de *Saccharomyces cerevisiae*, cepa 1026. A quantidade de cultura de levedura fornecida foi de 15 g por animal por dia.

Tabela 7. Concentrações de leveduras rotuladas e analisadas no probiótico

Microorganismo	Contagem Populacional Global	
	Rotulado	Analisado
Leveduras (UFC/g) ¹	5×10^8	$1,36 \times 10^7$

¹Unidades formadoras de colônias por grama

A quantidade de alimento fornecida aos animais foi estabelecida segundo as recomendações do NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC,1989), visando atender às exigências nutricionais para a categoria. A ingestão diária de matéria seca (kg/dia) foi de 2,0% do peso vivo durante as fases de adaptação, correspondendo a 70% de volumoso e 30% de concentrado, e reduzida para 85% do total nas fases de coleta total de fezes. As dietas foram fornecidas em três refeições diárias, às 8:00, 13:00 e 17:00 horas, e as sobras eventuais foram retiradas e pesadas 15 minutos antes de cada refeição.

O período experimental teve duração de 36 dias, correspondendo os cinco primeiros dias de cada período à fase de adaptação às dietas, instalações, alimentação e condições de manejo e os últimos quatro dias ao período de coleta de fezes. Durante este período os animais permaneceram confinados individualmente em uma área de 10 m² com piso de cimento, sem cama e provida de comedouro para ração e feno e bebedouro do tipo “balde”.

Amostras dos alimentos foram coletadas no início e no final da fase de adaptação, em todos os tratamentos, e enviadas para o Laboratório de Alimentos e Nutrição Animal - LANA do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, para avaliação bromatológica segundo metodologia proposta por SILVA (1990).

As fezes destinadas às análises microbiológicas foram coletadas uma vez ao dia, diretamente do reto para não ocorrer contaminação, utilizando-se luva cirúrgica lubrificada com vaselina. Em seguida foram acondicionadas em sacos plásticos e caixa de isopor com gelo, devidamente identificados e em seguida transportadas imediatamente para análise no Laboratório de Microbiologia Básica do Departamento de Análises Clínicas da Universidade Estadual de Maringá.

A concentração de *Streptococcus sp* foi calculada pela técnica de plaqueamento, utilizando-se meio de cultura específico (Ágar KF *Streptococcus* CM701) segundo KENNER et al. (1961), replicados em placas de Petri em diluições em série de 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} . Após a semeadura das placas, estas foram incubadas em estufa à 38° C por 48

horas. A concentração de *Lactobacillus sp* foi calculada pela técnica de plaqueamento, utilizando-se meio de cultura Agar Rogosa (BK033) segundo ROGOSA et al. (1951), replicados em placas de Petri em diluições em série de 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} . Após a semeadura das placas, estas foram acondicionadas em jarras de anaerobiose e em seguida incubadas em estufa à 38° C por 48 horas.

As fezes destinadas à análise do pH foram coletadas em três diferentes horários: 9, 14 e 17 horas, devidamente identificadas e acondicionadas em sacos plásticos e caixa de isopor com gelo, e em seguida transportadas para o Laboratório de Nutrição Animal, do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá. A preparação destas para determinação do pH foi realizada pela homogeneização de 9 g de fezes frescas, diluídas em 60 mL de água deionizada e a leitura feita em potenciômetro (SILVA, 1990).

O modelo estatístico utilizado foi:

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + A_j + T_k + e_{ijk}$$

Onde:

Y_{ijk} = é a observação do animal j que recebeu o tratamento i;

μ = constante geral;

P_i = efeito dos períodos, sendo $i = 1, 2, 3$ e 4 ;

A_j = efeito dos animais, sendo $j = 1, 2, 3$ e 4 ;

T_k = efeito dos tratamentos, sendo $k = 1, 2, 3$ e 4 ;

e_{ijk} = erro aleatório associado à cada observação.

Os valores obtidos foram comparados pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

A quantidade de unidades formadoras de colônias dos microorganismos *Lactobacillus* e *Streptococcus*, por grama de fezes (UFC/g) para os tratamentos com diferentes qualidades nutricionais de feno, recebendo ou não cultura de levedura, encontra-se na Tabela 8.

Tabela 8. Número total de unidades formadoras de colônias de *Lactobacillus* e *Streptococcus* nas fezes de equínos recebendo dietas com diferentes qualidades de feno, sem ou com adição de cultura de levedura

Microorganismo (UFC/g)	Tratamentos				CV ⁵
	TSP ¹	TCP ²	ASP ³	ACP ⁴	
<i>Lactobacillus</i>	3,5 x 10 ⁶ ^b	8,2 x 10 ⁶ ^a	4,53 x 10 ⁶ ^{ab}	5,9 x 10 ⁶ ^a	18,31
<i>Streptococcus</i>	5,7 x 10 ⁶ ^c	9,2 x 10 ⁶ ^a	7,85 x 10 ⁶ ^b	1,86 x 10 ⁷ ^a	15,05

¹TSP-Feno de baixa qualidade sem probiótico

²TCP- Feno de baixa qualidade com probiótico

³ASP- Feno de alta qualidade sem probiótico

⁴ACP- Feno de alta qualidade com probiótico

⁵Coefficiente de Variação

Valores seguidos por letras iguais na mesma linha não diferem a 5% entre si

A utilização de cultura de levedura aumentou significativamente ($P < 0,05$) a população de *Lactobacillus* nas fezes dos animais que receberam o tratamento TCP. Não houve efeito significativo ($P > 0,05$) na população de *Lactobacillus* para os tratamentos onde o feno de boa qualidade foi utilizado (tratamentos ASP e ACP). A população de *Streptococcus* sofreu aumento significativo ($P < 0,05$) nos dois grupos de fenos onde houve suplementação com cultura de levedura (tratamentos TCP e ACP).

Os resultados obtidos no presente trabalho, considerando ter utilizado fezes para identificar as populações de *Lactobacillus* e de *Streptococcus*, estão de acordo com MOORE et al. (1994), que em estudo com pôneis fistulados no ceco e no colon, avaliaram o efeito da cultura de levedura (10g/animal/dia) na população microbiana. Os autores observaram aumento nas populações de protozoários, bactérias celulolíticas, bactérias utilizadoras de lactato e também de *Lactobacillus* ($121,5 \times 10^6$ UFC/g), quando a cultura de levedura foi fornecida.

MEDINA et al. (2002) trabalhando com oito cavalos alimentados com dietas constituídas de alta fibra ou alto amido, com ou sem adição de *Saccharomyces cerevisiae*, observaram aumento na concentração de células vivas de levedura no ceco e cólon ($4,3 \times 10^6$ e $4,5 \times 10^4$ UFC/g, respectivamente) dos animais que receberam suplementação de cultura de levedura. No ceco, a suplementação de levedura não causou efeito na contagem de bactérias. Entretanto, uma interação significativa entre dieta e cultura de levedura foi observada para a concentração de *Lactobacillus* ($6,7 \times 10^{10}$ UFC/g), com efeito positivo da cultura de levedura no grupo de bactéria específico, quando a dieta com alta fibra foi consumida. A dieta com alto amido aumentou a concentração cecal de anaeróbias total, bactérias utilizadoras de ácido láctico, *Lactobacillus* ($7,4 \times 10^{10}$ UFC/g) e *Streptococcus* ($7,4 \times 10^{10}$ UFC/g).

Os valores de pH fecal mensurados em três diferentes horários ao longo do dia, e a média do pH entre os tratamentos utilizados no presente trabalho encontram-se na Tabela 9.

Tabela 9. Valores do pH das fezes em três horários diferentes e média do pH entre os tratamentos

Tratamento	pH			
	9 horas	14 horas	17 horas	Média
TSP ¹	6,70aA	6,61bB	6,59cB	6,63B
TCP ²	6,78aA	7,06aA	7,04aA	6,86A
ASP ³	6,99aA	6,73abB	6,65bcB	6,79AB
ACP ⁴	7,02aA	7,03aA	6,94abA	7,00A
CV ⁵	3,81	2,45	2,21	2,17

¹TSP-Feno de baixa qualidade sem probiótico

²TCP- Feno de baixa qualidade com probiótico

³ASP- Feno de alta qualidade sem probiótico

⁴ACP- Feno de alta qualidade com probiótico

⁵Coefficiente de Variação

Valores seguidos por letras iguais minúsculas na mesma linha e maiúsculas na mesma coluna não diferem a 5% entre si.

Considerando os valores médios, e fenos de baixa qualidade, a suplementação com cultura de levedura causou aumento significativo ($P < 0,05$) no pH fecal no tratamento TCP. Considerando fenos de alta qualidade não ocorreu diferença significativa entre os tratamentos, entretanto com ligeira tendência de aumento numérico para o tratamento que recebeu levedura. Quando comparado os valores obtidos entre tratamentos (com e sem adição de levedura) observou-se diferença significativa, com maiores valores de pH para os fenos que receberam adição de levedura (Tabela 9 e Figuras 1 e 2).

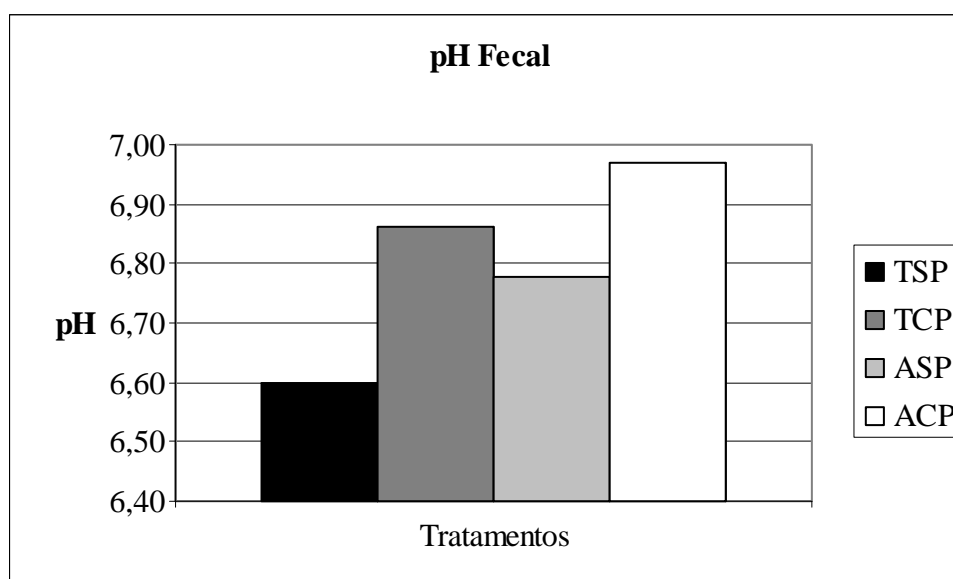


Figura 1. Valores do pH fecal dos tratamentos com diferentes qualidades de feno, recebendo ou não suplementação com cultura de levedura

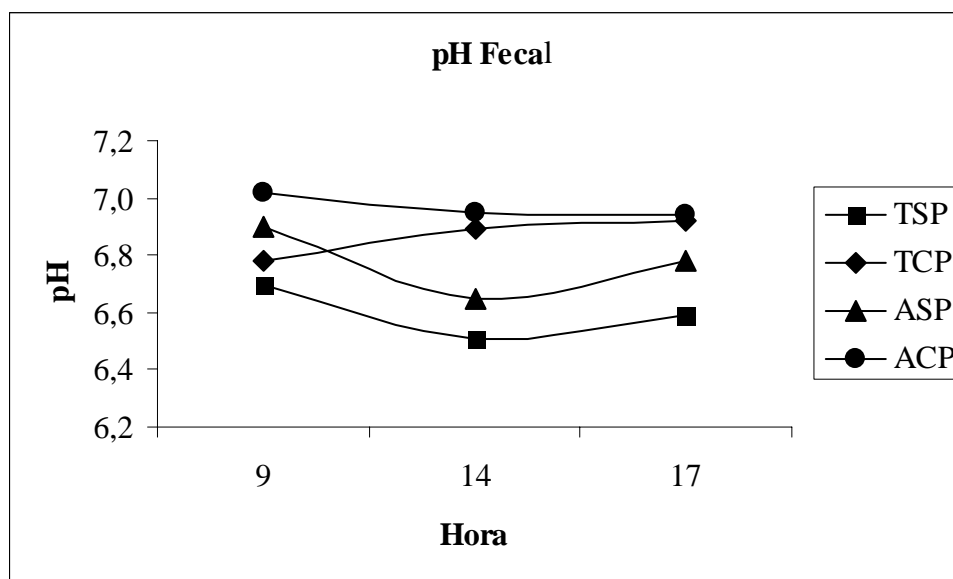


Figura 2. Valores do pH fecal dos tratamentos em diferentes horários com diferentes qualidades de feno, recebendo ou não suplementação com cultura de levedura

Os resultados obtidos no presente trabalho estão de acordo com HILL et al. (2001), o qual utilizou cavalos consumindo dietas com alta relação volumoso:concentrado e suplementados com cultura de levedura. Observaram aumento no pH fecal depois de 4 horas nas dietas contendo altos níveis de volumoso (95:5), suplementada com cultura de levedura, quando comparada à dieta controle, de 6,87 (dieta controle) para 7,12 (dieta com cultura de levedura).

MOORE & NEWMAN (1994) avaliaram o efeito da cultura de levedura no pH do intestino grosso de pôneis fistulados alimentados uma vez por dia com feno de capim e concentrado, com ou sem 20 g de cultura de levedura. Os autores demonstraram que a adição de cultura de levedura na dieta auxiliou na manutenção de valores mais altos de pH, alterando, portanto, significativamente os padrões de pH observados, concordando com valores de pH obtidos no presente trabalho. Segundo os autores acima citados diminuição do pH, abaixo de 6,5, afeta bactérias celulolíticas e com isso afeta digestão das fibras. A estabilização do pH ajuda também a prevenir cólica e laminite, por impedir rápida diminuição do pH.

Maiores valores de pH obtidos no presente trabalho, quando ocorreu a adição de levedura, pode ser atribuído a dois fatores, aumento na utilização de lactato e aumento na concentração de amônia na matéria orgânica fecal. A razão para o aumento do

nitrogênio amoniacal não está bem clara, mas pode ser relacionada com o aumento de bactérias proteolíticas no intestino grosso (YOON & STERN, 1996).

Durante todo o período experimental, não se verificou efeitos negativos de ingestão e/ou palatabilidade no uso da cultura de levedura, como também não foram observados distúrbios gastrintestinais.

Conclusões

O uso de cultura de levedura como suplementação em dietas para equinos promoveu alterações no perfil microbiológico e no pH das fezes.

O aumento significativo das colônias de *Lactobacillus* e *Streptococcus* nas fezes dos animais, e também o aumento e estabilização do pH fecal, indicam que o uso de probiótico contribuiu efetivamente para melhoria da atividade microbiana do trato digestório dos equinos.

Literatura Citada

- COCHRAN, W.G. e COX, G.M. **Experimental designs**. New York:John Wiley and Sons, 1967. 617p.
- HOOVER, W.H.; STOKES, S.R. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3630-3644, 1991.
- KENNER, B. A.; CLARK, H. F.; KABLER, P. W. Fecal streptococci. I. Cultivation and enumeration of streptococci in surface waters. **Applied Microbiology**, v.9, p.15-20, 1961.
- MARTINS, F.S.; NARDI, R.M.D.; ARANTES, R.M.E. et al. Screening of yeast as probiotic based on capacities to colonize the gastrointestinal tract and to protect against enteropathogen challenge in mice. **Journal of General and Applied Microbiology**. v.51, n.2, p.83-92, 2005.
- MEDINA, B., GIRARD, I. D., JACOTOT, E. et al. 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.
- MOORE, B. E., & NEWMAN, K. E. Influence of feeding yeast culture (Yea-Sacc) on cecum and colon pH of the equine. **Journal of Animal Science**, v.71, p.261 (Abstr.), 1993.
- MOORE, B.E.; NEWMAN, K. E.; SPRING, P. Effect of yeast culture (Yea Sacc1026) on microbial populations and digestion in the cecum and colon of the equine. **Journal of Animal Science**. v.72 (Suppl 1):252, 1994 (Abstr).
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Requeriments of domestic animals. Nutrient Requeriments of Horses**. 5 ed. Washington, N.A.S, 1989. 100p.
- OLIVEIRA, C. A. A.; ALMEIDA, F. Q.; VIEIRA, A. A., et al. Cinética de passagem da digesta, balanço hídrico e de nitrogênio em eqüinos consumindo dietas com diferentes proporções de volumoso e concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.1, p.140-149, 2003.
- ROGOSA, M.; MITCHELL, J. A.; WISEMAN, R. F. A selective medium for the isolation and enumeration of oral and fecal lactobacilli. **Journal of Bacteriology**. v.62, n.1, p. 132-133, 1951.
- SAKAITANI, Y.; YUKI, N.; NAKAJIMA, F. et al. Colonization of intestinal microflora in newborn foals. **Journal of Intestinal Microbiology**, v.13, p.9-14, 1991.
- SILVA, D.J. **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. Viçosa: Imprensa Universitária, 1990. 165p.
- VERMOREL, M. & W. MARTIN-ROSSET. Concepts, scientific bases, structures and validation of the French horse net energy system (UFC). **Livestock Production Science**, v.47, p261-275, 1997.
- YOON, I.K. AND M.D. STERN. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* cultures on ruminal fermentation in dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v.79, p.411, 1996.

YUKI, N.; SHIMAZAKI, T.; KUSHIRO, A. et al. Colonization of the stratified squamous epithelium of the non-secreting area of horse stomach by lactobacilli. **Applied and Environmental Microbiology**, v.66, p.5030-5034, 2000.