REGINA DE LIMA COSTA

Efeito de treinamento físico e inclusão de levedura viva na dieta sobre a digestibilidade dos nutrientes, parâmetros fisiológicos, de saúde digestiva e condicionamento físico de cavalos Puro Sangue Árabe

Pirassununga

2015

REGINA DE LIMA COSTA

Efeito de treinamento físico e inclusão de levedura viva na dieta sobre a digestibilidade dos nutrientes, parâmetros fisiológicos, de saúde digestiva e condicionamento físico de cavalos Puro Sangue Árabe

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso

Pirassununga

2015

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.3240
FMVZ

Costa, Regina de Lima

Efeito de treinamento físico e inclusão de levedura viva na dieta sobre a digestibilidade dos nutrientes, parâmetros fisiológicos, de saúde digestiva e condicionamento físico de cavalos Puro Sangue Árabe / Regina de Lima Costa. -- 2015.

121 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2015.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.

Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso.

1. Digestão. 2. Equinos. 3. Exercício. 4. Probiótico. 5. Microbiota. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Efeito de treinamento físico e inclusão de levedura sobre a digestibilidade dos nutrientes da dieta e parâmetros fermentativos fecais em cavalos da raça Puros Sangue Árabe", protocolado sob o CEUA nº 5345210814, sob a responsabilidade de **Alexandre Augusto De Oliveira Gobesso e equipe; Regina de Lima Costa** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei 11.794, de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMZV) em reunião de 12/11/2014.

We certify that the proposal "Effect of physical training and inclusion of yeast on digestibility of nutrients and fecal fermentative parameters on Arab race horses Pure Blood", utilizing 10 Equines (10 males), protocol number CEUA 5345210814, under the responsibility of **Alexandre Augusto De Oliveira Gobesso and team; Regina de Lima Costa** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes (or teaching) - it's in accordance with Law 11.794, of October 8 2008, Decree 6899, of July 15, 2009, with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of São Paulo University (CEUA/FMZV) in the meeting of 11/12/2014.

Vigência da Proposta: de 01/2015 a 12/2015

Área: Nutrição E Produção Animal

Procedência: Animais em vias de serem patrimoniados na FMVZ/USP, adquiridos com recursos FAPESP (Processo 2009/16569-7) sob responsabilidade do Prof. Dr. Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso e alojados no Laboratório de Pesquisa em Alimentação e Fisiologia do Exercício de Equinos VNP/FMVZ/USP – Campus de Pirassununga

Espécie: Equídeo

Gênero: Machos

idade: 60 meses

N: 10

Linagem: Puro sangue árabe

Peso: 473 kg

São Paulo, 19 de outubro de 2015

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Universidade de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: COSTA, Regina de Lima

Título: **Efeito de treinamento físico e inclusão de levedura viva na dieta sobre a digestibilidade dos nutrientes, parâmetros fisiológicos, de saúde digestiva e condicionamento físico de cavalos Puro Sangue Árabe**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: __/__/__

Banca Examinadora

Prof. Dr. : _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. : _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. : _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Aos meus amados pais Lázaro e Maria, que com muita simplicidade sempre me fortaleceram na conquista dos meus sonhos.

Ofereço

*À minha avó Vicência, exemplo
de bondade, paciência e amor à vida
que trarei comigo por todos os
dias de minha existência.*

AGRADECIMENTOS

A Deus pela oportunidade de viver e evoluir, com saúde, persistência e coragem!

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, à Universidade de São Paulo e aos professores e pós-graduandos do Departamento de Nutrição e Produção animal do Campus de Pirassununga, a todos que dividiram um pouquinho do seu conhecimento comigo;

Ao meu orientador, professor Alexandre Gobesso, pela oportunidade de realização do mestrado, por todo conhecimento compartilhado nestes anos, sempre o terei como Mestre! Não só pelo amor aos cavalos e à nutrição, mas pela dedicação e confiança em ensinar! Meu agradecimento será eterno;

Aos meus pais Lázaro e Maria, grandes amores da minha vida, por me ensinarem a amar a natureza e os animais, a valorizar o trabalho e as coisas mais simples da vida como plantar para colher, por ser meu alicerce: de coragem, de valores, de fé. Sem o carinho, amor e apoio de vocês, a vida não teria graça e os obstáculos seriam muito mais difíceis;

Ao meu querido irmão Ricardo, aos meus sobrinho Igor e Jule e a toda minha família, por serem tão queridos, pelo perdão das minhas ausências, que foram tantas... e por serem parte importante da minha história;

Ao meu companheiro e amado Gustavo, pelo amor, carinho e confiança, por sempre me incentivar em todos os projetos e conquistas de minha vida, por estar do meu lado, por tudo que crescemos juntos;

À Equipe de pós-graduandos do Laboratório de Alimentação e Fisiologia do Exercício em Equinos (LabEqui): Kátia, Gabriela, Mayara, Luiz, Yasmin, Paulo e Iaçanã, obrigada por cada momento vivido, entre lágrimas e sorrisos, aprendi muito com todos vocês. Obrigada pela paciência, pela sinceridade, pelo conhecimento compartilhado, pelo auxílio na realização deste trabalho e principalmente, pelas amizades construídas e oportunidade de trabalho em equipe! Desejo o melhor para todos! Kátia, obrigada por todos os exemplos de companheirismo, comprometimento e disciplina no trabalho! Você é realmente especial!

Aos alunos de Iniciação Científica, por estarem sempre dispostos a ajudar e somar forças para o sucesso de toda a equipe;

Aos estagiários, obrigada pelo auxílio nos trabalhos e pela oportunidade de ensinar, espero ter conseguido transmitir algum conhecimento, mesmo que pequenas coisas, não há prazer maior na vida que motivar alguém a crescer!

Aos funcionários Paulo, Edna e Fernando, obrigada por fazerem parte de nossa rotina, sempre facilitando nossa vida!

Aos amigos antigos e aos conquistados por aqui, por alegrarem todas as etapas desta conquista. Por me mostrarem a importância do apoio dos amigos que tornam nossos caminhos mais alegres e coloridos;

Ao Márcio, Aracy e Giovanni, por nos ajudarem a transformar momentos difíceis em simples etapa da vida! Obrigada por tudo;

A CAPES, pelo apoio financeiro que possibilita aos professores e alunos transformarem seus sonhos e ideias em realidade;

A Empresa Phileo Lesaffre Ltda, pela parceria e oportunidade de desenvolvimento deste estudo;

Aos cavalos, por fazerem parte dos meus sonhos de infância, da minha determinação do presente e com certeza, de realizações do futuro. Ao Ransey, Shawan, Jazz, Taleeze, Malcon Jaffar, Britan, Maximus, Lespoir, Al Rih e Darius por proporcionarem experiência inigualável;

Á todos que contribuíram de alguma maneira para a realização deste trabalho e plantaram junto comigo essa sementinha de conhecimento: Muito Obrigada! Está mais que provado que quanto maiores os obstáculos, mais doce o sabor da vitória! Esta conquista é de todos nós... Vamos comemorar!

“Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo, qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim”.

Chico Xavier

RESUMO

COSTA, R. L. **Efeito de treinamento físico e inclusão de levedura viva na dieta sobre a digestibilidade dos nutrientes, parâmetros fisiológicos, de saúde digestiva e condicionamento físico de cavalos Puro Sangue Árabe.** 2015. [Physical training effect and inclusion of live yeast in the diet on digestibility of nutrients, physiological health, digestive parameters and physical conditioning in Arabian horses]. 2015. 121 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015.

O objetivo do presente estudo foi investigar as implicações da suplementação com levedura viva *Saccharomyces cerevisiae* e de um programa de treinamento físico de baixa intensidade sobre a digestibilidade dos componentes da dieta (MS, PB, EE, FDN, FDA, MO e amido), a resposta glicêmica e insulinêmica, perfil sérico de triglicerídeos, colesterol total e frações (HDL-C; LDL-C; VLDL-C), bem como mensurar a produção dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) butírico, acético e propiônico, quantificar levedura viva nas fezes, avaliar o pH fecal, a população microbiana nas fezes e os níveis séricos de endotoxinas, além de mensurar a frequência cardíaca dos animais em exercício físico e na recuperação. Foram utilizados dez cavalos da raça Puro Sangue Árabe, machos, castrados, com idade média $72 \pm 7,5$ meses e peso médio de $473 \pm 34,75$ kg, alojados em baias individuais, alimentados com dieta constituída de 2% do PC em MS/dia, divididos em 0,75% de concentrado comercial multiparticulado e 1,25% de feno de gramínea (*Cynodon dactylon* sp. cv Tifton-85). Os tratamentos foram divididos em controle (sem adição de levedura) e suplementados (adição de 15g/dia de levedura viva *Saccharomyces cerevisiae*) em uma fase sem exercício e outra fase com exercício físico. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com esquema fatorial 2x2 e os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F. Para os coeficientes de digestibilidade observou-se efeito de exercício para os coeficientes de digestibilidade da MS, MO, FDN, FDA e PB ($P < 0,05$). Para a variável EE observou-se interação da inclusão de levedura e exercício físico ($P < 0,1$). O amido não apresentou efeito de tratamentos ($P > 0,1$). Para os níveis plasmáticos de glicose observou-se efeito de exercício ($P = 0,015$). Os níveis séricos de insulina não apresentaram efeito de tratamentos ($P > 0,1$). Para triglicérides e VLDL-C não foi observado efeito de tratamentos ($P > 0,1$). O CT, HDL-C e LDL-C apresentaram efeito de interação da inclusão de levedura e exercício ($P < 0,1$). Para a produção de AGCC nas fezes com base na matéria original (MO) não houve efeito para os ácidos acético e butírico ($P > 0,1$), no entanto, observou-se efeito da inclusão de levedura na produção do ácido propiônico ($P = 0,052$). A quantificação de levedura viva nas fezes

demonstrou efeito de interação da inclusão de levedura e exercício ($P<0,001$). Os resultados de pH apontaram efeito de interação da inclusão de levedura e exercício físico para as faixas de horário 1 ($P=0,050$) e 2 ($P=0,080$) e efeito de exercício para as faixas 3 ($P<0,007$) e 4 ($P=0,001$). Os resultados do perfil bacteriano nas fezes apontaram efeito de exercício para *Fibrobacter succinogenes* ($P=0,083$) e de interação da inclusão de levedura e exercício para *Lactobacillus genus* ($P=0,020$); não foi observado efeito de tratamentos para *Ruminococcus flavenfaciens* ($P>0,1$). Para os níveis séricos de endotoxinas, observou-se efeito de interação da inclusão de levedura e exercício ($P=0,689$). A FC dos animais em exercício demonstrou efeito de tempo durante o exercício ($P<0,001$). Para a FC de recuperação, foi possível observar interação da inclusão de levedura e exercício físico ($P=0,020$). A inclusão de levedura viva *S. cerevisiae* na dieta de equinos influencia a produção de AGCC propiônico. O exercício físico de baixa intensidade influencia os coeficientes de digestibilidade da MS, MO, FDN, FDA e PB, os níveis plasmáticos de glicose e a quantificação de *Fibrobacter succinogenes* nas fezes. A inclusão de levedura viva *S. cerevisiae* na dieta e o exercício físico influenciam o coeficiente de digestibilidade do EE, níveis séricos de HDL-C e LDL-C, a quantificação de levedura viva nas fezes, os níveis séricos de endotoxinas, o pH fecal, a quantificação de *Lactobacillus genus* nas fezes e a frequência cardíaca de recuperação pós-exercício. O tempo de exercício em cada velocidade influencia a frequência cardíaca dos animais durante o exercício físico.

Palavras-chave: Digestão. Equinos. Exercício. Probiótico. Microbiota.

ABSTRACT

COSTA, R. L. Physical training effect and inclusion of live yeast in the diet on digestibility of nutrients, physiological health, digestive parameters and physical conditioning in Arabian horses. [Efeito de treinamento físico e inclusão de levedura viva na dieta sobre a digestibilidade dos nutrientes, parâmetros fisiológicos, de saúde digestiva e condicionamento físico de cavalos Puro Sangue Árabe]. 2015. 121 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015.

The aim of this study was to investigate the implications of supplementation with live yeast *Saccharomyces cerevisiae* and a low-intensity exercise training program on digestibility of dietary components (DM, CP, EE, NDF, ADF, MO and starch), the glycemic and insulin response, serum profile of triglycerides (TC), total cholesterol and fractions (HDL-C, LDL-C, VLDL-C), measure the production of short chain fatty acids (SCFA) butyric acid, acetic and propionic, quantify yeast live in feces, evaluating faecal pH, microbial population in faeces and serum levels of endotoxins, in addition to measuring the heart rate of the animals exercise and recovery. Ten horses in the Purebred Arabian race, castrated male, mean age 72 ± 7.5 months and average weight of 473 ± 34.75 kg were used, housed in individual pens, fed diet consisting of 2% of the BW in DM / day, divided into 0.75% multiparticulate commercial concentrate and 1.25% grass hay (*Cynodon dactylon* sp. cv Tifton -85). The treatments were divided into control (no addition of yeast) and supplemented (plus 15 g / day of live yeast *Saccharomyces cerevisiae*) in one phase and another phase with and without exercise, respectively. The experimental design was completely randomized in a factorial 2x2 and the data were submitted to analysis of variance by F test. For the digestibility coefficients it was observed exercise effect for the digestibility coefficients of DM, OM, NDF, ADF and PB ($P < 0.05$). For the variable EE it was observed interaction of yeast inclusion and exercise ($P < 0.1$). Starch no effect of treatments ($P > 0.1$). For plasma glucose levels it was observed effect of exercise ($P = 0.015$). Serum insulin levels showed no treatment effect ($P > 0.1$). For triglycerides and VLDL-C was not observed treatment effect ($P > 0.1$). The TC, HDL-C and LDL-C showed interaction effect of adding yeast and exercise ($P < 0.1$). For the production of SCFA in the faeces based on this matter (OM) there was no effect for acetic and butyric acids ($P > 0.1$), however, it was observed effect of including yeast in the production of propionic acid ($P = 0.052$). The quantitation of live yeast in the feces demonstrated interaction effect of adding yeast and exercise ($P < 0.001$). The pH values indicated yeast inclusion of the interaction effect and exercise for time range 1 ($P = 0.050$) and 2 ($P = 0.080$) and exercise effect to the time range 3 ($P < 0.007$) and 4 ($P = 0.001$). The results of the bacteriological profile in feces showed exercise effect to *Fibrobacter succinogenes* ($P = 0.083$) and interaction of the yeast include the genus

Lactobacillus and exercise ($P=0.020$). It wasn't observed for treatment effects *Ruminococcus flavenfaciens* ($P>0.1$). For serum levels of endotoxin it was observed interaction effect of adding yeast and exercise ($P=0.689$). The CF of animals in exercise demonstrated time effect during exercise ($P<0.001$). For CF recovery, it was observed interaction of yeast inclusion and exercise ($P=0.020$). The inclusion of live yeast *S. cerevisiae* in horse's diet influences propionic SCFA production. The low-intensity exercise influences the digestibility coefficients of DM, OM, NDF, ADF and PB, the plasma levels of glucose and quantification of *F. succinogenes* in the stool. The inclusion of live yeast *S. cerevisiae* in horse's diet and exercise influence EE digestibility, serum levels of HDL-C and LDL-C, quantification of live yeast in the stool, serum levels of endotoxin, fecal pH and quantifying the genus *Lactobacillus* in stool and heart rate of post-exercise recovery. The exercise time at each speed influences the heart rate of the animals during exercise.

Keywords: Digestion. Horses. Exercise. Probiotic. Microbiota

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Equino pertencente ao grupo controle (Shawan)	61
Figura 2 -	Equino pertencente ao grupo suplementado com levedura (Maximus).....	61
Figura 3 -	Coeficientes de digestibilidade aparente da Matéria seca (MS), Proteína bruta (PB), Fibra em detergente neutro (FDN), Fibra em detergente ácido (FDA) e Matéria orgânica (MO) em função das diferentes fases do estudo (sem exercício e com exercício)	64
Figura 4 -	Coeficientes de digestibilidade aparente do Extrato etéreo em função dos diferentes tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício físico)	65
Figura 5 -	Área abaixo da curva (AAC) para as concentrações plasmáticas de glicose de acordo com os tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício)	68
Figura 6 -	Área abaixo da curva (AAC) das concentrações séricas de insulina (μ UI/mL de acordo com os tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício)	70
Figura 7 -	Valores de colesterol total (CT) e C-HDL (Fração de colesterol ligado à lipoproteína de alta densidade); C-LDL (Fração de colesterol ligado à lipoproteína de baixa densidade); em função dos diferentes tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício).....	72
Figura 8 -	Médias dos valores de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) nas fezes com base na matéria original (MO) em função dos diferentes tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício).....	73
Figura 9 -	Valores de ácidos graxos voláteis (AGV) nas fezes com base na matéria seca (MS) em função dos diferentes tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício).....	74
Figura 10 -	Valores de UFC (Unidades Formadoras de Colônia) em função dos diferentes tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício).....	76
Figura 11 -	Valores de pH fecal, em função dos diferentes tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício).....	78

Figura 12 -	Valores de <i>Fibrobacter succinogenes</i> nas fezes de equinos, em função dos diferentes tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício).....	80
Figura 13 -	Valores de <i>Lactobacillus genus</i> nas fezes de equinos, em função dos diferentes tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício).....	80
Figura 14 -	Valores de <i>Ruminococcus flavenfaciens</i> nas fezes de equinos, em função dos diferentes tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício).....	81
Figura 15 -	Valores da quantificação de endotoxina sérica em UE (Unidade de endotoxina) em função dos diferentes tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício físico).....	83
Figura 16 -	Variação das médias de Frequência em relação ao tempo de exercício	86
Figura 17 -	Valores médios de Frequência cardíaca de recuperação após 20 minutos do término do exercício nos diferentes dias de mensuração.....	88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Composição química do concentrado comercial e do volumoso (feno de Tifton-85) utilizados na dieta experimental.....	51
Tabela 2 -	Protocolo de treinamento físico utilizado durante a segunda fase do estudo	53
Tabela 3 -	Médias e erro padrão da média (EPM) para os diferentes coeficientes de digestibilidade (CD) aparente dos nutrientes, de acordo com os tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício).....	63
Tabela 4 -	Efeito de exercício físico sobre os coeficientes de digestibilidade da Matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e matéria orgânica (MO).....	64
Tabela 5 -	Médias e Erro Padrão da Média para Área Abaixo da Curva (AAC) para as concentrações plasmáticas de glicose de acordo com os tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício).....	68
Tabela 6 -	Médias e Erro Padrão da Média para as concentrações séricas de insulina (μ UI/mL) de acordo com os tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício)	70
Tabela 7 -	Perfil de gordura (PF) com as médias de Colesterol Total (CT), Fração de colesterol ligado à lipoproteína de alta densidade (HDL-C), Fração de colesterol ligado à lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) e Fração de colesterol ligado à lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) e Triglicérides (TRIG)	71
Tabela 8 -	Médias e erro padrão da média (EPM) para os valores da produção de Ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) nas fezes com base na matéria original, de acordo com os tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício)	73
Tabela 9 -	Médias e erro padrão da média (EPM) para os valores da produção de Ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) nas fezes com base na matéria seca, de acordo com os tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício)	74

Tabela 10 -	Efeito das médias das Unidades Formadoras de colônias (log UFC) em função dos diferentes tratamentos (controle e levedura; sem exercício e com exercício físico).....	76
Tabela 11 -	Médias e erro padrão da média (EPM) para os valores de pH fecal nas diferentes faixas de horário, de acordo com os tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício).....	77
Tabela 12 -	Médias e erro padrão da média (EPM) para os valores relativos de contagem bacteriana fecal de acordo com os tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício).....	79
Tabela 13 -	Quantificação de endotoxinas nas fezes em Unidade de endotoxina (UE) em função dos diferentes tratamentos (controle e levedura sem exercício e controle e levedura com exercício físico)	83
Tabela 14 -	Variação das médias das frequências cardíacas basal, máxima e final de acordo com os dias de mensuração (D0 – início da fase de exercício e D60 – final da fase de exercício)	87

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAC	Área abaixo da curva
ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
AGCC	Ácidos graxos de cadeia curta
ATP	Adenosina tri fosfato
CD	Coeficiente de digestibilidade
cv.	Cultivar
CNE	Carboidrato não estrutural
CE	Carboidrato estrutural
CT	Colesterol total
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EE	Extrato etéreo
EPM	Erro padrão da média
FDA	Fibra em detergente ácido
FDN	Fibra em detergente neutro
FNT- α	Fator de necrose tumoral alfa
HDL-C	Colesterol ligado à lipoproteína de alta densidade
IL-6	Interleucinas 6
LDL-C	Colesterol ligado à lipoproteína de baixa densidade
LPS	Lipopolissacarídeo
MM	Matéria mineral
MO	Matéria orgânica
MS	Matéria seca
OES	Óleo essencial
PB	Proteína bruta
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PC	Peso corpóreo
<i>S. cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
UFC	Unidades formadoras de colônia
VLDL-C	Colesterol ligado à lipoproteína de muita baixa densidade
vs	Versus

LISTA DE SÍMBOLOS

β	Beta
Ca^+	Cálcio
cm	Centímetros
/	Divido
P	Fósforo
g	Grama
g/dia	Gramas por dia
° C	Graus Celsius
h	Horas
=	Igual
kg	Quilograma
+	Mais
$\pm$	Mais ou menos
<	Menor
-	Menos
m	Metros
mg	Miligramma
mg/dia	Miligramas por dia
ml	Mililitros
mm	Milímetros
Min	Minutos
mM/L	Miliequivalentes por litro
mE/L	Miliequivalente por decilitro
mg/dL	Miligramma por decilitro
%	Porcentagem
Na^+	Sódio
$\mu\text{U/dL}$	micro unidade por decilitro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	22
2	OBJETIVOS	24
3	REVISÃO DE LITERATURA	25
3.1	ASPECTOS GERAIS DA NUTRIÇÃO EQUINA	25
3.2	ANATOMIA E FISIOLGIA DIGESTIVA DOS EQUINOS	27
3.3	DIGESTÃO DOS CARBOIDRATOS	30
3.4	MICROBIOTA INTESTINAL E FERMENTAÇÃO MICROBIANA	32
3.5	PROBIÓTICOS NA ALIMENTAÇÃO EQUINA.....	36
3.6	FISIOLOGIA DO EXERCÍCIO EM EQUINOS	40
3.7	METABOLISMO GLICÊMICO E INSULINÊMICO	44
3.8	METABOLISMO LIPÍDICO	46
4	MATERIAL E MÉTODOS	50
4.1	LOCAL	50
4.2	ANIMAIS	50
4.3	DIETAS	50
4.4	TRATAMENTOS.....	51
4.5	COLETA, PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS E ANÁLISES LABORATORIAIS	52
4.5.1	Avaliação de higidez	53
4.5.2	Digestibilidade aparente.....	53
4.5.3	Glicose e insulina.....	54
4.5.4	Triglicérides, colesterol total e frações.....	55
4.5.5	Perfil de ácidos graxos de cadeia curta (AGGC)	56
4.5.6	Quantificação de levedura viva nas fezes	56
4.5.7	pH fecal	57
4.5.8	Reação em Cadeia de Polimerase (PCR)	57
4.5.9	Níveis séricos de endotoxinas	58
4.5.10	Frequência cardíaca	58
4.6	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA	59
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	60
5.1	AVALIAÇÃO DA HIGIDEZ DOS ANIMAIS	60
5.2	DIGESTIBILIDADE APARENTE	62

5.3	GLICOSE SANGUÍNEA	68
5.4	INSULINA SANGUÍNEA	70
5.5	TRIGLICÉRIDES, COLESTEROL E FRAÇÕES.....	71
5.6	PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA	72
5.7	QUANTIFICAÇÃO DE LEVEDURA NAS FEZES	76
5.8	pH FECAL.....	77
5.9	REAÇÃO EM CADEIA DE POLIMERASE-PCR FECAL.....	79
5.10	ENDOTOXINA SÉRICA.....	82
5.11	FREQUÊNCIA CARDÍACA	86
6	CONCLUSÕES.....	89
	REFERÊNCIAS.....	90
	APÊNDICES	111

1 INTRODUÇÃO

O cavalo exerceu grande importância na formação econômica, social e política do Brasil, sendo que, no aspecto econômico, desempenhou importante papel de sela, como auxiliar na pecuária; de carga, transportando materiais e alimentos; e de tração, utilizado nas moendas e arados. No aspecto social, a partir da segunda metade do século XIX surgiram as atividades de esportes e lazer (LIMA et al., 2006).

A vivência entre homem e cavalo vem sofrendo grandes mudanças, coincidentes com o crescimento acentuado da Equideocultura nas últimas décadas. Em consequência das mudanças na utilização dos equinos, os estudos técnicos com enfoque no cavalo atleta ganharam destaque, visto que hoje é grande a criação desses animais exclusivamente para participação em eventos equestres. De acordo com dados da FAO (2013) existem mais de 58 milhões de cabeças de equinos no mundo, só no Brasil, estima-se que a população atualmente esteja em torno de 5,3 milhões de cabeças de cavalos (IBGE, 2013).

O rebanho equino brasileiro é o maior da América do Sul e quarto maior do mundo, superado apenas pelos Estados Unidos (9,5 milhões), China (7,9 milhões) e México (6,3 milhões), respectivamente. O maior número de animais foi observado no estado de Minas Gerais (14,3%), seguido pelos estados do Rio Grande do Sul (10,1%) e Bahia (9,1%). Os 30 segmentos inseridos no complexo brasileiro do agronegócio exclusivamente dos cavalos geram um faturamento anual de R\$7,3 bilhões e 642,5 mil empregos diretos, aproximadamente seis vezes mais que a indústria automotiva nacional e vinte vezes mais que a aviação civil brasileira. Somados aos empregos indiretos, o complexo equestre brasileiro ocupa 3,2 milhões de pessoas (LIMA et al., 2006; IBGE, 2013).

Sabe-se que os cavalos possuem características específicas por serem herbívoros, monogástricos, naturalmente pastejadores. No entanto, com a domesticação e seleção dos melhores animais pelo homem, o tempo de alimentação foi restringido e o concentrado foi adicionado à dieta, produtos e subprodutos de grãos de cereais com alto teor de amido passaram a ser usados em substituição ao volumoso, como fonte rápida de energia. Surgiu, então, a necessidade de melhorias na dieta visando índices mais produtivos, levando a criação de estratégias que potencializem o aproveitamento dos alimentos com um custo acessível.

O uso deste tipo de complemento vem ganhando espaço na preparação dos animais para as diferentes fases da vida e atividades que desenvolvem. A indústria de rações para animais atualmente é muito expressiva, com o Brasil ocupando o quarto lugar em produção de

rações no ranking mundial, superado pelos Estados Unidos, União Européia e China, segundo dados de 2010 fornecidos pelo International Feed Industry Federation (IFIF). De acordo as empresas produtoras de ração associadas ao Sindirações (2015), em 2013 e 2014, foram produzidos 65 milhões de toneladas de rações, com previsão de aumento para 67 milhões de toneladas em 2015, sendo 1% da produção destinada aos equinos. Com o rebanho em ascensão, é fundamental que as empresas invistam em tecnologias para suprir as necessidades do animal de forma sustentável minimizando efeitos colaterais da utilização destes produtos.

As situações diversas nesta área têm atraído bastante interesse dos pesquisadores em novos estudos que possam promover aos cavalos condições propícias para o máximo desenvolvimento e desempenho. Os probióticos surgem como uma estratégia nutricional capaz de promover a manipulação da microbiota intestinal para melhorar a saúde do hospedeiro, através da administração de diversas espécies de micro-organismos, dentre os mais usados, as culturas de leveduras despontam sugerindo equilíbrio da flora intestinal.

Paralelamente, as práticas de esportes equestres tiveram crescimento intenso no Brasil e no mundo. Os equinos cada vez mais são utilizados em diferentes tipos de esporte, sendo submetidos a diversos protocolos de treinamento visando aperfeiçoar o desempenho físico. Muitos estudos sobre a condição digestiva equina são reportados em cavalos estabulados sedentários, com pouca ou nenhuma prática de atividade física. No entanto, atualmente pesquisadores têm estudado o impacto do exercício físico sobre aspectos da saúde digestiva, principalmente em animais atletas por meio do conhecimento da fisiologia do exercício equino. Informações sobre a interação dos sistemas nervoso, respiratório, cardiovascular, músculo esquelético e metabólico são relevantes para que se possa maximizar o desempenho atlético.

Desta forma, fazem-se necessários novos estudos que possam elucidar aspectos importantes do comportamento da microbiota intestinal dos cavalos quando submetidos à inclusão de probióticos na dieta e protocolos de treinamento físico, inclusive os de baixa intensidade, através da avaliação de parâmetros fisiológicos, metabólicos e de condicionamento atlético, oferecendo novas oportunidades de pesquisa e aplicação prática desses ativos isoladamente ou em conjunto com o objetivo de garantir a manutenção da saúde digestiva desses animais.

2 OBJETIVOS

Investigar as implicações de um programa de treinamento físico de baixa intensidade e a inclusão de levedura viva *Saccharomyces cerevisiae* na dieta de equinos, avaliando:

- digestibilidade aparente dos nutrientes da dieta;
- resposta glicêmica e insulinêmica pós-prandial;
- perfil sorológico de triglicerídeos, colesterol total, frações;
- produção de ácidos graxos de cadeia curta (butírico, acético e propiônico);
- alterações quantitativas de leveduras vivas nas fezes;
- pH fecal;
- população microbiana das bactérias *Ruminococcus flavenfaciens*, *Lactobacillus* *genus e Fibrobacter succinogenes*;
- níveis séricos de endotoxinas;
- frequência cardíaca dos animais em exercício e na recuperação.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 ASPECTOS GERAIS DA NUTRIÇÃO EQUINA

À medida que a indústria equina cresce, a nutrição segue ganhando um grande espectro na produção, uma vez que, através da alimentação adequada, o animal conseguirá alcançar o seu potencial de desenvolvimento, de acordo com sua finalidade, raça, idade, etc. Para tanto, é importante conhecer o valor nutricional dos alimentos, suas limitações, os nutrientes requeridos pelos equinos e a técnica para combinar essas informações em uma dieta balanceada, a fim de atender as exigências nutricionais durante os vários períodos da vida do animal (CUNHA, 1991).

As exigências nutricionais para equinos adultos podem variar entre 1,5% a 2,5% do peso corpóreo (PC), em matéria seca (MS), podendo chegar a 3% do PC no caso de animais em lactação ou crescimento, com essa porcentagem associada à quantidade de fibra bruta na dieta (NRC, 2007).

De acordo com as exigências da espécie, a energia ocupa o papel de maior importância, principalmente para os animais em atividade física, pois é fornecida através da forragem e/ou mistura de forragem com concentrado. O tipo de atividade desenvolvida, tempo de duração, temperatura ambiente, condição do animal, dentre outros fatores podem ocasionar variações nas necessidades energéticas (HINTZ et al., 1971). De acordo com NRC (2007) a energia digestível de manutenção para um equino pesando 450 kg é aproximadamente 13,6 a 16,3 Mcal por dia. Já as exigências para o exercício, dependem do peso do cavalo, do cavaleiro, tempo e velocidade de trabalho (PAGAN; HINTZ, 1986).

O suprimento das necessidades proteica, vitamínica e mineral depende da forragem fornecida e da fase de vida que a planta se encontra (ANDRIGUETTO, 1984). De maneira geral, animais adultos requerem em média de 7 a 8,6% de proteína bruta de qualidade em sua dieta total, garantindo assim que os animais consumam os aminoácidos que necessitam. Porém, se o animal estiver recebendo suplementação com gorduras ou óleos, o teor de proteína bruta deverá ser aproximadamente 14%, ou seja, 40 gramas de proteína para cada megacaloria de energia digestível, sendo proporcional à ingestão de energia (LAWRENCE, 2008).

Respeitando seus hábitos naturais, o volumoso sempre foi considerado a base da alimentação do cavalo, contendo grandes quantidades de fibra bruta em sua composição. No entanto, com o passar dos anos e a introdução do concentrado na dieta sua utilização diminuiu. As dificuldades de manejo e a formação de pó durante a alimentação também contribuíram para a diminuição do uso (MEYER, 1995). Além disso, descobriu-se que apenas o seu fornecimento não é capaz de suprir as exigências energéticas para um animal em atividade física intensa, devido à baixa digestibilidade dos carboidratos da parede celular da forragem (JOUANY et al., 2008).

Os alimentos concentrados, em sua maioria grãos de cereais, foram inclusos na dieta dos cavalos, substituindo parte do fornecimento de forragem, chegando a níveis de inclusão de até 80%. Esses complementos são caracterizados por fornecer alta concentração de energia alimentar, com baixa quantidade de fibra bruta (LEWIS, 2000). Andriguetto et al. (1984) recomendam que em alimentações com concentrados o fornecimento regular seja dividido em pelo menos três refeições ao dia, além de uma fonte de volumoso de qualidade, com níveis de fibra bruta na dieta entre 16 a 18% (MEYER, 1995).

Faz-se necessário o equilíbrio entre o uso desses dois tipos de fonte energética, pois a fibra ocupa um papel bastante importante na manutenção da saúde equina, capaz de equilibrar a microbiota intestinal, evitando distúrbios gastrointestinais (PAGAN, 2001).

Vários fatores definem o consumo de alimento nesta espécie. Em condições naturais a alimentação é frequente, com ingestão de pequenas quantidades de alimento em curtos intervalos de tempo e quando estabulados recebendo alimento *ad libitum*, apresentam um comportamento similar. Quando há uma facilitação da ingestão do volumoso, através da picagem, moagem ou peletização, a ingestão total de alimento é elevada, chegando a um aumento de até 50% em potros (MEYER, 1995).

O conhecimento das práticas nutricionais é essencial para coordenar um bom programa alimentar, contudo, é necessário o conhecimento das características anatômicas e fisiológicas específicas desta espécie. Nos equinos, o estudo da fisiologia digestiva é imprescindível para realizar a adequação das necessidades nutricionais e maximizar a utilização dos alimentos fornecidos (FRAPE, 2008).

3.2 ANATOMIA E FISIOLGIA DIGESTIVA DOS EQUINOS

O cavalo é um animal que apresenta um trato digestório diferenciado por possuir características anatômicas e fisiológicas bastante específicas, que o diferencia de outros monogástricos. São classificados como herbívoros não ruminantes, com anatomia do aparelho digestório caracterizada por um estômago reduzido e um intestino grosso muito desenvolvido. Devido a estas particularidades, Meyer (1995) fraciona a digestão destes animais em pré-cecal, com ação enzimática predominante, e pós-ileal, com ação principalmente microbiana. Além de possuírem mastigação eficiente, os cavalos apresentam rápida taxa de passagem gástrica, digestão enzimática intensa no intestino delgado e ação microbiana no intestino grosso prolongada (WOLTER, 1975).

A digestão pode ser resumida em um sistema que começa na apreensão do alimento e termina na excreção dos resíduos e alimentos não digeridos no processo. Neste contexto, os principais compartimentos funcionais são a boca, esôfago, estômago, intestino delgado e intestino grosso (TISSERAND, 1983).

Na cavidade oral, a boca é responsável pela preensão dos alimentos pelos lábios, ingestão pela língua e alteração da forma física pelos dentes, a fim de prepará-lo para a propulsão pelo trato gastrointestinal, ocasionando a mistura com os sucos digestivos. A dentição funcional e intacta esmaga e mói os alimentos, disponibilizando proteínas e carboidratos que serão digeridos mais adiante no estômago e intestino delgado (FRAPE, 2004). A forragem é colocada entre os dentes pela força, mobilidade e sensibilidade do lábio superior, enquanto que a língua leva o alimento até os molares para ser triturado em partículas menores (PILLINER, 1999).

De acordo com Tisserand (1983), a dentição saudável é fundamental para o bem estar dos cavalos e problemas dentários podem ocasionar distúrbios digestivos como cólicas. Esses animais possuem um total de 24 dentes decíduos e 40 ou 42 dentes permanentes, através do aparecimento e substituição da dentição é possível estabelecer a idade aproximada. Os dentes caninos são evidenciados somente nos machos, salvo raras exceções em que as fêmeas são estéreis.

Como os cavalos possuem tanto os incisivos superiores como os inferiores, conseguem pastejar muito próximos ao solo, cortando a forragem. O tempo de permanência do alimento na boca depende da quantidade de movimentos mastigatórios (MEYER, 1995) e o número

destes movimentos para volumosos é maior do que o necessário para mastigar concentrados. (TISSERAND, 1983).

O alimento é moído pelos dentes molares, e deve ser cortado em partículas menores que 2 cm de comprimento para ser deglutido; a intensidade desse processo garante a passagem do conteúdo digestivo pelo orifício íleo-cecal e intestino grosso, além de proporcionar uma melhor digestão no intestino delgado além de estimular a secreção de saliva ainda na boca (PILLINER, 1999).

O cavalo possui três glândulas salivares: parótida, sublingual e submaxilar. Com a presença física do alimento na boca a secreção de saliva é estimulada, com excelente potencial lubrificante (PILLINER, 1999). A presença de bicarbonato, cerca de 50 miliequivalentes por litro (mE/L) permite este efeito, que acompanhado do poder tampão e do cloreto de sódio presente na saliva, são proporcionais à sua taxa contínua de secreção, com aumento durante a alimentação. Esta espécie possui mínimas quantidades de α -amilase, possivelmente com pouco impacto na digestão do amido (GEOR, 2010).

Como os cavalos que ingerem somente volumosos gastam mais tempo mastigando, menores quantidades de volumoso produzirão baixas quantidade de saliva, diminuindo a capacidade tamponante da ingesta, além do papel importante da mastigação na saúde mental dos cavalos, pois através dela é liberado o hormônio beta endorfina responsável pela sensação de bem estar nestes animais, (DACRE, 2005).

Após a lubrificação do alimento pelas características fisiológicas da saliva, ocorre a impulsão do bolo alimentar para o esôfago, através de ondas peristálticas e contrações de musculatura, a deglutição é realizada irreversivelmente no cavalo, uma vez que o véu palatino impede o retorno de alimentos (TIRESSAND, 1988).

A anatomia gástrica é o principal diferencial desta espécie. O estômago de um cavalo adulto é um órgão pequeno e grande parte da ingesta permanece retida de 2 a 6 horas (SANTOS et al., 2011), possui capacidade volumétrica de 15 a 20L (TISSERAND, 1983) adaptadas à recepção de pequenas quantidades de alimento várias vezes ao dia. Este segmento representa cerca de 8 a 10% do trato digestório total (CUNHA, 1991) e os processos digestivos ocorrem pela atividade simultânea de enzimas digestivas, micro-organismos e suco gástrico (MEYER, 1995).

A digestão no estômago e intestino delgado ocorre primariamente à fermentação microbiana, tornando estes animais capazes de utilizar nutrientes essenciais presentes na dieta, antes da ação de micro-organismos anaeróbicos, como exemplo os aminoácidos (TISSERAND, 1983). O estômago se preenche em camadas na região do saco cego

aglandular e na região glandular fúndica, sendo conduzido ao terço final onde será liquefeito (MEYER, 1995).

O intestino delgado nesta espécie é dividido em duodeno, jejuno e íleo. Pode medir até 20 metros em animais adultos de porte médio, representando até 30% do trato digestório (CUNHA, 1991). Neste compartimento, através de mudanças de tônus e contrações rítmicas, o conteúdo intestinal é misturado e sofre ação de enzimas secretadas pelo pâncreas, proteolíticas, amilolíticas e as lipases, além da atuação da presença de alta concentração de micro-organismos anaeróbicos que aumentam à medida que se aproxima da sua porção final (MEYER, 1995).

De acordo com Wolter (1981), no intestino delgado ocorre principalmente a digestão enzimática e a parede deste segmento é muscular, rígida e innervada, recebendo fortes ondas de contração, facilitando a progressão do conteúdo intestinal. O substrato é muito aquoso e a concentração de matéria seca muda conforme a dieta, sendo menor em dietas à base de volumoso e maior conforme aumenta o nível de concentrado. A maioria dos carboidratos não estruturais podem ser hidrolisados em monossacarídeos, enquanto que os carboidratos estruturais sofrerão fermentação bacteriana principalmente no ceco e cólon maior (GEOR, 2010). Em geral, os aminoácidos são absorvidos e usados para o crescimento e reparação de tecidos no intestino delgado (BRIGGS, 2007; ZEYNER et al., 2010).

A vesícula biliar não está presente nestes animais, então a bÍlis é secretada continuamente do fÍgado para o intestino delgado concomitantemente às secreções pancreáticas. O fÍgado é o principal Órgão de metabolismo de lípÍdeos. A gordura é emulsificada pelos ácidos biliares, digerida pelas lipases intestinais e absorvida principalmente no íleo para se juntar ao sistema linfático (JULLIAND et al., 2008).

O intestino grosso representa cerca de 60 a 62% do trato digestório total, constituído de ceco, cólon e reto e recebe alimentos não degradados pelo estômago e intestino delgado Cunha (2001) e, segundo Julliard et al. (2008), o cólon é subdividido em ventral esquerdo e direito, dorsal direito e esquerdo, transversal e menor. De acordo com Pagan (2009), neste local há uma grande quantidade de bactérias e protozoários produzindo enzimas que irão degradar as forragens e o que não foi digerido no intestino delgado (15% de amido, 5 a 10% de extrato etéreo, 10 a 70 % de proteína, 85 a 95% de carboidratos).

Esse compartimento é o local primário de digestão dos carboidratos estruturais os quais são digeridos por enzimas produzidas pelos micro-organismos presentes; o produto final será absorvido na forma de ácidos graxos de cadeia curta, como acetato, propionato e butirato, além de vitaminas e aminoácidos (HINTZ et al., 1971). A retenção seletiva no intestino

grosso ocorre em dois locais. No ceco e cólon ventral ocorre a retenção de partículas grosseiras e no cólon dorsal e distal ocorre a retenção de líquido e partículas pequenas de tamanho inferior a 2 cm. A contração muscular da parede do cólon impulsiona o líquido em direção ao cólon dorsal direito resultando em retenção seletiva de líquido e partículas finas neste local (DROGOUL et al., 2000).

O ceco é um órgão muito ativo composto de uma rica microbiota de bactérias e protozoários responsável pela fermentação da fibra. Ocorre que a quebra e absorção dos carboidratos solúveis e proteínas acontecem antes do intestino grosso, o que pode diminuir o aproveitamento destes nutrientes, uma vez que pouco material além do fibroso atinge o ceco (UDEN; VAN SOEST, 1982; THOMASSIAN, 2005).

3.3 DIGESTÃO DOS CARBOIDRATOS

Os carboidratos são formados por moléculas de carbono, hidrogênio e oxigênio, sendo avaliados nas dietas em função das características anatômicas dos vegetais, com ênfase na parede celular vegetal e no conteúdo celular (VAN SOEST, 1994). Podem ser classificados em não estruturais (CNE) e estruturais (CE). Os CNE são carboidratos simples como a glicose, frutose, lactose, sacarose, amido e outros que podem ser digeridos por enzimas dos equinos. Os CE constituem a parede celular constituído pela hemicelulose e celulose. São resistentes à digestão pelas enzimas no trato digestório, necessitando da presença dos micro-organismos do intestino grosso para serem fermentados. Esta fração de carboidratos compõe a fibra, muito importante na manutenção da saúde do trato gastrointestinal dos equinos (PAGAN, 1999).

De acordo com Pagan (1999) os carboidratos constituem em torno de 70% da proporção da dieta desta espécie, sendo necessário equilíbrio entre as fontes estruturais e não estruturais. Uma dieta com elevadas quantidades de amido pode levar à saturação da capacidade do intestino delgado, permitindo que altas quantidades de amido possam chegar ao ceco e cólon, alterando a população bacteriana local, o que pode elevar a produção de ácido láctico. Estas mudanças irritam a parede intestinal alterando o pH do conteúdo, ocasionado morte de bactérias gram negativas, com liberação de endotoxinas capazes de ultrapassar a barreira mucosa do intestino e ganhar a circulação, facilitando o acometimento de laminites.

A quebra de carboidratos pode ser por hidrólise ou fermentação, dependendo da ligação das suas moléculas de açúcar. As ligações com α 1-4 sofrem hidrólise e as ligações β 1-4 sofrem fermentação. Os carboidratos hidrolisáveis incluem as hexoses, dissacarídeos, oligossacarídeos e amido não resistente á hidrólise enzimática, enquanto que os fermentáveis incluem fibras solúveis, amido resistente á hidrólise enzimática, hemicelulose, celulose e lignocelulose (HOFFMAN, 2009).

Hoffman et al. (2001) afirmam que a ingestão excessiva de carboidratos hidrolisáveis e de rápida fermentação pode ocorrer em momentos em que a pastagem está em crescimento e os animais são suplementados com concentrado. Estes carboidratos são encontrados em grandes quantidades em grãos de cereais e gramíneas novas, confirmando a possibilidade de ocorrência de desordens metabólicas e digestivas devido a essa associação. Neste contexto, Drogoul et al. (2001) e Fombelle et al. (2001) confirmam que o alto teor de concentrado na dieta resulta em aumento de carboidratos hidrolisáveis no intestino grosso, por conta de um aumento na passagem destes do intestino delgado para o ceco, o que ocasiona mudanças na microbiota. Diversos problemas podem estar associados ao excesso de amido ou outros carboidratos rapidamente fermentáveis na dieta dos cavalos, como cólicas, laminites e distúrbios gástricos (GARNER et al., 1977; POLLIT et al., 2003), Potter et al. (1992) recomenda um fornecimento máximo de 3,5 g de amido/kg de PC/refeição para evitar distúrbios gastrointestinais comprometendo a saúde desses animais.

No intestino delgado dos cavalos, a hidrólise ocorre principalmente pela α -amilase pancreática e a fermentação ocorre predominantemente no intestino grosso, mas pode ocorrer em qualquer área do trato digestivo, onde a população de micro-organismos seja suficientemente estabelecida (VAN SOEST, 1994).

A eficiência de utilização da fibra dietética pelos equinos está associada a importantes fatores, como a composição da dieta, especialmente a proporção entre volumoso e concentrado, os níveis de fermentação microbiana e a taxa de passagem da digesta pelo trato digestório, sendo que o aumento da digestibilidade da fibra geralmente está associado ao aumento do tempo de retenção da digesta (DROGOUL et al., 2001; FOMBELLE et al., 2001).

3.4 MICROBIOTA INTESTINAL E FERMENTAÇÃO MICROBIANA

Os cavalos possuem um ecossistema microbiano intestinal que responde por grande parte de seu processo de digestão, especialmente no que se refere à degradação da fibra. Abriga uma abundante e diversificada comunidade de micro-organismos capazes de fornecer nutrientes essenciais através da degradação e fermentação de carboidratos complexos que de outra forma estariam indisponíveis (SADET-BOURGETEAU; JULLIAND, 2010).

Jansson e Lindberg (2012) observaram aumento significativo de acetato no plasma sanguíneo antes e após treinamento físico em cavalos alimentados apenas de forragens, denotando a importância do balanço energético e da fermentação cecal, confirmando a hidrólise das ligações β -1,4-glicosídicas e quebra da celulose, hemicelulose, frutanos ou galactanos em açúcares simples, com a fermentação do produto final pela microbiota do ceco com produção de ácidos graxos de cadeia curta (principalmente ácido acético, propiônico e butírico), que se tornam uma fonte de energia para o cavalo (cerca de 30% do toda energia digestível). De acordo com Clauss et al. (2013) a possibilidade de obtenção de energia a partir da fibra dietética torna possível que cavalos sejam mantidos exclusivamente com volumosos de boa qualidade.

Estima-se que de 30% (KERN et al., 1973) a 80% (KERN et al., 1974) da população microbiana do ceco e cólon dos cavalos seja estritamente anaeróbia. As bactérias podem ser classificadas em celulolíticas, proteolíticas, bactérias que consomem lactato e glicolíticas. As amilolíticas, principalmente *Lacobacillus* e *Streptococcus*, possuem a capacidade de digerir principalmente carboidratos que escapam à digestão enzimática no intestino delgado. O equilíbrio entre estes grupos de bactérias é importante para garantir a otimização da degradação da fibra e está diretamente relacionada à dieta do animal (DALY, 2012).

Koike et al. (2000) concluíram que a população de bactérias celulolíticas no ceco é constituída principalmente de cepas específicas de *Ruminococcus flavefaciens*, *Ruminococcus albus* e *Fibrobacter Succinogenes*. Além disso, De Fombelle et al. (2003) constataram que as populações de bactérias celulolíticas e utilizadoras de lactato tendem a ser mais baixas no ceco do que em outras partes do aparelho digestivo, sugerindo uma menor exposição do ceco a carboidratos rapidamente fermentáveis.

Estudando populações bacterianas no intestino grosso dos cavalos em diferentes segmentos, Dougal et al. (2013) constataram que a comunidade bacteriana determinante no íleo em porcentagem de abundância relativa é composta por membros da família

Lactobacillaceae (16,4%), seguidos de Pasteurellaceae (8,57%). Na região do ceco, membros da ordem Bacteroidales (3,74%) apresentaram maior concentração, seguida de membros da classe Clostridia (3,09%). As porções do cólon dorsal e ventral direito e esquerdo apresentaram maior proporção de bactérias da classe Clostridia, enquanto que no cólon menor e nas fezes a predominância foi da família Prevotellaceae (2,52%) e (5,74%), respectivamente.

A produção de ácidos graxos de cadeia curta no intestino grosso dos equinos pode suprir em grande parte a necessidade energética de manutenção, através do consumo de forragens, porém para atingir a necessidade energética de cavalos em atividade, se torna insuficiente, sendo suprido tradicionalmente pela adição de grãos e/ou subprodutos de grãos de cereais que possuem grandes quantidades de amido, que fornecem mais energia do que as forragens (NRC, 2007). A proporção de ácido acético, butírico e propiônico podem variar de acordo com o tipo de carboidrato do alimento. Comparada uma dieta com alto teor de fibra a outra com elevadas concentrações de amido, esta última resulta em maior produção de ácido propiônico. Durante a fermentação são produzidos os três ácidos graxos, no entanto apenas o propionato será convertido em glicose (SWENSON; REECE, 1996). De acordo com Bergman (1990) o acetato é o principal ácido graxo produzido, a proporção acetato: propionato: butirato pode variar de 75:15:10 a 40:40:20, dependendo da composição da dieta.

O ácido láctico é produzido durante a degradação do amido pelas bactérias amilolíticas. Em condições normais, é usado pelas bactérias secundárias para produzir o propionato, permanecendo em baixas concentrações. Quando ocorre queda de pH cecal, ocorre uma inativação das propionobactérias, com prevalência das amilolíticas, elevando a produção de ácido láctico ocasionando acúmulo, com possíveis quadros de acidose metabólica (SWENSON et al., 1993). De acordo com Hoffman (2003), parte do ácido láctico produzido no intestino é absorvida, com potencial de alterar seus níveis plasmáticos, no entanto, quando presente no ceco e cólon reduz o pH do ambiente, ocasionando a lise de bactérias e aumentando o risco de endotoxemia e laminite. A regulação do pH do lúmen intestinal é um dos mais importantes mecanismos na preservação da função normal do intestino grosso (ARGENZIO, 1996).

O teor de fibras da dieta pode influenciar o pH intestinal, principalmente do ceco e cólon e a sua diminuição pode ocasionar morte de bactérias anteriormente prevalecentes e lançar endotoxinas no intestino e na circulação (PAGAN, 1999). Ao mesmo tempo, dietas com alta concentração de carboidratos propiciam a ocorrência de distúrbios fermentativos no intestino grosso de equinos, pelo favorecimento do crescimento de bactérias como *Lactobacillus sp.* e *Streptococcus bovis*, que são produtoras de ácido láctico, acarretando uma queda brusca de pH. A

partir daí podem surgir diversos distúrbios pela ação deste meio ácido sobre a mucosa (MOORE et al., 1979).

Portanto, é importante garantir a saúde digestiva dos cavalos, com um correto balanceamento da dieta e avaliação do comportamento do organismo do animal frente à alimentação. A análise bromatológica dos alimentos pode ser importante ferramenta para conhecer a fração de cada nutriente e adequar o percentual nutricional da dieta de acordo com as exigências do animal. No entanto, para uma avaliação da quantidade real dos nutrientes absorvidos pelo organismo é necessária a mensuração da digestibilidade aparente dos nutrientes da dieta. Esta avaliação pode ser realizada por diferentes métodos sendo que, Araújo et al. (2003) sugerem um período de coleta total de fezes de cinco dias suficientes em ensaios de digestão com equinos e De Marco et al. (2012) afirmam que a coleta total de fezes ainda é considerada o melhor método devido à sua precisão.

A digestibilidade aparente é conceituada como a fração do alimento consumido que não é recuperada nas fezes. Quando se realiza esta avaliação em cavalos, alguns fatores devem ser considerados por ocasionarem alterações no processo digestivo: a individualidade, quantidade de alimento ingerido, exercício físico, tamanho de partículas do alimento, teor de água, tempo de trânsito do alimento pelo trato digestivo e quantidade de fibra presente na ração (OLSON; RUDVERE, 1955; ANDRIGUETTO et al., 1999).

A grande variedade de compostos utilizados na alimentação de cavalos na atualidade, principalmente nas rações, em combinação com as diferentes raças e tipos de atividades desenvolvidas influenciam os processos digestivos (JENSEN et al., 2010; RAGNARSSON; JANSSEN, 2011). Além disso, distúrbios gastrointestinais tornaram-se questões muito importantes neste grupo de animais. Portanto, as medidas de digestibilidade são essenciais não somente em termos de avaliação da alimentação, mas também no âmbito da saúde intestinal e desempenho (CICHORSKA et al., 2014).

Um dos problemas ocasionados por desequilíbrios alimentares em cavalos refere-se à presença de endotoxinas na circulação sanguínea, no trato digestivo dos equinos é comum, porém é restrita ao lúmen intestinal por uma barreira mucosa bastante eficiente. No entanto, pequenas quantidades podem atravessar essa barreira e serem absorvidas pela circulação portal, sem sucesso no alcance à circulação sistêmica, pois são retiradas pelo fígado (MOORE; BARTON, 2003). O sistema retículo endotelial hepático é eficiente na remoção de endotoxinas absorvidas no sangue portal e na circulação sistêmica, porém quando há insuficiência hepática ou a quantidade de endotoxinas supera a capacidade dos mecanismos normais de remoção, desenvolve-se a endotoxemia (JACOB et al., 1977).

A instalação da endotoxemia em cavalos ocorre subsequentemente às desordens gastrintestinais que causam perturbações na barreira mucosa do intestino. Diversos fatores podem contribuir para o início deste processo, como pequenos desequilíbrios no ciclo de fermentação no cólon, facilitando a passagem de endotoxinas do lúmen intestinal para a corrente circulatória. Quando ocorre uma rápida replicação, lise ou morte das bactérias gram-negativas, um componente lipopolissacarídeo estrutural é liberado da membrana celular externa. Este componente estável ao calor é referido como endotoxina, ela possui uma região nuclear que consiste principalmente de monossacarídeos e um fragmento de molécula de endotoxina tóxico e altamente conservado, denominado lipídeo A (porção ativa da bactéria gram-negativa) (COLLATOS; MOORE, 1995).

Uma vez na cavidade peritoneal, a endotoxina age como um sinalizador de lesão intra-abdominal. Macrófagos peritoneais e células mesoteliais respondem rapidamente por meio da secreção de uma variedade de mediadores pró-inflamatórios incluindo o fator de necrose tumoral (FNT- α) e IL-6 (BARTON; COLLATOS, 1999). Pequenas quantidades de endotoxinas que escapam para o interstício, vasos linfáticos e eventualmente para a circulação sanguínea são fagocitados pelas células de Kupffer no fígado ou são neutralizados pelos anticorpos anti-LPS e lipoproteínas de alta densidade, mas a enorme população de bactérias gram-negativas no trato intestinal do equino produz um enorme reservatório de endotoxinas, normalmente confinadas no lúmen do intestino saudável por barreiras protetoras da mucosa. No entanto, se a parede intestinal é danificada por isquemia, infecção, inflamação, hipoxemia ou trauma, a endotoxina contida ganha acesso à circulação (BARTON, 2003).

Olson et al. (1995) afirmam que presença de endotoxinas na circulação parece ser o fator desencadeante da fisiopatologia associada com choque séptico clínico durante a endotoxemia. Nestas condições, os mecanismos bioquímicos celulares e fisiológicos envolvidos na deterioração da função cardiovascular ainda não estão bem compreendidos. No entanto, acredita-se que a endotoxina possa induzir a ativação de mecanismos de defesa do hospedeiro, possuindo uma relação direta com a instalação de inflamação tecidual excessiva, a disfunção e a falha de órgãos, bem como colapso cardiovascular, falência renal aguda e íleo adinâmico (BEUTLER et al., 1986; HENRY; MOORE, 1990; SEETHANATHAN et al., 1990; MOORE et al., 1995; OLSON et al., 1995).

Atualmente, existe um ensaio disponível capaz de detectar endotoxinas (LPS) que consiste em um bioensaio baseado em lisado de amebócitos, uma enzima encontrada nas células do sangue do caranguejo-ferradura. O amebócito *Limulus* lisado (LAL) foi descrito pela primeira vez por Levin e Bang (1964) como uma gelatina capaz de aglutinação e, na sequência, foi desenvolvido

para detectar LPS em sangue humano (TACHIYAMA et al., 1986). Este ensaio foi modificado em outras formas, como o cromogênico, e utilizado para uma variedade de aplicações, como testes de contaminação de LPS em produtos farmacêuticos. É possível observar em alguns trabalhos a utilização deste método para detecção de endotoxina no plasma em cavalos acometidos por cólica (KING; GERRING, 1988; STEVERINK et al., 1994).

3.5 PROBIÓTICOS NA ALIMENTAÇÃO EQUINA

O primeiro conceito de probiótico foi relatado por Elie Metchnikoff em 1907, quando observou que o consumo de leite fermentado por um grupo étnico específico, garantiu maior longevidade, sugerindo que estes produtos pudessem manipular a microbiota intestinal, contribuindo para o equilíbrio das bactérias patogênicas e benéficas. No entanto, o termo probiótico foi proposto pela primeira vez em 1965 por Lilley e Still Well para descrever substâncias secretadas por um organismo que favorecem o crescimento de outro, com efeito contraditório ao dos antibióticos (WEESE et al., 2003).

Estes ativos são micro-organismos que, quando ingeridos, além de possuírem efeito nutritivo, exercem influência benéfica ao hospedeiro (GUARNER; SCHAAFSMA, 1998). O uso de produtos que contenham estas substâncias vem se tornando comum na Medicina Veterinária, com aplicabilidade em várias espécies, sendo classificados como suplementos alimentares (CANGANELLA et al., 1997; GILLILAND; SPECK, 1997; WEESE, 2002).

A microbiota intestinal dos animais começa a ser formada quando o feto passa pela vagina da mãe, e então são adquiridos bactérias, fungos e protozoários específicos para a espécie, cuja estabilização populacional precisa se manter equilibrada, a fim de auxiliar o indivíduo a resistir a infecções, particularmente do trato gastrointestinal. No entanto, durante a vida, diversos fatores podem influenciar esse processo, dentre estes a dieta e fatores ambientais como excesso de higiene, o uso de antibióticos terapêuticos e estresse (FULLER, 1989).

Uma gama variada de micro-organismos pode ser usada como probióticos a fim de proporcionar enzimas digestivas e tentar estabelecer um equilíbrio desejável dos organismos intestinais, sendo os mais comuns as bactérias ácidoláticas, gram-positivas, geralmente catalase-negativas, capazes de crescer em microaerofilia, incluindo as espécies ácidoláticas dos gêneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*,

Pediococcus, *Sporolactobacillus* e *Streptococcus*; espécies não ácidoláticas, tais como, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Propionibacterium freudenreichii*, além das leveduras vivas como a *Saccharomyces cerevisiae*. No entanto, esta última têm sido a mais estudada (HOLZAPFEL et al., 2001; OITICICA, 2007).

As leveduras são fungos unicelulares, esféricos ou ovais, a maioria apresenta uma fase unicelular e outra filamentosa, alternando a forma de acordo com condições ambientais. A maioria dos fungos permanece a maior parte do seu ciclo de vida como filamento. No entanto, algumas espécies como a *Saccharomyces cerevisiae* permanecem como leveduras, alternando para filamentosos somente em casos específicos, como em baixas condições de nitrogênio no ambiente. Contudo, em laboratório são fornecidas todas as condições para que ela possa continuar na forma de levedura (RAVEN et al., 2011).

A multiplicação de suas células ocorre por meio de brotamento ou fissão, utilizando diferentes fontes de carbono. São micro-organismos anaeróbios facultativos, capazes de sobreviver sem a presença de oxigênio. Em geral, os processos de propagação e produção de biomassa de leveduras são aeróbios como acontece com o fermento de pão. Neste exemplo, as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* podem converter oxigênio e açúcar em dióxido de carbono e biomassa celular gerando um saldo de 36 ATP's por molécula de glicose. A energia que as células utilizam para suas funções metabólicas e multiplicativas provém desta produção de ATP (AMORIM; LOPES, 2009).

De acordo com Chaucheyras-Durand e Durand (2010), os principais efeitos do uso dos probióticos foram encontrados nos animais durante os períodos mais estressantes como: ao desmame, no começo do período de lactação e após mudanças na dieta de alta forragem para alta concentração de carboidratos rapidamente fermentáveis, os quais podem ocasionar distúrbios fermentativos e desordens intestinais.

Segundo Schoster et al. (2014), há quatro principais mecanismos de ação pelos quais os probióticos previnem a colonização de bactérias patogênicas no trato digestivo. Estes ativos podem influenciar o sistema imune do hospedeiro, através de metabólitos de bactérias vivas ou mortas, componentes da parede celular ou DNA, garantindo a manutenção da barreira intestinal por junções apertadas, com sobrevivência de células epiteliais intestinais e crescimento e indução de IgA, além da produção de b-defensina, resultando em supressão do crescimento de patógenos, evitando inflamação local e sistêmica (OELSCHLAEGGER, 2010).

Algumas cepas probióticas produzem várias substâncias que são efetivamente antimicrobianas. Os ácidos graxos, láctico e acético, são produzidos em grandes quantidades e, em menores quantidades, são produzidos ácido fórmico, ácidos graxos livres, amônia, peróxido

de hidrogênio, diacetil, enzimas bacteriolíticas, bacteriocinas e outros antibióticos (SAARELA et al., 2000). Algumas cepas aderem às células epiteliais do hospedeiro e interferem na aderência de patógenos por bloqueio dos receptores ou aumento na produção de *Lactobacillus rhamnosus* GG, diminuindo a aderência de bactérias patogênicas como *Salmonella*, *Escherichia coli*, e *Clostridia* na mucosa da parede intestinal (COLLADO et al., 2007). Além disso, podem inativar toxinas por mecanismos metabólicos, podendo ligar-se a elas, impedindo sua biodisponibilidade para o hospedeiro (CASTAGLIUOLO et al., 1999).

Alguns autores afirmam que a adição de leveduras na dieta de equinos pode manter o equilíbrio da microbiota intestinal, além de manipular a população microbiana no intestino grosso, visando melhorar a digestão dos ingredientes da dieta e o controle do ambiente intestinal, o que levaria ao maior desenvolvimento e melhor desempenho desses animais (MONTES; PUGH, 1993; WEESE, 2002).

De acordo com Fuller (1989), os possíveis mecanismos de ação de tais aditivos estão principalmente relacionados com a competição por nutrientes ou sítios de ligação, produção de componentes antibacterianos, simulação de imunidade pelo aumento do nível de anticorpos ou da atividade macrófaga e alteração do metabolismo microbiano pelo aumento ou redução da atividade enzimática.

Diversos efeitos são relatados pelo uso de *Saccharomyces cerevisiae*, como a melhoria da qualidade do leite em éguas ou de crescimento em potros (GLADE, 1991). Alguns autores explicam o uso específico deste gênero, principalmente pelo efeito encontrado de aumento da utilização digestiva da energia da dieta, além do impacto sobre a digestibilidade dos nutrientes (GLADE; BIESIK 1986; HALL JACKSON et al., 1990; PAGAN 1990; GLADE 1991; KIM et al., 1991; GLADE, 1992; HAUSENBLASZ; SZUCO, 1993; MOORE; NEWMAN, 1994; HILL; GUTSELL, 1998; GLADE; SIST, 1998; MEDINA, 2003).

Tosi et al. (1989) estudaram a adição de leveduras em níveis de até 300 g/kg na dieta concentrada de potros e relataram um aumento na digestibilidade da matéria seca, proteína bruta, fibra em detergente neutro e hemicelulose em adição de 300 g/kg de levedura no concentrado em comparação com dietas com 200 g/kg de levedura. Já Whitaker et al. (1995), estudaram a adição de 150 ou 300 g/kg de levedura no concentrado de potros com 14 meses de idade e não encontraram efeitos sobre a digestibilidade da matéria seca, proteína bruta, fibra em detergente neutro e energia bruta.

No entanto, a capacidade desses micro-organismos de modificar o ambiente do trato gastrointestinal equino e sua população ainda é bastante discutida e os resultados são controversos. De acordo com Jouany et al. (2009), a adição de leveduras vivas é conhecida por

aumentar a digestão das frações de fibra da dieta. Medina et al. (2002) afirmam que existem também efeitos positivos sobre a digestão de celulose e FDA, independente da dieta. Neste estudo sobre o perfil de fermentação e padrão microbiano no intestino grosso de cavalos, os autores descobriram que os efeitos de interação entre o uso de *Saccharomyces cerevisiae* e a dieta estão principalmente no ceco, possivelmente devido à maior contagem de células de levedura neste local. Sugere-se que efeitos são possíveis apenas quando as células da levedura viva presentes nos ecossistemas intestinais estão viáveis (NAGARAJA et al., 1997).

Os resultados obtidos com a utilização destes produtos podem variar de acordo com as cepas das leveduras e as quantidades utilizadas, além da composição da ração. As cepas de *Saccharomyces cerevisiae* CBS 493.94 mostraram benefícios na digestibilidade da fibra de celulose e hemicelulose. Outros efeitos positivos foram encontrados sobre a parede celular das plantas (FDN), indicando aumento do coeficiente de digestibilidade quando a proporção de concentrado diminuiu na dieta (JULLIAND, 2006).

De acordo com a FAO (Food Agriculture Organization) e a OMS (Organização Mundial da Saúde, 2002), há muitos fatores importantes para a escolha de um micro-organismo para o desenvolvimento de probiótico, novas diretrizes determinam que as cepas devem ser capazes de sobreviver ao meio gástrico, possuir propriedades antimicrobianas, aderir ao muco e células epiteliais e ser capazes de resistir aos rigores da produção.

Dessa forma, Fuller (1989) e Weese (2001), confirmaram que o sucesso na adesão de tais probióticos no trato gastrointestinal depende de diversos fatores que lhes permite resistir aos mecanismos antimicrobianos presentes no intestino, estando eles relacionados com a capacidade de se manter no trânsito intestinal, resistindo à ação enzimática, habilidade em aderir-se às células epiteliais do intestino a fim de colonizá-lo, apresentar taxa de crescimento superior a sua eliminação pelo peristaltismo intestinal junto com o alimento, produzir fatores antimicrobianos e inibir patógenos entéricos.

Muitos fatores influenciam os resultados obtidos com uso dos probióticos, inclusive as leveduras, sendo a dieta é apenas um deles, uma vez que o efeito estimulante de crescimento é variável e ocorre em animais afetados pela depressão do desenvolvimento da microbiota, além de depender da adequada concentração de micro-organismos viáveis a serem manipulados na preparação dos mesmos. A variabilidade dos resultados das pesquisas realizadas pode ainda estar associada com as diferentes cepas, nível de dose, condição de armazenamento, estratégia de alimentação e interações com drogas (FULLER, 1989).

Diversas consequências podem surgir em equinos, principalmente em animais atletas,

quando é comumente utilizada uma dieta rica em cereais, principalmente amido, levando à chegada deste ao ceco e cólon. Uma estratégia para limitar os efeitos negativos deste processo pode basear-se no aumento da digestão de amido no intestino delgado (KIENZLE, 1994), ou na adição de culturas de leveduras na dieta para manipular a atividade microbiana intestinal. Em ruminantes, esta prática tem-se mostrado bastante eficiente em melhorar o ambiente ruminal (NAGARAJA et al., 1997).

3.6 FISILOGIA DO EXERCÍCIO EM EQUINOS

A musculatura esquelética dos mamíferos é composta por milhões de células denominadas miócitos ou fibras musculares. Quando unidas em conjunto, formam os fascículos que são envoltos por um tecido conjuntivo conhecido como perimísio. As miofibrilas são os elementos contráteis das células musculares esqueléticas, ocupam o maior volume citoplasmático e são supridas pelo ATP e íons de cálcio que promovem a contração muscular (BAILEY, 2006).

Hinchcliff e Geor (2004) conceituam o treinamento como alterações comportamentais induzidas por determinadas práticas e o condicionamento como mudanças físicas em resposta a um exercício de repetição, ambos ligados a adaptações fisiológicas, funcionais e anatômicas devido ao estresse induzido pelo exercício repetitivo.

A fisiologia do exercício pode ser caracterizada pela resposta do animal ao movimento nas suas diferentes intervenções, como: treinamento, períodos de descanso e alterações na dieta. Nos estudos mais recentes, mensurações de temperatura corporal, frequência cardíaca, concentração de lactato e consumo de oxigênio nos cavalos em exercício têm sido comuns, buscando evidenciar os efeitos da intensidade de exercício (EVANS, 2000).

Diversos mecanismos são ativados quando há o início de um programa de treinamento, estas respostas dos sistemas corpóreos determinam a participação das vias aeróbias e anaeróbias, responsáveis pela manutenção do equilíbrio ácido base e da temperatura corporal para a síntese de ATP (ART; VAN ERCK, 2008). Dentre estas os mecanismos estimulados pelo início do exercício físico, as catecolaminas (epinefrina e norepinefrina) liberadas irão atuar no fígado e músculos elevando a quebra de glicogênio com consequente aumento da glicose circulante (McKEEVER, 2002).

Gansen et al. (1999) cita que exercícios de longa duração e de baixa intensidade são potencialmente mais efetivos no favorecimento da capacidade aeróbia, quando comparados com exercícios de alta intensidade e curta duração. Davie (2006) afirma que as adaptações mais relevantes ao treinamento acontecem entre a primeira e a 10ª a 15ª semana de exercício. O tempo de exercício durante o treinamento é o fator primordial para o aumento da capacidade aeróbica em cavalos, quando a velocidade é mantida constante (ROGERS et al., 2007).

De acordo com Cayado et al. (2006), o exercício físico representa um estímulo bastante alto de estresse fisiológico, uma vez que submete o organismo a desafios de homeostase temporários. Graaf-Roelfsema et al. (2007) considera treinamento quando o esforço físico torna-se sistemático e contínuo, com elevação gradual de intensidade e períodos intercalados de repouso. Os autores afirmam que o objetivo deste processo é ocasionar adaptações fisiológicas que aprimorem o desempenho atlético dos animais. Os exercícios são relatados por provocarem mudanças de curto período, capazes de apresentar pequenas respostas de condicionamento, já o treinamento pode refletir de forma positiva no condicionamento e desempenho, com respostas graduais em longo prazo (MARLIN; NANKERVIS, 2002; BOFFI, 2008).

Serrano e Rivero (2000) afirmam que existem diferentes tipos de fibras musculares em cada raça de cavalo e o conhecimento delas é uma ferramenta importante na determinação do potencial atlético do indivíduo, assim como avaliação morfométrica periódica destas fibras podem direcionar o treinamento dos animais para provas específicas. A espécie equina possui três tipos de fibras musculares consideradas “puras”, as do tipo I, IIA e IIX, e dois tipos de fibras musculares consideradas “híbridas”, as do tipo C, que expressam a cadeia pesada de miosina I (CPM I) e a CPMA IIA, e a tipo, IIX-AX, que expressa as COM IIA e IIX.

Mesmo com as diferentes modalidades esportivas realizadas pelo cavalo e os diferentes tipos de exercício físico, há uma demanda produção de energia rápida e maior força de contração. Para que esse processo ocorra, as fibras musculares passam por uma adaptação. Já para o treinamento de resistência, são desenvolvidos mecanismos de regulação do meio interno com grande produção de calor e perda de água e eletrólitos, para dissipar o ganho calórico (NAYLOR et al., 1993). Em ambos os casos, ocorrem aumento da resistência das estruturas musculoesqueléticas, especialmente articulações, tendões e ligamentos (HODGSON; ROSE, 1994). Em comparação com todas as complexas funções metabólicas que ocorrem no organismo, o aumento na atividade física impõe, incontestavelmente, uma maior demanda de energia (McARDLE et al., 1998).

As principais fontes de energia para o organismo são os ácidos graxos e a glicose formados por carboidrato, e o glicogênio formado por gordura. As proteínas somente serão utilizadas em casos extremos de exaustão, privação de alimentos ou doenças. A glicose e os ácidos graxos estão presentes na circulação sanguínea e rapidamente podem ser aproveitados, enquanto que o glicogênio, composto por uma grande cadeia de glicoses, é armazenado no tecido muscular e hepático (EATON, 1994; HARRIS, 1998; MARLIN; NANKERVIS, 2002; BOFFI, 2008).

Os cavalos têm acesso a substratos energéticos principalmente através da dieta pela ingestão de carboidratos e lipídeos, a digestão desses produtos pode ser utilizada rapidamente como energia para a contração muscular. No entanto, boa parte é armazenada no fígado, músculos e tecido adiposo para utilização posterior (MARLIN; NANKERVIS, 2002; BOFFI, 2007). Esta energia será convertida em ATP (adenosina trifosfato), responsável por garantir o funcionamento energético normal das células do organismo. Quando uma molécula de ATP é quebrada, é liberado um fosfato e originada uma molécula de ADP (adenosina difosfato). Nesse momento, a energia armazenada é liberada e utilizada pelas fibras musculares (BOFFI, 2007).

A geração de energia se dá pela quebra do ATP livre e da fosfocreatina presentes na musculatura, podendo ser utilizada apenas no início do exercício. A fosfocreatina é quebrada em creatina e fósforo inorgânico, mas a geração de energia pode suprir apenas os primeiros segundos de exercício, principalmente em casos de altas velocidades e rápida aceleração (CLAYTON, 1991; CASTEJÓN et al., 1995).

De acordo com Garcia (2012), para obtenção de energia para o exercício existem diferentes vias de metabolização do substrato, a via aeróbia, que produz ATP a partir da utilização de oxigênio, e a via anaeróbia, onde a produção de energia não utiliza oxigênio. Ambas são utilizadas, dependendo de alguns fatores como: a natureza, intensidade, duração e frequência do exercício, bem como a composição do tipo de fibra muscular do animal, da disponibilidade de oxigênio e substratos energéticos, além da presença de metabólitos intermediários que ativam ou inibem algumas enzimas. Ferraz et al. (2008) afirma que a produção de ATP é mais eficiente em presença de oxigênio, mesmo a via aeróbia sendo mais lenta.

O metabolismo aeróbio é utilizado principalmente quando as exigências energéticas são para baixas velocidades, com a oxidação de lipídeos e carboidratos originando ATP. O tecido adiposo armazena os lipídeos e os ácidos graxos não esterificados circulam pelo sangue até a musculatura esquelética, já os carboidratos permanecem armazenados no músculo e fígado sobre a forma de glicogênio (EVANS, 2000).

Em casos de exercícios extenuantes, a demanda energética ultrapassa o suprimento de oxigênio, quando a taxa de utilização e a cadeia respiratória não são capazes de processar toda a quantidade de hidrogênio, que em altas concentrações, combina-se com o piruvato produzindo ácido láctico, através de uma reação irreversível catalisada pela enzima desidrogenase láctica (EATON, 1994; LÓPEZ- RIVERO, 2004). O acúmulo deste ácido no organismo determina o início do metabolismo energético anaeróbico, neste caso, para a produção de energia, o glicogênio é metabolizado em piruvato e para cada molécula de glicogênio são produzidas três moléculas de ATP, caso a glicose sanguínea seja o substrato, ela é convertida em glicose 6-fostato, gastando 1 mol de ATP, resultando em um saldo de 2 mols de ATP. A glicogenólise é bastante eficiente em um curto espaço de tempo, podendo levar à depleção das reservas (McMIKEN, 1983).

A frequência cardíaca (FC) é um parâmetro fisiológico que pode ser facilmente aferido durante o exercício físico em cavalos, e pode fornecer um índice direto da função cardiovascular em relação às variações na intensidade do exercício. Em baixas intensidades, os fatores ambientais podem interferir provocando ansiedade e excitação (TRILK et al., 2002).

De acordo com Craig e Nunan (1998) a frequência cardíaca de repouso é um excelente indicador da saúde do cavalo, para raças leves de até 500 kg são considerados normais de 24 a 40 bpm em situações de repouso, 6 bpm para cima podem indicar estresse ou presença de lesões sem manifestações clínicas evidentes (HODGSON; ROSE, 1994). Com a evolução, em poucos segundos, o sistema nervoso autônomo (SNA) é requisitado para equilibrar a homeostase, desordenada pelo início do exercício. Nessa fase inicial, ocorre redução da resistência periférica total, com consequente vasodilatação muscular, causando um aumento simultâneo no débito cardíaco (DC), devido a um ajuste nos sinais aferentes e eferentes pelos barorreceptores e receptores de volume.

De acordo com Holland et al. (1996), exercícios de baixa e moderada intensidade, normalmente não causam grandes alterações na frequência cardíaca, mas o metabolismo energético pode ser melhorado pela utilização dos ácidos graxos, resultado de um aumento no aporte de nutrientes e oxigênio nas células. A FC média pode ser influenciada pelo comportamento, podendo apresentar elevações em relação à intensidade do exercício e ao nível de estresse.

McArdle et al. (1992) afirma que durante o exercício, indivíduos destreinados podem apresentar rápida elevação da FC, com o aumento da intensidade o exercício, bem como indivíduos com melhor condicionamento, apresentam menores intensidades de FC. Em consequência, atletas com boa resposta cardiovascular ao exercício estarão aptos à realização de

maior trabalho, com consumo de oxigênio mais alto antes de chegar a FC submáxima, considerando que a FC e o consumo de oxigênio apresentam efeito linear.

3.7 METABOLISMO GLICÊMICO E INSULINÊMICO

A digestão dos carboidratos não estruturais resulta na produção de glicose, que é a principal fonte de energia do cavalo. A celulose e hemicelulose serão submetidas à fermentação bacteriana no ceco e cólon. Devido a esta estratégia digestiva e metabólica, a concentração plasmática de glicose nos equinos é intermediária à dos ruminantes e monogástricos (NRC, 1989). Segundo Cunha (1991) o metabolismo glicêmico pode ser influenciado pela dieta, em altas quantidades de fibra ocorre maior conversão dos carboidratos estruturais em ácidos graxos de cadeia curta no ceco e cólon, enquanto que em dietas ricas em grãos a tendência é haver uma melhor digestão de carboidratos não estruturais como o amido no intestino delgado, mantendo os índices glicêmicos mais elevados.

Ralston (2002) afirma que os parâmetros glicêmicos normais dos equinos em jejum devem variar entre 60 a 90 mg/dL. Em testes orais, ocorre um aumento limitado com rápida queda de sua concentração, devido ao fato de na absorção inicial, a taxa de entrada superar a de remoção. Com níveis aumentados de glicose, o fígado diminui a liberação, desencadeando a resposta insulinêmica. O pico glicêmico é atingido em 60 minutos, logo em seguida, inicia-se rapidamente a diminuição e a taxa de remoção passa a exceder a de entrada, nesta fase os mecanismos de captação funcionam ativamente. Concomitantemente, a gliconeogênese hepática diminui, reduzindo rapidamente a glicemia. Pode ocorrer neste período uma fase hipoglicêmica, pois mesmo quando o valor basal é atingido, por um curto período de tempo a redução continua, pela inércia momentânea dos mecanismos regulatórios (HOFFMAN, 2003).

Em condições de exercício físico, ocorre a elevação dos níveis circulantes dos hormônios ACTH, cortisol e catecolaminas como a adrenalina e noradrenalina, liberadas pela porção medular da adrenal. Estes hormônios aumentam a glicogenólise muscular e hepática e juntamente com o cortisol produzido modificam a liberação normal de insulina estimulada pela glicose, elevando a concentração desta no sangue (HYYPÄ, 2005; CHAMPE et al., 2006).

Segundo Rose et al. (1977) é comum a elevação da glicemia em todos os tipos de exercício, no entanto, em atividades superiores a três horas, ocorre diminuição da

concentração de glicose em consequência da depleção de glicogênio hepático, nesses casos, uma hipoglicemia pode levar a fadiga precoce em exercícios superiores a duas horas. Sequencialmente, Rose e Richter (2005) concluem que o principal destino nos miócitos é a glicólise com sequente oxidação, e as variações na captação durante o exercício se devem principalmente a um maior recrutamento de fibras musculares, com aumento do estresse metabólico das que estão ativas. Estes autores consideram a glicemia um fator limitante da captação de glicose pelo músculo.

A insulina é um hormônio anabólico, não esteroide e não lipofílico, sintetizado pelas células β do pâncreas quando há um aumento da glicemia (MCKEEVER, 2002). Neste momento, a insulina é ligada na subunidade α de seu receptor, que fica localizada na parte externa dos adipócitos e miócitos do tecido muscular estriado esquelético e cardíaco. Isto provoca uma alteração conformacional desse receptor com autofosforilação dos resíduos de tirosina em sua subunidade β , localizados na face interna da membrana plasmática e que funciona como tirosina quinase, esta por sua vez, fosforila outras proteínas, como os substratos do receptor de insulina (SRI) e desencadeia uma série de reações de fosforilação em cascata com o objetivo de estimular a translocação dos transportadores de glicose insulino dependente (GLUT-4) para a membrana plasmática (KOOLMAN; ROELM, 2005).

Os receptores GLUT-4 realizam o transporte facilitado de glicose nas células do músculo estriado esquelético, estriado cardíaco e do tecido adiposo. Quando não ocorre estimulação pela insulina, a densidade desses receptores na membrana plasmática é muito reduzida, uma vez que a maioria está localizada no interior de vesículas citoplasmáticas. Após o estímulo por esse hormônio, ocorre translocação do GLUT-4 para a membrana e maior transporte de glicose (HYPPÄ, 2005). Quando a glicemia retorna ao normal, a insulinemia diminui e a maioria das moléculas dos GLUT-4 é removida da membrana plasmática por endocitose, sendo estocada em vesículas (LEHNINGER et al., 2007). A ligação da insulina com o seu receptor provoca uma série de efeitos metabólicos como aumento do transporte de glicose nas células sensíveis a esse hormônio e alterações na atividade enzimática com mudanças no estado de fosforilação das proteínas existentes (CHAMPE et al., 2006).

De acordo com Eiler (2006) a regulação da concentração da glicose é relacionada à secreção de insulina e glucagon pelo pâncreas endócrino. As células β no pâncreas detectam o aumento glicêmico e liberam insulina, visando fornecer energia para as células musculares e adiposas, reduzindo a glicose sanguínea. Quando o organismo entra em hipoglicemia, o glucagon é liberado pelo pâncreas e as catecolaminas pela medula da suprarrenal, o que

permite que o glicogênio seja degradado e a glicose seja liberada na circulação, este mecanismo é regulado por retroalimentação positiva entre a glicemia e a insulina.

Em condições de exercício físico, a insulina e o glucagon atuam em conjunto para prevenir a hipoglicemia durante a atividade muscular, com tendência de aumento da insulina plasmática e diminuição do glucagon. A regulação desse mecanismo durante exercícios físicos ocorre por diversos mecanismos simpatoadrenérgicos, uma hiperglicemia pode ser gerada mediante desequilíbrio entre a produção hepática de glicose e pequenos índices de utilização periférica, ocasionado bloqueio β adrenérgico de adrenalina, potencializando a utilização de glicose pelos músculos (CUNILLERAS; HINCHCLIFF, 2004).

Cunnilleras et al. (2002) apontam que a composição e intervalos da dieta antes do exercício podem afetar a captação de glicose pelo músculo e a taxa de utilização de glicogênio muscular. Sugere-se que a ingestão de alimentos de alto índice glicêmico em cavalos antes do exercício ocasione hiperglicemia e hiperinsulinemia, pelo aumento da disponibilidade de glicose para a musculatura esquelética, mantendo a oxidação de carboidratos e suprimindo a oxidação de lipídeos.

3.8 METABOLISMO LIPÍDICO

A gordura no organismo dos animais é a maior reserva corporal de energia, além de carrear vitaminas lipossolúveis, participar na formação de membranas celulares e ser responsáveis pela proteção e isolamento térmico. A molécula de gordura possui uma maior quantidade de hidrogênio, em relação ao carboidrato ou a proteína, consequentemente possui maior eficiência calórica (BRUSS, 1997; McARDLE; KATCH; KATCH, 1998; GUYTON; HALL, 2002).

As principais reservas energéticas intracelulares do organismo ocorrem na forma de glicogênio e triacilgliceróis, enquanto que as reservas extracelulares como a glicose e os ácidos graxos livres (AGL), chegam ao músculo através do sangue oriundo da mobilização do glicogênio armazenado no fígado e da gordura depositada no tecido adiposo (JONES, 1989).

Os lipídeos presente no sangue incluem os AGL, triglicérides e colesterol, sendo transportados ligados a proteínas, como os triglicérides e o colesterol são menos solúveis, formando complexos com proteínas denominados lipoproteínas (BRUSS, 1997; LASSEN; FETTMAN, 2007). Nos hepatócitos, os ácidos graxos se ligam a uma proteína, facilitando sua

difusão pelo citosol até as enzimas presentes na membrana que irão realizar a oxidação e reesterificação (AAS; DAAE, 1971).

Os triglicérides são as gorduras mais abundantes encontradas no organismo constituindo importante forma de armazenamento de lipídeos nas células adiposas. São formados por uma molécula de glicerol e três moléculas de ácidos graxos (BRUSS, 1997). A síntese ocorre no tecido adiposo, fígado, intestino delgado e glândula mamária. Para manutenção da concentração sérica em animais normais, é necessário o equilíbrio entre sua absorção no intestino delgado, síntese e secreção pelos hepatócitos, além da liberação pelo tecido adiposo. A porcentagem de gordura na dieta e a produção de hormônios como a insulina e o glucagon podem afetar esse equilíbrio (LASSEN; FETTMAN, 2007).

A digestão dos lipídios no lúmen intestinal requer a participação das secreções pancreática e biliar. A lipase pancreática age na interface óleo e água das partículas da emulsão, liberando um monoglicerídeo e dois AGL a partir das posições 1 e 3 do triglicerídeo. Esses produtos são insolúveis em água, mas ocorrem de duas formas: parte polar e hidrossolúvel e parte não polar e lipossolúvel (PAGAN; HINTZ, 1986). Durante a digestão, os triglicérides são desdobrados em glicerol e ácidos graxos no lúmen do intestino delgado, ao passarem pelas células epiteliais do intestino, são ressintetizados em novas moléculas de triglicérides dentro do epitélio (GUYTON; HALL, 2002; LASSEN; FETTMAN, 2007).

De acordo com Argenzio (1996), no plasma sanguíneo, com exceção dos AGL, que são transportados junto à albumina, os lipídeos são carregados pelas lipoproteínas, que são estruturas micelares. Na conversão das gorduras a partir de uma emulsão em micelas, o diâmetro da partícula é reduzido 100 vezes e a área superficial aumenta mais de 10.000 vezes. As micelas difundem-se desde a partícula de emulsão até a borda em escova do epitélio, onde a gordura é liberada para se difundir através da membrana lipídica para dentro da célula (ARGENZIO, 1996).

Fernandes et al. (2001) relata alguns fatores que podem influenciar as concentrações plasmáticas de triglicérides e colesterol, como a absorção desses elementos pela dieta, requisição dos tecidos, utilização como fonte de energia e capacidade de armazenamento. Quando o animal é alimentado, ou quando há a necessidade de mobilização de gordura estocada no tecido adiposo, são liberados glicerol e AGL na circulação sanguínea. Os AGL são transportados via albumina sérica até o fígado e outros tecidos e utilizados na produção de energia, principalmente cetona, colesterol e triglicérides, de acordo com a demanda metabólica.

O colesterol é uma forma específica de lipídeo que está presente em todas as células como um componente estrutural. Participa da formação de hormônios esteroides pelas gônadas e córtex adrenal (BACILA, 2003), sendo sintetizado a partir de lipídeos alimentares, porém, existe uma biossíntese ativa principalmente hepática. Melo et al. (2013) afirma que as reservas de lipídios no sangue dos cavalos pode ser avaliada pela determinação da concentração de triglicérides e colesterol total, no entanto, o triglicérides é o parâmetro mais importante, pois é a principal fonte de energia para animais atletas.

As lipoproteínas referem-se a complexos formados de triglicérides, colesterol, fosfolipídios e proteínas. Os triglicérides são associados com colesterol, ésteres de colesterol, fosfolipídios e pequenas quantidades de proteína para formar os quilomícrons. Esta formação possibilita o transporte do triglicerídeo, uma vez que são insolúveis em água. Os quilomícrons são grandes e menos densos que as lipoproteínas. Elas são classificadas de acordo com suas densidades medidas por ultracentrifugação. As lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL-C) contêm altas concentrações de triglicérides e moderadas concentrações de colesterol e fosfolipídios, as lipoproteínas de baixa densidade (LDL-C) apresentam concentrações elevadas de colesterol e fosfolipídios e as lipoproteínas de alta densidade (HDL-C) contêm altas concentrações de proteínas e menores de colesterol e fosfolipídios (BRUSS, 1997; McARDLE; KATCH; KATCH, 1998; GUYTON; HALL, 2002; LASSEN; FETTMAN, 2007).

A principal função destinada às lipoproteínas é transportar seus componentes lipídicos no sangue; o VLDL transporta triglicérides formados no fígado a partir de gorduras, carboidratos e colesterol para o tecido adiposo e músculos, enquanto as outras lipoproteínas transportam fosfolipídios e colesterol do fígado para os tecidos periféricos, ou vice e versa (McARDLE; KATCH; KATCH, 1998; GUYTON; HALL, 2002). O LDL é retirado da circulação preferencialmente por tecidos como o córtex da adrenal e as gônadas, as quais usam o colesterol na síntese de hormônios esteroides. Já o HDL, que é produzido no fígado e no intestino delgado, capta o colesterol que foi produzido por tecidos extra-hepáticos, sendo removido da circulação pelo fígado (LASSEN; FETTMAN, 2007).

Dietas ricas em gorduras aumentam a concentração de HDL, uma vez que os triglicérides ligados à VLDL são hidrolisados pela enzima Lipoproteína Lipase (LPL) e as partículas de apoproteínas, colesterol e fosfolipídios são transferidas para o HDL. Esse processo explica a correlação direta entre a atividade da LPL e a concentração de HDL (GEELLEN; SLOET VAN OLDRUITENBORGH-OOSTERBAAN; BEYNEN, 1999).

Como os lipídeos são insolúveis em água, para serem transportados pelo sangue aos tecidos precisam estar ligados às lipoproteínas, sendo importantes no metabolismo dos substratos de energia para o músculo o esquelético. A contribuição desse processo na contração de fibras musculares depende de diferentes fatores, como a duração e intensidade do exercício, condições hormonais, alimentares, nutricional e de treinamento (RANALLO, 1998).

Em cavalos e humanos treinados, há uma maior aptidão na utilização de lipídeos para produção de energia do que carboidratos, uma vez que indivíduos treinados conseguem atrasar o início da fadiga por depleção de glicogênio (MARLIN; NANKERVINS, 2002) e aumentar a capacidade de utilização dos triglicérides pelo músculo, devido a uma maior quantidade de enzimas envolvidas na β -oxidação, metabolismo do ciclo de Krebs e na cadeia de transporte de elétrons (LAWRENCE, 1994; McARDLE; KATCH; KATCH, 1998).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos utilizados neste estudo foram submetidos à avaliação do comitê de ética em experimentação animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, com registro no CEUA sob o nº 5345210814.

4.1 LOCAL

O experimento foi conduzido no Laboratório de Pesquisa em Alimentação e Fisiologia do Exercício em Equinos (LabEqui) e nas dependências do Departamento de Nutrição e Produção Animal (VNP), da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), os animais permaneceram estabulados nas instalações da cavalaria pertencente à Prefeitura do Campus Fernando Costa, Universidade de São Paulo (USP), Pirassununga/SP.

4.2 ANIMAIS

Foram utilizados dez cavalos da raça Puro Sangue Árabe, machos, castrados, com idade média de $72 \pm 7,5$ meses e peso médio $473 \pm 34,75$ kg, previamente imunizados contra tétano, influenza e encefalomielite, vermifugados e pulverizados contra ectoparasitas.

4.3 DIETAS

A dieta adotada consistiu de um consumo diário individual equivalente a 2% do peso em matéria seca, para atender a exigência de exercício de baixa intensidade, de acordo com o NRC (2007), divididos na proporção de 0,75% de concentrado comercial multiparticulado (Corcel Mix – PresenceTM / Invivo, Nutrição e Saúde Animal Ltda) e 1,25% de feno de gramínea (*Cynodon* sp. cv. Tifton 85).

O concentrado e o volumoso foram fornecidos duas vezes ao dia, às 07h e 16h30min, divididos em frações iguais entre os dois horários, em comedouros separados, conforme modelo proposto por Carvalho (1992). Água e suplemento mineral foram fornecidos *ad libitum*. A composição bromatológica do concentrado comercial e do volumoso, utilizados na dieta, está descrita na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição química do concentrado comercial e do volumoso (feno de Tifton-85) utilizados na dieta experimental

NUTRIENTES (%)	VOLUMOSO	CONCENTRADO
Matéria seca (MS)	91,14	88,51
Proteína bruta (PB)	12,52	16,85
Fibra em detergente neutro (FDN)	73,33	24,49
Fibra em detergente ácido (FDA)	42,17	8,24
Extrato etéreo (EE)	1,09	5,46
Cálcio (Ca)	0,35	1,18
Fósforo (P)	0,68	0,66
Amido	0,82	19,39

Fonte: (LIMA, 2015)

4.4 TRATAMENTOS

Os tratamentos foram sorteados e divididos em dois grupos com número de cinco animais em cada grupo (n=5), distribuídos aleatoriamente da seguinte forma: grupo controle (C) sem adição de suplementação e grupo suplementado (S) com inclusão de 15 g diárias de um composto comercial (Procreatin7®, Lesaffre, França) contendo $1,5 \times 10^{10}$ UFC/g (Unidades Formadoras de Colônias por grama) de leveduras vivas *Saccharomyces cerevisiae* (NCYC 996- 100%) divididas em duas doses individuais de 7,5 g cada (3,16%/Kg PC/dia). Além de todos os animais serem submetidos a um protocolo de treinamento físico de baixa intensidade durante a segunda fase deste estudo (grupo controle sem e com exercício físico; grupo levedura sem e com exercício físico).

A levedura foi pesada em balança de precisão e separada em doses individuais por horário de fornecimento, depositada sobre o concentrado no cocho nos horários de arraçoamento.

4.5 COLETA, PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS E ANÁLISES LABORATORIAIS

O período experimental consistiu de 90 dias, durante esse período os animais sendo subdividido em dois períodos distintos. Durante a primeira fase, com duração de 30 dias, houve a suplementação dos animais para o grupo tratado com levedura viva, na segunda fase, com duração de 60 dias, além da suplementação com levedura para o mesmo grupo tratado, todos os animais foram submetidos a um programa de treinamento físico. Durante todas as fases, as sobras dos alimentos fornecidos foram contabilizadas a cada 24 horas como forma de controlar a ingestão da dieta.

Os animais permaneceram estabulados em baias individuais de 2,5 x 3,0 m, com piso de concreto coberto com cama. A primeira fase consistiu de 15 dias para adaptação à dieta, com início da suplementação com levedura viva para o grupo tratado, seguidos de cinco dias para coleta total de fezes e demais amostras. Durante a adaptação à dieta, os animais permaneceram sem a prática de exercício físico, sendo manejados apenas para minimizar os efeitos da estabulação e garantir a sanidade e higidez dos animais. Todos os animais foram soltos em pista de areia por aproximadamente 60 minutos seis vezes por semana, além da realização de escovação e banhos periódicos. A limpeza dos cascos foi realizada três vezes por semana e os bebedouros e baias foram limpos duas vezes diariamente.

A segunda fase teve duração de 60 dias de exercício físico, além de suplementação com levedura para o mesmo grupo tratado, seguidos de cinco dias para coleta total de fezes e demais amostras. O programa de treinamento foi realizado em exercitador circular mecânico para cavalos (Equiboard®) controlado eletronicamente. O protocolo de treinamento consistiu de 60 minutos de exercício seis vezes por semana, conforme protocolo descrito na Tabela 2.

Tabela 2 - Protocolo de treinamento físico utilizado durante a segunda fase do estudo

TREINAMENTO	DURAÇÃO (MIN)	VELOCIDADE (Km/h)
Aquecimento ¹	10	8
Trabalho ¹	15	12
Trabalho ¹	5	15
Trabalho ²	5	15
Trabalho ²	15	12
Desaceleração ²	10	8

Legenda: ¹Sentido horário; ²Sentido anti-horário

Fonte: (LIMA, 2015)

4.5.1 Avaliação de higidez

Com intuito de garantir a manutenção da higidez dos animais durante o estudo, foram realizadas análises hematológicas ao início e ao final do período experimental. Amostras sanguíneas foram colhidas em tubos contendo anticoagulante EDTA, devidamente homogeneizadas com o auxílio do equipamento homogeneizador de soluções modelo AP22 (Fabricação: Phoenix) imediatamente após a colheita, as análises foram realizadas utilizando-se o Analisador Hematológico BC – 2800Vet (Fabricante: Mindray).

Neste sentido, os cavalos foram pesados para acompanhamento da variação do peso e fotografados para acompanhamento de mudanças no escore corporal. A pesagem foi realizada em balança Toledo® para equinos nos seguintes momentos: D0 (antes do início do experimento), no D30 (30º dia), D60 (60º dia) e D90 (ao término do experimento).

4.5.2 Digestibilidade aparente

Para obtenção dos coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes presentes na dieta, foi utilizado o método de coleta total de fezes durante cinco dias, sendo que nestes períodos, os cavalos permaneceram em baias com piso de concreto sem cama e as fezes foram coletadas no momento da defecação e acondicionadas em sacos plásticos identificadas por animal. A cada 24 horas foram realizadas pesagens do total excretado e o conteúdo foi

congelado em freezer a -20°C. Após o período de cada coleta, as fezes foram descongeladas e homogeneizadas manualmente para retirada de amostra composta de 10% do conteúdo, novamente armazenada em sacos plásticos e congelada a -20°C.

Amostras dos alimentos fornecidos foram retiradas a cada período, acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas a -20°C. Ao final de cada fase as fezes e as amostras dos alimentos foram descongeladas, pesadas e secas em estufa de ventilação forçada a 65°C até peso constante, moídas em moinhos de facas tipo Willey com peneira de crivos de 1 mm e armazenadas em sacos plásticos pequenos com identificação individual para realização das análises bromatológicas. Foram avaliados os teores de matéria seca (MS), matéria original (MO), proteína bruta (FB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e extrato etéreo (EE).

As análises de FDN e FDA foram conduzidas pelo método de partição de fibras proposto por Van Soest et al. (1991).

A análise de amido foi conduzida segundo o método enzimático descrito por Pereira e Rossi Junior (1998). A análise de cálcio (Ca) foi realizada pelo método de titulometria com EDTA e para análise de fósforo (P) foi utilizado o método calorimétrico (AOAC, 1980).

Os coeficientes de digestibilidade aparente (CD) dos nutrientes obtidos por meio da coleta total de fezes foram estimados mediante equação:

$$CD (\%) = \frac{MS \text{ consumida} \times (\% \text{ nutriente na dieta}) - MS \text{ fezes} \times (\% \text{ nutriente nas fezes})}{MS \text{ consumida} \times (\% \text{ nutriente na dieta})} \times 100$$

4.5.3 Glicose e insulina

Para análise da curva glicêmica e insulinêmica dos cavalos, no segundo dia de coleta total de fezes e demais amostras de cada período foram realizadas colheitas de sangue a partir de veia jugular em tubos específicos para cada análise, em cinco diferentes momentos: 30 minutos antes do fornecimento da alimentação da manhã, 30, 90, 150 e 210 minutos após o recebimento do alimento, segundo modelo proposto por Stull e Rodiek (1988). Para as análises plasmáticas de glicose, o sangue foi coletado em tubos a vácuo Vacutainer BD® Fluoreto de sódio (tampa cinza) como inibidor glicolítico e o anticoagulante EDTA que preserva a morfologia celular. Para as análises séricas de insulina, foram utilizados tubos

Vacutainer BD® sem anticoagulantes (tampa vermelha) e homogeneizado por inversão de 5 a 8 vezes para evitar hemólise.

As amostras foram mantidas em repouso em temperatura ambiente por aproximadamente 20 minutos, e na sequência centrifugadas por 10 minutos (centrífuga modelo 80-2B-15ML, Centribio) a 4.000 rpm (1.800 x g) para a separação de plasma e soro, respectivamente (STULL; RODIEK, 1988; RAMALHO et al., 2012). Após esse procedimento, o plasma e soro foram transferidos para microtubos de 1,5 mL de plástico devidamente identificado e mantidos em freezer a -20°C para posteriormente serem encaminhados para realização das análises laboratoriais (STULL; RODIEK, 1988).

Para dosagem de glicose plasmática foi utilizado o método enzimático, descrito por Bergmeyer (1987) e Tonk (1972) e utilização de kit Glicose PAP Liquiform® (Labtest), com leitura de absorbância por espectrofotometria. Para dosagem de insulina sérica foi utilizada técnica de quimiluminescência, com o método descrito por Yalow e Berson (1960) e utilização de kits de reagente Access Ultrasensitive Insulin®, (Beckman Coulter, Inc).

4.5.4 Triglicérides, colesterol total e frações

Para análises sorológicas de triglicérides (TG), colesterol total (CT) e lipoproteínas (Lipoproteína de alta densidade HDL-C; Lipoproteína de baixa densidade LDL-C e Lipoproteína de muito baixa densidade VLDL-C) dos cavalos, no segundo dia de coleta total de fezes e demais amostras de cada período, foram colhidas amostras sanguíneas a partir de punção venosa na veia jugular, aos 30 minutos antes do trato da manhã, como sugerido por Marchello et al. (2000) em tubos Vacutainer BD® sem anticoagulante (tampa vermelha). As amostras permaneceram em descanso por 30 minutos, sendo centrifugadas na sequência por 10 minutos (centrífuga modelo 80-2B-1 5ML, Centribio) a 4.000 rpm (1.800 x g) para a separação do soro, as amostras foram acondicionadas em microtubos de 1,5 ml e congeladas a -20°C para posteriores análises laboratoriais.

Para mensuração de colesterol total o método utilizado foi o sistema enzimático para determinação de colesterol total em amostras de soro, por reação de ponto final através do kit Labtest®.

O CT e o TG foram determinados pelo método enzimático Colorimétrico utilizando kits específicos (Colesterol Liquiform® e Triglicérides Liquiform®, Labtest). A HDL foi

dosada pelo método enzimático Colorimétrico (Acelerador – Detergente Seletivo) utilizando o kit HDL LE® (Labtest). Os valores de LDL e VLDL foram calculados seguindo equações matemáticas descritas por Friedewald (1972), seguindo da seguinte forma ($LDL = CT - HDL - TG/5$), ($VLDL = TG/5$).

4.5.5 Perfil de ácidos graxos de cadeia curta (AGGC)

Para a avaliação da concentração dos AGCC butírico, propiônico e acético nas fezes dos cavalos, foram colhidas 10 g de fezes de cada animal, adicionados 20 mL de ácido fórmico a 17% na proporção 1:1 e refrigerados em geladeira de 2 a 3 dias, conforme adaptação de processamento descrito para análise de líquido ruminal. Após esse período as amostras foram centrifugadas por 12 minutos a 4.000 rpm ($1.800 \times g$) e o sobrenadante foi utilizado. As análises foram realizadas conforme metodologia descrita por Erwin et al.,(1961) através de cromatografia gasosa.

4.5.6 Quantificação de levedura viva nas fezes

Para a quantificação de leveduras vivas nas fezes dos cavalos, foram coletadas aproximadamente 300 g de fezes de cada animal diretamente do chão na primeira defecação da manhã, em três diferentes momentos dos estudo: D0 (ao início do experimento), D60 (no 60º dia) e D90 (no D90º). As amostras fecais foram filtrada por duas vezes; a primeira foi em pano específico (de dessora de queijo) para retirada da parte grosseira da amostra, na sequência ocorreu a filtragem em lã de vidro em béqueres de 50 mL. O conteúdo foi diluído na proporção de 10 mL do líquido fecal para 90 mL de DH_2O (água destilada). As diluições foram do tipo seriadas a 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , sequencialmente, conforme metodologia descrita por Silva et al. (2007).

As fezes foram conduzidas ao Laboratório Qualileite da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (Universidade de São Paulo) onde foi realizada semeadura em placas de Petrifilm para bolores e leveduras (3M®), segundo descrição do fornecedor. As placas

foram com incubadas em estufa a 38°C por 48 horas. Após esse período foi realizada a leitura com auxílio de lupa e a contagem das unidades formadoras de colônia (UFC/mL).

4.5.7 pH fecal

As análises de pH de conteúdo fecal foram realizadas no primeiro dia de coleta total de fezes. As amostras foram coletadas nos momentos de defecação espontânea por um período de 12 horas, diluídas na proporção de 1:1, ou seja, 50 g de fezes para 50 ml de água destilada. O eletrodo do phmetro foi imerso para leitura do pH e, em seguida, os valores foram enquadrados na faixa de horário correspondente (BERG et al., 2005).

Foi utilizado phmetro eletrônico de bancada Quimis ® e os dados anotados serviram para avaliação da curva de pH durante o período avaliado, estabelecendo-se 4 faixas de horários de 3 h cada, totalizando 12 horas de coleta de amostras, sendo Faixa 1 = (07-10h), Faixa 2 = (10-13h), Faixa 3 = (13-16h) e Faixa 4 = (16-19h).

4.5.8 Reação em Cadeia de Polimerase (PCR)

Para quantificação do de conteúdo bacteriano presente nas fezes dos cavalos, no último dia de cada fase de coleta total de fezes e demais amostras, foram coletadas 50g de fezes de cada animal, armazenadas em tubos tipo Falcon, em seguida, foram congeladas a -80°C para posteriores análises. Foi realizado o processamento em 25 g da amostra, de acordo com uma adaptação ao protocolo para remoção de bactérias do conteúdo ruminal descrito por Valinote (2007). Após a padronização dos primers, conforme Tajima et al. (2001), a extração do DNA bacteriano foi realizada por meio de PCR em tempo real, usando primers específicos para as bactérias *Fibrobacter succinogenes*, *Lactobacillus genus* e *Ruminococcus flavefaciens* (CHEN et al., 2004). A detecção das amplificações foram realizadas no equipamento Step One® (Applied Biosystems®) utilizando o reagente SYBR Green master mix 2 X (Applied Biosystems®). O DNA microbiano foi extraído utilizando o kit comercial “QIAamp DNA tool Mini Kit”.

4.5.9 Níveis séricos de endotoxinas

Para quantificação dos níveis séricos de endotoxinas nos cavalos, no segundo dia de coleta total de fezes, foi coletado sangue por meio de punção venosa na veia jugular em tubos Vacutainer BD® sem anticoagulante (tampa vermelha). Na sequência, as amostras permaneceram em descanso por aproximadamente 30 minutos, centrifugadas por 10 minutos (centrífuga modelo 80-2B-15 ml, Centribio) a 4.000 rpm (1.800 x g) para a separação do soro, que foi acondicionado em microtubos de plástico de 1,5 ml e congelados a -20°C para posteriores análises, conforme metodologia utilizada por Santos et al. (2011b).

A quantificação foi realizada através de ensaio cinético quantitativo para detecção de endotoxina de bactéria gram-negativa, através da utilização de kit colorimétrico Cromogênico Limulus Amoebocyte Lysate LAL KINETIC-QCL® (Lonza), conforme técnica utilizada por Morales (2004).

4.5.10 Frequência cardíaca

Para avaliar a frequência cardíaca (FC) dos animais durante o exercício e na recuperação pós-exercício nos cavalos, foi realizada a mensuração em diferentes momentos: D30 (antes da fase de exercício) e D90 (ao final da fase de exercício).

Para obtenção da frequência cardíaca basal, os animais permaneceram 10 minutos em repouso sem manipulação. Em seguida os animais foram colocados no exercitador e iniciado o protocolo de treinamento físico programado. Ao final dos sessenta minutos, os animais permaneceram 20 minutos em repouso ainda com o frequencímetro acoplado para avaliação do tempo de recuperação pós-exercício.

Foram utilizados frequencímetros digitais (Garmin Forerunner 305®), com adaptadores para uso em equinos (V-Max®). O aparelho oferece opções de localização via satélite através de GPS, com mensuração da frequência cardíaca e da velocidade, gerando gráficos que permitem monitorar as frequências média e máxima alcançadas durante o exercício e na recuperação.

4.6 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 2x2, onde os grupos foram sorteados e divididos em tratados e controle sem e com exercício físico.

Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento PROC MIXED do SAS, versão 9.2 (2004), para as medidas de digestibilidade dos nutrientes da dieta, triglicerídeos, colesterol total e frações de colesterol ligado à lipoproteína de alta densidade (HDL-C), colesterol ligado à lipoproteína de baixa densidade (LDL-C), colesterol ligado à lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL-C), ácidos graxos de cadeia curta (AGV's), quantificação de levedura, pH fecal, análise de conteúdo bacteriano nas fezes e quantificação de endotoxinas, considerando efeitos fixos de tratamento, fase e interação tratamento*fase, além dos efeitos aleatórios de animal e erro. Foram realizadas análises gráficas de resíduos para cada variável visando identificar heterogeneidade de variâncias e normalidade de resíduos.

Para a análise de quantificação de levedura foi utilizado modelo linear generalizado considerando a distribuição da Poisson com função de ligação logarítmica para acoplar a variável UFC (Unidade Formadora de Colônia) com a parte sistemática do modelo estatístico, que contempla os efeitos fixos de tratamento, fase, interação tratamento*fase e efeito aleatório de animal dentro de tratamento.

Para a análise de frequência cardíaca foram considerados efeitos fixos de tratamento (controle e levedura), dias (30 e 60) e tempo (seis diferentes tempos com velocidades constantes), além de efeitos de interação tratamento*dias, tratamento*tempo, dias*tempo, tratamento*dias*tempo, com aplicação de regressão.

Para as análises de glicose e insulina foi utilizado cálculo de Área Abaixo da Curva (AAC) pela área do trapézio proposto por Matthews et al. (1990).

Foram considerados valores de p significativos em (**p<0,01), (*p<0,05) e (†p<0,1).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 AVALIAÇÃO DA HIGIDEZ DOS ANIMAIS

De acordo com análises hematológicas, todos os animais mantiveram-se em condições de hígidez durante o estudo, conforme Apêndice A. A dieta fornecida neste período demonstrou ser adequada para manutenção da hígidez dos cavalos, observada pela manutenção do peso e escore corporal, mantendo pequenas variações. Não foram observados sinais de claudicações, alterações de consistência e aspecto das fezes ou problemas fisiológicos ou metabólicos que pudessem estar relacionados à dieta, ao manejo ou aos tratamentos utilizados neste estudo.

As avaliações anteriores aos 30 dias referem-se aos cavalos sem exercício físico, avaliações subsequentes demonstram resultados dos animais em exercício, de acordo com protocolo de treinamento físico supracitado. As imagens abaixo permitem exemplificar escore de condição corporal de um animal pertencente ao grupo controle (Shawan) e outro pertencente ao grupo tratado (Maximus), conforme Figura 1 e Figura 2.

Figura 1 - Equino pertencente ao grupo controle (Shawan)

Fonte: (LIMA, 2015)

Figura 2 - Equino pertencente ao grupo suplementado com levedura (Maximus)

Fonte: (LIMA, 2015)

5.2 DIGESTIBILIDADE APARENTE

Os valores dos coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e amido estão representados na Tabela 3.

Os resultados não apresentam efeito da inclusão de levedura para os coeficientes de digestibilidade dos nutrientes da dieta (MS, PB, FDN, FDA, MO e amido), no entanto, apontam efeito de exercício físico para os coeficientes de digestibilidade da MS, PB, FDN, FDA e MO ($P < 0,01$), e efeito de interação da inclusão de levedura e exercício físico para a digestibilidade do EE ($P < 0,1$). Para as variáveis cujos coeficientes de digestibilidade apresentaram influência do exercício físico, observa-se aumento destes coeficientes após o início do programa de treinamento físico, com exceção do coeficiente de digestibilidade da PB, que apresentou diminuição após o exercício. Para o coeficiente de digestibilidade do EE é possível observar elevação deste após o início do exercício físico para os animais pertencentes ao grupo controle.

Tabela 3 - Médias e erro padrão da média (EPM) para os diferentes coeficientes de digestibilidade (CD) aparente dos nutrientes, de acordo com os tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício)

Levedura sem exercício, controle e levedura com exercício								
CD (%)	TRATAMENTOS				EPM	VALOR DE P		
	Sem exercício		Com exercício			T	F	T*F
	Controle	Levedura	Controle	Levedura				
MS	58,62	58,99	63,80	65,01	1,397	0,596	0,003*	0,763
PB	77,85	78,43	76,47	75,92	0,9459	0,989	0,016*	0,400
EE ¹	68,07B	75,45A	78,39A	76,78A	2,3634	0,310	0,020	0,057†
FDN	46,23	47,34	57,87	60,52	1,9087	0,354	0,0002**	0,696
FDA	35,32	35,35	47,31	50,33	2,5625	0,600	0,0004**	0,535
MO	59,45	60,06	70,82	66,74	3,3797	0,622	0,028*	0,507
AMIDO	93,12	95,97	91,51	97,67	2,8806	0,176	0,988	0,559

Fonte: (LIMA, 2015)

Legenda: MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido; T: Tratamento (controle e levedura); F: fase (sem exercício e com exercício); T*F: interação tratamento e fase; EPM: Erro padrão da média

A,B: Letras diferentes na linha diferem entre si (**P<0,05; †P<0,1); ¹Efeito do desdobramento de fases dentro de cada tratamento

Os coeficientes de digestibilidade com efeito de exercício físico estão apresentados na Tabela 1 e Figura 3 abaixo:

Tabela 4 - Efeito de exercício físico sobre os coeficientes de digestibilidade da Matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e matéria orgânica (MO)

CD(%)	Sem exercício	Com exercício
MS	58,81B	64,40A
PB	78,14A	76,20B
FDN	46,79B	59,20A
FDA	35,33B	48,82A
MO	59,76B	68,78A

Fonte: (LIMA, 2015)

Legenda: A, B: Letras diferentes na linha diferem entre si ($P < 0,01$)

Figura 3 - Coeficientes de digestibilidade aparente da Matéria seca (MS), Proteína bruta (PB), Fibra em detergente neutro (FDN), Fibra em detergente ácido (FDA) e Matéria orgânica (MO) em função das diferentes fases do estudo (sem exercício e com exercício)

Fonte: (LIMA, 2015)

Figura 4 - Coeficientes de digestibilidade aparente do Extrato etéreo em função dos diferentes tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício físico)

Fonte: (LIMA, 2015)

De acordo com Warner (1981), tempos de retenção da digesta mais longos estão associados em sua maioria, ao aumento da digestibilidade, com elevação da atividade microbiana e de absorção de água pelo intestino, sugerindo que o exercício aumente a taxa de passagem dos alimentos pelo intestino delgado, proporcionando menor tempo para degradação da proteína pelas proteases, diminuindo a taxa de passagem pelo intestino grosso, o que permite um tempo adicional às bactérias do ceco para degradação da fibra. Estas informações corroboram com os resultados deste estudo sugerindo elevação da utilização da fibra após o exercício físico pelo aumento nos coeficientes de digestibilidade das frações de celulose e hemicelulose da forragem e diminuição no coeficiente de digestibilidade da proteína.

Olson e Ruudvere (1955) afirmam que a digestibilidade é maior quando animais são submetidos a exercícios de baixa intensidade e menor quando submetidos a exercícios físicos de alta intensidade. Já Duren et al. (1992) consideram que além de influenciar a taxa de passagem, o exercício diminui o fluxo sanguíneo para o trato digestivo. Em contrapartida, Orton et al. (1985) evidenciaram redução no tempo de retenção de partículas em cavalos de um ano de idade que foram submetidos a exercícios trotados de no máximo 12 km/h. Efeitos contraditórios também foram encontrados por Pagan et al. (1998) quando observaram diminuição da digestibilidade da matéria seca e do tempo médio de retenção de partículas após exercício físico, de acordo com os autores, cavalos exercitados consomem mais água do que os sedentários, sugerindo que a ingestão de água pode afetar a taxa de passagem.

Em concordância, Jouany et al. (2008) encontraram efeitos positivos sobre a digestibilidade em cavalos em exercício de baixa intensidade, sugerindo melhora no fornecimento de energia da dieta, especialmente através do aumento de produção de ácidos graxos voláteis com melhorias no perfil fermentativo, o que corrobora com resultados deste estudo.

Goachet (2010) relata que o conjunto de processos fisiológicos que ocorrem quando um animal pratica atividades físicas podem aumentar a digestibilidade da dieta, mostrando que esse fator é resultado do maior tempo de ação das enzimas na quebra da celulose e outros componentes da dieta no ceco. Isso ocorre pelo aumento do tempo de esvaziamento gástrico e da motilidade cecal. Por outro lado, o aumento na digestibilidade aparente da matéria seca em cavalos em atividade física pode ser, em parte, explicado por um longo tempo médio de retenção do conteúdo líquido (ORTON et al., 1985). As diferentes condições experimentais de cavalos em exercício, podem explicar essas contradições, assim como podem causar equívoco entre os efeitos em curto prazo e as adaptações em longo prazo do exercício.

Furtado et al. (2010), utilizando volumosos com diferentes qualidades, avaliaram dietas na proporção de 70:30 volumoso:concentrado com ou sem suplementação de 15g/dia de leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, não encontrando diferenças significativas nos coeficientes de digestibilidade aparente da MS, PB, EE, FDA e FDN, quando considerados fenos de mesmo valor nutricional, no entanto, os autores observaram aumento no coeficiente de digestibilidade do EE para o grupo que recebeu a dieta a base de gramíneas Tifton e suplementação com levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Resultados que discordam com Morgan et al. (2007) que suplementando 56g/dia de levedura em dietas compostas de feno de capim bermuda de alta e baixa qualidade e concentrado comercial na proporção de 75:25 respectivamente, não observaram diferenças significativas para MS, FDN, MO, FDA e PB. Da mesma forma, Taran et al. (2011) avaliaram a digestibilidade dos nutrientes da dieta de pôneis alimentados com baixa proporção de concentrado:volumoso e inclusão de diferentes níveis de leveduras e não observaram efeito ($P < 0,05$) sobre os coeficientes de digestibilidade aparente dos constituintes da dieta.

Por outro lado, Agazzi et al. (2011) encontraram aumento na digestibilidade dos coeficientes da MS, MO, FDN e FDA, quando suplementaram 2g/animal/dia de SC (4.6×10^{10} UFC/g) em dieta com 70:30 volumoso/concentrado. Neste sentido, Moore et al. (1994) alimentando pôneis com 65% de feno de coast-cross, e suplementados com 10g de *Saccharomyces cerevisiae* demonstraram influenciar positivamente a digestibilidade da MS, PB, FDN e FDA, corroborando com Glade (1991) quando concluiu que a adição de 20g/dia

de levedura para éguas em final de gestação e início de lactação, é eficaz para o aumento na digestibilidade da MS, PB, FDN e FDA.

Os resultados deste estudo não comprovam estudos anteriores (GLADE; SIST,1988; KIM et al.,1991; HAUSENBLASZ et al., 1993; MOORE et al.,1994; HILL; GUTSELL,1998; HILL et al., 2001; MORGAN et al., 2007; AGAZZI et al., 2011) que afirmam que a adição de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* na dieta dos equinos melhora a digestão dos nutrientes. É possível que esses resultados divergentes sejam explicados por efeitos individuais dos animais utilizados nos estudos, bem como as cepas e quantidades utilizadas de leveduras, tipo de dietas e qualidade dos ingredientes. Julliard (2006) afirma que o sucesso do uso de probióticos depende da cepa do microrganismo ofertado aos animais, da quantidade de suplemento oferecido, do tempo de fornecimento e da composição da dieta.

Goachet (2010) observaram aumento da digestibilidade da MS, MO, FDN e FDA após a realização de um programa de treinamento físico em cavalos de enduro da raça Puro Sangue Árabe. Da mesma forma, Rezende et al. (2012) avaliando o efeito da suplementação com 20 g de probióticos a base de *S. cerevisiae* em equinos submetidos a treinamento físico, constaram aumento da digestibilidade da hemicelulose para o grupo suplementado ($P<0,05$), concluindo que os aditivos probióticos podem ser adicionados na dieta de equinos em treinamento para aumentar a digestibilidade da fração fibrosa e ED da dieta, a fim de incrementar o aporte energético dos animais. Em estudo mais recente, Goachet et al. (2014) encontraram aumento do coeficiente de digestibilidade da MS, MO, FDN e PB após a realização de um programa de treinamento de 5 semanas em cavalos da raça Puro Sangue Inglês, alimentados com base em uma dieta para exercício de leve intensidade.

De acordo com os resultados deste estudo para digestibilidade aparente dos nutrientes da dieta, é possível concluir que o exercício físico de baixa intensidade ocasiona mudanças nas condições fermentativas intestinais dos cavalos, com favorecimento da digestibilidade da parede celular da forragem, sugerindo que exercício físico tenha aumentado a taxa de passagem da digesta pelo intestino delgado, comprovado pela menor absorção de proteínas permitindo um tempo adicional da digesta em intestino grosso para maior atuação das bactérias fibrolíticas na fermentação da fibra.

5.3 GLICOSE SANGUÍNEA

Os resultados para os níveis de glicose plasmática não apontam efeito de inclusão de levedura ($P>0,1$), no entanto, apresentam efeito de exercício físico ($P<0,05$) com diminuição da concentração de glicose plasmática após o início do programa de treinamento físico de 438,95mg/dL (médias dos tratamentos) na primeira fase para 401,56 mg/dL (média dos tratamentos) na segunda fase, conforme Tabela 5 e Figura 5.

Tabela 5 - Médias e Erro Padrão da Média para Área Abaixo da Curva (AAC) para as concentrações plasmáticas de glicose de acordo com os tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício)

TRATAMENTOS								
(mg/dL)	Sem exercício		Com exercício		EPM	VALOR DE P		
	Controle	Levedura	Controle	Levedura		T	F	T*F
Glicose	438,95A		401,56B		7,834	0,580	0,015*	0,589

Fonte: (LIMA, 2015)

Legenda: T: Tratamento (controle e levedura); F: fase (sem exercício e com exercício); T*F: interação tratamento e fase; EPM: Erro padrão da média; A,B: Letras diferentes na linha diferem entre si ($*P<0,05$);

Figura 5 - Área abaixo da curva (AAC) para as concentrações plasmáticas de glicose de acordo com os tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício)

Fonte: (LIMA, 2015)

De acordo com Meyer (1995), os níveis de glicose em cavalos no jejum, oscilam entre 80 e 100 mg/dL, podendo chegar a 150 mg/dL três horas após o consumo de uma dieta rica em amido.

Simões et al. (1999) avaliando a glicose de cavalos durante o exercício afirmaram que a elevação na concentração de glicose no plasma durante as fases posteriores ao exercício têm sido relacionados ao efeito das catecolaminas e glucagon sobre o fígado, com potencial de aumentar ou reduzir a liberação ou absorção de glicose. Os mesmos autores associam este aumento glicêmico a diversas condições de estresse a que os cavalos podem ser submetidos em diferentes programas de exercício físico. Além disso, sabe-se que a adrenalina pode promover um controle rápido e potente da glicogenólise durante o exercício, comprovando sua relação com a intensidade do estresse (NAKATA et al., 1999).

Por outro lado, Vervuert et al. (2009) afirmam que aumentar a disponibilidade do amido para a digestão enzimática permite uma melhor absorção do mesmo pelo intestino delgado, favorecendo maiores respostas glicêmicas e insulinêmicas, concordando com Casalecchi et al. (2012) quando afirmaram que os valores plasmáticos de glicose podem ser utilizados como referência indireta da quantidade de amido digerido e absorvido no intestino anterior. Observando efeitos da fase de exercício deste estudo, onde os resultados são indicativos de aumento na taxa de passagem da digesta pelo intestino delgado, é possível sugerir que a elevação nas concentrações glicêmicas após o início do programa de treinamento físico possa ser explicada por uma redução da absorção de glicose no intestino delgado durante a fase de exercício, pelo menor tempo de retenção da digesta neste segmento.

Além disso, o aumento da taxa de passagem da digesta por intestino delgado pode favorecer a chegada de amido em ceco e cólon, o que eleva o número de bactérias amilolíticas, comprovado posteriormente neste estudo. De acordo com leva a queda de pH e produção de ácido lático, que quando acumulado é utilizado pelas bactérias consumidoras de lactato, que potencialmente transformarão esse ácido em ácidos graxos de cadeia curta, principalmente o propionato, que efetivamente será utilizado como fonte glicêmica. Ferreira (1994) afirma que os ácidos graxos de cadeia curta produzidos no intestino grosso de não ruminantes podem suprir entre 5 a 30% das necessidades energéticas de manutenção destes animais a partir da conversão em glicose.

Portanto, os resultados de elevação da glicose sanguínea deste estudo na fase de exercício físico podem ser justificados pelo aumento na produção do ácido graxo de cadeia

curta propiônico dos animais em exercício, resultados apresentados posteriormente neste estudo.

5.4 INSULINA SANGUINEA

Os resultados para a concentração sérica de insulina não apresentaram efeito da inclusão de levedura e/ou exercício físico ($P>0,1$), conforme Tabela 6 e Figura 6.

Tabela 6 - Médias e Erro Padrão da Média para as concentrações séricas de insulina ($\mu\text{UI/mL}$) de acordo com os tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício)

Os tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício)								
(μUI/mL)	TRATAMENTOS				EPM	VALOR DE P		
	Sem exercício		Com exercício			T	F	T*F
	Controle	Levedura	Controle	Levedura				
Insulina	424,57	276,57	283,46	327,16	66,562	0,461	0,524	0,202

Fonte: (LIMA, 2015)

Legenda: T: Tratamento (controle e levedura); F: fase (sem exercício e com exercício); T*F: interação tratamento e fase; EPM: Erro padrão da média; A,B: Letras diferentes na linha diferem entre si

Figura 6 - Área abaixo da curva (AAC) das concentrações séricas de insulina ($\mu\text{UI/mL}$) de acordo com os tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício)

Fonte: (LIMA, 2015)

Não foi possível observar efeito de tratamentos para a concentração de insulina sérica neste estudo. Este resultado possivelmente pode ser justificado pela maior variabilidade na concentração de insulina nos grupos de tratamentos, que apresentaram um coeficiente de variação de 41,8 %.

5.5 TRIGLICÉRIDES, COLESTEROL E FRAÇÕES

Os parâmetros fisiológicos considerados normais para concentrações de triglicérides em equinos variam de 4 a 44 mg/dL, para o colesterol total varia de 75 a 150 mg/dL, as frações de LDL-C podem variar de 24,63 a 38,87 mg/dL, HDL-C 52,20 a 62,26 mg/dL e VLDL-C de 0,77 a 3,09 mg/dL (BRUSS, 1980). Os valores para este estudo estão apresentados na Tabela 7 e Figura 7.

Para o perfil sérico de triglicérides, colesterol total e VLDL-C não foi observado efeito de tratamentos ($P>0,1$). Os valores de HDL-C apresentaram significância de interação da inclusão de levedura e exercício físico ($P<0,1$), apontando aumento da concentração para o grupo controle após o início do programa de treinamento físico, sendo possível observar o mesmo efeito interativo para a variável LDL-C ($P<0,1$), com diminuição da concentração para o grupo suplementado após a introdução do exercício físico.

Tabela 7 - Perfil de gordura (PF) com as médias de Colesterol Total (CT), Fração de colesterol ligado à lipoproteína de alta densidade (HDL-C), Fração de colesterol ligado à lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) e Fração de colesterol ligado à lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) e Triglicérides (TRIG)

PG (mg/dL)	TRATAMENTO				EPM	VALOR DE P		
	Sem exercício		Com exercício			T	F	T*F
	Controle	Levedura	Controle	Levedura				
CT ¹	88,40A	88,80A	95,40A	82,80B	6,8173	0,518	0,885	0,090†
HDL-C ²	40,80B	41,80A	46,60A	41,80A	2,2227	0,525	0,078	0,078†
LDL-C ³	41,08A	39,20A	41,52A	29,60B	5,6048	0,382	0,123	0,095†
VLDL-C	6,52	7,80	7,28	7,80	0,8945	0,480	0,309	0,309
TRIG	33,0	39,0	36,40	43,00	4,1851	0,264	0,212	0,915

Fonte: (LIMA, 2015)

Legenda: EPM; Erro padrão da média; T: tratamento (controle e levedura); F: fase (com e sem exercício); T*F: Interação tratamento e fase; A,B: Letras diferentes na linha diferem entre si († $p<0,1$)

¹Efeito de desdobramento de tratamentos dentro de fases; ²Efeito de desdobramento de fases dentro de tratamentos; ³Efeito de desdobramento de fases dentro de tratamentos

Figura 7 - Valores de colesterol total (CT) e C-HDL (Fração de colesterol ligado à lipoproteína de alta densidade); C-LDL (Fração de colesterol ligado à lipoproteína de baixa densidade); em função dos diferentes tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício)

Fonte: (LIMA, 2015)

De acordo com SLOET VAN OLDRUITENBORGH-OOSERBAN et al. (2002) os lipídeos no sangue são importantes para os animais que realizam exercícios físicos de baixa intensidade e curta a média duração, uma vez que há nesses casos utilização das gorduras como fonte de energia para o trabalho muscular., esses autores observaram redução lipídica significativa após exercício físico em cavalos alimentados com dietas contendo 1,5% de extrato etéreo. Em estudo realizado por HYYPPÄ (2005), a recuperação das concentrações séricas de triglicérides foi lenta pós-exercício, segundo o autor, uma hora após o término do exercício ocorreu aumento na liberação de insulina, que, por sua vez, inibe a lipólise num momento em que as concentrações séricas de lipídeos já estariam baixas em função de seu uso como fonte energética.

5.6 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA

Os valores de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) nas fezes com base na matéria original (MO) estão apresentados na Tabela 8 e Figura 8. Os resultados não apresentaram efeito de exercício físico para a matéria original, ácidos acético, butírico, proporção acético/butírico e total ($P>0,1$). No entanto, apresentaram efeito da inclusão de levedura para a produção do ácido propiônico (2,86 vs. $4,16 \pm 0,919$), quando as médias para a concentração deste ácido no grupo controle foram de 2,86 mg/dL e os valores para o grupo suplementado

foi de 4,16 mg/dL. Para a concentração de AGCC nas fezes com base na Matéria seca (MS) não foi possível observar efeitos de tratamentos ($P>0,1$), conforme Tabela 9 e Figura 9.

Tabela 8 - Médias e erro padrão da média (EPM) para os valores da produção de Ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) nas fezes com base na matéria original, de acordo com os tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício)

AGV (mM/kg)	TRATAMENTOS				EPM	VALOR DE P		
	Sem exercício		Com exercício			T	F	T*F
	Controle	Levedura	Controle	Levedura				
MO	23,74	24,13	23,97	24,01	0,419	0,664	0,884	0,631
ACE	13,19	9,64	15,44	17,20	3,408	0,209	0,786	0,429
PROP	3,26	3,59	2,46	4,74	0,673	0,089†	0,799	0,186
BUT	1,19	1,16	0,75	1,34	0,261	0,309	0,625	0,274
ACET/ PROP	3,92	4,00	4,09	3,63	0,475	0,756	0,741	0,375
TOT	17,64	20,20	12,86	23,29	4,252	0,166	0,846	0,380

Fonte: (LIMA, 2015)

Legenda: MS: Matéria seca; ACE: Ácido acético; PROP: Ácido propiônico; BUT: Ácido butírico; TOT: Total; EPM: Erro padrão da média; T: tratamento; F: fase; T*F: Interação tratamento e fase; A,B: Letras diferentes na linha diferem entre si († $P<0,1$)

Figura 8 - Médias dos valores de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) nas fezes com base na matéria original (MO) em função dos diferentes tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício)

Fonte: (LIMA, 2015)

Legenda: MO: Matéria original; ACE: Ácido acético; PROP: Ácido propiônico; BUT: Ácido butírico; ACET/PROP: Fração acetato/propionato; TOT: Total; A,B: Letras diferentes diferem entre si

Tabela 9 - Médias e erro padrão da média (EPM) para os valores da produção de Ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) nas fezes com base na matéria seca, de acordo com os tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício)

AGV (mM/kg)	TRATAMENTOS				EPM	VALOR DE P		
	Sem exercício		Com exercício			T	F	T*F
	Controle	Levedura	Controle	Levedura				
MS	23,74	24,13	23,97	24,01	0,419	0,664	0,884	0,631
ACE	56,90	64,47	40,05	71,88	14,717	0,235	0,745	0,413
PROP	14,04	14,96	10,24	19,87	2,982	0,115	0,857	0,183
BUT	5,13	4,85	3,12	5,60	1,143	0,361	0,595	0,261
ACET/ PROP	3,92	4,00	4,09	3,63	0,475	0,756	0,741	0,375
TOT	76,08	84,30	53,41	97,37	18,518	0,196	0,802	0,362

Fonte: (LIMA, 2015)

Legenda: MS: Matéria seca; ACE: Ácido acético; PROP: Ácido propiônico; BUT: Ácido butírico; TOT: Total; EPM: Erro padrão da média; T: tratamento; F: fase; T*F: Interação tratamento e fase

Figura 9 - Valores de ácidos graxos voláteis (AGV) nas fezes com base na matéria seca (MS) em função dos diferentes tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício)

Fonte: (LIMA, 2015)

Os ácidos graxos de cadeia curta são absorvidos pela corrente sanguínea no intestino grosso na forma de ácidos livres, por difusão passiva através de mudanças no gradiente de pH, o que permite a manutenção dos padrões adequados de fermentação cecal. A taxa de absorção é inversamente proporcional ao peso molecular, sendo inicialmente absorvido acetato, propionato, butirato e lactato. Uma vez absorvidos passam pelo sistema porta hepático e circulam como ânions neutros no pH sanguíneo. O propionato é substrato gliconeogênico e contribui para o metabolismo da glicose, enquanto o acetato e butirato fornecem carbonos para a síntese de lipídeos (BRANDI; FURTADO, 2009; FRAPE, 2008).

Booth et al. (2001) avaliaram a inclusão de quantidades crescentes de probióticos na dieta de cavalos da raça quarto de milha em repouso, avaliando pH e produção de ácidos graxos voláteis acético, propiônico e butírico no ceco destes animais. Não houve diferença para as concentrações de lactato e pH, no entanto o grupo suplementado com probiótico demonstrou menor proporção acetato:butirato e alta produção de propionato. Os autores justificaram seus efeitos pela ocorrência de aumento das bactérias que degradam lactato, contribuindo para aumento na produção de ácido propiônico.

De acordo com Moore-Colyer et al. (2000) e NRC (2007), a composição e a relação volumoso e concentrado da dieta influenciam diretamente a população microbiana no intestino dos cavalos e consequentemente a produção dos AGCC. De acordo com esses autores, em dietas a base de forragens, o principal AGCC produzido é o acetato, embora também haja produção de propionato e butirato. Quando há maior introdução de carboidratos rapidamente fermentáveis na dieta, como o milho, ocorre aumento na produção de propionato, geralmente acompanhados da produção de ácido láctico com queda de pH no ceco e cólon, (MEDINA et al., 2002).

Da mesma forma, Hintz, Argenzio e Schryver (1971) observaram que em dietas contendo 63% de milho moído houve aumento de propionato e diminuição de acetato no ceco, enquanto que no cólon os AGCC totais diminuíram, sem comprometer a proporção entre acetato e propionato, o que corrobora com resultados encontrados por Medina et al. (2002), que mediante dieta contendo maior proporção de amido houve aumento de propionato e ácido láctico no intestino desses animais.

Os resultados encontrados na literatura corroboram com os encontrados neste estudo, sugerindo maior alcance de amido em ceco e cólon pelo aumento da taxa de passagem da digesta no intestino delgado ocasionada pelo exercício físico de baixa intensidade, com aumento de bactérias amilolíticas em intestino grosso e produção de lactato, aumentando as bactérias consumidoras de lactato que efetivamente irão transformá-lo em AGCC, principalmente o propionato.

O fato de não ter sido possível observar efeitos na concentração os AGGC para os valores com base na matéria seca possivelmente pode ser explicado por uma maior variabilidade na proporção de matéria seca nas fezes dos animais no segundo período deste estudo, quando foi observado aumento nos coeficientes de digestibilidade das frações de MS, FDN e FDA, já demonstrados anteriormente.

Desta forma, conclui-se que a suplementação com levedura viva *Saccharomyces cerevisiae* em cavalos em condições de exercício físico de baixa intensidade contribui para uma maior produção de AGCC propionato.

5.7 QUANTIFICAÇÃO DE LEVEDURA NAS FEZES

Para a quantificação de leveduras vivas nas fezes não foi possível observar efeito da inclusão de levedura ($P=0,925$). Porém, observou-se efeito de interação da suplementação com levedura e exercício físico ($P<0,001$), com diminuição quantitativa de levedura viva nas fezes após o início do exercício físico tanto para o grupo suplementado quanto para o grupo controle, conforme Tabela 10.

Tabela 10 - Efeito das médias das Unidades Formadoras de colônias (log UFC) em função dos diferentes tratamentos (controle e levedura; sem exercício e com exercício físico)

TRATAMENTOS ¹								
Sem exercício		Com exercício		EPM	VALOR DE P			
UFC/ ¹ mL	Controle	Levedura	Controle		Levedura	T	F	F*T
	11,34A	11,08A	10,62B	10,81B	0,2515	0,9251	<0,0001	<0,0001**

Fonte: (LIMA, 2015)

Legenda: EPM: Erro padrão da média; T: Tratamento (controle e levedura); F: Fase (com exercício e sem exercício); UFC: Unidades Formadoras de colônia; ** $P<0,001$, ¹Efeito de desdobramento de fases dentro de tratamentos

Figura 10 - Valores de UFC (Unidades Formadoras de Colônia) em função dos diferentes tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício)

Fonte: (LIMA, 2015)

Medina et al. (2002), estudando efeitos da suplementação com *Saccharomyces cerevisiae* em cavalos fistulados em ceco e cólon, realizou quantificação da levedura através de PCR em tempo real e encontrou células de leveduras viáveis no intestino grosso 4 horas após a alimentação, observando que a concentração destas no ceco permaneceu a um nível próximo ao do que foi fornecido (10^6 UFC/g de MS de ração), no entanto, apenas $4,5 \times 10^4$ UFC/g de leveduras viáveis foram detectados no conteúdo do cólon, sugerindo que a levedura utilizada foi capaz de alcançar e sobreviver no ceco e cólon ventral direito dos cavalos, sem no entanto, colonizá-lo.

5.8 pH FECAL

Os valores de pH fecal para as diferentes faixas de horário estabelecidas, estão representados na Tabela 11 e Figura 11. Os resultados não demonstraram efeito de inclusão de levedura para todas as faixas de horário ($P>0,1$), no entanto, apontaram efeito de interação da inclusão de levedura e exercício físico para as faixas de horário 1 ($P=0,050$) e 2 ($P=0,080$). Já para a faixa de horário 3 foi observado efeito de exercício físico ($13,67$ vs. $6,28 \pm 5,225$). Para a faixa de horário 4 foi observado efeito de exercício físico ($6,8$ vs. $6,38 \pm 0,296$, com $P<0,001$). Em todas as faixas de horário, as médias de pH fecal apresentaram diminuição após a introdução do programa de treinamento físico.

Tabela 11 - Médias e erro padrão da média (EPM) para os valores de pH fecal nas diferentes faixas de horário, de acordo com os tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício)

PH	TRATAMENTO				EPM	VALOR DE P		
	Sem exercício		Com exercício			T	F	T*F
	Controle	Levedura	Controle	Levedura				
Faixa 1 ¹	7,07A	6,88B	6,34A	6,42B	0,102	0,694	<0,0001	0,050†
Faixa 2 ²	7,06A	6,84B	6,42A	6,42B	0,076	0,256	<0,0001	0,080†
Faixa 3	6,89A	6,78A	6,29B	6,28B	0,119	0,687	0,0007**	0,609
Faixa 4	6,77A	6,83A	6,49B	6,27B	0,110	0,566	0,0012**	0,151

Fonte: (LIMA, 2015)

Legenda: EPM: Erro padrão da média; T: Tratamento (controle e levedura); F: fase (sem exercício e com exercício); T*F: interação tratamento e fase; Faixas de horário: 1: 7h – 10h; Faixa 2: 10h – 13h; Faixa 3: 13h – 16h; Faixa 4: 16h – 19h; A,B: letras diferentes na linha diferem entre si (** $p<0,01$; † $p<0,1$); ¹Efeito de desdobramento de tratamentos dentro de fases; ²Efeito de desdobramento de tratamentos dentro de fases

Figura 11 - Valores de pH fecal, em função dos diferentes tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício)

Fonte: (LIMA, 2015)

Legenda: Faixa 1: 7h – 10h; Faixa 2: 10h – 13h; Faixa 3: 13h – 16h; Faixa 4: 16h – 19h; CS: Controle sem exercício; LS: Levedura sem exercício; CE: Controle com exercício; LE: Levedura com exercício

Embora a dieta experimental adotada neste estudo esteja de acordo com as exigências dos animais para a categoria, é possível observar uma queda no pH das fezes mais acentuada para os dois grupos nas duas fases na faixa de horário 3 (13 às 16:00 hs). Esse fato pode ser explicado pelos achados de Williamson et al. (2007) quando avaliando efeitos das proporções de fibra na dieta, afirmam que o fornecimento de feno duas vezes ao dia e o aumento da quantidade de fibra estão associados com aumento no pH fecal, uma vez que o feno ou as forragens ricas em fibra podem tamponar potencialmente os produtos da fermentação no intestino grosso devido ao seu conteúdo rico em matéria seca (NRC, 1989), concordando com Medina et al. (2002) quando afirmaram que os níveis de fibra dietética insuficientes em dietas para cavalos pode levar a acidose no intestino grosso. Sugere-se então que a maior acidificação das fezes nos momentos supracitados refere-se ao fato de nesse período, que antecede o arraçoamento da tarde, os animais já terem ingerido totalmente o feno fornecido no trato da manhã, levando a acidificação pela menor ingestão de fibra neste período.

Da mesma forma, diversos autores concluíram que equinos que consomem dietas ricas em carboidratos hidrolisáveis apresentam redução no pH fecal (HUSSEIN et al., 2004; BERG et al., 2005; RICHARDS et al., 2006, WILLIAMSON et al., 2007). Medina et al. (2003) confirma este fato afirmando que a medida que ingredientes ricos em amido como o milho são fornecidos na dieta, principalmente em quantidades superiores aos níveis de 0,4% do PC ou ainda de 0,2% do PC, ocorre aumento na população de bactérias amilolíticas como os *Lactobacillos*, com produção de lactato e o seu acúmulo pode superar a capacidade tampão do ceco e cólon e diminuir o pH do meio.

Os resultados encontrados na literatura corroboram com os resultados encontrados neste estudo, sugerindo que a queda de pH tenha ocorrido pela chegada de amido em ceco e cólon, com aumento das bactérias amilolíticas, produzindo ácido lático e levando a acidificação do meio. Embora não tenha havido sobrecarga de amido na dieta experimental, foi possível observar resultados sugestivos de aumento da taxa de passagem da digesta em intestino delgado e confirmar a elevação na população de bactérias celulolíticas após o início da fase de exercício (dados apresentados posteriormente neste estudo), permitindo concluir que o exercício físico de baixa intensidade pode ocasionar a acidificação do meio intestinal em equinos.

5.9 REAÇÃO EM CADEIA DE POLIMERASE-PCR FECAL

Os resultados não apresentam efeito da inclusão de levedura ($P>0,1$) para a população relativa das bactérias celulolíticas *Fibrobacter succionogenes*. No entanto, quando comparadas as fases em que os animais estiveram sedentários e em exercício, é possível observar efeito de exercício físico (1,27 vs $0,76\pm0,619$, com $P=0,083$), com diminuição na contagem após a introdução do programa de exercício físico nos grupos controle e suplementado com levedura. Contudo, o grupo que recebeu a levedura manteve uma maior população relativa destas bactérias nas fezes, conforme Tabela 12 e Figuras 12, 13 e 14, respectivamente.

Tabela 12 - Médias e erro padrão da média (EPM) para os valores relativos de contagem bacteriana fecal de acordo com os tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício)

Bactérias (dCT)	TRATAMENTOS				EPM	VALOR DE P		
	Sem exercício		Com exercício			T	F	T*F
	Controle	Levedura	Controle	Levedura				
<i>Fibrobacter succinogenes</i>	1	1,54	0,43	1,09	0,1086	0,226	0,083†	0,428
<i>Lactobacillus</i> ¹ genus	1B	2,23A	2,09A	0,70B	0,0750	0,714	0,552	0,020*
<i>Ruminococcus flavenfaciens</i>	1	1,94	0,93	1,39	0,0547	0,118	0,454	0,633

Fonte: (LIMA, 2015)

Legenda: EPM: Erro padrão da média; T: Tratamento (controle e levedura); F: fase (sem exercício e com exercício); T*F: interação tratamento e fase; A,B: letras diferentes na linha diferem entre si (* $p<0,05$; † $p<0,1$)

¹Efeito de desdobramento de fases dentro de tratamentos

Figura 12 - Valores de *Fibrobacter succinogenes* nas fezes de equinos, em função dos diferentes tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício)

Fonte: (LIMA, 2015)

Figura 13 - Valores de *Lactobacillus* genus nas fezes de equinos, em função dos diferentes tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício)

Fonte: (LIMA, 2015)

Figura 14 - Valores de *Ruminococcus flavenfaciens* nas fezes de equinos, em função dos diferentes tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício)

Fonte: (LIMA, 2015)

Pagan (2001) afirmou que as bactérias fermentadoras de fibras apresentam melhor desempenho em pH variando entre 6,5 e 7, no entanto, Van Soest (1994) afirma que o pH ideal está entre 6,4 e 6,7. Em estudo realizado por Brandi e Furtado (2009), os autores afirmaram que animais em pastejo mantêm o pH do intestino grosso em torno de 6,4 à 6,7. O pH 6 é considerado acidose subclínica, e inferior a 6 associado a diarreias osmóticas, crescimento de bactérias indesejadas e aumento da possibilidade de endotoxemia e laminites.

Julliand et al. (2001) verificaram redução do pH de ceco e cólon quando a cevada foi adicionada a dieta testando três relações de volumoso (cevada 100:0; 70:30 e 50:50), sendo possível observar diferença entre os tratamentos 100:0 e 50:50. Os autores justificaram os resultados pelo maior aporte de amido para o ceco e cólon e, consequente aumento das bactérias amilolíticas e depressão da microbiota celulolítica.

Hastie et al. (2008) detectou baixos níveis de bactérias fibrolíticas e amilolíticas no ceco de cavalos doentes em comparação com fezes de cavalos saudáveis, utilizando técnicas moleculares baseados em PCR em tempo real. Por outro lado, Philippeau et al. (2015) sugerem que uma ingestão de fibra eficaz em cavalos pode constituir um abundante substrato para microrganismos celulolíticos no intestino grosso, aumentando sua população. Murray et al. (2014) estudando a influência do amido na dieta sobre a população de bactérias celulolíticas e amilolíticas intestinais em cavalos, utilizou sete pôneis adultos divididos em dois grupos, o grupo 1 consumiu uma dieta com baixa concentração de amido 186/kg de MS e o grupo 2 consumiu uma dieta com alta concentração de amido contendo 512 g/kg de MS de amido com um consumo de matéria seca total de 17,5 g/kg de MS total, o crescimento de

bactérias celulolíticas e amilolíticas foi estimado pelo método do número mais provável (MPN), com diluição em série. Neste estudo não foram encontradas diferenças significativas entre as duas dietas sobre a população amilolíticas e celulolíticas.

Moore et al. (1994) encontraram um aumento na concentração de bactérias celulolíticas em animais suplementados com levedura *Saccharomyces cerevisiae*, da mesma forma, Jouany et al. (2008) apontam efeitos relacionados com a suplementação de levedura *Saccharomyces cerevisiae* sobre a atividade das bactérias celulolíticas, apontando melhoria da digestibilidade da fibra e síntese de proteína microbiana pelo aumento da proporção acetato: propionato, uma vez que o acetato é o principal produto da atividade fibrolítica no intestino, além de estabilização do pH no ceco e cólon, sugerindo aumento da metabolização do lactato pelas bactérias ou limitação da sua produção principalmente pelo *Streptococcus* (MEDINA et al., 2002; CHAUCHEYRAS-DURAND; DURAND, 2010).

Os resultados encontrados na literatura relacionados à suplementação com levedura discordam dos resultados encontrados neste estudo, uma vez que não foi possível observar aumento de bactérias celulolíticas para o grupo suplementado e sim diminuição após a introdução do exercício físico. No entanto sugere-se que a levedura tenha contribuído para manutenção dos níveis de bactérias fibrolíticas no intestino. Sugere-se que a diminuição do pH no ceco pelo aumento da atividade das bactérias amilolíticas tenha ocasionado o resultado de diminuição na concentração de bactérias fibrolíticas, demonstradas pela diminuição destas nas fezes após o início do programa de exercício físico.

5.10 ENDOTOXINA SÉRICA

Os resultados da mensuração dos níveis séricos de endotoxinas não demonstraram efeito de inclusão de levedura ($P>0,1$), no entanto, pode-se observar efeito de interação da inclusão de levedura e exercício físico ($P<0,07$), apresentando elevação dos níveis de endotoxinas no sangue após o início do programa de treinamento físico para o grupo controle, conforme Tabela 13.

Tabela 13 - Quantificação de endotoxinas nas fezes em Unidade de endotoxina (UE) em função dos diferentes tratamentos (controle e levedura sem exercício e controle e levedura com exercício físico)

tratamentos (controle e levedura sem exercício e controle e levedura com exercício físico)								
(UE/mL)	TRATAMENTOS				EPM	VALOR DE P		
	Sem exercício		Com exercício			T	F	F*T
END ¹	Controle	Levedura	Controle	Levedura				
	0,911B	1,219A	1,193A	1,120A	0,1306	0,487	0,340	0,068 †

Fonte: (LIMA. 2015)

Legenda: EPM: Erro padrão da média; T: Tratamento (controle e levedura); F: Fase (com exercício e sem exercício); END: Endotoxinas; A, B: Letras diferentes na linha diferem entre si ($\dagger p < 0,07$); ¹Efeito de desdobramento de tratamentos dentro de fases

Figura 15 - Valores da quantificação de endotoxina sérica em UE (Unidade de endotoxina) em função dos diferentes tratamentos (controle e levedura sem exercício; controle e levedura com exercício físico)

Fonte: (LIMA. 2015)

Em estudos com endotoxemia em cavalos, Moore et al. (1979) fizeram referência a valores de endotoxinas de 80 mg/L em fluido cecal de equinos saudáveis e clinicamente normais, na sequência Mackav (1992) estimou valores de no mínimo 2 g de endotoxina livre no ceco e cólon ventral de equinos saudáveis. Senior et al. (2011) comparando a quantificação de endotoxinas no plasma de equinos em Hospital Veterinário acometidos ou não com cólicas e endotoxemia através da utilização de kit Limulus Amoebocyte Lysate (LAL) encontrou que os indivíduos que apresentaram sinais clínicos de cólica tinham em média níveis de LPS de $0,464 \pm 0,17$ EU/mL, mantendo os níveis na faixa de 0.255-0,930 UE/ml.

Moore et al. (1979); Krueger et al. (1986) e Zeyner et al. (2004), estudando equinos alimentados com altos teores de amido concluíram que nestes casos, pode ocorrer uma saturação da capacidade de digestão do amido no intestino delgado chegando a ceco e cólon iniciando rapidamente fermentação no intestino grosso, resultando em acidificação da digesta pela queda de pH e aumento na produção de ácidos graxos voláteis (AGV's) e ácido lático.

Essa acidificação no intestino grosso pode iniciar efeitos colaterais como a irritação e degeneração do epitélio intestinal, além de promover a morte de bactérias gram-negativas, o que promove a liberação de endotoxinas.

Os dados desse estudo corroboram com estas informações quando se observa queda no pH das fezes associada a um aumento dos níveis de endotoxina para o grupo controle após o início da fase de exercício físico. Segundo o NRC (2007) o nível máximo seguro de fornecimento de amido para cavalos é de 3,4 g de amido/ kg de PC por refeição. Embora não haja sobrecarga de amido na dieta experimental deste estudo (0,51 g de amido/kg de PC), de acordo com Casalecchi et al., (2012), a forma de processamento do milho na dieta pode influenciar a digestão do amido pelo trato gastrointestinal dos cavalos.

Lewis (2000) concluiu que o aquecimento e a moagem suficientes para desintegrar o grão de milho e sua estrutura granular amilácea aumentam a quantidade de amido digerido no intestino delgado dos equinos, já Potter et al. (1992) afirmaram que o processamento tem pequeno efeito sobre a digestibilidade em todo o trato gastrointestinal dos nesta espécie, mas pode afetar o local de digestão de determinados nutrientes. Mc Lean et al. (2000) observaram processamento de grãos na dieta de cavalos, encontrando efeitos desfavoráveis na fermentação intracecal em pôneis alimentados com uma dieta de feno e cevada extrusada (50:50) fornecendo 2,1g/kg de PC por refeição, afirmando que a extensão da hidrólise enzimática no intestino delgado deve reduzir a quantidade de amido que chega o intestino grosso. De Fombelle et al. (2003), no entanto, demonstraram a presença de bactérias produtoras e utilizadoras de ácido láctico no estômago de cavalos sugerindo efeitos indesejáveis por aumento da fermentação de amido e produção de ácido láctico no estômago.

Considerando as informações que Collatos et al. (1995) apresenta de que diversos fatores podem ocasionar perturbações na mucosa intestinal dos cavalos, favorecendo a chegada de endotoxinas à corrente sanguínea, inclusive por alterações nos ciclos de fermentação dos microrganismos intestinais, e de acordo com dados deste estudo que sugerem aumento de taxa de passagem da digesta por efeito de exercício físico, sugere-se a ocorrência de menor tempo para hidrólise do amido no intestino delgado, que associada à utilização do milho quebrado na dieta, garantindo digestibilidade de no máximo 40 %, possa ter levado a chegada de amido ao intestino grosso dos animais alterando o padrão fermentativo, com aumento nos níveis de endotoxinas que atravessaram a barreira mucosa intestinal e ganharam a circulação sanguínea.

Em estudo mais recente, Santos et al. (2011), igualmente estudando cavalos submetidos à sobrecarga com amido na proporção de 17,6 g de amido/kg de PC, quantificou a

presença de endotoxinas séricas através do sistema Limulus Amoebocyte Lysate (LAL) cromogênico quantitativo, com kit comercial (QCL-1000®, Cambrex) e dosagem através de espectrofotometria (Biotek Reader) e encontrou variações de motilidade intestinal em todos os animais, alguns apresentaram aumento e outros diminuição, demonstrando variação individual entre animais adaptados a uma alimentação com nível elevado de concentrado quando submetidos à sobrecarga de amido. Neste estudo, os autores não encontraram valores séricos de endotoxinas superiores a 0,1000 EU/mL, limiar de sensibilidade o ensaio, sugerindo que até 36 horas após uma alimentação com sobrecarga de amido não há lesão suficiente na mucosa intestinal para apresentação de quadro clínico grave de endotoxemia e acidose metabólica.

Por outro lado, sugere-se que a levedura foi capaz de manter os níveis de endotoxinas circulantes mesmo após a introdução do programa de treinamento, sugerindo que quando a digestão do amido no intestino delgado foi ineficiente, as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* possam ter contribuído para a limitação da extensão de mudanças indesejáveis no ecossistema intestinal. Estudos anteriores encontraram resultados condizentes com essa suposição, quando Medina et al. (2002) avaliando efeitos da suplementação com 10 g diárias de *Saccharomyces cerevisiae* em oito cavalos fistulados em ceco e cólon recebendo dietas com alta fibra e alto amido, encontrou aumento de pH no ceco 4 a 9 horas após a alimentação rica em amido no momento em que o pH e os valores de ácido láctico foram afetados pela dieta, sugerindo aumento nas bactérias fibrolíticas no intestino grosso de equinos, confirmando que a suplementação com leveduras *Saccharomyces cerevisiae* na dieta reduz a variação da concentração do ácido láctico e pH no conteúdo intestinal permitindo maior tolerância a distúrbios digestivos em dietas ricas em amido muito utilizadas em cavalos praticantes de atividade física.

Dessa forma, conclui-se o exercício físico de baixa intensidade em cavalos contribui para elevação dos níveis séricos de endotoxinas, potencialmente pelas alterações nas condições fermentativas comprovadas neste estudo, com diminuição do pH e alterações na população microbiana com aumento da população de bactérias amilolíticas *Lactobacillus genus*. Sugere-se que a suplementação com levedura *Saccharomyces cerevisiae* tenha contribuído para um equilíbrio da microflora intestinal, auxiliando na manutenção dos níveis de endotoxinas intestinais, contribuindo para manutenção da saúde digestiva desses animais.

5.11 FREQUÊNCIA CARDÍACA

Em equinos, a frequência cardíaca (FC) em repouso varia em média de 30 a 40 bpm (MCKEEVER, 2002). Nesses animais, a FC máxima varia entre 204 e 241 bpm, e não é considerada uma importante medida do condicionamento físico já que ela não se altera com o treinamento (POOLE E ERICKSON, 2004).

Os resultados para frequência cardíaca dos animais durante o exercício não apresentaram efeito da inclusão de levedura nos dias de mensuração D0 e D60 e de interações: tratamento e dias; tratamento e tempo; dias e tempo; e tratamento, dias e tempo ($P>0,1$). No entanto, apontaram um efeito esperado conforme o protocolo de exercício físico. É possível observar significância de tempo em cada velocidade ($P<0,001$), na medida em que a velocidade aumentou, as médias das frequências cardíacas dos animais também se elevaram, alcançando valores máximos aos 35 minutos de exercício, quando a velocidade máxima foi atingida com duração de 10 minutos (5 minutos a 15 km/h, inverteu o sentido do equipamento do sentido horário para anti-horário, 5 minutos a 15 km/h), conforme Gráfico 16.

Figura 16 - Variação das médias de Frequência em relação ao tempo de exercício

Fonte: (LIMA, 2015)

De acordo com as velocidades adotadas durante o protocolo de exercício deste estudo, a FC observada apresentou variação proporcional à velocidade ao longo do exercício, ou seja, quanto maior foi a velocidade imposta, maior foi a FC apresentando com os animais,

corroborando com os achados de Pinto (2010) e Gonzaga (2013) quando trabalharam com cavalos em exercitador com velocidades controladas.

Segundo Evans (2004) a relação entre FC e velocidade varia entre raças e entre indivíduos da mesma raça, podendo estar relacionada com a habilidade atlética de cada indivíduo. A FC apresenta um aumento linear durante a atividade física, proporcional ao aumento da velocidade do exercício, até atingir um valor máximo, a partir do ponto em que não se eleva mais, mesmo com o aumento da intensidade de trabalho. A FC_{MAX} de um equino varia de 220 a 240 bpm, o que representa um aumento de quase sete vezes a taxa de repouso. Cada cavalo tem sua FC_{MAX}, que é atingida em uma intensidade de exercício particular e pode variar consideravelmente entre indivíduos. No entanto, segundo este autor a FC possui alta correlação positiva com a velocidade em exercícios máximos, porém pequena correlação positiva em exercícios de baixa e média intensidade.

Os resultados para a frequência cardíaca basal, máxima e final não apresentaram efeito da inclusão de levedura ou de dias de mensuração ($P>0,1$). A interação da inclusão de levedura e dias de mensuração também foi testada, porém não apresentou efeito ($P>0,1$). As médias variaram conforme Tabela 14.

Tabela 14 - Variação das médias das frequências cardíacas basal, máxima e final de acordo com os dias de mensuração (D0 – início da fase de exercício e D60 – final da fase de exercício)

FC (bpm)	D0	D60	EPM	Valor de P
Basal	38,00	38,92	2,0135	NS
Máxima	174,27	176,30	17,7209	NS
Final	112,20	96,40	26,515	NS

Fonte: (LIMA, 2015)

Legenda: EPM: Erro Padrão da Média

Os valores de FC basal obtidos neste estudo estão de acordo com os resultados encontrados por Gonzaga (2013) avaliando equinos da raça Mangalarga Marchador na fase inicial de treinamento, ainda em repouso, encontraram valores médios de $41 \pm 6,83$ bpm.

Thomas et al. (1983) testaram os efeitos de 5 e 10 semanas de treinamento em esteira ergométrica sobre a função cardiorrespiratória de equinos e constataram que, em repouso, a FC não diferiu de após o treinamento, concluindo que o treinamento não influenciou a FC basal.

Os resultados para frequência cardíaca de recuperação não apresentaram efeito de dias de mensuração ($P>0,1$), apresentando valor de P significativo para a inclusão de levedura e o tempo de recuperação ($P<0,05$). No entanto, observa-se efeito de interação da inclusão de levedura e dias de mensuração ($P=0,038$), conforme Figura 17.

Figura 17 - Valores médios de Frequência cardíaca de recuperação após 20 minutos do término do exercício nos diferentes dias de mensuração

Fonte: (LIMA, 2015)

Legenda: A,B: Letras maiúsculas diferentes diferem entre si nos dias de mensuração; a,b: Letras minúsculas diferentes diferem entre si de tratamento ($P<0,05$)

É possível observar que embora as médias de recuperação cardíaca pós-exercício do grupo controle tenham apresentado valores mais baixos em relação ao grupo suplementado ao início da fase de exercício (Dia 0), o grupo que recebeu a levedura apresentou melhores condições na recuperação cardíaca no dia 60, com diminuição na frequência média de recuperação de 54,35 bpm para 48,85 bpm. Esse resultado é sugestivo de se obter uma melhor recuperação cardíaca em animais suplementados com levedura após 60 dias de exercício físico.

Glade e Campbell (1990) constaram efeitos do uso de probióticos sobre a frequência cardíaca em cavalos após exercício moderado, com frequências cardíacas de 15 a 20% mais baixas. Art et al. (1994) observaram efeitos positivos sobre o uso de carboidratos utilizados pela via aeróbia em cavalos suplementados com probióticos utilizando micro-organismos vivos e concluíram que estes aditivos podem favorecer a utilização de glicogênio pelas vias aeróbias.

6 CONCLUSÕES

Nas condições em que o estudo foi realizado é possível concluir que a suplementação com levedura viva *Saccharomyces cerevisiae* na dieta de equinos influencia a produção de ácidos graxos de cadeia curta.

O exercício físico de baixa intensidade em equinos influencia os coeficientes de digestibilidade dos nutrientes da dieta, perfil glicêmico, pH fecal e a quantificação bacteriana nas fezes.

A inclusão de levedura viva *Saccharomyces cerevisiae* na dieta e o exercício físico de baixa intensidade influenciam o coeficiente de digestibilidade do EE, perfil sérico de gordura, a quantificação de levedura viva nas fezes, os níveis séricos de endotoxinas, o pH fecal, a quantificação bacteriana nas fezes e a frequência cardíaca de recuperação pós-exercício. O tempo de exercício em cada velocidade influencia a frequência cardíaca dos animais durante o exercício físico.

Novos estudos são necessários para determinar a relação ideal de fibra e amido na dieta de cavalos em exercício, especialmente os de baixa intensidade, bem como buscar novos esclarecimentos sobre a influência da inclusão de leveduras na dieta sobre o comportamento da microbiota intestinal, visando limitar o risco de distúrbios ou alterações indesejáveis no intestinal, a fim de manter a saúde digestiva desses animais.

REFERÊNCIAS

AAS, M.; DAAE, L.N.W. Fatty acid activation and acyl transfer in organs from rats in different nutritional states. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)**, v. 239, p. 208-216, 1971.

AGAZZI, A.; FERRONI, M.; FANELLI, A.; MAROCCOLO, S.; INVERNIZZI, G.; DELL'ORTO, V.; SAVOINI, G. Evaluation of the effects of live yeast supplementation on apparent digestibility of high-fiber diet in mature horses using the acid insoluble ash marker modified method. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 3, n. 1, p. 13-18, 2011.

AMORIM, H. V.; LOPES, M. L. Tecnologia sobre processamento de leveduras vivas, inativas e seus derivados: conceitos básicos. In: CONGRESSO INTERNACIONAL SOBRE USO DA LEVEDURA NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 1., 2009. Campinas: **Anais...** Campinas: CBNA, 2010. Campinas, p. 5-20.

ANDRIGUETTO, J. M.; PERLY, L.; MINARDI, I.; GEMAEL, A.; FLEMMING, S. J.; SOUZA, A. G.; BONA FILHO, A. **Nutrição Animal/Alimentação Animal**. São Paulo: Nobel, 1984. v. 2, p. 299-307.

ANDRIGUETTO, J. M.; PERLY, L.; MINARD, I.; GEMAEL, A.; FLEMMING, J. S.; SOUZA, G. A. de; BONA FILHO, A. **Nutrição animal: as bases e os fundamentos da nutrição animal: os alimentos**. 6. ed. São Paulo: Nobel, 1999. v. 1, 395 p.

ARAÚJO, K. V.; LIMA, J. A. F.; FIALHO, E. T.; FRANCO, G. L. Avaliação de períodos de coleta total de fezes para determinar a digestibilidade aparente dos nutrientes em equinos. **Ciência Agrotecnologia**, v. 27, n. 4, p. 886-893, 2003.

ARGENZIO, R. A. Digestão e absorção dos carboidratos, gorduras e proteínas. In: DUKES, H.H. **Fisiologia dos animais domésticos**. 11. ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 1996. Cap.19, p.330-342.

ART, T.; McENTEE, D.; AMORY, H.; LINDEN, A.; CLOSE, R.; LEKEUX, P. Cardio-respiratory, hematological and biochemical parameter adjustments to exercise: effect of a probiotic in horses during training. **Veterinary Research**, v. 25, p.361-370, janeiro, 1994.

ART, T.; VAN ERCK, E. What do we know about the poor performance horse? **PROCEEDINGS OF THE CONFERENCE ON EQUINE SPORTS MEDICINE AND SCIENCE**, 2008, Lindner, Wageningen Academic Publishers, Wageningen, Netherlands. 2008. p. 15-37.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis**. 13th ed. Washington, DC.: AOAC, 1980.

BACILA, M. **Bioquímica veterinária**. 2. ed. São Paulo: Robe, 2003. 583 p.

BAILEY, J. G. Fisiologia muscular. In: REECE, M. W. O. **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2006. p. 811-830.

BARTON, M. H.; COLLATOS, C. Tumor necrosis factor and interleukin-6 activity and endotoxin concentration in peritoneal fluid and blood of horses with acute abdominal disease. **Journal Veterinary Internal Medicine**, v. 13, n. 5, p. 457-464, outubro, 1999.

BERG, E. L.; FU, C. J.; PORTER, J. H.; KERLEY, M. S. Fructooligosaccharide supplementation in the yearling horse: Effects on fecal pH, microbial content, and volatile fatty acid concentrations. **Journal of Animal Science**, v. 83, p. 1549-1553, 2005.

BERGMEYER, H. V. **Methods of enzymatic analysis**. 2nd. ed. New York: Academic Press, 1987. p. 1205-1214.

BEUTLER, B.; KROCHIN, N.; MILSARK, I. W.; LUEDEKE, C.; CERAMI, A. Control of cachectin (tumor necrosis factor) synthesis: mechanisms of endotoxin resistance. **Science**, v. 232, p. 977-980, 1986.

BERGMAN, E. N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. **Physiological Reviews**, v. 70, n. 2, p. 567-590, 1990.

BOFFI, F. M. Entrenamiento y adaptación muscular. sustratos y vías metabólicas para la producción de energía. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p. 197-201, 2008.

BOOTH, J. A.; MILLER-AUWERDA, P. A.; RASMUSSEN, M. A. The effect of a microbial supplement (Horse-Bac) containing *Lactobacillus acidophilus* on the microbial and chemical composition of the cecum in the sedentary horse. In: EQUINE NUTRITION AND PHYSIOLOGY SYMPOSIUM, 17., Lexington. **Proceedings...** 2001. p. 183-185.

BRANDI, R. A.; FURTADO, C. E. Importância Nutricional e metabólica da fibra na dieta de equinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 246-258, 2009.

BRIGGS, K. **Understanding equine nutrition**. Lexington: Blood-Horse Publications, 2007.

BROCK, T. D. **Biology of microorganisms**. 7. ed. New Jersey: Prentice Hall, 1994. p. 360-380.

BRUM, P. C.; FORJAZ, C. L. M.; TINUCCI, T.; NEGRÃO, C. E. Adaptações agudas e crônicas do exercício físico no sistema cardiovascular. **Revista Paulista de Educação Física**, v. 18, n. 21, p. 21-31, Agosto. 2004.

BRUSS, M. L. Lipids and ketones. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5. ed. California: Academic Press, 1997. p. 83-116.

BRUSS, M. L. Lipids and ketones. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L.. **Clinical biochemistry of domestic animals**. New York: Academic Press, 1980. p. 83-905.

CARVALHO, R. T. L.; HADDAD, C. M.; DOMINGUES, J. L. **Alimentos e alimentação do cavalo**. Piracicaba: Losito de Carvalho Consultores Associados, 1992. 130 p.

CASTAGLIUOLO, I.; RIEGLER, M. F.; VALENICK, L.; LAMONT, J. T.; POTHOUKAKIS, C. *Saccharomyces boulardii* protease inhibits the effects of Clostridium difficile toxins A and B in human colonic mucosa. **Infection Immunity**; v. 67, p. 302-307, 1999.

CANGANILLA, F.; PAGANINI, S.; OVIDI, M.; VETTRAINO, A. M.; BEVILACQUA, L.; MASSA, S.; TROVATELLI, L. D. A microbiological investigation on probiotic pharmaceutical products used for human health. **Microbiological Research**, v. 152, n. 2, p. 171-179, 1997.

CASALECCHI, F. L.; ETCHICHURY, M.; GONZAGA, I. V. F.; GOBESSO, A. A. O. Digestibilidade aparente total e resposta glicêmica de dietas para equinos contendo milho submetido a diferentes processamentos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 49, n. 3, p. 232-238, 2012.

CAYADO, P.; MUÑOZ-ESCASSI, B.; DOMÁ-NGUEZ, C. Hormone response to training and competition in athletic horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 36, p. 274-278, 2006.

CASTEJÓN, F.; RUBIO, M. B.; AGUERA, E. I.; ESCRIBANO, B.M., REQUENA, F.; VIVO, R. Respuesta hematológica y plasmática al ejercicio en cinta rodante. In: FORO DE OPINIÓN EL CABALLO ESPAÑOL, 1995. Sevilla **Proceedings...** Sevilla: Egondi Artes Gráficas, S.A., 1995. p. 187-196. **Valoración morfofuncional en la selección de reproductores del caballo de pura raza española (caballo Andaluz)**, Sevilla, 1995.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FENIER, D. R. **Bioquímica ilustrada**. Porto Alegre: Artmed, 2006. 533 p.

CHAUCHEYRAS-DURAN, F.; DURAND, H. Probiotics in animal nutrition and health. **Beneficial Microbes**, Saint-Genés Champanelle, v. 1, p. 3-9, 2010.

CHEN, Y. X.; LIU, H.; ZHANG, W. B.; JIN, Y. F. A novel tri-primer PCR method (TP-PCR) for rapid construction of fpg gene. **Journal of Microbiological Methods**, Hangzhou, v. 56, p. 359-364, 2004.

CICHORSKA, B.; KOMOSA, M.; NOGOWSKI, L.; MAĆKOWIAK, P.; JÓZEFIK, D. Significance of nutrient digestibility in horse nutrition—a review. **Animal Science**, v. 14, n. 4, p. 779–797, 2014.

CLAUSS, M.; SCHIELE, K.; ORTMANN, S.; FRITZ, J.; CODRON, D.; HUMMEL, J., KIENZE, E. The effect of very low food intake on digestive physiology and forage digestibility in horses. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 98, n. 1, p. 107–118, 2013.

CLAYTON, H. M. **Conditioning sport horses**. Mason: Sport Horse Publications, 1991. 242 p.

COLLADO, M. C.; GRZESKOWIAK, L.; SALMINEN, S. Probiotic strains and their combination inhibit in vitro adhesion of pathogens to pig intestinal mucosa. **Current Microbiology**, v. 55, p. 260–265, 2007.

COLLATOS, C.; BARTON, M. H.; MOORE, J. N. Fibrinolytic activity in plasma from horses with gastrointestinal diseases: changes associated with diagnosis, surgery, and outcome. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 9, p. 18-23, 1995.

CRAIG, N.; NUNAN, M. **Entrenamiento del ritmo cardíaco para caballos**. Adelaide: Performance Matters Pty Ltd, 1998.

CUNHA, J. T. **Feeding and nutrition horse**. 2nd ed. Waltham: Academic Press, 1991. p. 445.

CUNILLERAS, E. J.; HINCHCLIFF, K. W. Carbohydrate metabolism in exercising horses. Equine and comparative exercise physiology. **Equine and Comparative Exercise Physiology**, v. 1, n. 1, p. 23-32, 2004.

CUNILLERAS, E. J.; HINCHCLIFF, K. W.; SAMS, R. A.; DEVOR, S. T.; LINDRMAN, J. K. Glycemic index of a meal fed before exercise alters substrate use and glucose flux in exercising horses. **Journal Applied Physiology**, v. 92, p. 117-128, 2002.

DACRE, T. I. **Equine dental pathology**. In: BAKER, G. J.; EASLEY, J. **Equine dentistry**. 2nd ed. London: W.B. Saunders, 2005. p. 91–109.

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

DAVIE, A. J. **A scientific approach to training Thoroughbred horses**. In: LINDNER, A. Management of lameness in sport horses. Wageningen: Academic Publishers, 2006. p. 69-84.

DE FOMBELLE, A.; VARLOUD, M.; GOACHET, A.G.; JACOTOT, E.; PHILIPPEAU, C.; DROGOUL, C.; JULLIAND, V. Characterization of the microbial and biochemical profile of the different segments of the digestive tract in horses given two distinct diets. **Animal Science**, v. 77, n. 2, p. 293-304, 2003.

DE FOMBELLE, A.; JULLIAND, V.; DROGOUL, C.; JACOTOT, E. Feeding and microbial disorders in horses: effects of an abrupt incorporation of two levels of barley in a hay diet on microbial profile and activities. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 21, n. 9, p. 439-445, 2001.

DE MARCO, M.; MIRAGLIA, N.; PEIRETTI, P. G.; BERGERO, D. Apparent digestibility of wheat bran and extruded flax in horses determined by total collection of feces and acid-insoluble ash as internal marker. **Animal: an animal international journal of animal bioscience**, v. 6, n. 2, p. 227–231, 2012.

DOUGAL, K.; DE LA FUENTE, G.; HARRIS, P.A.; GIRDWOOD, S. E.; PINLOCHE, E.; NEWBOLD, C. J. Identification of a core bacterial community within the large intestine of the horse. **Plos One**, v. 8, n. 10, p. e77660, 2013.

DROUGOUL, C.; PONCET, C.; TISSERLAND, J. L. Feeding ground and pelleted hay rather than chopped hay to ponies 1. Consequences for in vivo digestibility and rate of passage of digesta. **Animal Feed Science and Technology**, v. 87, p. 117-130, 2000.

DROUGOUL, C.; FOMBELLE, A.; JULLIAND, V. Feeding and microbial disorders in horses: 2: effect of three hay: grain ratios on digesta passage rate and digestibility in ponies. **Journal of equine Veterinary Science**, v. 21, n. 10, p. 487-491, 2001.

DUREN, S. E.; MANOHAR, M.; SIKKES, B.; JACKSON, S.; BAKER, J. Influence of feeding and exercise on the distribution of intestinal and muscle blood flow in ponies. **Pferdeheilkunde**, v. 1, p. 24, 1992.

DUREN, S. E.; MANOHAR, M.; SIKKES, B.; JACKSON, S.; BAKER, J. Blood flow distribution in fasted and fed ponies at rest and during endurance exercise. **Pferdeheilkunde**, v. 9, p. 24, 250 p, 1990.

DURHAM, A. E. Clinical application of parenteral nutrition in the treatment five poniers and one donkey with hyperlipaemia. **Veterinary Record**, v. 158, p. 159-164, 2006.

ERWIN, E. S.; MARCO, G. J.; EMERY, E. M. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. **Journal of Dairy Science**, v. 44, n. 9, p. 1768-1771, 1961

EVANS, D. L. **Training and fitness in athletic horses**. Sydney: Rural Industries Research and Development Corporation, 2000. p. 1-64.

EVANS, D. L. Exercise testing in the field. In: HINCHCLIFF, K. W.; KANEPS, A. J.; GEOR, R. J. **Equine sports medicine and surgery**. Philadelphia: Saunders, 2004. cap. 3, p. 19-31.

EATON, M. D. Energetics and performance. In: HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. **The athletic horse: principles and practice of equine sports medicine**. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1994. p. 49-62.

EILER, H. Glândulas endócrinas. In: REECE, W. O. **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2006. p. 577-622.

FERNANDES, W. R.; DOMINGUES-JÚNIOR, M.; BOHLAND, E.; SANT'ANA, V. A. C.; SOUZA, M. C. C. Determinação dos níveis plasmáticos de triglicérides e colesterol total em pôneis da raça Brasileira. **A Hora Veterinária**, v. 21, n. 121, p. 61-64, 2001.

FERRAZ, G. C.; D'ANGELIS, F. H. F.; TEIXEIRA-NETO, A. R.; FREITAS, E. V.V.; LACERDA-NETO, J. C.; QUEIROZ-NETO, A. Blood lactate threshold reflects glucose responses in horses submitted to incremental exercise test. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 1, p. 256-259, 2008.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO); WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Guidelines for the evaluation of probiotics in food**. London: FAO; WHO, 2002. Disponível em:

<<http://www.fda.gov/ohrms/dockets/dockets/95s0316/95s-0316-rpt0282-tab-03-ref-19-joint-faowho-vol219.pdf>> Acesso em: 18 nov. 2015.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). **FAOSTAT**. Statistics Division, 2013. Disponível em:

<<http://faostat.fao.org/site/573/DesktopDefault.aspx?PageID=573#ancor>>. Acesso em: 18 nov. 2015.

FOMBELLE, A.; JULLIAND, V.; DROUGOUL, C.; JACOTOT, E. Feeding on microbial disorders in horses: 1: effects of an abrupt incorporation of two levels of barley in a hay diet on microbial profile and activities. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 21, n. 9, p. 439-445, 2001.

FOSS, M.L.; KETHEYIAN, S.J. **Bases fisiológicas do exercício e do esporte**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

FRAPE, D. **Equine nutrition and feeding**. 3 ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2004.

FRAPE, D. **Nutrição e alimentação de eqüinos**. 3.ed. São Paulo: Roca, 2008. p. 602

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v. 18, n. 6, p. 499-502, 1972.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 66, n. 5, p. 365-378, 1989.

FURTADO, C. E.; BARBOZA, E. D.; BRANDI, R. A.; RIBEIRO, L. B. Uso de levedura em equinos alimentados com dietas compostas de fenos de diferentes qualidades nutricionais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 10, p. 2194-2199, 2010.

GARCIA, T. R. **Digestibilidade da dieta e desempenho físico de éguas manga-larga marchador suplementadas com *Saccharomyces cerevisiae* durante treinamento em esteira ergométrica**. 2012. 93 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.

GANSEN, S.; LINDNER, A.; MARX, S.; MOSEN, H.; SALLMANN, H. P. Effects of conditioning horses with lactate guided exercise on muscle glycogen content. **Equine Veterinary Journal**, v. 30, p. 329-331, 1999. Supplement.

GARNER, H. E.; HUTCHESON, D. P.; COFFMAN, J. R.; HAHN A. W. Lactic acidosis. A factor associated with equine laminitis. **Journal Animal Science**, v. 45, p. 1037-1041, 1977.

GEELEN, S. N. J.; SLOET VAN OLDRUITENBORGH-OOSTERBAAN, M. M.; BEYNEN, A. Dietary fat supplementation and equine plasma lipid metabolism. **Equine Veterinary Journal, Supplement**, v. 30, p. 475-8, 1999.

GEOR, R. J. Digestive strategy and flexibility in horses with reference to dietary carbohydrates. In. ELLIS, A. D.; LONGLAND, A. C.; COENEN, M.; MIRAGLIA, N. (Ed.). **The impact of nutrition on the health and welfare of horses**. Wageningen: Academic Publishers, 2010. p. 17-28. (EAAP Scientific Series, v.128)

GILLILAND, S. E.; SPECK, M. L. Instability of *Lactobacillus acidophilus* in yogurt. **Journal Dairy Science**, v. 60, p. 1394-1398, 1977.

GLADE, M. J.; BIESIK, L. M. Enhanced nitrogen retention in yearling horses supplemented with yeast culture. **Journal of Animal Science**, v. 62, p. 1635-1640, 1986.

GLADE, M. J. Dietary yeast culture supplementation of mares during late gestation and early lactation. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 11, p. 10-16, 1991.

GLADE, M. J.; CAMPBELL T. M. Effects of dietary yeast culture supplementation during the conditioning period on equine exercise physiology. **Equine Veterinary Science**, v. 10, p. 434-443, 1990.

GLADE, M. J.; 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, 1998.

GOACHET, A. G.; VARLOUD, M.; PHILIPPEAU, C.; JULLIAND, V. Long-term effects of endurance training on total tract apparent digestibility, total mean retention time and faecal microbial ecosystem in competing Arabian horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 42, n. 38, p. 387-392, 2010.

GOACHET, A. G.; HARRIS, P.; PHILIPPEAU, C.; JULLIAND, V. Effect of physical training on nutrient digestibility and faecal fermentative parameters in Standardbred horses. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 98, n. 6, p. 1081-1087, 2014.

GONZAGA, I. V. F. **Avaliação da resposta à suplementação com gama-orizanol em equinos submetidos a exercício aeróbio**. 2013. 86 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

GRAAF-ROELFSEMA, E.; KEIZER, H. A.; BREDA, E.V.; WIJNBERG, I. D.; VAN DER KOLK, J. H. Hormonal responses to acute exercise, training and overtraining: A review with emphasis on the horse. **The Veterinary Quartely**, v. 29, p. 82-101, 2007.

GUARNER, F.; SCHAAFSMA, G. Probiotics. **International Journal of Food Microbiology**, v. 39, p. 237-238, 1998.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 973 p.

HALL, R. R.; JACKSON, S. G.; BAKER, J. P.; LOWRY, S. R. Influence of yeast culture supplementation on ration digestion by horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 10, n. 2, p. 130-133, 1990.

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

HARRIS, P. A.; HARRIS, R. C. Nutritional ergogenic aids in the horse: uses and abuses. In: CONFERENCE ON EQUINE SPORTS MEDICINE AND SCIENCE, 1998, Cordoba, Espanha, **Anais...** Wageningen: Wageningen Academic Press, 1998. p. 203-218.

HAUSENBLASZ, J.; SZUCO, J.; MEZES, M. Effect of viable yeast culture. Supplementation on nutrient digestibility and feed utilization of growing cold-blooded horses. In: ALLTECH'S ANNUAL SYMPOSIUM, 9., Nottingham. **Proceedings...** Nottingham: Nottingham University Press, 1993. p. 45-52.

HENRY, M. M.; MOORE, J. N. Equine endotoxemia. In: SMITH, B. P. **Large animal internal medicine**. Saint Louis: Mosby, 1990. p. 668-674.

HILL, J.; GUTSELL, S. Effect of supplementation of a hay and concentrate diet with live yeast culture on the digestibility of nutrients in 2 and 3 year old riding school horses. In: BSAS ANNUAL MEETING, 1998, Scarborough. Penicuik: BSAS.

HINCHCLIFF, K.W.; GEOR, R. J. Integrative physiology of exercise. In: HINCHCLIFF, W.; KANEP, A. J.; GEOR, R. J. (Ed.). **Equine sports medicine and surgery**: basic and clinical sciences of the equine athlete. Oxford: W.B. Saunders, 2004.

HINTZ, H. F.; ARGENZIO, R. A.; SCHRYVER, H. F. Digestion coefficients, blood glucose levels, and molar percentage of volatile fatty acids in intestinal fluid of ponies fed varying forage-grain ratios. **Journal of Animal Science**, v. 33, p. 992-995, 1971c.

HINTZ, H. F.; ROBERTS, S. J.; SABIN, S. W.; SCHRYVER, H. F. Energy requirements of light horses for various activities. **Journal of Animal Science**, v. 32, p. 100-102, 1971.

HINTZ, H. F.; SCHRYVER, H. F. Nitrogen utilization in ponies. **Journal of Animal Science**, v. 34, n. 4, p. 592-595, 1971.

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

HOFFMAN, R. M.; BOSTON, R. C.; STEFANOVSKI, D.; KRONFELD, D. S.; HARRIS, P. A. Obesity and diet affect glucose dynamics and insulin sensitivity in thoroughbred geldings. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 2333-2342, 2003.

HOFFMAN, R. M. Carbohydrate metabolism and metabolic disorders in horses. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 270-276, 2009. Suplemento. Edição especial.

HOLZAPFEL, W. H.; HABERER, P.; GEISEN, R.; BJÖRKROTH, J.; SCHILLINGER, U. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 2, p. 365-373, 2001. Supplement.

HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. Evaluation of performance potential. In: _____. **The athletic horse**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1994. p. 231-243.

HYYPÄ, S. Endocrinal responses in exercising horses. **Livestock Production Science**, v. 92, n. 2, p. 113-121, 2005.

HOLLAND, J. L.; KRONFELD, D. S.; NEACHAM, T. N. Behavior of horses is affected by soy lecithin and corn oil in the diet. **Journal Animal Science**, v. 74, 1252-1255, 1996.
INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção de Pecuária Municipal**, v. 41, p.1-108, 2013.

HUSSEIN, H. S.; VOGEDDES, L. A.; FERNANDEZ, G. C. J.; FRANKENY, R. L. Effects of cereal grain supplementation on apparent digestibility of nutrients and concentrations of fermentation end-products in the feces and serum of horses consuming alfalfa cubes. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 1986-1996, 2004.

INTERNATIONAL FEED INDUSTRY FEDERATION (IFIF). **Annual Reports**. 2011. Disponível em: <http://www.ifif.org/>. Acesso em: 05 maio 2013.

JACOB, A. I.; GOLDBERG, P. K.; BLOOM, N.; DEGENSHEIN, G. A.; KOZINN, P. J. Endotoxin and bacteria in portal blood. **Gastroenterology**, v. 72, p. 1268-1270, 1977.

JENSEN, R. B.; BROKNER, C.; KNUDSEN, K. E.; TAUSON, A. H. A comparative study of the apparent total tract digestibility of carbohydrates in Icelandic and Danish warm blood horses fed two different haylages and a concentrate consisting of sugar beet pulp and black oats. **Archives of Animal Nutrition**, v. 64, p. 343–356, 2010.

JANSSON, A.; LINDBERG, J. E. A forage-only diet alters the metabolic response of horses in training. **Animal**, v. 6, p. 1939-1946, 2012.

JONES, W. E. **Equine sports medicine**. Philadelphia: Lea & Febiger Books, 1989. 329 p.

JOUANY, J. P.; GOBERT, J.; MEDINA, B.; BERTIN, G.; JULLIAND, V. Effect of live yeast culture supplementation on apparent digestibility and rate of passage in horses fed a high-fiber or high-starch diet. **Journal of Animal Science**, v. 86, n. 2, p. 339-347, 2008.

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

JULLIAND, V.; FOMBELLE, A. de; DROGOUL, C.; JACOTOT, E. Feeding and microbial disorders in horses: 3-Effects of three hay:grain ratios on microbial profile and activities. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 21, p. 543-546, 2001.

JULLIAND, V. Pre- and probiotics: potentials for equine practice. In: EUROPEAN EQUINE NUTRITION AND HEALTH CONGRESS, 3., 2006, Merelbeke. **Proceedings...** Merelbeke: Ghent University, 2006. p. 17-18.

JULLIAND, V.; PHILIPPEAU, C.; GOACHET, A-G.; RALSTON, S. Physiology of intake and digestion in equine animals. In: SAASTAMOINEN, M.T.; MARTIN-ROSSET, W. (Ed.). **Nutrition of the exercising horse**. The Netherlands: Wageningen Academic Publishers, 2008. p. 53-65. (EAAP Scientific Series, v. 125).

KERN, D. L.; SLYTER, L. L.; WEAVER, J. M.; LEFFEL, E. C.; SAMUELSONS, G. Pony cécum vs. steer rumen: the effect of oats and hay on the microbial ecosystem. **Journal of Animal Science**, v. 37, p. 463-469, 1973.

KERN, D. L.; SLYTER, L. L.; LEFFEL, E. C.; WEAVER, J. M.; OLTJEN, R. R. Ponies vs. steers: microbial and chemical characteristics of intestinal ingesta. **Journal of Animal Science**, v. 38, p. 559–564. 1974

KIKU, Y.; KUSANO, K.; MIYAKE, H.; FUKUDA, S.; TALAHASHI, J.; INOTSUME, M.; HIRANO, S.; YOSHIHARA, T.; RORIBIO, R. E.; OKADA, H.; YOSHINO, T. Flow cytometric analysis of peripheral blood mononuclear cells induced by experimental endotoxemia in horse. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 65, p. 857-863, 2003.

KIM, S. M.; KIM, C. M.; LEE, H. K.; PARK, W. P.; LIM, Y. J.; KIM, B. J.; CHUNG, T. Y. Evaluation of nutrients values of some feedstuffs, and the effects of yeast culture supplementation on digestibilities of nutrients and blood parameter in horse. **Korean Journal of Animal Nutrition and Feedstuff**, v. 15, n. 5, p. 272-280, 1991.

KING, J. N.; GERRING, E. L. Detection of endotoxin in cases of equine colic. **Veterinary Record**, v. 123, p. 269-271, 1988.

KOIKE, S.; SHINGU, Y.; INABA, H.; KAWAI, M.; KOBAYASHI, Y.; HATA, H.; TANAKA, K. Fecal bacteria in Hokkaido native horses as characterized by microscopic enumeration and competitive polymerase chain reactions assays. **Journal Equine Science**, v. 11, p. 45-50, 2000.

KOOLMAN, J.; ROEHM, K. H. **Color atlas of biochemistry**. 2ed. New York: Thieme Stuttgart, 2005. 476 p.

LASSEN, E. D.; FETTMAN, M. J. Avaliação laboratorial dos lipídeos. In: TRHALL, M. A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. p. 394-402

LAWRENCE, L. Nutrition and the athletic horse. In: ROSE, D. R.; HODGSON, R. J. **The athletic horse**. Philadelphia: Saunders, 1994. p. 205-230.

LAWRENCE, L. Nutrient needs of performance horses. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p. 206-210, 2008.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. 4. ed. São Paulo: Sarvier, 2007. 1232 p.

LEVIN, J.; BANG, F. B. A description of cellular coagulation in the limulus. **Bulletin of the Johns Hopkins Hospital**, v. 115, p. 337-345, 1964.

LEWIS, D. L. **Nutrição para os equinos: alimentação e cuidados**. São Paulo: Roca, 2000. p. 18-24.

LIMA, R. A. S.; SHIROTA, R.; E BARROS, G. S. C. **Estudo do complexo do agronegócio cavalo: relatório final**. Piracicaba: CEPEA/ESALQ/USP, 2006. 251 p.

LÓPEZ-RIVERO, J. L. Muscle physiology: responses to exercise and training. In: HINCHCLIFF, K. L.; KANEPS, A. J.; GEOR, R. J. **Equine sport medicine and surgery**. Edinburgh: Saunders Elsevier, 2004. p. 45-76.

MACKAY, R. J. Endotoxemia. In: ROBINSON, N. E. **Current therapy in equine medicine**. 3. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1992. p. 225-232.

MARCHELLO, E. V.; SCHURG, W. A.; MARCHELLO, J. A.; CUNEO, S. P. Changes in lipoprotein composition in horses fed a fat-supplemented diet. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 20, n. 7 p. 453-458, 2000.

MARLIN, D.; NANKERVIS, K. **Equine exercise physiology**. Oxford: Ackwel Publishing, 2002. 304 p.

MATTHEWS, J. N. S.; ALTMAN, D. G.; CAMPBELL, M. J.; ROYSTON, P. Analysis of serial measurements in medical research. **British Medical Journal**, v. 300, p. 230-235, 1990.

MARLIN, D.; NANKERVIS, K. **Equine exercise physiology**. Hoboken: Blackwell Publishing Company, 2002. 296 p.

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

MEDINA, G.; JUÁREZ, K.; SOBERÓN-CHÁVEZ, G. The Pseudomonas aeruginosa rhlAB Operon Is Not Expressed during the Logarithmic Phase of Growth Even in the Presence of Its Activator RhlR and the Autoinducer N-Butyryl-Homoserine Lactone. **Journal of Bacteriology**, v. 185, n. 1, p. 377-380.

MELO, S. K. M; LIRA, L. B. de; ALMEIDA, T. L. C. de; REGO, E. W.; MANSO, H. E. C. C. C.; FILHO, H. C. M. Índices hematimétricos e bioquímica sanguínea no Cavalo de cavalgada em condições tropicais. **Ciência Animal Brasileira**, v. 14, n. 2, p. 208-215, 2013.

MEYER, H. **Alimentação de cavalos**. São Paulo: Livraria Varela, 1995. 303 p.

McARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. **Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desempenho humano**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1992. cap. 21, p. 275-293.

McARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. **Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desempenho humano**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A., 1998.

McKEEVER, K. H. The endocrine system and the challenge of exercise. **Veterinary Clinics of North America: equine practice**, v. 18, n. 2, p. 321-353, 2002.

McLEAN, B. M. L.; HYSLOP, J. J.; LONGLAND, A. C.; CUDDEFORD, T.; HOLLANDS, T. Physical processing of barley and its effect on the intra-caecal fermentation parameters in ponies. **Animal Feed Science Technology**, v. 85, p. 79-87, 2000.

McMIKEN, D. F. An energetic basic of equine performance. **Equine Veterinary Journal**, v. 15, n. 2, p. 123-133, 1983.

MONTES, A. J.; PUGH, D. G. The use of probiotics in food-animal practice. **Veterinary Medicine**, v. 88, p.282-288, 1993.

MOORE, B. E.; NEWMAN, K. E.; SPRING, P.; CHANDLER, V. E. Effect of yeast culture (Yea Sacc1026) on microbial populations and digestion in the cecum and colon of the equine. **Journal Animal Science**, v. 72, p. 252, 1994.

MOORE-COLYER, M. J. S.; HYSLOP, J. J.; LONGLAND, A. C.; CUDDEFORD, D. Intra-caecal fermentation parameters in ponies fed botanically diverse fibre-based diets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 84, p. 183-197, 2000.

MOORE, J. N.; GARNER, H. E.; BERG, J. N.; SPROUSE, R. F. Intracecal endotoxin and lactate during onset of equine laminitis: a preliminary report. **American Journal of Veterinary Research**, v. 40, p. 722-723, 1979.

MOORE, R. M.; MUIR, W. W.; CAWRSE, M.; BERTONE, A. L.; BEARD, W. L. Systemic and colonic venous plasma eicosanoid and endotoxin concentrations, and colonic venous serum tumor necrosis factor and interleukin-6 activities in horses during low-flow ischemia and reperfusion of large colon. **American Journal of Veterinary Research**, v. 56, n. 5, p. 656-663, 1995.

MOORE, J. N.; BARTON, M. H. Treatment of endotoxemia. **Veterinary Clinics: equine practice**, v. 19, p. 681-695, 2003.

MORALES, R. P. Ensayo del lisado de amebócitos del *Limulus* (LAL). **Revista Cubana de Farmácia**, v. 38, n.1, p. 1-1, 2004.

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

NAGARAJA, T. G.; NEWBOLD, C. J.; VAN NEVEL, C. J.; DEMEYER, D. I. Manipulation of ruminal fermentation. In: HOBSON, P. N.; STEWART, C. S. (Ed.). **The rumen microbial ecosystem**. 2. ed. London: Chapman and Hall, 1997. p. 523–632.

NAKATA, S.; TAKEDA, F.; KUROSAWA, M.; MIMA, K.; HIRAGA, A.; KAI, M.; TAYA, K. Plasma adrenocorticotropin, cortisol and catecholamines responses to various exercises. **Equine Veterinary Journal**, v.30, p.570-574, 1999,(Supplement 30).

NAYLOR, J. R. J.; BAYLY, W. M.; GOLLNICK, P. D.; BRENGELMANN, G. L.; HODGSON, D. R. Effects of dehydration on thermoregulatory responses of horses during low-intensity exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 75, n. 2, 994-1001, 1993.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NCR). **Nutrients requirements of horse**. 6. ed. Washington, D.C.: NCR, 2007. 341 p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NCR). **Nutrients requirements of horse**. 5. ed. Washington, D.C.: NCR, 1989. 100 p.

OSCHLAEGER T. A. Mechanisms of probiotic actions-a review. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 300, n. 1, p. 57–62, 2010.

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

OLSSON, N.; RUUDVERE, A. The nutrition of the horse. **Nutritions Abstract Reviews**, v. 25, p. 1-18, 1955.

OLSON, N. C.; HELLYER, P. W.; DODAM, J. R. Mediators and vascular effects in response to endotoxin. **British Veterinary Journal**, v. 151, p. 489-522, 1995.

ORTON, R. K.; HUME, I. D.; LENG, R. A. Effect of exercise and level of dietary protein on digestive function in horses. **Equine Veterinary Journal**, v.17, p. 386– 390, 1985.

PAGAN, J. D.; HINTZ, H. F. Equine energetic II. Energy expenditure in horses during submaximal exercise. **Journal of Animal Science**, v. 63, p. 822-830, 1986.

PAGAN, J. D.; HARRIS, P.; BREWSTER-BARNES, T.; DUREN, S. E.; JACKSON, S. G. Exercise affects digestibility and rate of passage of fall-forage and mixed diets in thoroughbred horses. **The Journal of Nutrition**, v. 128, n. 12, p. 2704–2707, 1998. Suplemento, 12.

PAGAN, J. D. Carbohydrates in equine nutrition. **Feed Mix**, v. 7, n. 4, p. 9-12, 1999.

PAGAN, J. D. Forages for horses: more than just filler. In: PAGAN, J. D. (Ed.). **Advances on equine nutrition I**. Versailles: Kentucky Equine Research, 2001. p.13-28.

PAGAN, J. D. Forages: The foundation for equine gastrointestinal health. In PAGAN, J. D. (Ed.). **Advances in equine nutrition IV**. [S.l]: Nottingham University Press, 2009. p. 17-24.

PEREIRA, J. R. A.; ROSSI JUNIOR, A. **Manual prático de avaliação nutricional dos alimentos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 19-20.

PHILIPPEAU, C.; SADET-BOURGETEAU, S.; VARLOUD, M.; JULLIAND, V. Impact of barley form on equine total tract fibre digestibility and colonic microbiota. **Animal**, v. 9, n. 12, p. 1943-1948, 2015.

PILLINER, S. **Horse nutrition and feeding**. 2. ed. Oxford: Blackwell Science, 1999.

PINTO, L. G. **Avaliação do exercitador circular no condicionamento físico de equinos de iniciação esportiva na escola de equitação do exército**. 2010. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2010.

POSO, A. R.; VILJANEN-TARIFA, E.; SOVERI, T.; OKSANEN, H. E. Exercise-induced transient hyperlipidemia in the racehorse. **Zentralbl Veterinarmed A**, v. 36, n. 8, p. 603-611. 1989.

POTTER, G. D.; ARNOLD, F. F.; HOUSEHOLDER, D. D.; HANSEN, D. H.; BROWN, D. M. Digestion of starch in the small or large intestine of the equine. **Pferdeheilkunde**, v. 1, p. 107-111, 1992.

POLLITT, C. C.; KYAW-TANNER, M.; FRENCH, K. R.; VAN EPS, A. W.; HENDRIKZ, J. K.; DARADKA, M. Equine Laminitis. In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 49., 2003, New Orleans, 2003. Lexington: American Association of Equine Practitioners, 2003. p. 103–115.

POOLE, D. C.; ERICKSON, H. **Heart and vessels**: function during exercise and response to training. In: HINCHCLIFF, K. W.; KANEPS, A. J.; GEOR, R. J. **Equine sports medicine and surgery**. Ohio: Saunders, 2004. p. 699-728.

RAGNARSSON, S.; JANSSON, A. Comparison of grass haylage digestibility and metabolic plasma profile in Icelandic and Standardbred horses. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 95, p. 273–279, 2011.

RALSTON, S. L. Insulin and glucose regulation. **Veterinary Clinics: equine practice**, v. 18, n. 2, p. 295-304, 2002.

RAMALHO, L. O.; CAIADO, J. C. C.; SOUZA, V. R. C.; COELHO, C. S. Glicemia e concentrações séricas de insulina, triglicérides e cortisol em equinos da raça Quarto de Milha e mestiços usados em provas de laço em dupla. **Brazilian Journal of Veterinarian Research and Animal Science**, São Paulo, v. 49, n. 4, p. 318-324, 2012.

RANALLO, R. F.; RHODES, E. C. Lipid metabolism during exercise. **Sportsmed**, v. 26, n. 1, p. 29-42, 1998.

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

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

RICHARDS, N. HINCH, G.N & ROWE, J.B. The effect of current grain feeding practices on hindgut starch fermentation and acidosis in the Australian racing Thoroughbred. **Australian Veterinary Journal**, v. 84, p.402-407, 2006.

ROGERS, C. W.; RIVERO, J. J. L.; VAN BREDA, E.; A LINDNERA, A.; SLOET VAN OLDRUITENBORGH-OOSTERBAANA, M. M. Describing workload and scientific information on conditioning horses. **Equine and Comparative Exercise Physiology**, v. 4, n. 1, p. 1-6, 2007.

ROSE, A. J.; RICHTER, E. A. Skeletal muscle glucose uptake during exercise: how is it regulated? **Physiology**, v. 20, p.260- 270, 2005.

ROSE, R. J. Endurance exercise in the horse- a review. **British Veterinary Journal**, v. 142, n. 6, p. 532-541, 1986.

ROSE, R. J.; PURDUE, R. A.; HENSLEY, W. Plasma biochemistry alterations in horses during an endurance ride. **Equine Veterinary Journal**, v. 9, n. 3, p. 122-126, 1977.

SAARELA, M.; MOGENSEN, G.; FONDEN, R.; MÄTTÖ, J.; MATTILA-SANDHOLM, T. Probiotic bacteria: Safety, functional and technological properties. **Journal of Biotechnology**, v. 84, n. 3, p. 197–215, 2000.

SADET-BOURGETEAU, S.; JULLIAND, V. Equine microbial gastro-intestinal health. In ELLIS, A.D.; LONGLAND, A.C.; COENEN, M.; MIRAGLIA, N. (Eds.), The impact of nutrition on the health and welfare of horses, **EAAP Scientific Series**, v.128, p.17-28. The Netherlands: Wageningen Academic Publishers, 2010.

SANTOS, A. S.; RODRIGUES, M. A. M.; BESSA, R. J. B.; FERREIRA, L. M.; MARTIN-ROSSET, M. Understanding the equine cecum-colon ecosystem: current knowledge and future perspectives. **Animal**, v.5, n. 1, p. 48-56, 2011a.

SANTOS, T. M.; ALMEIDA, F. Q.; PIRES, M. S.; SANTIAGO, J. M.; ROIER, E. C. R.; GUEDES JUNIOR, D. S.; NOGUEIRA, Y. A. C.; BRASILEIRO, L. S. Alterações clínicas e laboratoriais em equinos adaptados em dieta com nível elevado de concentrado e submetidos à sobrecarga dietética com amido. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 48, n. 2, p. 116-122, 2011b.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM (SAS). In: HELWIG, J. T.; COUNCIL, K. A. (Ed.). **SAS: user's guide**, Raleigh, NC: SAS Institute, Inc., 2004.

SENIOR, J. M.; PROUDMAN, C. J.; LEUWER, M.; CARTER, S. D. Plasma endotoxin in horses presented to an equine referral hospital: Correlation to selected clinical parameters and outcomes. **Equine Veterinary Journal**, v. 43, n. 5, p. 585-591, 2011.

SEETHANATHAN, P.; BOTTOMS, G. D.; SCHAFER, K. Characterization of release of tumor necrosis factor, interleukin-1, and superoxide anion from equine white blood cells in response to endotoxin. **American Journal of Veterinary Research**, v. 5, n. 8, p. 1221-1225, 1990.

SERRANO, A. L.; RIVERO, J. L. Myosin heavy chain profile of equine gluteus medius muscle following prolonged draught-exercise training and detraining. **Journal of Muscle Research and Cell Motility**, v. 21, p. 225-245, 2000.

SCHOSTER, A.; WEESE, J. S.; GUARDABASSI, L. Probiotic use in horses: what is the evidence for their clinical efficacy? **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 28, n. 6, p. 1640–1652, 2014.

SINDIRAÇÕES. **Boletim informativo do setor**, jun., 2015. Disponível em: <<http://sindiracoes.org.br/>>. Acesso em: jul. 2015.

- SIMÕES, H.G.; CAMPBELL, C. S. G.; KOKUBUM, E.; DENADAI, B. S.; BALDISSERA, V. Blood glucose responses in humans mirror lactate responses for individual anaerobic threshold and for lactate minimum in track tests. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology**, v. 80, n. 1, p. 34-40, 1999.
- SILVA, N. D.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R.; OKAZAKI, M. M. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Editora da Universidade Federal de Santa Maria, 2007. 109 p.
- SLOET VAN OLDRUITENBORGH-OOSTEBAAAN, M.; ANNEE, M. P.; VERDEGAAL, E. J.; LEMMENS, A. G.; BEYNEN, A. C. Exercise-and metabolism-associated blood variables in Standardbreds fed either a low-or a high-fat diet. **Equine Veterinary Journal**, v. 34, p. 23-32, 2002.
- SNOW, D. H.; MACKENZIE, G. Some metabolic effects some maximal exercise in the horse and adaptations with training. **Equine Veterinary Journal**, v. 9, n. 3, p. 134-140, 1997a.
- STEVERINK, J. G.; STURK, A.; SALDEN, H. J. Platelet-poor plasma not suitable for clinical endotoxin testing, demonstrated in horses. **Clinical Chemistry**, v. 40, n. 7, p. 1346-1347, 1994.
- STULL, C. L.; RODIEK, A. V. Responses of blood glucose, insulin and cortisol concentrations to common equine diets. **The Journal of Nutrition**, v. 118, n. 2, p. 206-213. 1988.
- SWENSON, M. J.; REECE, W. O. Dukes- **Fisiologia dos animais domésticos**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.
- TACHIYAMA, G.; SAKON, M.; KAMBAYASHI, J.; OHSHIRO, T.; MORI, T. Chromogenic assay of endotoxin in platelet poor or rich plasma. **Thrombosis Research**, v. 41, n. 3, p. 309-317, 1986.
- TARAN, F. M. P. **Avaliação do uso de levedura *Saccharomyces cerevisiae* em dietas para Equinos**. 2011. 80 f. Dissertação (Mestre em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2011.
- TAJIMA, K.; AMINOV, R. I.; NAGAMINE, T.; MATSUI, H.; NAKAMURA, M.; BENNO, Y. Diet-dependent shifts in the bacterial population of the rumen revealed with real-time PCR. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, p. 2766-2774, 2001.
- TISSERAND, J. L. **A alimentação prática do cavalo**. São Paulo: Andrei, 1983. 84 p.

TISSERAND, J. L. Non-ruminant herbivores; horses and Rabbits. **Livestock Production Science**, v. 19, p. 279-288, 1988.

THOMAS, D. P.; FREGIN, G. F.; GERBER, N. H.; AILES, N.B. Effects of training on cardiorespiratory function in the horse. **American Journal of Physiology**, v. 245, n. 2, p. 160-165, 1983

THOMASSIAN, A. **Enfermidade dos cavalos**. São Paulo: Varela, 2005. v. 5.

TONKS, D. B. **Quality control in clinical laboratories**. [S.l.]:Warner-Chilcott Laboratories, Diagnostic Reagent Division, 1972. 356 p.

TOSI, H.; TOLEDO, L. R. A.; LEAO, J. F. S.; CROCCI, A. J.; BOMBARDA, A. F.; VIEIRA, J. M.; SANTOS, G. F. Avaliação de diferentes fontes protéicas para equinos em crescimento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 11, p. 1309-1312, 1989.

TRILK, J. L.; LINDNER, A. J.; GREENE, H. M.; ALBERGHINA, D.; WICKLER, S. J. A lactate-guided conditioning programme to improve endurance performance. **Equine Veterinary Journal**, v. 34, p. 122- 125, 2002. Supplement.

UDÉN, P.; VAN SOEST, P. J. Comparative digestion of timothy (*Phleum pratense*) fiber by ruminants, equine and rabbits. **British Journal of Nutrition**, v. 47, p. 267-272, 1982.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. p. 476.

VALINOTE, A. C. Monensina e levedura em dietas com óleo fornecidas a touros nelores em terminação. 2007. 58 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – FZEA, USP, Pirassununga, 2007.

VERVUERT, I.; VOIGT, K.; HOLLANDS, T.; CUDDEFORD, D.; COENEN, M. Effect of feeding increasing quantities of starch on glycaemic and insulinaemic responses in healthy horses. **The Veterinary Journal**, v. 182, p. 67-72, 2009.

WARNER, A. C. I. Rate of passage of digesta through the gut of mammals and birds. **Nutrition Abstracts and Reviews Series B: livestock feeds and feeding**, v. 51, p. 789–820, 1981.

WEESE, J. S. Review of probiotics: are they really “unctional oods”. In: ANNUAL CONVENTION OF AEPP, 47., San Diego. **Proceedings...**, San Diego: AEPP, 2001. p. 27-31.

WEESE, J. S. Probiotics, prebiotics and synbiotics. **Journal Equine Veterinay Science**, v. 22, n. 8, p. 357-360, 2002.

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

WHITAKER, H. M. A.; SILVA, A. E. D.; MANZANO, A.; NETO, A. A. Utilização da levedura seca (*Saccharomyces cerevisiae*) de álcool de cana-de-açúcar em rações para equinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 24, n. 6, p.1008-1015, 1995.

WILLIAMSON, A. ROGERS, W.C.; FIRTH, E.C. A survey of feeding, management and faecal pH of Thoroughbred racehorses in the North Island of New Zealand. **New Zealand Veterinary Journal**, v.55, n. 6, p. 337-341, 2007.

WOLTER, R. **Alimentacion del caballo**. Zaragoza: Editorial Acriba, 1975. 172 p.

WOLTER, R. Le cheval, la digestion chez le cheval. In: JOURNEÉS DE BRESSIER DE THEIX, 12., Paris, 1981. **Proceedings...** Paris: [s.n.], 1981. p.186-194.

ZEYNER, A.; KIRCHHOF, S.; SUSENBETH, A.; SÜDEKUM, K.-H.; KIENZLE, E. Protein evaluation of horse feed: a novel concept. In ELLIS, A. D.; LONGLAND, A. C.; COENEN, M.; MIRAGLIA, N. (Ed.). **The impact of nutrition on the health and welfare of horses**. The Netherlands: Wageningen Academic Publishers, 2010. p. 40-42. (EAAP Scientific Series, 128).

APÊNDICE A – Análises hematológicas

LESPOIR		
Parâmetros	Início: Primeira Fase (05/01/2015)	Final: Segunda Fase (29/04/2015)
Leucócitos totais	7,9 X 10 ³ /μL	6,6 x 10 ³ μL
Linfócitos	2,7 x 10 ³ /μL	2,2 x 10 ³ /μL
Monócitos	0,4 x 10 ³ /μL	0,3 x 10 ³ /μL
Granulócitos	4,8 X 10 ³ /μL	4,1 x 10 ³ /μL
Linfócitos (%)	34,0	33,1
Monócito (%)	5,0	4,7
Granulócito (%)	61,0	62,2
Hemácias totais	7,07 x 10 ⁶ /μL	7,37 x 10 ⁶ μL
Hemoglobina	11,9 g/dL	12,3 g/dL
Hematócrito (%)	36,90%	36,4
VCM	52,2 fL	49,4fL
HCM	16,8 pg	16,6 pg
CHCM	32,2 g/dL	33,7 g/dL
Largura de células vermelhas	17,90%	18,6%
Contagem de plaquetas	176 10 ³ /μL	159
Volume de plaquetas	51 fL	5,4fL
Largura de distribuição de plaquetas	16,1	16,3
Histograma de Plaquetas	0,09%	0,085%

Fonte: (LIMA, 2015)

JAZZ		
Parâmetros	Início: Primeira Fase (05/01/2015)	Final: Segunda Fase (29/04/2015)
Leucócitos totais	9,9 x 10 ³ /μL	6,3 x 10 ³ /μL
Linfócitos	3,1 x 10 ³ /μL	2,5 x 10 ³ /μL
Monócitos	0,4 x 10 ³ /μL	0,3 x 10 ³ /μL
Granulócitos	6,4 x 10 ³ /μL	3,5 x 10 ³ /μL
Linfócitos (%)	31,0	39,5
Monócito (%)	3,90	5,2
Granulócito (%)	65,10	55,3
Hemácias totais	8,23 x 10 ⁶ uL	6,42 x 10 ⁶ uL
Hemoglobina	12,8 g/dL	10,5 g/dL
Hematócrito (%)	39,90%	30,7%
VCM	48,5 fl	47,9fL
HCM	15,5 pg	16,3pg
CHCM	32 g/dL	34,2g/dL
Largura de células vermelhas	16,30%	18%
Contagem de plaquetas	259 10 ³ /μL	19710 ³ /μL
Volume de plaquetas	5,4 fl	5,6fL
Largura de distribuição de plaquetas	16,0	16,1
Histograma de Plaquetas	0,14%	0,11%

Fonte: (LIMA, 2015)

BRITAN		
Parâmetros	Início: Primeira Fase (05/01/2015)	Final: Segunda Fase (29/04/2015)
Leucócitos totais	9,4 x10 ³ /μL	7,9 x10 ³ /μL
Linfócitos	3,3 x 10 ³ /μL	3,9 x10 ³ /μL
Monócitos	0,5 x 10 ³ /μL	0,5 x10 ³ /μL
Granulócitos	5,6 x 10 ³ /μL	13,5 x10 ³ /μL
Linfócitos (%)	35	49,9
Monócito (%)	5,40	6,30
Granulócito (%)	59,90	43,8
Hemácias totais	8,61x 10 ⁶ /μL	7,06 x 10 ⁶ /μL
Hemoglobina	14,2 g/dL	11,9 g/dL
Hematócrito (%)	44,20	35,2
VCM	5,4 fL	49,9 fL
HCM	16,4 pg	16,8 pg
CHCM	32,1 g/dL	33,8 g/dL
Largura de células vermelhas	17,60%	18,3 %
Contagem de plaquetas	205 x 10 ³ /μL	194 x 10 ³ /μL
Volume de plaquetas	5,4 fL	5,5 fL
Largura de distribuição de plaquetas	15,6	16,1
Histograma de Plaquetas	0,11%	0,106 %

Fonte: (LIMA, 2015)

SHAWAN		
Parâmetros	Início: Primeira Fase (05/01/2015)	Final: Segunda fase (29/04/2015)
Leucócitos totais	$8,6 \times 10^3/\mu\text{L}$	$8,410^3/\mu\text{L}$
Linfócitos	$3,910^3/\mu\text{L}$	$4,510^3/\mu\text{L}$
Monócitos	$0,410^3/\mu\text{L}$	$0,410^3/\mu\text{L}$
Granulócitos	$4,310^3/\mu\text{L}$	$3,510^3/\mu\text{L}$
Linfócitos (%)	45,7	53,5
Monócito (%)	4,20	5,10
Granulócito (%)	50,1	41,5
Hemácias totais	$7,36 \times 10^6/\mu\text{L}$	$7,64 \times 10^6$
Hemoglobina	11,8 g/dL	12,4 g/dL
Hematócrito (%)	36,80	36,8
VCM	50 fL	48,2 fL
HCM	16 pg	16,2 pg
CHCM	32 g/dL	33,6 g/dL
Largura de células vermelhas	17,90%	19,3 %
Contagem de plaquetas	$200 \times 10^3/\mu\text{L}$	$182 \times 10^3/\mu\text{L}$
Volume de plaquetas	5,4 fL	5,4 fL
Largura de distribuição de plaquetas	16,3	15,8
Histograma de Plaquetas	0,11%	0,098%

Fonte: (LIMA, 2015)

TALIZEE		
Parâmetros	Início: Primeira Fase (05/01/2015)	Final: Segunda Fase (29/04/2015)
Leucócitos totais	$9,3 \times 10^3/\mu\text{L}$	$7,7 \times 10^3/\mu\text{L}$
Linfócitos	$3,8 \times 10^3/\mu\text{L}$	$2,5 \times 10^3/\mu\text{L}$
Monócitos	$0,4 \times 10^3/\mu\text{L}$	$0,4 \times 10^3/\mu\text{L}$
Granulócitos	$5,1 \times 10^3/\mu\text{L}$	$4,8 \times 10^3/\mu\text{L}$
Linfócitos (%)	40,8	32,6
Monócito (%)	4,8	5,8
Granulócito (%)	54,4	61,6
Hemácias totais	$8,67 \times 10^6/\mu\text{L}$	$7,05 \times 10^6/\mu\text{L}$
Hemoglobina	13,9 g/dL	10,7 g/dL
Hematócrito (%)	42,30	31,7
VCM	48,8fL	45fL
HCM	16pg	15,1pg
CHCM	32,8 g/dL	33,7g/dL
Largura de células vermelhas	17,60%	19,5 %
Contagem de plaquetas	$187 \times 10^3/\mu\text{L}$	$164 \times 10^3/\mu\text{L}$
Volume de plaquetas	4,7fL	5,6 fL
Largura de distribuição de plaquetas	16,0	15,9
Histograma de Plaquetas	0,09%	0,091%

Fonte: (LIMA, 2015)

MALCOM		
Parâmetros	Início: Primeira Fase (05/01/2015)	Final: Segunda Fase (29/04/2015)
Leucócitos totais	$10,7 \times 10^3/\mu\text{L}$	$7,3 \times 10^3/\mu\text{L}$
Linfócitos	$3,2 \times 10^3/\mu\text{L}$	$3,2 \times 10^3/\mu\text{L}$
Monócitos	$0,5 \times 10^3/\mu\text{L}$	$0,3 \times 10^3/\mu\text{L}$
Granulócitos	$7,0 \times 10^3/\mu\text{L}$	$3,8 \times 10^3/\mu\text{L}$
Linfócitos (%)	29,5	44,1
Monócito (%)	5,1	4,5
Granulócito (%)	65,4	51,4
Hemácias totais	$10,7 \times 10^6/\mu\text{L}$	$7,26 \times 10^6/\mu\text{L}$
Hemoglobina	16,2 g/dL	11,8 g/dL
Hematócrito (%)	49,60	34,4
VCM	46,4fL	47,4fL
HCM	15,1pg	16,2pg
CHCM	32,6 g/dL	34,3 g/dL
Largura de células vermelhas	18,70%	18,7%
Contagem de plaquetas	$200 \times 10^3/\mu\text{L}$	$189 \times 10^3/\mu\text{L}$
Volume de plaquetas	5,5fL	5,2 fL
Largura de distribuição de plaquetas	16,0	16,0
Histograma de Plaquetas	0,10%	0,098

Fonte: (LIMA, 2015)

RAMSEY		
Parâmetros	Início: Primeira Fase (05/01/2015)	Final: Segunda Fase (29/04/2015)
Leucócitos totais	$6,9 \times 10^3/\mu\text{L}$	$5,8 \times 10^3/\mu\text{L}$
Linfócitos	$2,0 \times 10^3/\mu\text{L}$	$1,9 \times 10^3/\mu\text{L}$
Monócitos	$0,3 \times 10^3/\mu\text{L}$	$0,3 \times 10^3/\mu\text{L}$
Granulócitos	$4,6 \times 10^3/\mu\text{L}$	$3,6 \times 10^3/\mu\text{L}$
Linfócitos (%)	28,3	32,1
Monócito (%)	4,4	5,0
Granulócito (%)	67,3	62,9
Hemácias totais	$7,19 \times 10^6/\mu\text{L}$	$8,02 \times 10^6/\mu\text{L}$
Hemoglobina	11,2 g/dL	12,2 g/dL
Hematócrito (%)	34,00%	36,6
VCM	47,3fL	45,7fL
HCM	15,5pg	15,2pg
CHCM	32,9 g/dL	33,3 g/dL
Largura de células vermelhas	17,70%	19,5%
Contagem de plaquetas	$150 \times 10^3/\mu\text{L}$	$178 \times 10^3/\mu\text{L}$
Volume de plaquetas	4,7fL	5,0 fL
Largura de distribuição de plaquetas	15,7	15,6
Histograma de Plaquetas	0,07%	0,08%

Fonte: (LIMA, 2015)

JAFFAR		
Parâmetros	Início: Primeira Fase (05/01/2015)	Final: Segunda Fase (29/04/2015)
Leucócitos totais	$8,9 \times 10^3/\mu\text{L}$	$8,3 \times 10^3/\mu\text{L}$
Linfócitos	$3,4 \times 10^3/\mu\text{L}$	$3,2 \times 10^3/\mu\text{L}$
Monócitos	$0,4 \times 10^3/\mu\text{L}$	$0,3 \times 10^3/\mu\text{L}$
Granulócitos	$5,1 \times 10^3/\mu\text{L}$	$4,8 \times 10^3/\mu\text{L}$
Linfócitos (%)	38,5	38,8
Monócito (%)	4,4	4,1
Granulócito (%)	57,1	57,1
Hemácias totais	$7,78 \times 10^6/\mu\text{L}$	$7,91 \times 10^6/\mu\text{L}$
Hemoglobina	11,2 g/dL	11,5 g/dL
Hematócrito (%)	35,10%	34,6
VCM	45,2fL	43,8fL
HCM	14,3pg	14,5pg
CHCM	31,9 g/dL	33,2 g/dL
Largura de células vermelhas	16,30%	17,4%
Contagem de plaquetas	$209 \times 10^3/\mu\text{L}$	$188 \times 10^3/\mu\text{L}$
Volume de plaquetas	4,9 fL	5,0 fL
Largura de distribuição de plaquetas	16	16,1
Histograma de Plaquetas	0,102%	0,09%

Fonte: (LIMA, 2015)

MAXIMUS		
Parâmetros	Início: Primeira Fase (05/01/2015)	Final: Segunda Fase (29/04/2015)
Leucócitos totais	$7,0 \times 10^3/\mu\text{L}$	$5,9 \times 10^3/\mu\text{L}$
Linfócitos	$2,4 \times 10^3/\mu\text{L}$	$2,1 \times 10^3/\mu\text{L}$
Monócitos	$0,3 \times 10^3/\mu\text{L}$	$0,4 \times 10^3/\mu\text{L}$
Granulócitos	$4,3 \times 10^3/\mu\text{L}$	$3,4 \times 10^3/\mu\text{L}$
Linfócitos (%)	40	35,5
Monócito (%)	4,4	6,7
Granulócito (%)	61,6	57,8
Hemácias totais	$6,76 \times 10^6/\mu\text{L}$	$6,83 \times 10^6/\mu\text{L}$
Hemoglobina	11 g/dL	11,8 g/dL
Hematócrito (%)	33,80%	34%
VCM	50,1fL	49,8fL
HCM	16,2 pg	17,2 pg
CHCM	32,5g/dL	34,7 g/dL
Largura de células vermelhas	17,90%	19,5%
Contagem de plaquetas	$208 \times 10^3/\mu\text{L}$	$187 \times 10^3/\mu\text{L}$
Volume de plaquetas	5,10 fL	5,10 fL
Largura de distribuição de plaquetas	16,0	16,2
Histograma de Plaquetas	0,10%	0,095%

Fonte: (LIMA, 2015)

ALL RIH		
Parâmetros	Início: Primeira Fase (05/01/2015)	Final: Segunda Fase (29/04/2015)
Leucócitos totais	$8,2 \times 10^3/\mu\text{L}$	$8,4 \times 10^3/\mu\text{L}$
Linfócitos	$3,9 \times 10^3/\mu\text{L}$	$4,2 \times 10^3/\mu\text{L}$
Monócitos	$0,4 \times 10^3/\mu\text{L}$	$0,5 \times 10^3/\mu\text{L}$
Granulócitos	$3,9 \times 10^3/\mu\text{L}$	$3,7 \times 10^3/\mu\text{L}$
Linfócitos (%)	47,3	49,4
Monócito (%)	4,6	6,3
Granulócito (%)	48,1	44,3
Hemácias totais	$7,15 \times 10^6/\mu\text{L}$	$6,97 \times 10^6/\mu\text{L}$
Hemoglobina	11,9 g/dL	12 g/dL
Hematócrito (%)	37,30%	36,4%
VCM	52,3 fL	52,3 fL
HCM	16,6 pg	17,2 pg
CHCM	31,9 g/dL	32,9 g/dL
Largura de células vermelhas	17,30%	18,2%
Contagem de plaquetas	$232 \times 10^3/\mu\text{L}$	$222 \times 10^3/\mu\text{L}$
Volume de plaquetas	5,81 fL	5,81 fL
Largura de distribuição de plaquetas	16,4	16,2
Histograma de Plaquetas	0,13%	0,12%

Fonte: (LIMA, 2015)

REFERÊNCIAS	
Parâmetros	5,0-11 x 10 ³ /μL
Leucócitos totais	1,4-5,6 x 10 ³ /μL
Linfócitos	0,2-0,8 x 10 ³ /μL
Monócitos	2,86-6,8 x 10 ³ /μL
Granulócitos	20-80 x 10 ³ /μL
Linfócitos (%)	2,0-8,0
Monócito (%)	20-70
Granulócito (%)	5,3-13
Hemácias totais	10,8-15 x 10 ⁶ /μL
Hemoglobina	28-46 g/dL
Hematócrito (%)	36-55
VCM	14-19 fL
HCM	33-42,6 pg
CHCM	15-21 g/dL
Largura de células vermelhas	95-660 %
Contagem de plaquetas	5,0-9,0 x 10 ³ /μL
Volume de plaquetas	-
Largura de distribuição de plaquetas	-
Histograma de Plaquetas	-

Fonte: (LIMA, 2015)