

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE FENOS DE
ESTILOSANTES E DE ALFAFA
EM EQUINOS**

**BELO HORIZONTE
UFMG -ESCOLA DE VETERINÁRIA
2010**

VINICIUS PIMENTEL SILVA

**AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE FENOS DE ESTILOSANTES E DE
ALFAFA EM EQUINOS**

**Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Zootecnia da Escola de Veterinária da
Universidade Federal de Minas Gerais como
requisito parcial para obtenção do grau de Doutor
em Zootecnia.**

**Área: Nutrição e Alimentação Animal
Orientadora Prof. Dra. Adalgiza Souza Carneiro
de Rezende**

S586a **Silva, Vinicius Pimentel, 1981-**
Avaliação nutricional de fenos de estilosantes e de alfafa em eqüinos
/ Vinicius Pimentel Silva. – 2010.

91 f. : il.

Orientadora: Adalgiza Souza Carneiro de Rezende

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de

Veterinária

Inclui bibliografia

1. Eqüino – Alimentação e rações – Teses. 2. Dieta em veterinária –
Teses. 3. Leguminosa

como ração – Teses. 4. Alfafa como ração – Teses. 5. Digestibilidade –

Teses. I. Rezende,

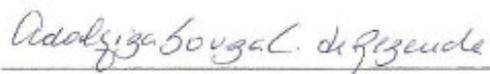
Adalgiza Souza Carneiro. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola

de Veterinária.

III. Título.

CDD – 636.108 5

Tese defendida em 14 de Abril de 2010, pela Comissão Examinadora Constituída por:



Profa. Dra. Adalgiza Souza Carneiro de Rezende
(Orientadora)



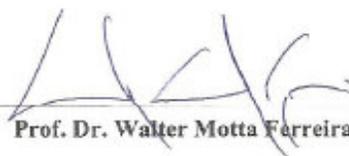
Profa. Dra. Eloisa de Oliveira Simões Saliba



Prof. Dr. Fernando Queiroz de Almeida



Prof. Dr. José Augusto de Freitas Lima



Prof. Dr. Walter Motta Ferreira

DEDICATÓRIA

Primeiramente a Deus

À minha mãe Vilcinéia Aparecida da Silva Pimentel, o meu exemplo de vida, e de incontestável dedicação aos filhos. Dedico, todas as minhas conquistas pessoais a minha família e principalmente a ela, que dedicou toda a sua vida, seus esforços mais íntimos para que tivéssemos o necessário de vestir e comer, mas sempre o melhor quanto a educação.

À minha irmã Aline Rejane Pimentel Silva, que apesar da distancia física que nos separa, o amor de nossos corações batem em uma só sintonia.

À minha linda sobrinha Luana Ariel Pimentel Sarti Santini, por proporcionar momentos de imensa felicidade em nossa casa.

Ao meu pai Luiz Antônio Silva, que me incentivou nas minhas escolhas profissionais.

“... Muita gente, pela reflexão mental incessante em torno dos recursos amoedados, progride em títulos materiais; entretanto, se os não converte em fatores de enriquecimento geral, cava abismos dourados nos quais se submerge, gastando longo tempo para libertar-se do azinhavre da usura. Legiões de pessoas no século ferem o solo da vida, com anseios repetidos de saliência individual, e adquirem vasto renome na Ciência e na Religião, nas Letras e nas Artes; contudo, se não movimentam as suas conquistas no amparo e na educação dos companheiros de senda humana, quase sempre, muito embora fulguem nas galerias da genialidade, sofrem o retorno das ondas mentais de extravagância que emitem, caindo em perigosos labirintos de purgação....”

(Pensamento e vida, Chico Xavier, pelo Espírito Emmanuel)

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

(Chico Xavier, pelo Espírito Emmanuel)

AGRADECIMENTOS

São muitas as pessoas as quais devo os meus sinceros agradecimentos, pois sem vocês, nas suas diversas formas de contribuição, não seria possível a minha formação.

A professora Adalgiza Souza Carneiro de Resende, exemplo de dedicação no estudo do cavalo. Professora que ao longo do curso me proporcionou convivência com a realidade de produção. Ensinou-me sobre a cultura eqüestre e suas diversidades ao longo do território nacional.

Ao meu Co-orientador Iran Borges pelo exemplo de dedicação ao ensino superior de qualidade. Agradeço aos demais professores da Universidade Federal de Minas Gerais, que contribuíram para minha formação profissional.

Ao professor Dr. Rogério Martins Maurício pela confiança depositada e por contribuir imensamente, com ótimas sugestões, na reta final deste projeto.

Agradeço ao Professor Dr. Fernando Queiroz de Almeida (UFRRJ), por ter contribuído e me incentivado na realização das minhas pesquisas, e pela amizade construída já de longa data.

Aos meus Pais Mineiros: Alvim e Aparecida e toda a sua família que me receberam como um filho em sua casa. Agradeço por ter sido parte, pelo menos por um período, dessa família tão linda, divertida e que me acolheu de braços abertos.

Aos meus amigos de equipe de pesquisa na UFMG: Renata Vitarele Gimenes Pereira (Renatinha), Julia Timponi de Moura Lima (July), Patrícia Carneiro Bernardes Moss (Pat Leyne), Maria Lindomárcia Leonardo da Costa, Laura Enes de Carvalho, Lilian de Rezende Jordão, Raquel Cheyne Prates, Raquel Silva de Moura, Tiago Resende, Heloisa Helena Capuano de Rezende, Mayara.

Aos meus Amigos de curso de Doutorado: Dayana (Day), Wellyngton (Danado); José Alípio (Zé); Guilherme (Gui); Luciano (Mossoró)

Aos meus Amigos do Grupo NEPPER: Gilberto (Boto); Hemilly (Wine House); Tássia (Tassinha); Luigi (Francis); Carlinhos (pé de moça); Juliana (Jú); Márcio (Fudem, cometa Halley); Andréia (Déia); Pedro (devolve meu chip!!!); Isabela (Bela); Raquel (Corneta); Gustavo (Micuí); Leonardo (Léo, Léo, Léo...).

Especialmente a Veridiana Basoni que comigo dividiu, ao longo de todo o Doutorado, intermináveis dias de trabalho, nos quais havia muita felicidade, com certeza!!!!!! E também, sem dúvidas meu amigo Fernando Antônio de Souza (Black) por dividir sua felicidade conosco e por sempre falar que a culpa não era dele!!!!

A Fernanda Nascimento de Godoi que há muito deixou de ser a minha “Irmã de Pesquisa”, para ser de vida. Obrigado, mais uma vez, por ter suportado as minhas delicadezas, por mais dois anos!!!!, e pela imprescindível companhia falante, que com certeza, sinto e sentirei muita falta.

Aos amigos da equipe de pesquisa EQUILAB (UFRRJ): Marcos Barreto Pereira, Augusta Martins Romaniello Gollcher, Heleimar Aparecida Mendes, Andresa Guimarães, Ana Cláudia pelo precioso tempo de convivência e dedicação na realização deste trabalho.

À família do Sr. João Carlos Penna de Araújo Moreira, em especial aos irmãos Dalton e Dario, por terem gentilmente cedido os animais para este trabalho, pela hospitalidade e pela enorme amizade conquistada com a família. Muito Obrigado!

Aos funcionários da fazenda Santa Helena/ Haras Catuni, que muito colaboraram na realização da etapa experimental. Agradeço a cada um por me ensinarem que a simplicidade nos leva ao caminho da felicidade.

Aos técnicos do laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia: Marcos, Kelly, Amanda, Dorinha e Margot

À Universidade Federal de Minas Gerais pela qualidade do ensino superior e ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da UFMG.

À EMBRAPA – Cerrados (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária)

Aos órgãos de fomento á pesquisa Capes, CNPq e FAPEMIG por permitirem as execuções dos experimentos de nossa equipe, através dos recursos financeiros aplicados no desenvolvimento tecnológico nacional.

Às pessoas que direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Obrigado.

SUMÁRIO

**AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE FENOS DE ESTILOSANTES E DE
ALFAFA EM EQUINOS**

	RESUMO	XI
	ABSTRACT	XII
1.	INTRODUÇÃO GERAL	1
	CAPITULO 1	3
	Revisão de Literatura	
1.1	Trato digestório dos equinos.....	3
1.2	Consumo e digestibilidade de alimentos volumosos.....	4
1.3	FORAGEIRAS leguminosas destinadas à alimentação de equinos e sua utilização.....	5
1.4	Avaliação de alimentos volumosos alternativos destinados ao consumo equino.....	6
1.5	Técnicas de avaliação de forrageiras na nutrição de equinos.....	8
1.5.1	Ensaio de digestão com coleta total de fezes e com o indicador LIPE®	8
1.5.2	Técnica de sacos de náilon móveis <i>in vivo e in situ</i>	9
1.5.3	Metodologias <i>in vitro</i> : Tilley e Terry, pré- digestão e produção de gases.....	16
1.6	Referências Bibliográficas.....	22
2	CAPITULO 2	
	Consumo e digestibilidade dos nutrientes em potros alimentados com dietas compostas por concentrado e feno de leguminosas	30
	RESUMO.....	30
	ABSTRACT.....	30
	Introdução.....	31
	Material e Métodos.....	31
	Resultados e Discussão.....	34
	Conclusão.....	40
	Referências Bibliográficas.....	41
3	CAPITULO 3	
	Digestão <i>in vitro</i> e <i>in situ</i> de leguminosas destinadas ao consumo equino	43
	RESUMO.....	43
	ABSTRACT.....	43
	Introdução.....	44
	Material e Métodos.....	45
	Resultados e Discussão.....	49
	Conclusões.....	62
	Referências Bibliográficas.....	62
	Considerações Finais.....	65
	ANEXOS	67
	Análises estatísticas.....	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Composição bromatológica média, na base da matéria seca, do feno de alfafa (<i>Medicago sativa</i>), feno de estilosantes Campo Grande (Mistura física de 20% <i>Stylosanthes macrocephala</i> e 80% de <i>Stylosanthes capitata</i>), feno de estilosantes Mineirão (<i>Stylosanthes guianensis</i> cv. Mineirão) e do concentrado farelado.....	32
Tabela 2 -	Consumo voluntário de MS do feno de alfafa, feno do estilosantes Campo Grande e Mineirão, consumo total e o ganho de peso de potras Mangalarga Marchador.....	37
Tabela 3 -	Consumo de proteína bruta (PB), Energia Digestível (ED) e relação proteína bruta e energia digestível nas diferentes dietas fornecidas as potras.....	38
Tabela 4 -	Consumo dietético real e com o estimado pelo indicador LIPE® dos fenos e das dietas.....	38
Tabela 5 -	Coefficientes de digestibilidade aparente (CDA%) de dietas compostas por concentrado e pelos fenos de alfafa, estilosantes Campo Grande e estilosantes Mineirão.....	39
Tabela 6 -	Valores médios da matéria seca e da proteína bruta e da fibra em detergente neutro das três amostras dos fenos de alfafa, estilosantes Campo Grande e Mineirão.....	45
Tabela 7 -	Valores médios (%) da composição nutricional dos fenos nas formas de apresentação <i>in natura</i> e pré-digeridos <i>in vitro</i> na base da matéria seca.....	46
Tabela 8 -	Composição nutricional (%) do feno de capim <i>coastcross</i> e do concentrado comercial.....	47
Tabela 9 -	Médias dos valores de pH finais das digestões ácida e básica <i>in vitro</i> e os valores da digestão enzimática <i>in vitro</i> da Matéria Seca e da Proteína Bruta.....	49
Tabela 10 -	Médias de degradação cecal <i>in situ</i> da matéria seca dos fenos de leguminosas pré-digeridas <i>in vitro</i> ao longo do tempo.....	51
Tabela 11 -	Estimativas dos parâmetros da degradação cecal <i>in situ</i> da MS dos fenos de leguminosas pré-digeridas <i>in vitro</i> e degradação efetiva.....	51
Tabela 12 -	Médias de degradação cecal <i>in situ</i> da proteína bruta (PB) dos fenos de leguminosas pré-digeridas <i>in vitro</i> ao longo do tempo.....	53
Tabela 13 -	Estimativas dos parâmetros da degradação cecal <i>in situ</i> da PB dos fenos de leguminosas pré-digeridas <i>in vitro</i> e degradação efetiva.....	53
Tabela 14 -	Médias de degradação cecal <i>in situ</i> da fibra em detergente neutro (FDN) dos fenos de leguminosas pré-digeridas <i>in vitro</i> ao longo do tempo.....	54

X

Tabela 15 -	Estimativas dos parâmetros médios da degradação cecal <i>in situ</i> do FDN dos fenos de leguminosas e degradação efetiva.....	55
Tabela 16 -	Valores médios de produção de gases (ml/g MS) ao longo do tempo (horas) de incubação dos fenos na forma <i>in natura</i> e pré-digerida.....	57
Tabela 17 -	Parâmetros cinéticos de produção de gases dos fenos <i>in natura</i> e pré-digeridos <i>in vitro</i>	58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Período de adaptação das potras ao consumo do feno de Alfafa.....	35
Figura 2 -	Período de adaptação das potras ao consumo do feno de estilosantes Campo Grande.....	35
Figura 3 -	de adaptação das potras ao consumo do feno de estilosantes Mineirão.....	36
Figura 4 -	Perfil da cinética de degradação da MS dos fenos digeridos <i>in vitro</i> enzimaticamente.....	52
Figura 5 -	Perfil da cinética de degradação da PB dos fenos digeridos <i>in vitro</i> enzimaticamente.....	54
Figura 6 -	Perfil da cinética de degradação do FDN dos fenos digeridos <i>in vitro</i> enzimaticamente.....	55
Figura 7 -	Cinética de produção de gases do feno de alfafa <i>in natura</i> e pré-digerido <i>in vitro</i>	60
Figura 8 -	Cinética de produção de gases do feno de Campo Grande <i>in natura</i> e pré-digerido <i>in vitro</i>	60
Figura 9 -	Cinética de produção de gases do feno de Mineirão <i>in natura</i> e pré-digerido <i>in vitro</i> digerido.....	61

RESUMO

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o consumo voluntário, a digestibilidade dos nutrientes, o ganho de peso, o consumo através do indicador LIPE[®] de dietas contendo feno de leguminosas em potras. Além da cinética de digestão avaliada *in situ* e através da produção de gases. Os tratamentos foram o feno de Alfafa (ALF) (*Medicago sativa*), o feno do estilosantes Campo Grande (CG) (*Stylo. macrocephala* e *Stylo. capitata*) e o feno de estilosantes Mineirão (M) (*Stylosanthes guianensis* cv. Mineirão) *in natura* ou pré-digeridas *in vitro*. Foram utilizadas 15 potras de 160 Kg PV médio, desmamadas aos 165 dias. A partir do desmame as potras ficaram 30 dias em um piquete de capim *Cynodon* spp. recebendo concentrado duas vezes ao dia, até iniciar o ensaio. O cálculo do consumo diário baseou-se em 30g / Kg de PV de MS. Do total de MS calculada, forneceu-se 40% de concentrado e 60% de feno. O delineamento foi inteiramente casualizado com três tratamentos e cinco repetições. A estimativa de produção fecal, os cálculos das digestibilidades dos nutrientes e os valores de consumo de MS dos volumosos e da dieta total, foram realizados através do fornecimento do indicador LIPE[®]. Realizou-se um ensaio de pré-digestão dos alimentos. O resíduo gerado foi utilizado em dois ensaios subsequentes, sendo um *in situ* e outro *in vitro*. No ensaio *in situ* utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial 3x8. Utilizou-se uma égua de 7 anos, com 250 Kg PV, fistulada no ceco. O terceiro ensaio avaliou os três fenos digeridos ou não através da técnica semi-automática de produção de gases, em um delineamento inteiramente casualizado em parcela subdividida. Foram utilizados três equinos fistulados no cólon dorsal direito como doadores de inóculo. Não houve diferença ($P>0,05$) quando se comparou o consumo do feno ALF com o feno CG. O feno M teve o menor consumo ($P<0,05$) em relação ao consumo da ALF. Não houve diferença ($P>0,05$) no ganho de peso das potras consumindo as dietas com alfafa, Campo Grande e Mineirão com valores médios diários de 0,58; 0,54 e 0,47 Kg/dia, respectivamente. Não houve diferença ($P>0,05$) entre as estimativas de consumo real e o estimado pelo indicador LIPE[®]. Não houve diferença nos valores médios de digestibilidade dos nutrientes ($P>0,05$) entre as dietas utilizadas. A fração potencialmente degradável da MS foi maior no feno ALF, CG e M, com valores de 53,1; 45,7 e 43,2%, respectivamente. E as taxas de degradação foram de 15; 14,2 e 13,3%h⁻¹, respectivamente. O feno CG apresentou maior degradação efetiva da PB. Não houve diferença ($P>0,05$) na degradação cecal *in situ* média do FDN entre os fenos avaliados. O volume máximo de gases produzidos em 48 horas foi semelhante entre os fenos de ALF e CG tanto na forma *in natura*, quanto digeridos. O feno de M apresentou menor volume final ($P<0,05$), nas duas formas de apresentação. O feno de estilosantes CG pode ser utilizado como alternativa para compor a dieta de potros desmamados, pois apresenta consumo semelhante ao da alfafa. A estimativa de consumo com a utilização do indicador de digestibilidade LIPE[®] é satisfatória em potros. O feno CG apresenta maior degradação efetiva do conteúdo de proteína bruta. A produção de gases dos fenos de ALF e CG *in natura* ou pré-digeridos apresentam semelhante capacidade de produção final de gases. A digestão *in vitro* influencia a cinética de produção de gases. Os alimentos digeridos enzimaticamente não ajustaram ao modelo de fermentação.

Palavras-Chave: consumo, clima tropical, palatabilidade, leguminosas, gases, taxa

ABSTRACT

*This study was carried out to evaluate the intake, nutrient digestibility, body weight gain, the intake by LIPE[®] marker of diets composed by concentrate and legume hay fed foals. Additionally, evaluate the nutritional value and kinetics of legumes hays digestion. Treatments were: lucerne hay (LUC) (*Medicago sativa*), stylo hay Campo Grande (CG) (20% *Stylosanthes macrocephala* and 80% *Stylosanthes capitata*) and stylo hay Mineirão (M) (*Stylosanthes guianensis* cv. Mineirão) in natura and predigested. At the first assay, were used 15 foals with 160 Kg BW, weaned with 165 days. After weaning the foals remained 30 days in a *Cynodon spp.* paddock fed ration twice a day, until start the assay. The dry matter intake estimative was 30g of DM/Kg BW. From total intake calculated animals were fed 40% of concentrate meal and 60% of roughage as hay. Design was entirely randomized with three treatments and five replicates. The faecal estimation, the nutrient digestibility values and the dry matter intake of hays and the total diet, were calculated by LIPE[®] marker methodology. Was made a predigestion trial of hays. The residue generated was used in two others assays, one in situ and other in vitro. The design used for in situ procedure was entirely randomized in factorial 3x8 arrangement. As incubation site one crossbreed horse fitted at caecum was used. The third assay evaluated hays in natura and predigested by gas production technique, which used as experimental design a split-plot randomized blocs with 3 repetitions. As inoculums donors 3 crossbreed horses fitted at right dorsal colon were used. There was no difference ($P>0.05$) between LUC and CG stylo hay intake. There was less M stylo hay intake ($P>0.05$) than LUC intake. The weight gain values between treatments did not differ. There was no difference ($P>0.05$) on body weight gain of foals fed experimental diet composed by LUC, CG and M, with daily mean values of 0.58; 0.54 and 0.47 Kg/day, respectively. There was no difference ($P>0.05$) between real consumption compared with observed by LIPE[®]. There was no difference among nutrient digestibility coefficients ($P>0.05$) from different diets. The potential degradable fraction of DM was higher for LUC, CG and M, with values of 53.1; 45.7 e 43.2%, respectively. The degradation rate followed the same order, with values of 15; 14.2 e 13.3%h⁻¹. The effective protein degradability was higher for CG hay. No difference was observed ($P<0.05$) among NDF caecal in situ degradation of predigested hays evaluated. The maximum gas production at 48 hours was the same between LUC and CG hay as in natura as predigested. Less final gas production ($P<0.05$) was observed on M hay into both apresentation forms. Campo Grande hay can be used as alternative roughage, as intake was similar to Lucerne hay. The intake estimate through LIPE[®] marker is satisfactory for equines. Digested legume hays do not adjust to usually applied models for gas production. The CG hay present higher effective protein degradability. LUC and CG hay as in natura as predigested demonstrate the same final potencial of gas production. The predigestion influences gas production profile.*

Keywords: gas, intake, legumes, palatability, rate, tropical weather

INTRODUÇÃO GERAL

No Brasil, a população de equídeos é estimada atualmente em 7.986.023 cabeças, sendo 5.541.702 equinos, 1.130.795 asininos e 1.313.526 muares. A população nacional de equinos é a quarta maior do mundo, com cerca de 5.600.000 animais, que tem se mantida estável na última década (Almeida & Silva, 2010). A equideocultura brasileira gerou 3,2 milhões de empregos diretos e indiretos, e movimentou 7,5 bilhões de reais por ano no complexo do agronegócio cavalo (Lima, 2006). Muito embora, a contribuição econômica do setor tenha sido expressiva na agropecuária, são poucos os estudos desenvolvidos com a nutrição equina visando explorar o potencial forrageiro de alimentos volumosos alternativos e adaptados às condições nacionais.

O produtor no Brasil não conhece alternativas forrageiras e, a falta de orientação especializada, leva o criador a optar pelo mais conhecido, que nem sempre será o mais recomendado. Faltam soluções alternativas de substituição dos ingredientes nas dietas dos cavalos e, além disso, os técnicos não dispõem de programas adequados para solucionar os problemas ligados à alimentação dos equinos.

Um dos poucos trabalhos existentes avaliando apenas o coeficiente de digestibilidade de forrageiras tropicais para utilização na dieta dos equinos verificou que o estilosantes Mineirão, o amendoim forrageiro e o macrotiloma, apresentaram potencial para utilização nas dietas desta espécie.

Novas fontes de alimentos volumosos devem ser propostas, na tentativa de buscar alimentos de maior digestibilidade, que sejam de crescimento perene e de menor custo, de forma que aumentem as possibilidades de estratégia alimentar nas propriedades de criação de equinos. Entretanto, para o emprego correto desses alimentos às dietas, são necessários estudos específicos quanto à determinação do consumo voluntário, composição química bromatológica e digestibilidade dos nutrientes. Somente após a caracterização do consumo do volumoso será possível a avaliação efetiva da qualidade química e da digestibilidade do alimento sugerido. Neste caso, de acordo com a evolução da nutrição na espécie, somente a estimativa dos coeficientes de digestibilidade não são suficientes para a perfeita compreensão da cinética de todo o complexo processo digestivo dos equinos.

Assim, novas técnicas de avaliação dos alimentos foram desenvolvidas e, recentemente, foram aplicadas na avaliação de alimentos destinados ao consumo equino. Estas técnicas envolvem a atividade fermentativa do trato gastrointestinal e são de fácil execução, pois nem sempre requerem ensaios de coleta total de fezes.

Na espécie equina, a compreensão da qualidade dos carboidratos que têm acesso ao cecólon e a avaliação da sua forma de fermentação é de fundamental importância, uma vez que os equinos utilizam os produtos finais da fermentação para o suprimento de sua demanda energética.

Tanto o procedimento *in situ*, quanto a técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases, permite a interpretação cinética dos processos digestivos ocorridos na câmara fermentativa. Adicionalmente, aliado a estes tipos de ensaios que descrevem a digestão dos nutrientes em função do tempo, em cada segmento intestinal, estão os modelos matemáticos que permitem compartimentalizar um evento biológico e, através dos parâmetros descritos pelo modelo, os nutricionistas podem melhor compreender a qualidade do alimento.

A necessidade de conhecer fontes de volumosos adaptadas às condições brasileiras para serem utilizados na dieta dos equinos visando a redução dos custos justificaram a realização deste trabalho que teve por objetivo avaliar o consumo e o aproveitamento dos fenos de estilosantes e para sua apresentação foram desenvolvidos três capítulos:

No capítulo I foi feita uma revisão de literatura relacionada ao trabalho. No capítulo II está a avaliação do consumo de matéria seca estimado com o indicador de digestibilidade LIPE que foi comparado com o consumo real de fenos de leguminosas por potros Mangalarga Marchador. Além disso, avaliou-se os coeficientes de digestibilidade dos nutrientes de três diferentes dietas contendo fenos de leguminosas como volumosos exclusivos. No terceiro capítulo, descreveu-se o Ensaio 2, que avaliou a cinética de degradação dos nutrientes dos três diferentes fenos de leguminosas pré-digeridos e incubados *in situ*. Avaliou-se a qualidade dos fenos de leguminosas nas formas de apresentação *in natura* e pré-digerida através da cinética de produção de gases. Através destes procedimentos buscou-

2

se diferenciar a qualidade nutricional, assim como a disponibilidade dos nutrientes que compunham os alimentos volumosos.

CAPITULO 1

REVISÃO DE LITERATURA

1.1. Trato digestório dos equinos

Os equinos são classificados quanto a anatomia do seu trato digestivo como herbívoros não ruminantes com atividade fermentativa no ceco e cólon. O processo digestivo inicia-se com a apreensão do alimento, inicialmente estimulado através do olfato, em seguida, os lábios realizam o toque, depois o corte é realizado pelos dentes incisivos. Na cavidade bucal, o alimento recebe a saliva e é triturado. Segundo Frappe (2004), os equinos geralmente reduzem o tamanho de partícula de feno e volumosos frescos a menos de 1,6mm de comprimento.

Após a passagem da digesta pelo esôfago, o bolo alimentar atinge o estômago. Lorenzo-Figueras et al. (2002) estudaram a recepção do alimento no estômago. Segundo os autores, inicialmente, o segmento funcionou como um reservatório de alimento e, indicaram a existência de um *tonnus* fisiológico de relaxamento induzido pela refeição, que é um mecanismo fisiológico adaptativo de acomodação da digesta, que proporciona baixas pressões ao compartimento de reserva. Uma outra contribuição gástrica sobre a digesta é a hidrólise ácida e a digestão enzimática das proteínas (Jackson, 2001).

Os cavalos consomem a dieta de forma lenta e constante, pois possuem estômago simples, e de pouca capacidade, representando apenas 8% do volume de todo o trato digestivo (Hintz & Cymbaluk, 1994). Conseqüentemente, o esvaziamento gástrico é rápido, é auxiliado pela sístole antral ocorrida no piloro, contrações fortes promovem a passagem do alimento do estômago para o intestino delgado (Rakestraw, 2008).

O intestino delgado desta espécie apresenta aproximadamente 20 metros, compreendendo 75% do comprimento do trato digestivo total. Esta parte do intestino é dividida em três segmentos: duodeno, jejuno e íleo. A digesta recém chegada no duodeno recebe um fluxo contínuo de suco pancreático e de sais biliares que auxiliam na digestão. Neste local, são absorvidos principalmente, os carboidratos solúveis, os aminoácidos provenientes da digestão da proteína e os ácidos graxos livres oriundos da digestão dos componentes lipídicos da dieta, como gorduras ou vitaminas lipossolúveis A, D e E, e alguns minerais (Jackson, 2001).

Uma vez a digesta dentro do duodeno, o seu trânsito é muito rápido, aproximadamente 30cm/min (Welyenberg et al., 2006) de modo que, apesar da passagem ser rápida o comprimento do segmento proporciona o aumento a superfície de contato, caracterizando a elevada eficiência na digestão e absorção dos nutrientes pré-cecal.

Além disso, uma outra adaptação do trato digestivo da espécie é a junção ileocecal, que proporciona retenção da digesta no terço final do intestino delgado. Isto porque, a junção causa aumento da tensão e a digesta permanece mais tempo no jejuno (Argenzio, 1996).

Segundo Van Soest (1996) os carboidratos estruturais não podem ser digeridos pelas enzimas dos mamíferos. Portanto, os nutrientes não digeridos no segmento proximal do intestino dos equinos, compostos principalmente por carboidratos da parede celular vegetal, entram no primeiro compartimento que apresenta atividade fermentativa fibrolítica. A partir do ceco, inicia-se o processo de colonização bacteriana e fermentação. Segundo Hoffman et al. (2001), que definiram o fracionamento dos carboidratos de acordo com a fisiologia da espécie equina. Estes autores descreveram que a espécie é incapaz de digerir gomas, pectinas, mucilagens e alguns oligossacarídeos no intestino delgado, entretanto, estes compostos, descritos como carboidratos não hidrolisáveis, são rapidamente fermentáveis no ceco e cólon.

As principais funções do intestino grosso dos cavalos são de digestão da fração fibrosa da dieta e a capacidade de armazenar e absorver grande quantidade de fluidos. É anatomicamente segmentado em: ceco, cólon ventral direito e esquerdo, flexura pélvica, cólon dorsal direito e cólon menor (Argenzio, 1975).

A presença da microbiota no ceco-cólon é imprescindível para a sobrevivência da espécie equina. Os microorganismos utilizam os carboidratos e a proteína remanescente da digesta ileal para seu crescimento. Os subprodutos da fermentação microbiana, são então, absorvidos pela mucosa do intestino grosso dos equinos como fonte energética e de vitaminas, principalmente as do complexo B. Entretanto, segundo o NUTRIENT... (2007), não existem evidências quanto à absorção significativa de aminoácidos provenientes da síntese microbiana no ceco-cólon, que contribuam para o *pool* de aminoácidos sistêmico do cavalo.

Para que o processo fermentativo ocorra da melhor forma, é necessária a retenção da fibra, fato que proporciona tempo para a colonização do substrato pelas bactérias. Neste aspecto, além das barreiras anatômicas, o intestino grosso apresenta saculações, denominadas de autros e tênias que auxiliam na retenção das partículas. De todo o tempo de retenção das frações fibrosas ao longo do trato gastrointestinal, aproximadamente de 75 a 85% corresponde à permanência no interior do intestino grosso (Hintz, 1990) citado por Cuddeford (2001).

O ceco foi descrito por Rosenfeld et al. (2006) como um saco de fundo cego que permite a segregação de partículas através da gravidade e por retenção das partículas mais densas, entretanto, não retêm as partículas por longos períodos, pois a taxa de passagem do ceco é de $20\%h^{-1}$ (Hintz, 1990) citado por Cuddeford (2001). Uma outra característica do segmento, é a sua adaptação anatômica e fisiológica que foi avaliada por Ross et al. (1986), estes autores identificaram que não ocorrem refluxos da digesta presente no cólon ventral direito para o interior do ceco, além disso, os dois segmentos apresentaram padrões de contração independentes, portanto, considerou-se como a divisão funcional entre os dois compartimentos o orifício ceco-cólico.

O passo seguinte, quando o ceco está relaxado, a digesta do seu interior segue para o cólon ventral direito e em seguida para o cólon ventral esquerdo, dando continuidade ao processo de digestão e absorção de fluidos e eletrólitos. De acordo com o estudo desenvolvido por Argenzio (1975), o intestino grosso como um todo, absorve fluido, mas quantitativamente as absorções são maiores no cólon ventral direito e esquerdo.

Por fim, os resíduos presentes no cólon menor apresentam menor teor de umidade e são formadas as sibalas. As fezes vão se acumulando na ampola retal até a sua defecação.

1.2. Consumo e digestibilidade de alimentos volumosos

A aceitação dos alimentos volumosos pode ser avaliada pelo consumo voluntário de matéria seca. Assim, Van Soest (1994) descreveu que o maior problema na determinação do consumo está nas razões pelas quais os animais rejeitam o alimento. Sendo que a palatabilidade foi um dos principais fatores, isto porque os animais são incapazes de comunicar diretamente suas preferências e, é difícil de distinguir quando a palatabilidade ou razões fisiológicas causam a rejeição.

A palatabilidade não pode ser descrita de uma forma simplificada, pois a ingestão voluntária do alimento envolve inúmeros fatores. Garner (1963) citou que a percepção fisiológica da apreciação envolve a combinação dos sentidos da textura, do sabor e do cheiro. Portanto, a diferença entre as espécies animais na percepção dos diferentes sentidos, faz com que os alimentos sejam aceitos de forma diferente entre as espécies animais. Também deve ser considerado o estágio de maturidade da planta, que favorece a deposição de lignina, reduzindo a digestibilidade e, conseqüentemente o consumo (Garner, 1963).

No entanto, Favoretto (1979) comentou que em alguns casos, os valores nutritivos das forrageiras podem não influenciar no interesse do animal pela planta, pois observou que a grama batatais foi sempre muito bem consumida, mesmo apresentando baixo valor nutricional em certas épocas do ano.

Os alimentos volumosos mais utilizados na alimentação equina são as pastagens e os fenos (NRC, 1989). As plantas que servem como forragem para os equinos podem ser divididas em gramíneas e leguminosas. No Brasil, utiliza-se principalmente na alimentação dos equinos, o feno de gramíneas do gênero *Cynodon* e o feno da leguminosa alfafa.

O consumo voluntário refere-se ao consumo *ad libitum* de um único alimento, desde que não haja seleção do alimento consumido. Assim, o grau de preferência é baseado na comparação do consumo entre os alimentos. O consumo *ad libitum* é considerado como um dos principais fatores que refletem a qualidade do alimento, afetando diretamente a resposta animal, principalmente na eficiência. De acordo com LaCasha et al. (1999), os potros de um ano apresentaram consumo voluntário de 31g de MS de Feno de alfafa/ Kg de PV. Enquanto que, Aiken et al. (1989), observaram consumo o consumo efetuado por potros de 26g de MS do feno de capim Bermuda.

Utilizando cavalos adultos em manutenção, Almeida et al. (1999) verificaram o consumo do feno de alfafa fornecido *ad libitum* de 1,66% do PV, superior ao do feno de *coastcross*, de 1,39% do PV.

Os pôneis avaliados por Cymbaluk & Christensen (1986) foram capazes de consumir 2,5 Kg de MS /100Kg de PV quando a alfafa foi fornecida na forma peletizada, enquanto que Todd et al. (1995), avaliaram o consumo de alfafa em equinos sobre diferentes formas físicas de apresentação e, observaram maior consumo sendo de 3,2 Kg /100 Kg de PV para alfafa em cubos, quando comparado aos outros tipos de processamentos.

Em condições nacionais, Almeida et al. (1999) avaliaram o consumo e a digestibilidade dos nutrientes do capim-elefante e dos fenos de alfafa e *coast cross*. Observaram que a alfafa supriu 116% da energia digestível e 385% da proteína bruta, mostrando-se adequada do ponto de vista energético, entretanto, o nível de proteína digerida ultrapassou as exigências para equinos adultos em manutenção.

Com exceção das éguas em lactação e das categorias em crescimento, os cavalos não exigem fenos de alto teor protéico. Se o volumoso protéico for fornecido juntamente com energia suficiente, o excesso de proteína será excretado, contribuindo para a contaminação ambiental com nitrogênio (Almeida et al., 1999). Além disso, o consumo excessivo de proteína pode causar efeitos acidogênicos em cavalos atletas (NRC, 2007). Os cavalos podem ser alimentados com fenos de menor qualidade, mas bem conservados e, suplementados em certos momentos quando ocorrer aumento da demanda nutricional.

Em um ensaio conduzido por Furtado et al. (1999), foram avaliadas a digestibilidade de quatro forrageiras comumente utilizadas pelo sistema de produção de equinos. O coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta foi semelhante entre os fenos de alfafa, tifton, e *coastcross* com valores de 66,2; 58,7; e 52,5%, respectivamente. No entanto, diferiram do capim estrela que apresentou 29,2% de digestibilidades da PB. Os autores concluíram que os fenos de alfafa, *coastcross* e de tifton foram excelentes alimentos volumosos para equinos.

1.3. Forrageiras leguminosas destinadas à alimentação de equinos e sua utilização

Os alimentos volumosos contêm fibra e, este nutriente, é essencial para o funcionamento normal do trato digestivo dos equinos já que seu consumo é capaz de prevenir distúrbios comportamentais (Pagan, 2001; Moore-Colyer et al., 2003).

Dentre as leguminosas utilizadas na alimentação equina, a alfafa (*Medicago sativa* L.) é tradicionalmente utilizada (Cunha 1980; Pagan 2001) devido ao seu elevado valor nutricional para a espécie. Esta leguminosa é uma planta herbácea perene de raiz profunda, muito exigente em fertilidade, e que não se desenvolve em solos arenosos ou compostos (Gonçalves e Borges, 2006).

Cunha (1980) mostrou que a alfafa pode ser utilizada para equinos em manutenção de forma eficiente em até 40% como único alimento volumoso, em uma ração completa peletizada. Segundo Frappe (2004), a alfafa aumentou a digestão da energia bruta do alimento e disponibilizou maior conteúdo de aminoácidos sulfurados e cálcio em relação às gramíneas.

Uma leguminosa adaptada às condições tropicais é o estilosantes, que apresenta diversas variedades. O estilosantes Campo Grande é na verdade um produto comercial, uma mistura física de sementes: 20% *Stylosanthes macrocephala* e 80% de *Stylosanthes capitata*. A associação destas duas plantas proporcionou características favoráveis de maturação e composição nutricional.

Segundo Skerman et al. (1991) o *Stylosanthes capitata*, é uma planta perene de crescimento ereto. Capaz de atingir 1m de altura e que na base é lenhosa. Desenvolve-se no Brasil nas zonas tropicais semi-áridas da Bahia, subtropicais do Mato Grosso e Minas Gerais, assim como no litoral de Pernambuco. É encontrada em altitudes de até 1000m e desenvolve-se em habitat de savanas ou de bosques abertos. Cresce bem em solos arenosos e inférteis do cerrado e tipicamente ácidos (pH 4,5), tem necessidade de precipitação mínima de 500mm até mais de 1500mm. É uma espécie que produz muita semente, com capacidade de 1000Kg/ha. No plantio, necessita de inoculação com *rizobium* específico e alguns cultivares são resistentes à antracnose. Não foram encontradas informações técnicas quanto a espécie *Stylosanthes macrocephala*.

Outra cultivar de estilosantes é o Mineirão (*Stylosanthes guianensis* cv. Mineirão) também conhecido por: alfafa brasileira, meladinho, vassourinha, manjerição do campo. É uma planta perene, com ramos finos, pilosos em toda a sua extensão, flexíveis, prostrados (cai sobre si), pode formar touceiras de 1,5m (Skerman et al., 1991). Necessita de índices pluviométricos acima de 900 mm, e é indicado para solos de cerrado, em função da sua adaptação natural a baixa fertilidade, acidez elevada, sendo uma boa opção de fonte protéica no momento que ocorre o declínio de produção de matéria seca e na qualidade da forrageira (Ladeira, 2001). Estabelece-se por sementes, necessita ser inoculada por *rizobium* específico para obter maiores produções, que são capazes de atingir no corte 30t MV/ha/ano, e apresenta boa resistência à seca (Gonçalves e Borges, 2006).

Até então, foram feitos poucos ensaios que avaliaram nutricionalmente leguminosas tropicais em estudos de digestibilidade com equinos. Silva et al. (2009a), avaliaram sete alimentos volumosos, sendo que seis foram leguminosas. Foram avaliados por estes autores os fenos de alfafa, amendoim forrageiro, desmódio, estilosantes, guandu, macrotiloma. Os autores concluíram que o estilosantes foi uma das leguminosas tropicais que apresentou melhor degradação da proteína bruta, com elevado conteúdo da fração solúvel e de fibra de potencial fermentativo, e que apresentou digestibilidade da PB, FDN e FDA de 94,9% , 53,3% e 53,5%, respectivamente, demonstrando ter potencial para o uso em dietas para equinos.

As leguminosas por serem mais protéicas em relação às gramíneas, podem ser excelente alternativa para suprir deficiências das pastagens, especialmente no período seco (Manzano et al., 1990; Ferreira et al., 1995). Neste aspecto, o guandu foi utilizado em níveis de substituição ao *coast cross* em dietas de equinos por Manzano et al. (1990), que sugeriram níveis de 10 a 20% de substituição, pois observaram que potros de genética árabe recebendo dieta contendo o Guandu com 20% de inclusão, apresentaram o perímetro torácico médio final superior aos que não receberam a leguminosa na dieta.

Enquanto que, Ferreira et al. (1995) trabalharam em um ensaio de digestão, com equinos da raça Campolina, que consumiam dieta volumosa mista composta por capim elefante e feno de guandu. O grupo controle recebeu apenas capim elefante (*Pennisetum purpureum*) e apresentou consumo médio de matéria seca de 2,30% do PV. Enquanto que os tratamentos com 15 e 30% de guandu apresentaram consumos superiores de 2,57 e 3,52% do PV. Além disso, concluíram que a inclusão de até 30% de feno de guandu na dieta, proporcionou melhores coeficientes de digestibilidade dos nutrientes e atendeu as exigências energéticas e protéicas de equinos em manutenção.

1.4. Avaliação de alimentos volumosos alternativos destinados ao consumo equino

Em condições tropicais, inúmeras são as opções de forrageiras disponíveis, muito embora, existam estudos que tenham avaliado a qualidade de diferentes espécies forrageiras destinadas ao consumo dos cavalos, existem características que são muito peculiares à espécie equina (Domingues, 2009) de modo que, as informações nutricionais de uma forragem não podem ser efetivamente aplicadas antes de uma avaliação minuciosa da forma de apreensão (Dittrich et al., 2005) e da avaliação do consumo voluntário (Silva et al., 2009a) em condições práticas de manejo.

Segundo Manzano et al. (1979) a alimentação dos equinos é baseada em poucos alimentos e faltam soluções alternativas de substituição dos ingredientes. Os autores sugeriram que pesquisas

sejam realizadas a fim de estudar novas fontes de alimentos para equinos. Adicionalmente, Manzano et al. (1979) expuseram um grande problema na equideocultura brasileira, ao afirmarem que os criadores não dispõem de programas adequados que solucionem os problemas ligados à alimentação.

Moreneti et al. (2004) observaram as características do sistema de alimentação de equinos no Brasil e, propuseram a utilização de alguns alimentos volumosos não convencionais, tais como: a rama de mandioca e a rama de cenoura.

Anos depois, Silva et al. (2009a) avaliaram diversos alimentos volumosos através de ensaios de digestão com equinos adultos, sugeriram também mais estudos, principalmente a respeito da leguminosa *Stylosanthes guianensis* cv. Mineirão e do amendoim forrageiro (*Arachis pintoi*). Adicionalmente, Ladeira et al. (2002) avaliaram o valor nutricional do *Stylosanthes guianensis* em um estudo realizado com ruminantes. Apesar do estudo ter sido desenvolvido com outra espécie, a avaliação química do alimento não mudaria. Os autores observaram que o perfil de aminoácidos da leguminosa apresentava teores elevados de lisina e metionina, com 0,63 % e 1,04 % na matéria seca, respectivamente. Informações relevantes quanto ao potencial nutricional da leguminosa no sistema de produção de equinos, principalmente nas categorias de animais em crescimento, pois de acordo com o NUTRIENT... (2007), a lisina é o primeiro aminoácido limitante na dieta de potros e está presente em 0,83% da matéria seca da alfafa.

São poucas as informações na literatura brasileira quanto a estimativas de consumo e digestibilidade de leguminosas com equinos. Normalmente, estas variáveis são mais bem estudadas com o feno da alfafa. São necessários estudos que estimem a digestibilidade de outros alimentos forrageiros alternativos. A principal referência utilizada no Brasil, o Nutrient Requirements of Horses (NRC, 2007) é uma publicação Norte Americana que objetivou elucidar a necessidade nutricional e de criação dos equinos dentro da óptica Norte Americana. De forma que, não houve preocupação por parte da comissão editorial em descrever os ensaios realizados com alimentos que não se desenvolvessem, principalmente, em condições temperadas.

Furtado et al. (1999) descreveram que não havia um sistema nacional de avaliação dos alimentos volumosos para equinos e eram poucos os trabalhos específicos sobre digestibilidade dos diferentes alimentos que serviriam como base para cálculos de dieta e confecção de tabelas de recomendações para equinos.

Neste aspecto, Furtado et al. (1999), Dittrich & Carvalho (2007) e Silva et al. (2009a) descreveram a importância de avaliação de novas fontes de alimentos forrageiros, observando-se a qualidade nutricional, principalmente no caso das leguminosas. Silva et al. (2009a) estimaram a digestibilidade de diversos alimentos volumosos através da técnica dos sacos móveis, onde uma pequena porção do alimento volumoso foi inserido em bolsas de náilon e, em seguida, inseridas diretamente no estômago do cavalo. Os sacos atravessaram todo o trato digestivo e foram recuperados nas fezes e, então, determinavam a digestibilidade dos nutrientes através dos resíduos que permaneciam no interior das bolsas. Neste estudo, Silva et al. (2009a), avaliaram sete alimentos volumosos, sendo que seis foram leguminosas, e, dentre elas avaliou-se o amendoim forrageiro.

O NRC (1989) havia sugerido variedades da espécie *Arachis sp.* como forrageira leguminosa com potencial para fenação, mas não descreveu detalhadamente a composição química e valores de digestibilidade. A dúvida quanto à sua utilização e qualidade nutricional na espécie equina ainda persistiu no NUTRIENT... (2007), que por sua vez, não apresentou novas informações sobre a forrageira. Neste aspecto, Silva et al. (2009a) avaliaram o *Arachis pintoi* cv Amarello, observaram que o volumoso apresentou teor protéico elevado de 18,0%, destacando-se dentre as leguminosas tropicais avaliadas no estudo. Além disso, apresentou elevados coeficientes de digestibilidade dos nutrientes, mas os estudos sobre esta leguminosa destinada ao consumo equino pararam neste ponto no Brasil. Ainda não se sabe, por exemplo, em que condições o amendoim é pastejado, ou até mesmo qual seria o consumo de matéria seca *in natura* ou na forma de feno.

Tratando-se de uma outra leguminosa tropical, o guandu já havia sido avaliado por outros autores Manzano et al. (1990) e Ferreira et al. (1995) em níveis de substituição na dieta. Entretanto, a estimativa da digestibilidade dos nutrientes, exclusivamente do guandu, ainda não havia sido descrito. Ao contrário do observado nos estudos preliminares com o guandu, Silva et al. (2009a), discordou da qualidade do alimento volumoso. Observou que o guandu utilizado no ensaio não possuiu parâmetros

de degradação satisfatórios, pois apresentou proteína de baixa qualidade quando comparado aos demais alimentos avaliados no ensaio. De modo que, o guandu foi caracterizado pelo baixo coeficiente de digestibilidade da proteína bruta de 52,8%, com baixas taxas de degradação.

De modo geral Silva et al. (2009a) concluíram que o amendoim forrageiro (*Arachis pintoi* cv. Amarillo), estilosantes (*Stylosanthes guianensis* cv. Mineirão) e o macrotiloma (*Macrotyloma axillare*) apresentaram digestibilidade satisfatória dos nutrientes e apresentaram potencial para o uso em dietas de equinos. Mas apesar das recomendações da qualidade dos alimentos volumosos, estudos para avaliar o consumo voluntário das forrageiras são necessários para comprovação efetiva do alimento.

Assim sendo, espera-se que os alimentos volumosos tropicais produtivos nas condições brasileiras, apresentem potencial para utilização em dietas para os equinos. Novas fontes de alimentos volumosos podem ser propostas, na intenção de buscar alimentos de maior digestibilidade, de produção anual, mais barato e que aumentem as possibilidades de estratégia alimentar na propriedade. Entretanto, para o emprego correto desses alimentos às dietas, são necessários estudos específicos quanto à altura de corte e tempo de secagem para a confecção do feno e determinação da digestibilidade, valor nutricional e consumo voluntário.

1.5. Técnicas de avaliação de forrageiras na nutrição de equinos

1.5.1. Ensaio de digestão com coleta total de fezes e com o indicador LIPE®

Para o conhecimento do valor nutricional de um alimento da dieta é imprescindível à estimativa da digestibilidade dos nutrientes e, o processo normalmente utilizado consiste em medir diretamente o ingerido e a excreção fecal durante certo período de tempo (Pereira et al., 1995).

Na prática, os ensaios de digestibilidade com coleta total são conduzidos com muitos animais e, geralmente, o alimento a ser testado deve ser adquirido, analisado e armazenado antes do início do experimento, a fim de evitar variações na sua composição. Inicialmente, deve-se estabelecer o nível de consumo durante um período preliminar. O período de adaptação ao novo alimento é importante para que os resíduos da dieta anterior sejam eliminados e para determinar o consumo. Além disso, para que ocorra a adaptação da microbiota ao novo substrato e a aclimação dos animais a condição de confinamento experimental. A dieta avaliada deve ser fornecida de forma que não ocorram sobras, ou que estas sejam controladas (Almeida, 1994).

Em ensaio *in vivo* os fatores inerentes ao efeito animal sobre a digestibilidade dos nutrientes compõem a maior parte do erro aleatório. Variações individuais como: eficiência de mastigação, tempo de permanência do alimento nos segmentos intestinais, secreções digestivas, motilidade intestinal são fatores específicos do animal, que muitas vezes, podem passar despercebidos nas técnicas atuais de nutrição de equinos, contudo, neste caso todos esses elementos são efetivos.

O período de coleta das fezes deve durar no mínimo cinco dias (cada dia é responsável por 20% da variação da resoposta) até dez dias, para garantir uma excreção fecal média constante e visando minimizar os efeitos das variações individuais. As fezes devem ser coletadas e pesadas diariamente, evitando contaminações com resíduos de urina e pêlos. Em seguida, serão homogeneizadas e retiradas amostras representativas (10%) do total defecado para cada dia e em cada animal. As fezes são mantidas resfriadas a 5°C, no final do período experimental as amostras de cada dia, correspondentes a cada animal, são novamente misturadas formando amostras compostas (Almeida, 1994).

A coleta total de fezes é a metodologia que os pesquisadores em nutrição de equídeos dispõem como parâmetro de controle, isto porque, a técnica é considerada padrão. Todos os processos fisiológicos são mantidos desde a apreensão do alimento, mastigação, tempo de consumo, cinética de passagem, interações enzimáticas com o substrato, homogeneização da digesta, tempo de fermentação e etc.

A coleta total de fezes é muito precisa, porém possui limitações como: grande volume de fezes, estudo de apenas um alimento por ensaio, tempo de adaptação à dieta, gaiolas metabólicas de alto custo. Tendo em vista estas dificuldades, novas técnicas surgiram, como por exemplo, uma delas seria a determinação da digestibilidade através da utilização do LIPE[®].

O LIPE[®], hidroxifenilpropano modificado e enriquecido, é um indicador externo de digestibilidade que foi desenvolvido especificamente para pesquisas. Este produto foi elaborado por pesquisadores do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária e de Química do Instituto de Ciências Exatas da UFMG, e se mostrou eficiente como indicador de digestibilidade em pesquisas realizadas com diversas espécies animais. Surgiu como alternativa ao uso do óxido crômico e, apresentou as vantagens de um curto período de adaptação e ser de baixo custo (Saliba et al., 2005).

As limitações de execução de ensaios de coleta total tornaram os métodos indiretos ou dos indicadores uma prática comum. Contudo, sabendo da existência de erros associados à metodologia, Lanzetta et al. (2009) avaliaram a utilização de dois indicadores externos na estimativa dos coeficientes de digestibilidade em equinos. O primeiro, o óxido crômico muito utilizado nos ensaios com equinos, e o outro, o indicador LIPE, recém- desenvolvido, ambos foram comparados com a coleta total de fezes. Esses autores observaram que o óxido crômico subestimou os valores de recuperação fecal quando comparados aos valores observados através da coleta total de fezes em equinos, e os resultados dos coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes dependem diretamente dos resultados de produção fecal estimados pelos indicadores. Isto porque, o valor do consumo foi obtido através dos valores de produção fecal. Portanto, a diferença nos resultados de produção fecal implicou em diferenças também nos valores observados na digestibilidade dos nutrientes.

Maurício (1993) avaliou indicadores em ensaios de digestão com equinos, asininos e muares, observou taxas de recuperação fecal do óxido crômico de 80,00; 75,32 e 80,72%, respectivamente, e atribuiu os baixos valores observados a deficiência no modo de fornecimento do indicador, causando perdas no fornecimento ou a erros analíticos durante a sua quantificação. Já Lanzetta et al. (2009), observaram dificuldades na administração oral do indicador óxido crômico aos equinos, pois a espécie rejeitou o fornecimento, de modo que, ingestões inferiores às previstas podem ter ocorrido em função da retenção do indicador nos lábios e boca. Entretanto, neste experimento não foram observadas diferenças entre a estimativa de produção fecal feita através do LIPE[®] comparado com a coleta total de fezes. Caracterizando neste ensaio, a aplicabilidade do indicador e, assim sendo, Lanzetta et al. (2009) concluíram que o indicador LIPE[®] foi eficiente para estimar a digestibilidade em equinos e pode ser utilizado em substituição ao método de coleta total das fezes.

Todas as técnicas descritas a seguir apresentarão procedimentos que visam simular o efeito animal sobre os alimentos volumosos, a fim de se obter o maior número de respostas próximas do biológico de forma mais barata, rápida e etc.

1. 5. 2 Técnica de sacos de náilon móveis *in vivo* e *in situ*

Esta técnica foi inicialmente utilizada eficientemente em suínos e, depois em ruminantes, devido ao surgimento de fibras sintéticas. Segundo Macheboeuf et al. (2003), a técnica foi utilizada em suínos e em ruminantes para avaliar a digestibilidade de proteínas, mas pode ser utilizada com sucesso no estudo da digestão de todo trato digestivo, bem como do intestino grosso em equinos fistulados, portanto, após o aprimoramento da técnica em ruminantes foi então adaptada para equinos (Úden & Van Soest, 1984; Miraglia et al., 1988; Araújo et al., 1996ab e 2000; Moore-Colyer et al., 2002; Macheboeuf et al., 2003; De Fombelle et al., 2004; Hyslop, 2006; Silva et al., 2009a; Rosenfeld & Austbø, 2009).

Deve-se deixar claro que existem duas técnicas principais utilizadas em equinos que fazem uso dos sacos porosos. A primeira a ser descrita será a dos sacos móveis, que é um método *in vivo*. Consiste na utilização de pequena quantidade de alimento inserida em sacos de náilon ou poliéster, inseridos no trato digestivo do animal através de uma cânula ou diretamente no estômago através de

sonda nasogástrica, permitindo que os sacos atravessassem todo o trato digestivo, ou parte dele e, então, sejam recuperados nas fezes (Hyslop, 2006).

Mesmo após anos de utilização deste procedimento os autores (Araújo et al., 1996ab e 2000; Moore-Colyer et al., 2002; Macheboeuf et al., 2003; De Fombelle et al., 2004; Hyslop, 2006; Silva et al., 2009a; Rosenfeld & Austbø, 2009) não concordaram quanto às dimensões dos sacos inseridos via sonda nasogástrica.

Com o intuito de determinar o desaparecimento dos nutrientes dos alimentos volumosos acondicionados nos sacos, Araújo et al. (1996a) concluíram que os sacos de náilon de tamanho médio (3,5 x 4,5cm) e grande (3,5 x 6,5cm) podem ser utilizados para equinos. Hyslop (2006) revisou os procedimentos e sugeriu a utilização de dimensões de 6x1 cm, enquanto que Silva et al. (2009a) utilizaram com eficiência sacos de 7,5x 2cm.

De Fombelle et al. (2004) e Rosenfeld & Austbø (2009) utilizaram a técnica para avaliar a digestibilidade pré-cecal de carboidratos oriundos de alimentos energéticos ou processados, e as dimensões foram de 6x1 cm. A dificuldade de padronização das dimensões, se deve a necessidade de resíduo para a análise, por isso, Araújo et al. (1996a) sugeriram o uso de sacos grandes, devido a sua maior capacidade de amostra, permitindo que houvesse resíduos para ser analisado.

Segundo a revisão realizada por Vanzant et al. (1998) um importante fator discutido foi à quantidade de amostra presente no interior das bolsas, uma vez que, o excesso de amostra pode impedir o influxo das secreções digestivas, portanto, estabeleceu-se a limitação de amostra entre 10 a 20 mg/cm², quando se utiliza qualquer tipo de saco poroso.

O momento da coleta dos sacos é de fundamental importância nesta técnica, pois ela ainda pode prover informações sobre a cinética de passagem. São somente considerados para o cálculo de digestibilidade e tempo médio de retenção os sacos eliminados até 96h, isto quando se considera todo o trato digestivo. Esta estratégia apresenta o intuito de evitar valores superestimados de digestibilidade. Durante o intervalo de 96 h, Araújo et al. (2000) recuperaram em média 80% dos sacos nas fezes. Macheboeuf et al. (2003) observaram uma taxa de recuperação de 95% até 56 horas após a sondagem, enquanto que De Fombelle et al. (2004), recuperaram 79,8% dos sacos inseridos no estômago e coletados no ceco. Silva et al. (2009a) recuperaram 83,6%. A recuperação é fundamental para o sucesso da técnica, pois em condições de baixa recuperação dos sacos, as análises químicas dos resíduos tornam-se limitadas.

Araújo et al. (1996b) avaliando a digestibilidade de concentrados e volumosos para equinos, concluíram que a técnica dos sacos móveis foi um método rápido, de fácil utilização, e de baixo custo para a determinação da digestibilidade em equinos. Araújo et al. (2000) comparando a técnica dos sacos móveis com o método clássico de coleta total de fezes para determinar a digestibilidade do feno de *coastcross*, observaram não haver diferença no coeficiente de digestibilidade da MS quando o feno foi moído a 1mm comparado com a coleta total de fezes, com valores de 44,7 e 43,8%, respectivamente. O mesmo ocorreu para a energia bruta e hemiceluloses, entretanto, a digestibilidade da proteína observada através da coleta total foi inferior aos diferentes graus de moagem utilizados pelos autores. Concluíram que a moagem à 1mm provocou maiores perdas de partículas dos sacos de náilon após lavagem, afetando os valores de digestibilidade de alguns nutrientes. Posteriormente, Silva et al. (2009a) avaliaram através de técnica dos sacos móveis o feno de *coastcross* inserido via sonda nasogástrica.

A técnica dos sacos móveis permitiu aos pesquisadores avaliar a digestibilidade dos nutrientes de vários alimentos volumosos simultaneamente, sem a necessidade de animais fistulados e em menor tempo. Entretanto, a necessidade da compreensão dinâmica do processo digestivo promoveu o desenvolvimento, a modificação desta técnica em estudos com equinos.

Baker et al. (1969) fistularam equinos em diversos locais do trato digestivo; cólon ventral direito, cólon dorsal esquerdo e cólon menor, mas não conseguiram sucesso com a fistula no cólon menor, pois este segmento intestinal apresentou muita contração. Neste período, pouco se conhecia sobre a fisiologia digestiva dos equinos e, havia grande interesse na compreensão dos processos de digestão em cada segmento intestinal. Assim, Applegate & Hershberger (1969), foram os precursores da adaptação das técnicas de fermentação ruminal para equinos. A digestão no ceco do cavalo é similar à digestão que ocorre no rumem, entretanto, a microbiota ruminal digere alimento fresco,

enquanto que os microorganismos cecais digerem alimentos parcialmente digeridos (Applegate & Hershberger, 1969). A compreensão da diversidade fisiológica entre as espécies sobre o processo fermentativo já existia e, foi o fator a ser ajustado. Estes autores utilizaram um equino fistulado no ceco como doador de inóculo e avaliaram o valor nutricional de alimentos volumosos para equinos através de diversas técnicas.

Alguns anos depois, Hintz et al. (1971b) sacrificaram 12 equinos, a fim de avaliar a digestão dos nutrientes nos diferentes segmentos anatômicos. Neste estudo, houve um grande avanço na compreensão dos principais sítios de digestão e absorção, entretanto, devido ao sacrifício dos animais, a compreensão da dinâmica do processo digestivo permaneceu obscura.

Deram-se então os primeiros passos para o estudo da compartimentalização da digestão na espécie equina. Deste modo, preocupados em determinar a influência da fistula cecal sobre a digestibilidade dos nutrientes Pulse et al. (1973), avaliaram o tempo médio de retenção através de indicadores. Novamente, conceitos sobre cinética de passagem da digesta foram desenvolvidos, neste caso, com a utilização de 3 cavalos fistulados.

Segundo Pulse et al. (1973), a fístula cecal não alterou significativamente a digestibilidade da MS, EB e PB. Entretanto, observaram diferenças sobre a digestibilidade da FB e EE antes e depois da canulação dos animais, justificado pelo maior tempo de retenção da digesta observado com os indicadores cromo e polietileno nos animais fistulados. A associação das técnicas que utilizam os sacos e os cavalos fistulados proporcionaram a adaptação de outro procedimento: a utilização dos sacos na técnica *in situ*.

A segunda técnica de avaliação da digestão, também utilizando sacos com alimentos, é realizada *in situ*. Isto é, os sacos são incubados no local, no ceco ou no cólon dos equinos, ficando suspensas através de uma cânula, durante certo período de tempo, até completar o tempo de incubação (Hyslop, 2006).

Mertens (1993) descreveu a digestão dos ruminantes como um processo composto por várias etapas que podem ser compreendidas se forem divididas em mecanismos distintos. Portanto, respeitando-se a anatomia e a fisiologia, este conceito pode ser aplicado à espécie equina dividindo-se o processo de digestão em duas etapas: digestão proximal (estômago, duodeno, jejuno e íleo) e fermentação (ceco e cólon). Dessa forma, as descrições dos modelos matemáticos tornam-se mais fáceis de serem aplicados, pois respeitam biologicamente a fisiologia da digestão. A digestão é um processo dinâmico onde a dieta, a microbiota e o animal interagem simultaneamente e resultam na degradação do alimento. Assim, os modelos que compreendem este processo de uma forma dinâmica podem prever não somente a digestibilidade dos nutrientes e as suas interações, mas também, descobrir de que forma o processo digestivo é limitado.

No estudo da degradação dos alimentos através da técnica *in situ* são utilizados modelos matemáticos que simulam aspectos do sistema digestivo e permitem a compreensão da cinética de fermentação da digesta. O perfil de degradação pode ser ajustado para as perdas dos sacos, utilizando modelos de degradação já existentes (Ørskov & McDonald, 1979). A estimativa dos parâmetros da degradação cecal *in situ* podem ser procedidas segundo o modelo proposto por Ørskov & McDonald (1979), onde: $d = a + b(1 - e^{-ct})$; d é a degradação ocorrida no tempo 't'; a é a fração solúvel, e o intercepto da curva; b é a fração insolúvel potencialmente degradável; c é a taxa de degradação da fração 'b'; t = tempo da incubação.

O objetivo da utilização de modelos compartimentais é de subdividir o tempo total desprendido durante a digestão, em tempos específicos de cada segmento intestinal. E assim, caracterizar o tipo de digestão e o tempo para sua realização (Cuddeford, 2001). Neste caso, o modelo descrito por Ørskov & McDonald (1979) representou o perfil de degradação de um alimento fibroso. Para esse tipo de avaliação são necessários animais fistulados e, segundo Cuddeford (2001) foi à forma mais correta para se fracionar o processo digestivo e mensurar a taxa de degradação de cada compartimento.

O auxílio da modelagem matemática permitiu que a dinâmica da fermentação do alimento fosse quantificada dentro dos segmentos do trato digestivo do cavalo. Segundo Moore-Colyer et al. (2002), a maior vantagem no uso da técnica dos sacos móveis sobre a coleta total de fezes é seu grande potencial em fornecer informações sobre a taxa de degradação e a degradação ao longo do tempo.

Essas variáveis associadas determinam a quantidade de um nutriente que é digerida e absorvida dentro de cada segmento intestinal.

Ørskov (1984) observou que os resultados de degradação *in situ* podem prover informações importantes que afetam o consumo dos ruminantes. Assim, o consumo voluntário dos ruminantes não somente é afetado pela digestibilidade, mas também pela taxa de degradação (c) sofrida pelo alimento. Em muitos aspectos as descrições das informações utilizando a técnica *in situ* são mais instrutivas do que somente a descrição da digestibilidade obtida *in vivo*.

O valor do parâmetro c da fibra em detergente neutro pode-se tornar referencial para determinar a qualidade da fibra, pela identificação dos alimentos que são rapidamente digeridos na câmara fermentativa (Silva et al., 2010). Assim, o parâmetro c pode atuar de forma similar ao que ocorre na nutrição dos ruminantes, onde as maiores taxas de degradação ruminal da fibra influenciam o consumo, permitindo maior influxo de MS no trato digestivo (Ørskov, 2000). Entretanto, existem poucos estudos na espécie equina nesta área e, a utilização do parâmetro c dos modelos de degradação para predição de consumo de equinos pode não ser viável, uma vez que, a disposição anatômica do trato digestivo é diferente (Silva et al., 2010).

A organização do sistema digestivo dos equinos pode tornar a passagem da digesta um processo dependente do tempo, por onde a probabilidade de escape da partícula é aumentada com o tempo. Essa premissa é baseada pelos estudos preliminares em pôneis de Moore-Colyer & Longland (2000), que encontraram nos modelos dependentes do tempo mais sucesso para descrever o modelo de excreção fecal. A informação sobre a passagem da digesta dentro dos diferentes segmentos do trato digestivo pode permitir maiores esclarecimentos sobre a dinâmica de interação entre os alimentos, enzimas e microbiota intestinal, podendo também auxiliar na estimativa da degradação efetiva. Associar os tempos de incubação *in situ* com a cinética de passagem da digesta é fundamental, pois não existe necessidade do estudo de degradação da fibra até 96 horas, assim como é feito nos ruminantes, pois se estimou o tempo médio de retenção da fase sólida da digesta em 48 horas em média, segundo Silva (2007), de modo que não se justificaria fisiologicamente tempos prolongados de incubação. Adicionalmente, Silva et al. (2010) observaram que a assíntota da curva de degradação foi obtida com 48 horas na maioria dos alimentos volumosos incubados *in situ* no ceco dos equinos.

Segundo Applegate & Hershberger (1969) a digestão no ceco do cavalo é similar à digestão que ocorre no rumem e, é uma parte importante do processo digestivo total do equino. Entretanto, a eficiência do processo fermentativo difere dos ruminantes, pois a microbiota cecal recebe alimentos parcialmente digeridos, enquanto que os microorganismos do rumen digerem alimento fresco.

Com o objetivo de avaliar o efeito da dieta sobre a degradação de alimentos forrageiros incubados *in situ* Koller et al. (1978) utilizaram pôneis fistulados e, forneceram dietas exclusivas de feno ou mistas, compostas por feno e concentrado. A digestibilidade dos alimentos forrageiros foi superior quando as amostras incubadas *in situ* foram expostas aos microorganismos adaptados à dieta exclusiva de feno, do que quando expostos a microbiota adaptada a uma dieta mista. Os pesquisadores buscaram identificar os pontos críticos da técnica, pontuar as interações que ocorreram sobre as respostas observadas através da técnica *in situ*. Como por exemplo, Úden & Van Soest (1984) consideraram o efeito da ação digestiva ácida. Assim, os sacos que continham as amostras foram previamente tratados em solução ácida por quatro horas, antes da incubação *in situ*. Todavia, os autores não avaliaram se haveria mudanças nos parâmetros do modelo de degradação. Úden & Van Soest (1984) observaram valores dos parâmetros da fração potencialmente degradável (a) e da taxa de degradação desta fração de 36% e $0,03\%h^{-1}$, respectivamente. Caso houvessem realizado a incubação do material original e de um previamente digerido, a comparação entre as duas curvas de degradação, provavelmente indicaria valores de taxas de degradação inferiores ao alimento na sua forma original, quando comparado ao tratado com ácido.

A compreensão da cinética da degradação da fibra nos equinos passou a ser mais bem compreendida desde então. Úden & Van Soest (1984) descreveram conceitos importantes sobre a degradação efetiva, pois se a taxa de fermentação e a taxa de passagem pudessem ser quantificadas, ou de alguma forma, descritas matematicamente, essas informações poderiam ser combinadas. E então, poder-se-ia estimar a degradação da fibra de acordo com a taxa de passagem. Isto porque, o tempo médio de retenção da digesta *in vivo* não é equivalente ao tempo de incubação *in situ* ou *in vitro*. O

ambiente *in vivo* apresenta competição entre a passagem e a digestão dos nutrientes disponíveis, que resultará teoricamente em uma digestibilidade mais baixa, do que se fosse realizada a incubação, sendo esta de qualquer gênero, para o mesmo período de tempo. Hyslop et al. (1999) utilizaram o conceito de degradabilidade efetiva, e utilizaram como taxas de passagem (k) valores de 0,05 e 0,025%h⁻¹.

Sem o intuito de avaliar a cinética de digestão Miraglia et al. (1988) utilizaram pôneis fistulados para incubar amostras de alimentos volumosos. As amostras introduzidas nos sacos foram submetidas a uma pré-digestão com uma solução de pepsina durante 48 horas, assim como a segunda etapa de Tilley e Terry (1963) e, após a secagem os sacos, estes foram introduzidos no ceco, por um período de 24 horas. Foram somados os valores dos desaparecimentos dos nutrientes *in vitro* e *in situ* e, então, comparou-se a digestibilidade dos nutrientes dos alimentos forrageiros com o observado *in vivo*. Os autores consideraram o procedimento promissor para estimar a digestibilidade da MS e MO, entretanto, consideraram a necessidade de animais fistulados um inconveniente para a aplicação da técnica como rotina laboratorial.

Na técnica de digestão *in situ* utilizada para avaliar alimentos em ruminantes, o ambiente ruminal deve estar em condições ótimas permitindo que a degradação máxima do alimento seja observada (Ørskov, 2000). Tal condição é válida, também, para o ceco-colon dos equinos. Segundo Clarke et al. (1990), o intestino grosso dos equinos apresentou um ciclo de fermentação da digesta associada às refeições, de forma que, ao serem oferecidas muito espaçadas, a microbiota presente na câmara teve sua atividade fermentativa reduzida. Adicionalmente, Cuddeford (2001) descreveu que a rápida taxa de esvaziamento do ceco proporciona um ambiente microbiano pouco estável.

As variáveis intra-cecais como a disponibilidade de substrato (consumo), estágio de crescimento e atividade da microbiota, volume da digesta cecal; todos atuam como agentes ativos para a variação do *pool* digestivo nas quais as bolsas *in situ* são mantidas. As mudanças no volume cecal são importantes, pois influenciam não somente a população microbiana e as suas atividades, mas também a motilidade intestinal.

Hyslop et al. (1999) comentaram que muitos dos procedimentos da técnica poderiam ter influenciado nos resultados obtidos e, que ainda não haviam sido estudados. Por isso, recomendaram para equinos o uso de mais de uma sequência de incubação *in situ*, pois os resultados observados demonstraram que os perfis de degradação são sensíveis a sequência de incubação, devido provavelmente a variação da característica da digesta cecal. No entanto, os autores descreveram que, muito embora o feno utilizado tivesse sido oferecido *ad libitum*, o comportamento ingestivo dos animais não foi distribuído ao longo das 24 horas. E a maior atividade ingestiva ocorreu nas primeiras horas (1 a 2 h) após o fornecimento da dieta. Assim, o consumo irregular do feno pode ter contribuído para a variação da característica da digesta no ceco, alterando o perfil fermentativo. Este evento pode ter causado oscilações suficientes para alterar os parâmetros de degradação. É importante que nos estudos onde o objetivo seja a avaliação da degradação em condições fisiológicas normais da espécie equina, que a dieta seja fornecida *ad libitum* (Hyslop et al., 1999), ou pelo menos, fracionada em quatro refeições diárias iguais, distribuídas ao longo de 24 horas, proporcionando fluxo homogêneo da digesta e maior uniformidade do ambiente fermentativo Silva et al. (2010).

Dentre os diversos fatores que podem influenciar os resultados observados pela técnica *in situ*, ressaltadas por Hyslop et al. (1999), pode ser questionada a região anatômica de incubação. Isto porque, cirurgicamente existe possibilidade de fistular o cólon ventral, dorsal e o ceco (Baker et al., 1969; Lowe et al., 1970), entretanto, qual compartimento é mais representativo no processo de fermentação?

Kern et al. (1973) avaliaram o número de bactérias celulolíticas viáveis no ceco, sendo seis vezes superior, quando comparado com a quantidade de bactérias encontradas por grama de MS de fezes na região terminal do cólon. Entretanto, considerando as diferentes regiões anatômicas, o peso da digesta no ceco foi seis vezes menor do que a contida no cólon. Portanto, considerou-se que as duas regiões deveriam apresentar o mesmo número de bactérias por unidade de peso de digesta, assim, ambos os sítios de digestão apresentaram grande importância no processo de digestão da fibra nos equinos.

Drogoul et al. (1995), observaram que o cólon atua de forma significativa no processo de digestão da fibra na câmara fermentativa. Os autores testaram a praticidade da técnica e sua eficiência em avaliar a fermentação do cólon no aspecto fisiológico do processo fermentativo. Utilizaram pôneis fistulados no ceco e cólon e, assim, após um período de 24h de incubação no ceco, os sacos foram retirados e, foram re-introduzidos no cólon por mais 24h, assim sendo, concluíram que após 48 horas de incubação que a atividade fermentativa do cólon é idêntica ao do ceco e que novos estudos deverão ser realizados considerando a cinética de passagem da digesta.

Portanto, a escolha da região anatômica é importante no aspecto da facilidade de execução das incubações. O ceco por se tratar de um saco de fundo cego, a inserção das bolsas, bem como a sua retirada ficam mais práticas. Além disso, a integridade da mucosa intestinal corre menos risco, uma vez que, no ceco a remoção é facilitada pelos movimentos de contração do ceco, enquanto que no cólon, o fluxo da digesta pode tornar o procedimento de retirada mais traumática para a mucosa.

Huntington & Givens (1995) realizaram uma revisão muito extensa sobre o assunto, descrevendo os principais pontos críticos da aplicação da técnica. Os autores observaram, até aquele momento, que apenas um ensaio havia sido realizado com equinos. Por terem encontrado grande variação entre os resultados ao utilizarem a técnica Vanzant et al. (1998) decidiram padronizar os procedimentos para ruminantes. Segundo Hyslop et al. (1999) esperava-se que alguns aspectos dos procedimentos técnicos como: abertura de poro, a relação entre o tamanho da amostra e a área do tecido, os processamentos antes e após a incubação pudessem ser os mesmos para ruminantes e equinos. Um dos fatores ligados, especificamente à fisiologia dos equinos foi questionado pelos autores, o efeito da hora da alimentação sobre a sequência de incubação. Huntington & Givens (1995) concluíram que não houve efeito da sequência de incubação sobre a degradação dos nutrientes em ruminantes. Em equinos, o tipo de sequência (ordem normal ou reversa) influenciou nas observações, contudo, Hyslop et al. (1999) relataram que estas alterações foram mais importantes nos tempos iniciais de incubação, do que em toda a extensão da degradação.

Em ambas as técnicas, dos sacos móveis e *in situ*, os tecidos já utilizados em experimentações anteriores com ruminantes foram: o poliéster, o náilon e o dacron. São materiais resistentes ao processo de fermentação e não rompem sua estrutura com as contrações intestinais e ainda podem ser eficientemente selados à quente. O tecido apresenta uma abertura de poro, sendo que os mais utilizados, segundo Huntington & Givens (1995), em pesquisas executadas em várias espécies animais, variaram de 35 a 55 micras. A abertura do poro é uma característica importante no aspecto quantitativo da técnica, pois deve permitir apenas o influxo da microbiota, enzimas microbianas e soluções tamponantes e, também deve atuar impedindo a saída da amostra não degradada (Huntington & Givens, 1995). Ao impedir a entrada de material de origem dietética, previne que valores subestimados de degradação ou de digestibilidade sejam obtidos. A idéia é válida para o ambiente gerado no interior do saco, o qual deve se assemelhar ao máximo com o ambiente cecal. Dessa forma, o material degradado e os subprodutos da fermentação devem ser removidos, fato possibilitado pela abertura de poro.

Vanzant et al. (1998) avaliando características da técnica, observaram que a abertura de poro muito reduzida, entre 20 micras, pode reduzir o influxo dos protozoários presentes no rumem. Contudo, segundo Moore & Dehority (1993) ao estudarem a defaunação da câmara fermentativa dos equinos, observaram que nesta espécie, os protozoários não apresentam grande importância no processo de digestão da fibra. Neste aspecto, poderiam ser utilizados tecidos com aberturas no limite inferior ao padronizado.

Nozière & Michalet-Doreau (2000), sugeriram molhar a amostra antes da incubação, o que facilitaria o acesso dos microorganismos aos componentes do alimento. Além disso, manter sempre a relação de amostra e superfície, anteriormente descrita e, permitir livre movimentação da amostra por toda a área interna do saco, o que influenciaria no processo de fermentação, uma vez que após a hidratação da amostra, o saco pode tornar-se repleto impedindo o influxo de agentes digestores. Em equinos, as dimensões utilizadas para a confecção dos sacos para estudos *in situ*, segundo Koller et al. (1978), foram de 6,5 x 13cm e, atualmente Hyslop (2006), em revisão da literatura na espécie equina sugeriu dimensões dos sacos de 6,5 x 20cm.

O equino tem que ser naturalmente eficiente na mastigação, isto porque, não ocorre remastigação, assim como ocorre nos ruminantes e, nem mesmo auxílio dos microorganismos na quebra da fibra. A absorção dos nutrientes mais digestíveis da dieta dependerá unicamente da eficiência de redução de partícula e das reações de digestão e absorção ocorridas no intestino delgado (Frape, 2004). Para evitar maiores fluxos de material não digerido para fora do saco, deve-se levar em consideração os padrões de redução dos equinos, ocorrida durante a mastigação, para efetuar o procedimento mecânico de redução do tamanho de partícula da amostra (Hyslop et al., 1999). Dessa forma, respeita-se a fisiologia e torna aplicável o procedimento.

No entanto, a ocorrência da perda de partículas de alimento dos sacos durante o processo de incubação, dentro de qualquer segmento do trato digestivo ainda ocorrem. E não representam necessariamente a ocorrência da absorção dos nutrientes degradados ou, subseqüentemente, a sua utilização pela microbiota do ceco-cólon (Hyslop, 2006). O que é uma limitação da técnica, pois perdas sempre ocorrerão e deve-se buscar por alternativas a fim de superar esta dificuldade.

Uma alternativa para reduzir este erro foi descrita por Hyslop et al. (1999), para avaliar a degradação de uma ração peletizada com altos teores de fibra moeu-se a amostra a 1mm e, para prevenir a perda de partículas menores que 45 micras, peneirou-se em malha de 45 micras. Portanto, somente partículas maiores foram inseridas nas bolsas.

O maior efeito da redução de partícula foi observado nos tempos mais curtos de incubação (Nozière & Michalet-Doreau, 2000). Muito provavelmente, isto afetaria diretamente a taxa de degradação, pois o material se perderia, sem necessariamente, ser digerido ou absorvido e conseqüentemente, valores superestimados do parâmetro *C* seriam observados. Nos ruminantes existe o feito da inoculação das bactérias fibrolíticas no material fibroso, este evento mecânico tem ação sobre o tempo de colonização bacteriana no rumem, assim reduzindo o tempo de lag fase nos ruminantes. A inoculação mecânica não ocorre nos equinos, portanto, pode-se esperar um tempo de colonização bacteriana maior nesta espécie animal (Nozière & Michalet-Doreau, 2000). Variável que se perderia, ou ficaria seriamente prejudicada, caso houvesse interesse na determinação desse parâmetro.

Para isso, ao investigar o processo de fermentação em várias espécies com o uso de sacos de náilon Úden & Van Soest (1984), utilizaram moagem à 2mm. Segundo Frape (2004), os equinos geralmente reduzem o tamanho de partícula de feno e volumosos frescos a menos que 1,6mm de comprimento. Moore-Colyer et al. (2002) determinaram a degradação de espécies forrageiras em pôneis e, reduziram as partículas das amostras em peneira de 2mm, enquanto Macheboeuf et al. (2003) avaliando a técnica de sacos móveis em equinos fistulados no ceco, utilizaram moagem em peneira de 3mm, obtendo tamanho médio de partículas de 1,5mm.

Na identificação do tamanho de partícula presente, diretamente, na câmara fermentativa, Pimentel (2006) utilizou equinos fistulados no cólon ventral direito e, coletando a digesta, obteve tamanho médio de partícula de 0,64, 0,61, 0,55 e 0,51mm com dieta exclusiva de feno de *coastcross* inteiro, picado, moído a 5mm e moído a 3mm, respectivamente.

Atualmente, existe a possibilidade de avaliação do tamanho de partícula através do escaneamento da amostra a laser em um aparelho específico (HORIBA – LA950), desta forma, as distribuições das partículas podem ser obtidas, tanto na via úmida quanto seca. Este procedimento facilitaria a padronização das amostras antes da incubação. As observações respeitariam mais o biológico e, assim, os resultados podem ter mais aplicação.

A técnica *in situ* pode ser aplicável em equinos desde que se realize uma pré-digestão, que pode ser feita *in vitro*, pois este procedimento permite a remoção dos nutrientes solúveis, que naturalmente não teriam acesso à fermentação cecal. Pode existir um erro associado à incubação cecal do alimento na forma original sobre as estimativas dos parâmetros de degradação. Portanto, ao ser realizado a pré-digestão, os erros seriam evitados. Desta forma, o perfil de degradação da MS e da PB e FDN, por exemplo, poderiam representar de forma mais realística a digesta que chega na câmara fermentativa.

Stefansdottir et al. (1996) descreveram que a técnica é muito utilizada em ruminantes para se conhecer a degradação dos nutrientes no rumem e, existe pouca informação disponível sobre a degradação dos alimentos em equinos. Comentaram ainda que apesar dos alimentos serem

naturalmente digeridos antes de terem acesso à câmara fermentativa, o perfil de degradação pode ser um indicativo do valor nutricional dos alimentos, principalmente no que se refere a fração fibrosa. A dinâmica de interação no interior da câmara fermentativa é difícil de simular, assim, a técnica *in situ* nos permite estudar a digestão fermentativa (Vanzant et al., 1998). Contudo, devem ser desenvolvidos modelos matemáticos alternativos, específicos da fisiologia digestiva dos equinos ao invés da utilização dos modelos de ruminantes (Hyslop, 2006).

Estas técnicas permitiram comparar as características de degradação entre os alimentos volumosos e aumentou a compreensão do processo de digestão da câmara fermentativa. Os sistemas de avaliação das dietas se tornaram mais complexos, assim, os parâmetros de degradação podem ser utilizados para quantificar o quanto cada nutriente é disponibilizado e, assim, reconhecer se as dietas estão realmente balanceadas. Uma outra aplicação segundo Nozière & Michalet-Doreau (2000) foi a possibilidade de estimativa do consumo de matéria seca através da técnica.

1. 5. 3 Metodologias *in vitro*: Tilley e Terry, pré- digestão e produção de gases

A necessidade de um método mais barato, rápido, que utilizasse pouca amostra para estimar a digestibilidade de alimentos volumosos e que ainda representasse a fisiologia da digestão dos ruminantes, fizeram com que Tilley & Terry (1963) desenvolvessem um procedimento *in vitro*. Basearam-se em dois estágios de digestão, sendo que no primeiro momento os alimentos foram fermentados em meio anaeróbico por inóculo microbiano e, em seguida, por enzimas digestivas em meio ácido, similar em função às encontradas no trato digestivo dos ruminantes. A técnica exigiu animais fistulados para a remoção dos inóculos e, vêm sendo utilizada até o presente momento na nutrição de ruminantes, contudo, o procedimento ainda não havia sido avaliado para equinos. Inicialmente, a aplicação da técnica *in vitro* para equinos apresentou o propósito de avaliar o valor nutritivo de alimentos volumosos, segundo Applegate & Hershberger (1969). Além disso, neste mesmo estudo, os autores buscaram avaliar os efeitos do pH do meio de cultura utilizado para a fermentação *in vitro* e, avaliar se houve efeito da dieta fornecida ao animal doador sobre o potencial de fermentação do inóculo coletado.

A compreensão da diversidade fisiológica entre as espécies equina e ruminante, sobre o processo fermentativo, já existia e, foi o fator a ser ajustado. Observaram que não houve diferença da digestibilidade da celulose entre os pHs avaliados de 6,5 a 6,9, que por sua vez, seguiu o mesmo padrão de ajuste de inóculo descrito por Tilley & Terry (1963). Os baixos coeficientes de digestibilidade observados através da técnica de digestão *in vitro* por Applegate & Hershberger (1969), foram justificados, em parte, pela falta de nutrientes no meio de cultura. A alfafa utilizada como substrato apresentou maior taxa de fermentação, isto porque, supriu as necessidades de nutrientes das bactérias. Os resultados do estudo demonstraram que a técnica de fermentação ruminal poderia ser adaptada para o estudo *in vitro* da fermentação cecal (Applegate & Hershberger, 1969). E os valores estimados de digestibilidade poderiam ser utilizados para classificar a qualidade dos alimentos volumosos.

Muito ainda, havia de ser desenvolvido e segundo Tilley & Terry (1963), a dificuldade em prever os valores de digestibilidade *in vivo* a partir de estimativas *in vitro* reflete não somente os problemas associados aos erros analíticos, bem como o fato de que a digestibilidade *in vivo* não é uma característica constante da planta. Segundo Van Soest (1994) a técnica de Tilley & Terry, (1963) é satisfatória para a determinação da digestibilidade, mas não é útil na avaliação das taxas de degradação, isto por que, o desaparecimento do substrato se confunde com a produção celular.

A técnica de Tilley & Terry (1963) na sua forma original não apresentou aplicação na nutrição de equinos, isto foi descrito indiretamente por Applegate & Hershberger (1969) ao descreverem que a digestão no ceco do cavalo é similar à digestão que ocorre no rumem, entretanto, a microbiota ruminal digere alimento fresco, enquanto que os microorganismos cecais digerem alimentos parcialmente digeridos. Um confronto à aplicação da fermentação de Tilley & Terry (1963) para equinos, pois os processos de digestão estão invertidos e, segundo a metodologia descrita pelos autores, ocorrem por

um período de tempo superior ao tempo médio de retenção da digesta característico dos equinos. Koller et al. (1978) desenvolveram um estudo aplicando a técnica *in vitro* para observar a digestibilidade dos nutrientes e, neste caso, iniciaram se os conceitos de cinética da fermentação, pois foi associada a variável “tempo” sobre a digestibilidade da parede celular. Observaram que a taxa de degradação da parede celular da alfafa foi superior a do capim Timóteo, “*Orchagrass*” e da palha de trigo, fato justificado pela menor quantidade de FDA e maior percentual protéico observado na composição do feno de alfafa. Observaram que ao se aplicar à técnica *in vitro* aliada aos conceitos de cinética, foi possível qualificar o alimento volumoso.

Ao contrário do descrito por Tilley & Terry (1963), Úden & Van Soest (1984) preocuparam-se em realizar uma pré-digestão ácida *in vitro* com pepsina do substrato, que foi pré-digerido, a fim de simular as ações das enzimas estomacais, ocorridas previamente à fermentação. Logo em seguida, o resíduo da pré-digestão foi inoculado com digesta de equinos e coelhos. Consequentemente, os dados observados foram considerados mais confiáveis. Além disso, os autores buscaram comprovar a aplicação da técnica para equinos. Como descrito anteriormente, a evolução da compreensão da dinâmica do processo fermentativo nos cavalos, assim como nos ruminantes, está atrelada ao desenvolvimento de modelos matemáticos específicos para a espécie. Foram utilizados os mesmos que descreviam a fermentação ocorrida nos ruminantes e, dessa maneira, o modelo utilizado para descrever a degradação no ensaio de Úden & Van Soest (1984) foi o de Smith et al. (1972). Os parâmetros do modelo foram: parede celular potencialmente digestível (A); parede celular indigestível (B); taxa de fermentação (K, h^{-1}); e o tempo de reconhecimento de substrato (lag-fase).

Ainda quanto à aplicação da técnica de Tilley e Terry (1963), outros pesquisadores modificaram os procedimentos para melhor adequar aos objetivos do estudo. Como por exemplo, Miraglia et al. (1988) utilizaram apenas a segunda etapa da técnica de Tilley e Terry (1963) e, após a secagem das amostras, as mesmas foram incubadas no ceco, por um período de 24 horas. Foram somados os valores dos desaparecimentos dos nutrientes *in vitro* e *in situ* e, então, comparou-se a digestibilidade dos nutrientes dos alimentos forrageiros com o observado *in vivo*. Os autores consideraram o procedimento promissor para estimar a digestibilidade da MS e MO. E observaram que a necessidade de animais fistulados seria um inconveniente para a aplicação da técnica como rotina.

Em outro caso, a técnica *in vitro* de Tilley e Terry (1963) foi modificada a fim de avaliar o efeito associativo da inclusão de óleo sobre a digestibilidade de alimentos fibrosos. Foram utilizados dois pôneis fistulados no ceco como animais doadores de inóculos. Sendo que um animal recebeu 100g/dia de óleo em sua dieta. Bush et al. (2001) concluíram que a inclusão 100g/d de óleo na dieta do animal doador de inóculo não apresentou influencia sobre o desaparecimento da MS e MO ou da fibra no substrato incubado *in vitro*.

Murray et al. (2005) preocuparam-se com a característica da digesta que chegava na câmara fermentativa e dos seus efeitos sobre os parâmetros de fermentação, de forma que, os autores simularam a digestão proximal.

Devido à ausência de uma técnica de digestão que se assemelhasse aos processos digestivos enzimáticos e fermentativos de forma sequencial, Abdouli & Ben Attia (2007) realizaram um ensaio objetivando padronizar uma técnica de digestão enzimática para equinos, seguida de um estudo de fermentação com produção de gases, utilizando fezes de equinos como fonte de inóculo. Os autores sugeriram, segundo os resultados observados no tratamento controle (sem pré-digestão), que os ensaios *in vitro* de produção de gases, já realizados anteriormente com equinos e, que utilizaram alimentos na sua forma original (sem pré-digestão), tenham tido os valores do potencial de fermentação não adequados. Isto por que, quando realizada a pré-digestão com pepsina (2h) e alfaamilase (4h) o perfil de degradação dos alimentos avaliados foram diferentes do controle, fato explicado pela remoção dos nutrientes solúveis através da pré-digestão. Abdouli & Ben Attia (2007) concluíram que a rotina *in vitro* em dois estágios pode ser executada utilizando fezes como inóculo, todavia, devido ao pequeno número disponível de digestibilidade *in vivo* dos alimentos, faz se necessária à aplicação da técnica em diversos alimentos de digestibilidade já conhecida.

Fisiologicamente, seria conveniente e, de maior aplicação na nutrição dos equinos um procedimento *in vitro* em dois estágios. Uma pré-digestão ácida e básica, seguida por fermentação. A

fonte de inóculo poderia ser as fezes, evitando a necessidade de animais fistulados. Os tempos destinados a cada processo digestivo teriam que ser representativos ao tempo médio de retenção da digesta em cada um dos compartimentos anatômicos. Dessa forma, os valores de digestibilidade intermediários, bem como os parâmetros dos modelos de produção de gases, poderiam ser aplicados na estimativa dos valores de digestibilidade dos nutrientes *in vivo*.

São necessários mais estudos para se padronizar os tempos destinados a cada processo digestivo, desenvolver protocolos experimentais menos laboriosos e aumentar o banco de dados dos alimentos destinados ao consumo dos cavalos. Com uma técnica desenvolvida, seria possível que empresas de produção de ração implementassem como rotina a digestibilidade *in vitro* de seus produtos, inserindo nos rótulos, mais informações para os proprietários. Adicionalmente, segurança e economia seriam implementadas, uma vez que essas informações seriam utilizadas por nutricionistas animais em um programa nutricional.

Segundo Theodorou et al. (1994) a técnica de fermentação de Tilley e Terry (1963) não fornece informações quanto à cinética de digestão da forrageira, assim como outras técnicas de digestão enzimática. E por isso, estes autores desenvolveram um método de produção cumulativa de gases para ruminantes, onde seria possível qualificar o alimento e, também conhecer o perfil de degradação dos nutrientes através a curva de produção de gases gerada. Adotaram o modelo descrito por France et al. (1993) para descrever o perfil de fermentação dos alimentos.

O objetivo da utilização de modelos compartimentais é subdividir o tempo total despendido durante a digestão, em tempos específicos de cada segmento intestinal. E assim, caracterizar o tipo de digestão e o tempo para sua realização (Cuddeford, 2001). Contudo, os equinos apresentam os processos de digestão em uma seqüência distinta, quando se compara aos ruminantes, que sustenta a necessidade de uma técnica específica ao se estudar a cinética de digestão nesta espécie.

Existem diversos modelos matemáticos que descrevem o perfil biológico da fermentação dos nutrientes, como por exemplo o modelo bicompartimental de France et al. (1993): $a \cdot (1 - (\exp(-b \cdot (\text{tempo} - d)) - c \cdot (\text{raiz}(\text{tempo}) - \text{raiz}(d))))$, onde a = produção de gás potencial; b e c = constantes matemáticas sem valor biológico; d = tempo de colonização. Ou também o modelo proposto por Schofield et al. (1994), conforme equação: $V = V_0 + VF (1 - \exp[-kd(t - \lambda)])$, onde V é o volume de gás no tempo " t "; V_0 é o volume inicial; VF é o volume final; Kd é a taxa de degradação do substrato e λ corresponde ao período de latência (lag-fase).

Uma das questões a se discutir sobre qual modelo aplicar nas informações obtidas nos ensaios com equinos seria, quando o fluxo da digesta é tempo dependente ou independente. De forma rápida, a situação mais simples seria de tempo não-dependente, pois consideraria que: existe mistura completa e homogênea das partículas que entram no compartimento com aquelas pré-existentes; ocorrem chances iguais de saída de todas as partículas do interior do compartimento para fora e, fluxo de entrada e saída constantes.

Os modelos tempo dependentes poderiam ser mais apropriados para caracterizar os eventos biológicos do estômago, ceco, cólon ventral e dorsal do trato digestivo dos equinos, sendo que a probabilidade de passagem das partículas seria maior quanto maior fosse o tempo de permanência no referido local (Cuddeford, 2001). Entretanto, segundo Cuddeford (2001), a maior fragilidade da técnica está na capacidade de quantificar com precisão a taxa de passagem em cada compartimento e, então, estimar a degradação apropriadamente. Sendo que a taxa está diretamente influenciada pela natureza do alimento e nível de consumo da dieta.

Maurício et al. (1999a) avançaram na técnica cumulativa de produção de gases, pois aumentaram a capacidade de leitura de amostras e ainda tornaram o procedimento mais barato. A técnica *in vitro* semi-automatizada de produção de gases (Maurício et al., 1999a) foi desenvolvida para ruminantes, contudo, existe interesse de sua padronização na nutrição equina. A técnica de produção cumulativa de gases avalia o perfil da degradação em função do volume de gás produzido durante a incubação. Medindo-se a pressão por meio de sensores conectados aos frascos e monitorando-se as leituras ao longo do tempo. A técnica de produção de gases é uma forma de determinação da digestibilidade através do metabolismo do carboidrato. Pois a relação entre a produção de gases e o desaparecimento de carboidrato foi linear. Assim, a relação entre o desaparecimento de FDN incubada e a produção de gases, isto é, variáveis independentes e dependentes, respectivamente, indicaram que a

técnica pode ser utilizada para a estimativa da taxa de degradação do substrato, como sugerido por Pell & Schofield (1993).

A significância biológica dos valores de predição de gases obtidos fica confirmada pela alta correlação linear encontrada entre o gás produzido pela fermentação de diferentes amostras de forragens e o correspondente desaparecimento de matéria seca, dentro de cada período de fermentação (Cabral et al., 2000). Todavia, a produção líquida de gás é correlacionada com o montante da digestão, não fornecendo um valor direto e sim, um indicador da atividade metabólica (Van Soest, 1994).

Segundo Willians (2000) a técnica de produção de gases avalia somente a fermentação, ao invés da digestibilidade de todo trato digestivo. Neste aspecto, a introdução de uma etapa de digestão do substrato, previamente à fermentação, poderia auxiliar na observação dos parâmetros de produção de gases e, assim, gerar informações mais precisas para estimar a digestibilidade em equinos.

Nesta técnica uma questão importante a ser definida é o tipo de inóculo utilizado para incubar o material. As fezes dos equinos são fontes disponíveis de inóculo para estudos de produção de gases (Lowman et al., 1999). Os microrganismos fecais desempenham funções semelhantes àqueles encontrados no rúmen, apresentam capacidade de degradar alimentos, podem permanecer várias horas em anaerobiose após a defecação, são de baixo custo, não necessitam de animais fistulados, além de poderem ser coletadas de um único e/ou vários animais, minimizando assim, a variação individual (Lowman et al., 1999; Silva et al., 2003). Muito embora, o efeito da dieta do animal doador ainda apresente impacto sobre a atividade bacteriana nas fezes, principalmente dos ruminantes (Rymer et al., 2005). Entretanto, um fator potencialmente favorável à utilização das fezes dos equinos como fonte de inóculo, é que não existe ação digestiva ácida sobre a microbiota, assim como ocorre nos ruminantes. Esta característica permite aos equinos maiores quantidades de bactérias viáveis nas fezes. Fato que pode favorecer a espécie para a utilização das fezes em ensaios de produção de gases (Lowman et al., 1996, 1999; Silva et al., 2003; Murray et al., 2005, 2006; Abdouli & Ben Attia 2007; Can et al., 2009).

Existe na literatura um padrão descrito para ruminantes para verificar se existe concentração de bactérias suficientes no inóculo, para que não ocorram alterações no perfil de fermentação devido à reduzida atividade bacteriana. Recomendou-se um mínimo de 94mg de MS de bactérias/ml, que corresponde a uma absorvância de 0,11 em comprimento de onda de 600nm para uma diluição da amostra de 50x (Rymer et al., 2005). Entretanto, não existe na literatura este padrão para inóculos provenientes de fluidos do ceco, cólon ou fezes de equinos. O desenvolvimento desse procedimento poderia viabilizar ou, pelo menos, tornar mais padronizada a utilização das fezes de equinos como inóculo. Estudos preliminares quanto à caracterização e quantificação da microbiota presente na câmara fermentativa poderiam guiar os futuros ensaios para a determinação da atividade fermentativa mínima das fezes. Roderick & Clive (1988), observaram os valores do pH no ceco e cólon de 6,7 e 6,67, respectivamente, em animais mantidos soltos em pastagem sem suplementação. Além disso, o total de bactérias viáveis contabilizadas no ceco foi de 25×10^8 /g (Roderick & Clive 1988).

Segundo Maurício et al. (1999b), que avaliaram a aplicação das fezes de ruminantes, um fato importante a ser descrito sobre o perfil de fermentação das fezes, é que dependendo do objetivo do ensaio, utilizar as fezes como inóculo pode ser uma escolha errada. Caso o alimento a ser avaliado seja destinado a animais de baixa produção, com elevado tempo de retenção no rumem, as fezes não apresentarão grandes diferenças, entretanto, se o objetivo for avaliar um alimento melhorado geneticamente, destinado a animais de alta produção, utilizar as fezes pode não gerar informações biologicamente corretas. Transferindo o raciocínio para equinos, caso a intenção fosse avaliar um concentrado submetido a diferentes formas de processamento, e que se espera a existência do efeito de processamento sobre a produção de gases, mas caso o inóculo utilizado fossem as fezes, os parâmetros iniciais de fermentação poderão não condizer com a realidade. Isto é, poderão ser subestimados, no caso da taxa de fermentação e, superestimados para o tempo de lag-fase, dentre outras dificuldades.

Inúmeras pesquisas foram desenvolvidas com ruminantes para avaliar o efeito da dieta sobre a produção de gases, diferentes níveis de FDN e amido foram avaliados. De maneira geral, todas essas informações observadas se concentram no fato de que é necessário um mínimo de bactérias para realizar a técnica cumulativa de produção de gases (TCPG). Uma vez atendida a concentração microbiana, a composição da dieta do doador apresentou pouco efeito sobre TCPG (Rymer et al.,

2005). Kern et al. (1973) não observaram diferenças nas características morfológicas e fisiológicas em função da dieta nas bactérias isoladas do conteúdo cecal dos equinos.

Lowman et al. (1996), observaram que as fezes dos pôneis são fontes alternativas aceitáveis de inóculo, quando comparado a digesta cecal na estimativa da degradação de alimentos em equinos, dispensando a necessidade de animais fistulados. Kirkhope et al. (1996) ajustaram os modelos derivados de estudos com ruminantes com informações geradas pela produção de gases, a fim de prever dados de digestibilidade para a espécie equina, que resultaram em subestimativas das digestibilidade *in vivo* de todos os alimentos. O estudo sugeriu possibilidade de estimar a digestibilidade *in vivo* a partir de dados gerados pela produção de gases, entretanto, serão necessários modelos específicos para equinos, diferentes dos quais são aplicados em ruminantes.

Existe interesse também por parte dos pesquisadores em avaliar a viabilidade do congelamento de inóculos do ceco e cólon, isto permitiria que ensaios de produção de gases fossem realizados em outros laboratórios, utilizando o inóculo mais próximo da realidade.

A técnica de produção de gases permite avaliar o potencial de fermentação de dietas compostas, como por exemplo, Godoi et al. (2005) utilizando a técnica descrita por Pell & Schofield (1993) e Schofield et al. (1994), avaliaram a produção de gases de dietas compostas por feno de Tifton-85 com diferentes níveis de inclusão de feno de alfafa, com amostras da digesta coletadas de animais fistulados no cólon. Concluíram que a inclusão de alfafa na dieta provocou efeitos associativos positivos no processo digestivo *in vitro*, pois observaram aumentos na produção de gases quando a alfafa estava presente. Concluiu-se também, que a dieta composta exclusivamente por feno de Tifton-85 apresentou menor produção cumulativa de gases (Godoi et al., 2005).

Outros autores como Murray et al. (2005) utilizaram a técnica de produção de gases, segundo metodologia descrita por Theodorou et al. (1994), e observaram maior produção de gases quando a alfafa foi tratada com enzimas fibrolíticas, antes do consumo. Identificaram a ação digestiva das enzimas através do aumento da produção de gases.

A técnica, também, pode ser utilizada para a caracterização da cinética da produção de gases específica de um substrato. Como por exemplo, ao utilizar variedades de sorgo com diferentes estágios de maturidade Nogueira et al. (2005), observaram a influência da composição de carboidratos de rápida fermentação sobre a produção de gases final em ruminantes. Com efeito mais pronunciado nas idades mais tardias, isto porque, houve maior conteúdo de carboidratos nas amostras. Hoffman et al. (2001), descreveram o fracionamento dos carboidratos para a espécie equina em solúveis, rapidamente fermentáveis e lentamente fermentáveis, como sendo a descrição mais correta para a fisiologia digestiva equina. Isto porque, a classificação das fibras sugerida por Van Soest et al. (1963) não é satisfatória para os cavalos, uma vez que esta descrição não corresponde a fração potencialmente fermentável para a espécie.

O fato da utilização de resíduos de FDN para simular o material digerido que alcança a câmara fermentativa não é adequado, isto por que: pode apresentar resíduos de detergente que irão retardar a colonização do substrato, além do que, parte da pectina é perdida na lavagem. A primeira implicação pode tornar o parâmetro da taxa de fermentação sem valor biológico, uma vez que o tempo de retenção da digesta no ceco-cólon é menor, portanto, o atraso no tempo de colonização acarretará em valores subestimados da extensão da degradação e na degradação efetiva da fibra e, muito provavelmente, o modelo não se ajustaria aos dados, pois não atingiria a assíntota da curva. O outro fator seria que a fração CHO-RF (rapidamente fermentáveis) composta por pectinas e hemiceluloses (Hoffman et al., 2001) seria a primeira a ser colonizada e utilizada na fermentação, mas ao ser lavada com detergente, a maior parte dessa fração seria perdida, não se justificando o procedimento do uso de resíduos de FDN, no estudo de fermentação na espécie equina.

Silva et al. (2009b) na tentativa de utilizar substratos que mais se aproximassem das características da digesta ileal que alcança o ceco dos equinos, utilizaram o FDN do feno de *coastcross* como substrato para a fermentação. Contudo, não houve adesão do perfil de produção de gases do substrato de FDN do feno de *coastcross* ao modelo de France et al. (1993). Foram observadas estimativas de produção final de gases incompatíveis com o mensurado e, o tempo de colonização foi extenso. Os dados observados foram justificados pela presença de resíduos de detergente neutro no substrato, que inibiu a colonização microbiana. Além disso, o resíduo de FDN apresentou,

naturalmente, poucos carboidratos solúveis, conseqüentemente, menor energia foi disponibilizada para as bactérias fibrolíticas iniciarem o processo de fermentação.

A associação dos efeitos da maior proporção de parede celular e da presença de resíduos de detergente na amostra podem ter sido a causa da necessidade do maior tempo de colonização, e, início tardio da produção de gases, demonstrando a dificuldade dos microorganismos em colonizar e degradar esse tipo de substrato (Nogueira et al., 2005).

Outra aplicação da técnica de produção cumulativa de gases (TPCG) seria o estudo cinético do fracionamento dos carboidratos dos alimentos volumosos, como sugerido por Schofield & Pell (1995). Os autores utilizaram a metodologia de produção de gases para determinar a contribuição da fração de carboidratos solúveis sobre a produção total de gases. O procedimento baseou-se na incubação do material na sua forma original e de seu resíduo após lavagem em detergente neutro. Assim, com as duas curvas de produção de gases, foi possível realizar diferença entre elas e, o valor final foi considerado como o perfil de degradação devido à fração solúvel. Esta fração compreendeu a parte da planta removida pela lavagem em detergente neutro, que conteve em sua composição amido, açúcares, substância pécicas, proteínas, substâncias fenólicas solúveis, matéria mineral e lipídeos.

Segundo Nogueira et al. (2005), a cinética de digestão da fração solúvel das forrageiras ainda é pouco conhecida, isto porque, os estudos de cinética *in vitro* e *in situ* acompanham o desaparecimento dos componentes insolúveis da parede celular e as técnicas gravimétricas empregadas por estes sistemas, não quantificam o material solúvel.

Dentro da nutrição equina a compreensão da fração solúvel se faz necessária para a digestão proximal. Em se tratando do processo fermentativo, a relevância desta fração na técnica de produção de gases aplicada aos equinos é menor. Mas a identificação e a quantificação desta fração podem ser importantes nos casos em que os alimentos apresentem algum risco de sobrecarga de carboidratos aos equinos, isto porque, o influxo de carboidratos para a câmara fermentativa, devido ao consumo acima da capacidade de digestão proximal, leva ao aumento da taxa de fermentação, causando redução de pH, morte bacteriana, cólicas e laminites. O risco potencial do alimento poderia ser identificado através da TPCG aliado à técnica de subtração de curvas. Entretanto, o processo de pré-digestão não seria efetuado através da lavagem por FDN, mas por algum outro processo mais representativo a fisiologia dos equinos. O que justificaria a utilização de uma etapa de pré-digestão antes do emprego TPCG quando aplicada em equinos, uma vez que os componentes solúveis são absorvidos em sua maioria no intestino proximal. Neste ponto, fica claro que a combinação de técnicas de pré-digestão e TPCG podem apresentar aplicabilidade no estudo dos alimentos volumosos utilizados no sistema de produção de equinos, conferindo mais segurança.

Segundo Murray et al. (2005), existe grande interesse em alimentar os equinos com alimentos fibrosos com conteúdo energético elevado, em substituição aos grãos. Dietas densas energeticamente e que contenham fibra em níveis seguros, necessitam de estratégias de alimentação, a fim de suprir as exigências dos cavalos atletas e, que ainda mantenham a saúde e a integridade do trato digestivo (Murray et al., 2006).

A aplicação das enzimas exógenas nas forragens podem auxiliar na liberação dos amidos, açúcares, proteínas vitaminas e minerais para a digestão e absorção no intestino proximal, tornando os nutrientes mais disponíveis ao expô-los da matrix da parede celular (Murray et al., 2005). Outra estratégia seria aumentar os níveis de inclusão de polpa de beterraba nas dietas destinadas aos equinos (Murray et al., 2006). Em ambos os ensaios realizados com equinos, a eficiência da utilização de enzimas, bem como, os efeitos da adição de pectina na dieta foram mensurados através da TPCG. Um dos objetivos dos autores foi também simular a digestão proximal, e para permitir estimativas mais realísticas dos parâmetros de fermentação, os autores utilizaram a lavagem com etanol para a remoção dos nutrientes solúveis. Murray et al. (2005), observaram interação entre as dosagens de enzima fibrolítica sobre o total de carboidratos não amiláceos fermentados. Isto é, a enzima facilitou o processo de digestão proximal dos carboidratos não estruturais, assim, menor resíduo desta fração foi disponibilizado para o processo de fermentação *in vitro*. O procedimento de lavagem com etanol foi representativo aos valores observados *in vivo*, uma vez que, os carboidratos não amiláceos de cadeia curta não seriam digeridos no intestino delgado do equino, mas seriam predominantemente

fermentados no intestino grosso (Argenzio, 1975). Murray et al. (2005) consideraram a técnica como uma ferramenta útil na determinação do perfil de fermentação dos alimentos.

Silva et al. (2009b) desenvolveram um estudo preliminar com o objetivo de avaliar a utilização de inóculos do ceco e do cólon dorsal direito de equinos utilizando a TCPG. O perfil de produção de gases observado ao se utilizar inóculo proveniente do ceco comparado ao do cólon, demonstrou que as curvas não são iguais nem mesmo paralelas, indicando uma possível diferença na eficiência de fermentação, dependendo da origem das bactérias fibrolíticas presentes no trato digestório dos equinos.

Embora exista correlação entre a produção de gases *in vitro* com o desaparecimento da MS e, que futuramente através de procedimentos adequados possa se estimar com maior precisão a digestibilidade *in vivo* dos nutrientes, toda esta tecnologia não leva em consideração elementos importantes do comportamento animal, incluindo o apetite, a preferência e o fator do sabor. Por isso, antes de se avaliar o alimento volumoso através de ensaios *in vitro*, e qualificá-lo, este deve ser avaliado quanto ao consumo voluntário.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDOULI, H.; BEN ATTIA, S. Evaluation of two-stage *in vitro* technique for estimating digestibility of equine feeds using horse faeces as the source of microbial inoculum. *Animal Feed Science and Technology*, v. 132, p. 155-162, 2007.

AIKEN, G. E.; POTTER, G. D.; CONRAD, B. E.; EVANS, J. E. Voluntary intake and digestion of coastal Bermuda grass hay by yearling and mature horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 9, n.5, p.262-264, 1989.

ALMEIDA F. Q.; SILVA, V.P. Progresso científico em equideocultura na 1ª década do século XXI. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 39, p.119-129, 2010 (Supl. especial).

ALMEIDA, M. I. V.; FERREIRA, W. M.; ALMEIDA, F. Q.; SAINT JUST, C. A.; GONÇALVES, L. C.; REZENDE, A. S. C. Valor nutritivo do capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum), do feno de alfafa (*Medicago sativa*, L.) e do feno de capim coast-cross (*Cynodon dactylon*, L.) para equinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 28, n. 4, p. 743-752, 1999.

ALMEIDA, M.I.V. *Predição da energia digestível de dietas para equinos a partir de seu conteúdo fibroso*. 110f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1994.

APPLEGATE, C. S.; HERSHBERGER, T. V. Evaluation of *in vitro* and *in vivo* cecal fermentation techniques for estimating the nutritive value of forages for equine. *Journal of Animal Science*, v. 28, p. 18-22, 1969.

ARAÚJO, K. V.; LIMA, J. A. F.; FIALHO, E. T.; TEIXEIRA, J. C. Comparação da técnica do saco de náilon móvel com o método de coleta total para determinar a digestibilidade dos nutrientes de alimentos volumosos em equinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 29, n. 3, p. 752-761, 2000.

ARAÚJO, K. V.; LIMA, J. A. F.; TEIXEIRA, J. C.; FIALHO, E. T.; OLIVEIRA A. I. G.; QUEIROZ, A. C. Determinação da digestibilidade aparente dos nutrientes de alguns concentrados e volumosos para equinos, pela técnica do saco de náilon móvel. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 25, n. 5, p. 945-956, 1996a.

ARAÚJO, K. V.; LIMA, J. A. F.; TEIXEIRA, J. C.; FIALHO, E. T.; OLIVEIRA A. I. G.; QUEIROZ, A. C. Uso da técnica do saco de náilon móvel na determinação da digestibilidade aparente dos nutrientes em equinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 25, n. 5, p. 957-963, 1996b.

ARGENZIO, R. A. Functions of the equine large intestine and their interrelationship in disease. *Cornell Vet.* v. 65, n. 3, p. 303-330, 1975.

ARGENZIO, R.A. Funções gerais do trato gastrointestinal e seu controle e integração. In; _____. *Fisiologia dos animais domésticos*. Dukes, 1996.

BAKER, J. P.; SUTTON, H. H.; CRAWFORD, JR.;MERCHEM, N.R.; FAHEY, G.C. Multiple fistulation of the equine large intestine. *Journal of Animal Science*, v. 29, p. 916-920, 1969.

BUSH, J. A.; FREEMAN, D. E.; KLINE, K. H.; et al. Dietary fat supplementation effects on in vitro nutrient disappearance and in vivo nutrient intake and total tract digestibility by horses. *Journal of Animal Science*, v.79, p. 232-239, 2001.

CABRAL, L.S.; VALADARES FILHO, S.C.; MALAFAIA, P.A.M.; LANA, R. P.; SILVA, J. F. C.; VIEIRA, R. A. M.; PEREIRA, E. S. Frações de carboidratos de alimentos volumosos e suas taxas de degradação estimadas pela técnica de produção de gases. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 29, n 6 p. 2087-2098, 2000.

CAN, A.; HUMMEL, J.; MOBASHAR, M.; BOESER, U.; SÜDENKUM, K. H. Comparison of sheep ruminal fluid with sheep and horse faeces as inoculum for *in vitro* gas production measurements. *Journal Applied of Animal Research*. v. 35, n. 2, p. 143-148, 2009.

LIMA, R. A. S.; SHIROTA R.; BARROS, G. S. C. Estudo do complexo do agronegócio cavalo. 1 Ed. Piracicaba: ESALQ/USP, 2006, 250p.

CLARKE, L. L.; ROBERTS, M. C.; ARGENZIO, R. A. Feeding and digestive problems in horses: physiologic responses to a concentrated meal. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, v. 6, n. 2, 1990.

CUDDEFORD, D. *Partitioning digestion in horses and ponies In: Advances in Equine Nutrition II*. J. D. Pagan, R. J. Geor. Ed. Nottingham, UK: Nottingham University Press. 2001, p. 63-72.

CUNHA, T. J. *Horse feeding and nutrition*. 2 ed, Academic Press, 1980, 445p.

CYMBALUCK, N. F.; CHRISTENSEN, D. A. Nutrient utilization of pelleted and unpelleted forages by ponies. *Canadian Journal of Animal Science*. v. 66, p. 237-244, 1986.

DE FOMBELLE, A.; VEIGA, L.; DROGOUL, C.; JULLIAND, V. Effect of diet composition and feeding pattern on the prececal digestibility of starches from diverse botanical origins measured with the mobile nylon bag technique in horses. *Journal of Animal Science*. v. 82, p.3625–3634, 2004.

DITTRICH, J.R. CARVALHO, P.C.F. Comportamento ingestivo de equinos em pastagens- Revisão. In: I SIMPÓSIO MINEIRO DE EQUIDECULTURA, 2007, VIÇOSA. *Anais...* Viçosa: UFV, 2007. p. 163- 178.

DITTRICH, J.R. CARVALHO, P.C.F.; MORAES, A.; LUSTOSA, S.B.C.; SILVEIRA, E. O.; OLIVEIRA, E.B. Preferência de equinos em pastejo: efeito da altura de dosséis de gramíneas do gênero *Cynodon*. *Archives of Veterinary Science*. v. 10, n. 2, p. 61-67, 2005.

DOMINGUES, J L. Uso de volumosos conservados na alimentação de equinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 38, p. 259-269, 2009 (suplemento especial).

DROGOUL, C.; FAURIE, F.; TISSERAND, J.L. Estimation of the contribution of the pony's colon in fiber digestion: a methodological approach. *Annales de Zootechnie*, v. 44, p. 182, 1995. (Supl.)

FAVORETTO, V. Pastagens para eqüídeos. In: SIMPÓSIO SOBRE EQUIDECULTURA, 1979, Campinas. *Anais...Campinas: ESALQ*, 1979, p. 103-121.

FERREIRA, S. C.; GONÇALVES, L.C.; REZENDE, A.S.C.; FERREIRA, W. M.; MAURÍCIO, R. M. Avaliação do consumo e da digestibilidade do capim elefante (*Pennisetum purpureum*) picado e do feno de guandu (*Cajanus cajan*) desintegrado em equinos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.47, n.2, p. 239-248, 1995.

FRANCE, J.; DHANOA, M. S.; THEODOROU, M. K.; LISTER, S. J.; DAVIES, D. R.; ISAC, D. A model to interpret gas accumulation profiles with *in vitro* degradation of ruminant feeds. *Journal Theoretical Biology*, v.163, p.99-111, 1993.

FRAPE, D. *Equine nutrition and feeding*. 3.ed. Victoria: Blackwell Publ., 2004. 650p.

FURTADO, C. E.; CABRERA, L., FONSECA, N. A. N. PINHEIRO, J. W.; ARAGÃO, D.A.; BELINELLI, E.; OLIVEIRA, C.A.A. Avaliação da digestibilidade aparente de fenos de gramíneas e de leguminosa para equinos. *Acta Scientiarum*, v. 21, n. 3, p.651-655, 1999.

GARNER, F. H. The palatability of herbage plants. *Journal of British of Grassland Society*. v. 18, p. 79-89, 1963.

GODOI, F. N.; ALMEIDA, F. Q.; CLIPES, R. C. VIEIRA, R.A.M.; SILVA, V.P. Kinetics of accumulative gas production from horse colon digesta. *Pferdeheilkunde*, v. 21, p. 55-56, 2005.

GONÇALVES, L. C.; BORGES, I. *Tópicos de forragicultura tropical*. Belo Horizonte: FEPMVZ-Editora, 2006, 117p.

HINTZ, H. F.; CYMBALUK, N. F. Nutrition of Horse. *Annual Review Nutrition*, v. 14, p. 243-267, 1994.

HINTZ, H. F.; HOGUE, D. E.; WALKER, E. F.; LOWE, J. E.; SCHRYVER, H. F. Apparent digestion in various segments of the digestive tract of ponies fed diets with varying roughage-grain ratios. *Journal Animal Science*. v. 32, p. 245-248, 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.

HUNTINGTON, J. A.; GIVENS, D. L. The *in situ* technique for studying the rumen degradation of feeds: a review of the procedure. *Nutrition Abstracts and Reviews (Series B)*, v. 65, n. 2, p. 63-93, 1995.

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

HYSLOP, J.J.; STEFANSDOTTIR, G.J.; McLEAN, B.M.L. LONGLAND, A. C.; CUDDEFORD, D. *In situ* incubation sequence and its effect on degradation of food components when measured in the caecum of ponies. *Animal Science*, v.69, p.147-156, 1999.

JACKSON, S. G. *The digestive tract of the horse - practical considerations*. In: ADVANCES ON EQUINE NUTRITION I. Versailles: Kentucky Equine Research, 2001.

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, n. 3 p. 559- 564, 1973.

KIRKHOPE, R.T.S.; LOWMAN, R.S. Use of an *in vitro* gas production technique with faeces as inoculant to assess tropical forage quality for equids. *Animal Science*. v. 62, p. 690, 1996.

KOLLER, B. L.; HINTZ, H. F.; ROBERTSON, J. B. VAN SOEST, P. J. Comparative cell wall and dry matter digestion in the caecum of the pony and the rumen of the cow using *in vitro* and nylon bag techniques. *Journal of Animal Science*, v. 47, n. 1, p. 209-215, 1978.

LaCASHA, P. A.; BRADY, H. A.; ALLEN, V. G.; RICHARDSON, C. R.; POND, K. R. Voluntary intake, digestibility and subsequent selection of matua bromegrass, coastal bermudagrass, and alfafa hays by yearling horses. *Journal Animal Science*, v. 77, p. 2766-2773, 1999.

LADEIRA, M. M.; RODRIGUEZ, N. M.; BORGES, I.; GONÇALVES, L. C.; SALIBA, E. O. S.; BRITO, S.C.; SÁ, L. A. P. Avaliação do feno de *Arachis pintoi* utilizando o ensaio de digestibilidade *in vivo*. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.6, p.2350-2356, 2002.

LADEIRA, M. *Avaliação nutricional do feno de Stylosanthes guianensis*. 2001. 35p. Tese (Doutorado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

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

LORENZO-FIGUERAS, M.; JONES, G.; MERRITT, A.M. Effects of various diets on gastric tone in the proximal portion of the stomach of horses. *American Journal of Veterinary Research*. v. 63, n. 9, p. 1275- 1278, 2002.

LOWE, J. E.; HINTZ, H. F.; SCHRYVER, H. F. A new technique for long-term cecal fistulation in ponies. *American Journal of Veterinary Research*, v. 31, n. 6, p. 1109-1111, 1970.

LOWMAN, R. S.; THEODOROU, M. K.; HYSLOP, J. J. DHANOA, M. S.; CUDDEFORD, D. Evaluation of a *in vitro* batch culture technique for estimating the *in vitro* digestibility and digestible energy content of equine feeds using equine faeces as the source of microbial inoculum. *Animal Feed Science and Technology*, v. 80, p. 11-27, 1999.

LOWMAN, R. S.; THEODOROU, M.K.; LONGLAND, A.C.; CUDDEFORD, D. A comparison of equine faeces or caecal digesta as sources of inoculum for *in vitro* fermentation studies using the pressure transducer technique. *Animal Science*. v. 62, p. 683-684, 1996.

MACHEBOEUF, D.; PONCET, C.; JESTIN, M.; MARTIN-ROSSET, W. Mobile nylon bag technique (MNBT) in caecum fistulated horses as an alternative method for estimating precaecal and total tract nitrogen digestibilities of feedstuffs. In: EQUINE NUTRITION AND PHYSIOLOGY SYMPOSIUM, 18, 2003, Michigan. *Proceedings...* Michigan: ENPS, 2003, p. 347-351.

MANZANO, A. NOVAES, N. J.; CARVAVALHO, R. T. L. Substituição do feno de alfafa por feno de Rhodes no desempenho de equinos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 14, n. 3, p. 229-235, 1979.

MANZANO, A.; MANZANO, M. F. F. L. Utilização do guandu (*Cajanus cajan* (L) Millsp) na alimentação de equinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 19, n. 6, p. 459-469, 1990.

MAURÍCIO, R. M. *Determinação da digestibilidade aparente em equídeos através do óxido crômico, da lignina e da coleta total das fezes*. 1993, 62p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1993.

MAURÍCIO, R. M.; MOULD, F.; DHANOA, M. S.; OWEN, E.; CHANNA K. W.; THEODOROU, M. K. A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminants feedstuff evaluation. *Animal Feed Science and Technology*, v. 79, p. 321-330, 1999a.

MAURÍCIO, R.M.; OWEN, E.; ABDALLA, A.L.; BUENO, I.C.S.; MOULD, F.L.; GILMOUR, S. Comparison of rumen liquor and faeces, in UK and Brazil, as sources of microorganisms for *in vitro* gas production for assessing twelve forages. In: *Proceeding of British Society of Animal Science*, p. 147. 1999b.

MERTENS, D. R. Rate and Extend of Digestion. In: FORBES, J.M.; FRANCE, J. (Ed.) *Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism*. CABI Publishing, 1993, p. 13-51.

MIRAGLIA, N.; MARTIN-ROSSET, W.; TISSERAND, J. L. Mesure de la digestilité des fourrages destinés aux chevaux par la technique des sacs de nylon. *Annales de Zootechnie*, v. 37, n. 1, p. 13-20, 1988.

MOORE, B. E.; DEHORITY, B. A. Effects of diet and hindgut defaunation on diet digestibility and microbial concentration in the cecum and colon of the horse. *Journal of Animal Science*, v. 71. p. 3350 – 3358, 1993.

MOORE-COLYER, M. J. S.; HYSLOP, J. J.; LONGLAND, A. C.; CUDDEFORD, D. Degradation of four dietary fiber sources by ponies as measured by the mobile bag technique. In: EQUINE NUTRITION AND PHYSIOLOGY SYMPOSIUM, 18, MICHIGAN, 2003. *Proceedings...* Michigan: ENPS, 2003, p. 153-154.

MOORE-COLYER, M. J. S.; HYSLOP, J. J.; LONGLAND, A. C. CUDDEFORD, D. The mobile bag technique as a method for determining the degradation of four botanically diverse fibrous feedstuffs in the small intestine and total digestive tract of ponies. *British Journal of Nutrition*, v. 88, p. 729-740, 2002.

MOORE-COLYER, M. L S.; LONGLAND, A. C. L. *In vivo* apparent digestibility of four types of conserved forage by ponies. *Animal Science*, v. 71, p. 527-534, 2000.

MORENETI, C. A.; LIMA, J. A. F.; FIALHO, E. T.; MERCER, J. R.; BRANDI, R. A. Avaliação nutricional de alguns alimentos para equinos por meio de ensaios metabólicos. *Ciência Agrotécnica*, v. 28, n. 3, p. 621-626, 2004.

MURRAY, J. M. D.; LONGLAND, A. C.; MOORE-COLYER, M. J. S. DUNNETT, C. The effect of enzyme treatment on the *in vitro* fermentation of Lucerne incubated with equine faecal inocula. *British Journal of Nutrition*. v. 94, p. 771-782, 2005.

- MURRAY, J.M.D.; LONGLAND, A.; MOORE-COLYER, M.; MAURÍCIO, R. M. *In vitro* fermentation of different ratios of high-temperature dried lucerne and sugar beet pulp incubated with an equine faecal inoculum. *Animal Feed Science and Technology*, v. 129, p. 89–98, 2006.
- NOGUERA, R. R.; SALIBA, E. O.; GONÇALVES, L. C. et al. Utilização da técnica de produção de gás para determinar a cinética de fermentação dos carboidratos estruturais e não estruturais em sorgo para forragem. *Livestock Research for Rural Development*. v. 17, n. 5, 2005.
- NOZIÈRE, P.; MICHALET-DOREAU, B. *In Sacco Methods*. In: D’MELLO, J.P.F. *Farm Animal Metabolism and Nutrition*. CABI Publishing, 2000, Cap. 11, p. 233-253.
- NUTRIENT requirements of horses, Washington: National Academy Press, 1989, 5. Ed, 100p.
- NUTRIENT requirements of horses, Washington: National Academy Press, 2007, 6. Ed, 341p.
- ØRSKOV, E. R. Evaluation of crop residues and agro-industrial By-products using the nylon bag method. In: Proceedings of FAO/ ILCA Expert Consultation, Addis Ababa, Ethiopia, 1984, p. 126-133.
- ØRSKOV, E. R. The *in situ* technique for the estimation of forage degradability in ruminants. In: GIVENS, D. I.; OWEN, E.; AXFORD, R. F.E.; OMED, H.M. *Forage evaluation in ruminant nutrition*. CABI Publishing , 2000, Cap. 9, p. 175-188.
- ØRSKOV, E. R.; McDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubated measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science*, v. 92, p. 499-503, 1979.
- PAGAN, J. D. *Forages for horses: more than just filler*. In: ADVANCES ON EQUINE NUTRITION I. *Versailles: Kentucky Equine Research*, p.13-28, 2001.
- PELL, A.N.; SCHOFIELD, P. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion *in vitro*. *Journal of Dairy Science*, v.76, n.4, p.1063-1073, 1993.
- PEREIRA, J. C.; QUEIROZ, A. C.; CARMO, M. B. Avaliação de métodos para determinação da digestibilidade aparente em equinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 24, p. 382-390, 1995.
- PIMENTEL, R. R. M. *Digestibilidade aparente dos nutrientes e cinética de passagem da digesta em equinos alimentados com feno de capim coastcross em diferentes formas físicas*. Seropédica, RJ. 61p, 2006. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 2006.
- PULSE, R.E.; BAKER, J.P.; POTTER, G.D. Effects of cecal fistulation upon nutrient digestion and indicator retention in horses. *Journal of Animal Science*, vol. 37, n. 2, p. 488-492, 1973.
- RAKESTRAW, P. C. *Intestinal motility and transit*, In: WHITE, N.A.; MOORE, J.N.; TIMOTHY, S.M.(Ed.) *The Equine Acute Abdomen*, 2.ed, Teton New Media, 2008, 67-91.
- RODERICK I. M.; CLIVE A. W. Enumeration of anaerobic bacterial microflora of the equine gastrointestinal tract. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 54, n. 9, p. 2155-2160, 1988.
- ROSENFELD, I.; AUSTBØ, D.; VOLDEN, H. Models for estimating digesta passage kinetics in the gastrointestinal tract of the horse. *Journal of Animal Science*. v. 84, p. 3321-3328, 2006.

ROSENFELD, I.; D. AUSTBØ. Digestion of cereals in the equine gastrointestinal tract measured by the mobile bag technique on caecally cannulated horses. *Animal Feed Science and Technology*. v. 150 p. 249–258, 2009.

ROSS, M.W.; DONAWICK, W.J; SELLERS, A.F. LOWE, J.E. Normal motility of the cecum and right ventral colon in ponies. *American Journal of Veterinary Research*. v. 47, n. 8, p. 1756-1762, 1986

RYMER, C.; HUNTINGTON, J.A.; WILLIAMS, B.A. GIVENS, D.I. *In vitro* cumulative gas production techniques: History, methodological considerations and challenges. *Animal Feed Science and Technology*. v. 123–124, p. 9–30, 2005. (Special issue).

SCHOFIELD P.; PELL, A. N. Measurement and kinetic analysis of the neutral detergent soluble carbohydrate fraction of legumes and grasses. *Journal of Animal Science*. v. 73, p. 3455 – 3463, 1995.

SCHOFIELD, P.; PITT, R. E.; PELL, A. N. Kinetics of fiber digestion from *in vitro* gas production. *Journal of Animal Science*. v. 72, p.2980-2991, 1994.

SILVA, K. T.; SILVA, D. C.; SANTOS, G.T.; ALCALDE, C.R.; ZAMBOM, M.A.; MODESTO, E.C.; FURTADO, C.E. Utilização de fezes (equina ou bovina) em substituição ao líquido ruminal como fonte de inóculo para determinação da digestibilidade *in vitro* de alimentos para ruminantes. *Acta Scientiarum*, v. 25, n. 2, p. 355-361, 2003.

SILVA, V. P. *Digestão Total e Cecal de Alimentos Volumosos em Equinos*. 2007. 46p. *Dissertação (Mestrado em Zootecnia*. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil.

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

SILVA, V. P.; ALMEIDA, F. Q.; MORGADO, E. S. RODRIGUES, L. M.; SANTOS, T. M.; VENTURA, H. T. Degradação cecal *in situ* de alimentos volumosos em equinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 39, n. 2, p. 349-355, 2010.

SILVA, V. P.; SOUSA, L. F.; GOLLCHER, A. M. R.; PEREIRA, M. B.; RESENDE, A. S. C.; ALMEIDA, F. Q. Avaliação de inóculos de equinos na técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 2009, Maringá. *Anais...* Maringá:SBZ, 2009b, CD-ROOM.

SKERMAN, P.J.; CAMERON, D.G.; RIVEROS, F. *Leguminosas forrajeras tropicales* (nº2). Roma. FAO, 1991, 707pg.

SMITH, L. W.; GOERING, H. K.; WALDO, D. R.; GORDON, C. H. *In vitro* digestion rate of forage cell wall components. *Journal of Dairy Science*, v. 55, p.1140, 1972.

STEFANSDOTTIR, G.J.; HYSLOP, J.J.; CUDDEFORD, D. The *in situ* degradation of four concentrate foods in the *caecum* of ponies. *Animal Science*, v. 62, p.621, 1996.

THEODOROU, M. K.; WILLIAMS, B. A.; DHANOA, M. S.; McALLAN, A. B.; FRANCE, J. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, v. 48, p. 185-197, 1994.

- TILLEY, J.M.A., TERRY, R.A., 1963. A two stage technique for *in vitro* digestion of forage crops. *Journal of British Grassland Society*. v.18, p.104–111.
- TODD, L. K.; SAUER, W. C.; CHRISTOPHERSON, R. J.; COLEMAN, R. J.; CAINE, W. R. The effect of feeding different forms of alfafa on nutrient digestibility and voluntary intake in horses. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, v. 73, p. 1-8, 1995.
- ÚDEN, P.; VAN SOEST, P. J. Investigation of *in situ* bag technique and a comparison of the fermentation in heifers, sheep, ponies and rabbits. *Journal of Animal Science*, v.58, p. 213-221, 1984.
- VAN SOEST, P. J. Allometry and ecology of feeding behavior and digestive capacity in herbivores: A Review. *Zoo Biology*. v.15, p. 455-479, 1996.
- VAN SOEST, P. J. *Forage Preservation*. In: VAN SOEST, P. J. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2 ed, Cornell University Press, 1994, 14, p.213-229.
- VAN SOEST, P. J. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2 ed, Cornell University Press, 1994, 476p.
- VAN SOEST, P. J. The use of detergents in the analysis of fibrous feeds II. A rapid method for the determination of fiber and lignin. *Journal of Association Official Analytical Chemistry*. v. 46, p. 829–835, 1963.
- VANZANT, E. S.; COCHRAN, R. C.; TITGEMEYER, E. C. Standardization of *in situ* techniques for ruminant feedstuff evaluation. *Journal of Animal Science*, v. 76, p. 2717-2729, 1998.
- WELYENBERG, S.V.; SALES, J.; JANSSENS, G.P.J. Passage rate of digesta through the equine gastrointestinal tract: A review. *Livestock Production Science*, n. 1, v. 99, p. 3-12, 2006.
- WILLIAMS, B. A. *Cumulative Gas-production Techniques for Forage Evaluation*. In: GIVENS, D. I.; AXFORD, R.F.E.; OMED, H.M. (Ed). *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*. CABI Publishing, p.189-213, 2000.

CAPITULO 2

**CONSUMO E DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES EM POTROS ALIMENTADOS
COM DIETAS COMPOSTAS POR CONCENTRADO E FENO DE LEGUMINOSAS**

RESUMO

Objetivou-se avaliar o consumo voluntário, a digestibilidade dos nutrientes, o ganho de peso, o consumo através do indicador LIPE[®] de dietas contendo feno de leguminosas em potras. Os tratamentos foram o feno de alfafa (*Medicago sativa*), o feno do estilosantes Campo Grande¹ (*Stylo. macrocephala* e *Stylo. capitata*) e o feno de estilosantes Mineirão (*Stylosanthes guianensis* cv. Mineirão). Utilizaram-se 15 potras de 160 Kg PV médio, desmamadas aos 165 dias. A partir do desmame as potras ficaram 30 dias em um piquete de capim *Cynodon* spp. recebendo concentrado duas vezes ao dia, até iniciar o ensaio. O consumo diário baseou-se em 30g / Kg de PV de MS. Do total calculado, forneceu-se 40% de concentrado e 60% de feno. O delineamento foi inteiramente casualizado com três tratamentos e cinco repetições. A estimativa de produção fecal, os cálculos das digestibilidades dos nutrientes e os valores de consumo de MS dos volumosos e da dieta total, foram realizados através do fornecimento do indicador LIPE[®]. Não houve diferença ($P>0,05$) no consumo da alfafa com o Campo grande. O Mineirão apresentou menor consumo ($P<0,05$) em relação à alfafa. Não houve diferença ($P>0,05$) no ganho de peso consumindo as diferentes dietas. Não houve diferença ($P>0,05$) nas estimativas de consumo real e o estimado pelo indicador LIPE[®]. Não houve diferença nos valores médios de digestibilidade dos nutrientes ($P>0,05$) entre as dietas utilizadas. O feno de estilosantes Campo Grande pode ser utilizado como alternativa para compor a dieta de potros desmamados, pois teve consumo semelhante ao da alfafa. A estimativa de consumo com o uso do indicador LIPE[®] é satisfatória em equinos.

Palavras-Chave: consumo, equino, tropical, estilosantes, alfafa, volumoso

**INTAKE AND NUTRIENT DIGESTIBILITY ON FOALS FED DIETS COMPOSED BY
CONCENTRATE AND LEGUME HAYS**

ABSTRACT

*This study was carried out to evaluate the intake, nutrient digestibility, body weight gain, the intake by LIPE[®] marker of diets composed by concentrate and legume hay fed foals. Treatments were: lucerne hay (LUC) (*Medicago sativa*), stylo hay Campo Grande² (CG) (20% *Stylosanthes macrocephala* and 80% *Stylosanthes capitata*) and stylo hay Mineirão (M) (*Stylosanthes guianensis* cv. Mineirão). Were used 15 foals with 160 Kg BW, weaning with 165 days. After weaning the foals remained for 30 days in a *Cynodon* spp. paddock fed ration twice a day, until entered the assay. The dry matter intake estimative was 30g / Kg BW of DM. Were fed 40% of concentrate meal and 60% of roughage as hay. Design was entirely randomized with three treatments and five replicates. The faecal estimation, the nutrient digestibility values and the dry matter intake of hays and the total diet, were calculated by LIPE[®] marker methodology. There was no difference ($P>0.05$) between LUC and CG stylo hay intake. There was less M stylo hay intake ($P>0.05$) than LUC intake. There was no difference ($P>0.05$) on body weight gain on foals fed different experimental diet. There was no difference ($P>0.05$) between real consumption compared with observed by LIPE[®] marker. There was no difference among nutrient digestibility coefficients ($P>0.05$) from different diets. Campo Grande hay can be used as alternative roughage, as intake was similar to Lucerne hay. The intake estimate through LIPE marker is satisfactory for horses.*

Keywords: lucerne, palatability, roughage, stylo, tropical

¹ Nome comercial

² Commercial product name

INTRODUÇÃO

No Brasil, os fenos mais utilizados na alimentação dos equinos são os fenos de gramíneas do gênero *Cynodon* e da leguminosa alfafa (Lima et al., 2006) e, o criador não conhece alternativas forrageiras para a alimentação do plantel, de modo que, a ausência de orientação especializada faz com que opte pelo mais conhecido, e nem sempre o mais apropriado.

Segundo Manzano et al. (1979), a alimentação dos equinos é baseada em poucos alimentos e faltam soluções alternativas de substituição e, afirmaram que os criadores não dispõem de programas adequados que possam solucionar os problemas ligados à alimentação.

Até então, foram desenvolvidos poucos ensaios que avaliaram leguminosas tropicais em estudos de digestibilidade com equinos. Silva et al. (2009), avaliaram coeficientes de digestibilidade de diversas leguminosas visando sua utilização para os equinos, mas não identificaram o consumo voluntário destes alimentos e, concluíram que o estilosantes Mineirão, o amendoim forrageiro e o macrotiloma apresentaram potencial de utilização nas dietas dos cavalos, tomando como referência os elevados coeficientes de digestibilidade aparente.

A aceitação dos alimentos volumosos pelos herbívoros pode ser avaliada pelo consumo voluntário de matéria seca. Assim, Van Soest (1994) descreveu que o maior problema para a determinação do consumo está nas razões pelas quais os animais rejeitam o alimento. Sendo que a palatabilidade é um dos principais fatores. Isto porque, os animais são incapazes de comunicar diretamente suas preferências e, é difícil distinguir se é a palatabilidade ou são razões fisiológicas que estão causando a rejeição do alimento.

Na literatura nacional constam ensaios com equinos que avaliaram efeitos de substituição do feno de alfafa por outros alimentos volumosos, como por exemplo, Manzano et al. (1979) que substituíram o feno de alfafa pelo de capim Rhodes. Outros autores como Manzano et al. (1990) e Ferreira et al. (1995), avaliaram a leguminosa Guandu em níveis de substituição na dieta.

Em condições tropicais, inúmeras são as opções de forrageiras disponíveis. Embora existam estudos que tenham avaliado a qualidade destas diferentes espécies forrageiras visando o consumo pelos equinos, existem características que são peculiares à espécie equina (Domingues, 2009) e, para Dittrich et al. (2005) e Silva et al. (2009) essas informações não podem ser efetivamente aplicadas antes de uma avaliação minuciosa da forma de apreensão e do consumo voluntário em condições práticas de manejo.

Assim sendo, espera-se que os alimentos volumosos tropicais apresentem potencial para utilização nas dietas dos equinos e que novas fontes de alimentos volumosos possam ser propostas na intenção de buscar alimentos de maior digestibilidade, que sejam perenes e mais baratos, de forma que aumentem as possibilidades de estratégia alimentar nas propriedades de criação de equinos. Entretanto, para o emprego correto desses alimentos às dietas, são necessários estudos específicos quanto à determinação da digestibilidade, valor nutricional e do consumo voluntário.

Objetivou-se avaliar o consumo de matéria seca em potras Mangalarga Marchador e os coeficientes de digestibilidade dos nutrientes de três diferentes dietas contendo fenos de leguminosas como volumosos exclusivos.

MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi realizado na Fazenda Santa Helena – Haras Catuni, situada no município de Montes Claros/MG, localizada nas latitudes 16° 41' 161" sul e 43° 31' 210" oeste, à 784 metros de altitude. A região apresenta o período de estiagem das chuvas definido entre os meses de Março a Setembro. Dados observados na propriedade dos últimos 14 anos, indicaram precipitação média anual de 1100mm.

Os tratamentos avaliados foram o feno de alfafa (*Medicago sativa*), o feno do estilosantes Campo Grande (Mistura física de 20% *Stylosanthes macrocephala* e 80% de *Stylosanthes capitata*) e o feno de estilosantes Mineirão (*Stylosanthes guianensis* cv. Mineirão).

As sementes de Estilosantes Campo Grande utilizadas no ensaio foram adquiridas no comércio, enquanto que as sementes de *Stylosanthes guianensis* cv. Mineirão foram concedidas pela Embrapa Cerrados (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), proveniente de uma safra de 2001.

Os fenos de estilosantes Campo Grande e Mineirão foram produzidos na Fazenda Santa Helena – Haras Catuni de acordo com o processo de fenação proposto por Haddad & Castro (1998). A área utilizada foi de 2,5 ha, sendo que 1,5 ha formada com estilosantes Campo Grande e, 1 ha de estilosantes Mineirão. O plantio foi realizado em linha com espaçamento de 40 cm, realizado entre os dias 10 e 12 de dezembro de 2007. O corte das leguminosas visando à produção do feno foi feito com idade média de crescimento de 137 dias. O Campo Grande foi colhido no início do florescimento, ocorrido em Abril, enquanto que, o Mineirão estava em pleno crescimento vegetativo. O corte foi manual, a uma altura de 20 cm do solo, segundo Skerman et al. (1991). Para uniformizar o processo de desidratação, reduziu-se o tamanho das partículas em desintegrador e o material foi posto sobre o terreno para secar ao sol, em finas camadas.

O feno de alfafa foi adquirido no comércio e também foi passado em desintegrador. A composição química média dos fenos de alfafa (*Medicago sativa*), do estilosantes Campo Grande (20% *Stylosanthes macrocephala* e 80% de *Stylosanthes capitata*), do estilosantes Mineirão (*Stylosanthes guianensis* cv. Mineirão) e do concentrado farelado fornecidos as potras durante o ensaio, podem ser observados na tabela 1.

Tabela 1. Composição bromatológica média, na base da matéria seca, do feno de alfafa (*Medicago sativa*), feno de estilosantes Campo Grande (Mistura física de 20% *Stylosanthes macrocephala* e 80% de *Stylosanthes capitata*), feno de estilosantes Mineirão (*Stylosanthes guianensis* cv. Mineirão) e do concentrado farelado¹.

ALIMENTO	MS %	MO %	MM %	PB %	EE %	FDN %	FDA %	HEM %	Ca %	P %	Mg %	EB (Mcal/Kg)
Alfafa	91,0	89,2	10,9	17,7	3,4	56,0	34,6	21,4	1,39	0,77	0,29	4,3
C. Grande	89,9	92,0	8,0	12,2	2,4	65,8	44,3	21,5	1,46	0,23	0,25	4,3
Mineirão	89,5	91,1	8,9	11,1	3,9	67,6	46,6	21,0	1,53	0,27	0,24	4,4
Concentrado ¹	89,4	92,8	7,2	10,9	4,6	22,7	3,5	19,2	1,72	0,76	0,22	4,2

¹ 85% milho grão moído, 10% farelo de soja, 2,5% calcário calcítico, 1,5% fosfato bicálcico, 0,5% sal mineral, 0,5% óleo de soja

Neste estudo foram utilizadas 15 potras da raça Mangalarga Marchador, desmamadas aos 165 ± 9 dias, filhas de dois ganhões diferentes, nascidas entre dezembro de 2007 e fevereiro de 2008. Os animais apresentaram peso vivo médio de 160 ± 15 Kg. A distribuição das potras nos tratamentos foi feita obedecendo ao seguinte critério: cada três potras, filhas de um mesmo ganhão e nascidas cronologicamente mais próximas foram sorteadas uma por tratamento. A medida que completavam seis meses, as potras eram desmamadas e vermifugadas³, e foram mantidas por 30 dias em um piquete de capim *Cynodon spp.* até o início do período experimental recebendo alimentação concentrada as 9:00 e 17:00 horas em unidades de serviço.

No primeiro dia do período experimental foram novamente vermifugadas e pesadas para o cálculo do consumo de MS, realizado de acordo com o Nutrient... (2007). O cálculo da quantidade de alimento oferecido baseou-se no consumo diário de 30g de matéria seca / Kg de PV (Nutrient..., 2007). Do total calculado de MS, forneceram-se 40% de concentrado produzido na fazenda de acordo as exigências preconizadas pelo Nutrient... (2007), para animais aos seis meses de idade e estimativa de peso quando adulto de 400 Kg de PV.

Os animais ficaram alojados individualmente em baias e foram exercitadas diariamente ao passo, marcha e galope por 20 minutos. As instalações eram abertas e tinham dimensões de 3 X 3 metros, com piso de terra batida, com divisórias de régua e com cocho linear. A higienização das baias foi realizada diariamente pela manhã. O fornecimento de concentrado foi dividido em dois tratos, oferecidos às 9:00 e 17:00 horas. O feno, a água e o sal mineral⁴ foram oferecidos *ad libitum*.

³ Ivermectina gel composto com vitamina E.

⁴ Sal Mineral Coequi Plus Tortuga (Ca: 185g; Na:120g; P:60g; K:20g; Mg: 13,6g; S:12g; Zn: 2200mg; Fe:2000mg; Cu: 1200mg; Mg: 970mg; F:600mg; I:125mg; Co: 21mg; Se:10mg; Palatabilizante: 0,5g)

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com três tratamentos e cinco repetições. Avaliou-se o período de adaptação ao consumo da dieta, ganho de peso, consumo voluntário dos fenos e a digestibilidade dos nutrientes da dieta. Também foi avaliada a comparação do consumo de matéria seca dos fenos e da dieta total, obtidos através do controle (pesagem) e através da produção fecal estimada pelo indicador LIPE[®]. Neste caso, o delineamento utilizado foi inteiramente casualizado em parcela subdividida com cinco repetições. Sendo a parcela representada pelas dietas, a forma de determinação do consumo de matéria seca (LIPE[®] ou real) a subparcela.

O período experimental teve duração de 125 dias, iniciou em junho de 2008 e durou até outubro de 2008. Cada três potras, mais próximas em idade, ficaram confinadas por um período de 25 dias, que corresponderam à fase de determinação do consumo voluntário nos primeiros 19 dias, e nos dias seguintes, realizou-se o ensaio de digestibilidade. Durante a fase de determinação do consumo do volumoso, o feno foi oferecido *ad libitum* até que se estabilizasse com 10% de sobra. As sobras foram pesadas diariamente pela manhã em balança mecânica para a determinação da estabilização e determinação do consumo voluntário g/ Kg PV. Durante o ensaio de digestibilidade a dieta foi oferecida 10% a menos que a média observada do consumo, referente aos últimos cinco dias do período de determinação do consumo (Van Soest, 1994; Crozier, et al., 1997), a fim de que não ocorressem sobras. O peso final das potras foi avaliado no 25º dia.

Forneceram-se cápsulas de 500 mg do indicador LIPE[®] a fim de se estimar a produção fecal e, conseqüentemente, o cálculo da digestibilidade aparente dos nutrientes da dieta e, dos valores de consumo de matéria seca dos volumosos e da dieta total. O fornecimento do LIPE[®] iniciou-se no décimo oitavo dia, dois dias antes do início da coleta das fezes, para que ocorresse homogeneização ao longo do trato digestório do equino. A administração oral do indicador continuou por mais quatro dias, totalizando seis dias de fornecimento, sempre às nove horas da manhã, juntamente com o concentrado.

A amostragem de fezes iniciou no terceiro dia e foi realizada uma vez ao dia, durante cinco dias. As fezes foram coletadas a partir das 9 horas da manhã, diretamente do piso, imediatamente após a defecação. Foram somente coletadas as porções das fezes que não entraram em contato com o piso.

As amostras dos fenos, concentrado e fezes permaneceram congeladas até serem enviadas para análise no Laboratório de Nutrição do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária – UFMG, onde foram secas em estufa ventilada, moídas a 1mm e analisadas conforme AOAC (1995) e Van Soest et al. (1991). As análises de (Ca) e magnésio (Mg) foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica (GBC Avanta, Versão 2.02) no Laboratório de análises químicas da Escola de Engenharia Química da UFMG.

A técnica empregada para a análise do teor de LIPE[®] nas fezes foi à Espectroscopia no Infravermelho com transformada de Fourier. O equipamento utilizado foi o FTIV- LAB com HATR (Bühler[®]). Utilizaram-se 5g de matéria seca ao ar de amostra submetida à análise não destrutiva por irradiação infravermelha. Determinou-se o teor de LIPE[®] nas fezes e estimou-se a produção fecal. Foram calculados os valores de produção fecal com o indicador externo LIPE[®], conforme descrito por Saliba (2005):

$$PF (kg) = \frac{LIPE^{\circledast} \text{ fornecido (g)} \times 100}{(A_i / MS_{total})}$$

Onde: PF = Produção fecal;

A_i = Relação logarítmica das intensidades de absorção das bandas dos comprimentos de onda a 1050 cm⁻¹ / 1650 cm⁻¹;

MS total = matéria seca fecal total.

O A_i foi calculado através da fórmula:

$$A_i = A_{1050} / A_{1650}$$

Sendo que: A = log I₀

Onde;

I₀ > intensidade e

I < intensidade.

O coeficiente de digestibilidade aparente dos nutrientes da dieta foi obtida com a fórmula:

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

Realizou-se a digestibilidade *in vitro* dos alimentos volumosos e concentrados através da técnica de Tilley e Terry (1963) para se obter a digestibilidade da MS dos alimentos. Com os valores de produção fecal (PF) e da digestibilidade *in vitro*, estimou-se o consumo de matéria seca (CMS_{LIPE}) dos fenos fornecidos.

$$\text{CMS} = \frac{\text{PF}}{(1 - \text{DIVMS}/100)}$$

Realizou-se análise de variância (5%) do ganho de peso, do consumo voluntário dos fenos e da digestibilidade dos nutrientes da dieta. Os valores médios foram comparados através do teste Student-Newman Keuls (5%). A avaliação do período de consumo voluntário de feno foi feita através de análise descritiva. Utilizou-se o programa o SAEG- Sistemas de Análises Estatísticas e Genéticas (UFV, 2000). A análise da estimativa do consumo através do indicador LIPE[®] foi realizada no programa SAS, utilizando o procedimento PROC GLM e Lsmeans, com médias ajustadas e comparadas com o teste de Tukey. Todos os procedimentos adotados neste ensaio foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA/UFMG/124/08).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pode-se observar nas figuras 1, 2 e 3 o percentual de consumo de MS dos volumosos fornecidos as potras na forma de feno durante o período de 19 dias, referente à proporção dos 60% do total calculado de ingestão de MS.

Durante o período de avaliação do consumo voluntário, observou-se variação na ingestão de MS entre os fenos em relação ao total fornecido. Os valores médios de consumo dos fenos estabilizaram-se a partir do décimo quinto dia. O feno de alfafa apresentou maior oscilação nos 14 dias iniciais, entretanto, nos últimos cinco dias, apresentou menor desvio em relação à média de consumo de feno, na ordem de 8,8%. Enquanto que, os fenos de estilosantes Campo Grande e Mineirão apresentaram desvios maiores nos últimos cinco dias, de 17,3 e 14,1%, respectivamente.

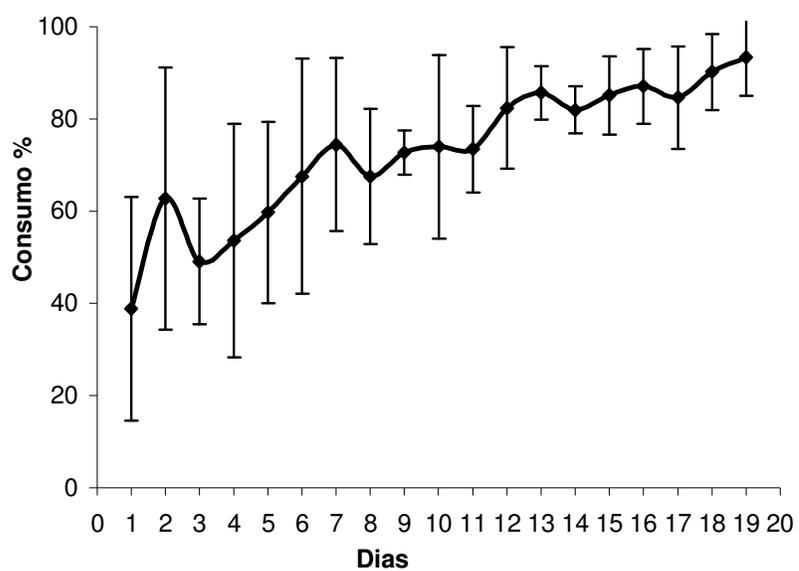


Figura 1. Período de adaptação das potras ao consumo do feno de Alfafa.

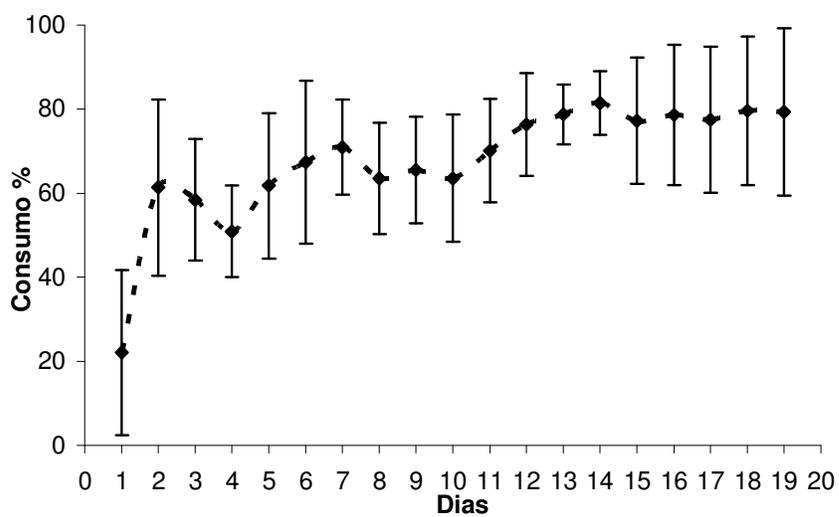


Figura 2. Período de adaptação das potras ao consumo do feno de estilosantes Campo Grande.

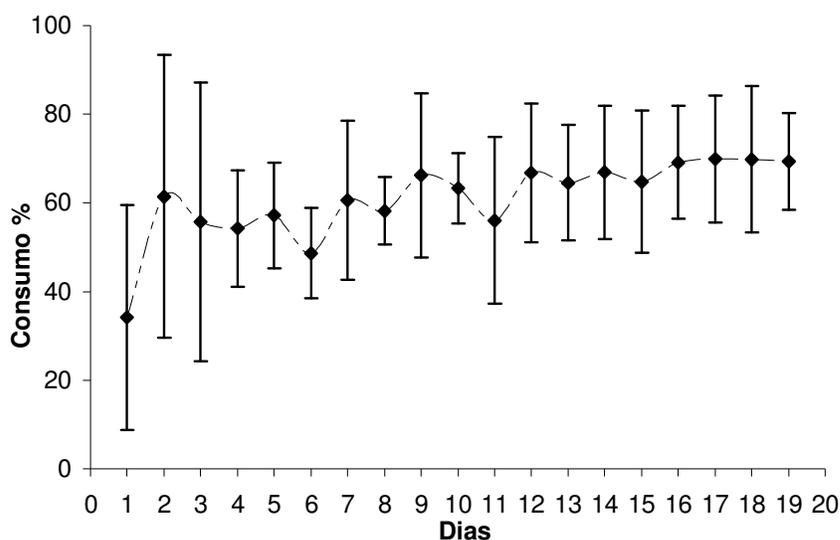


Figura 3. Período de adaptação das potras ao consumo do feno de estilosantes Mineirão.

Um animal que recebeu a dieta com o feno de estilosantes Mineirão morreu, no final do período de avaliação do consumo, e na necropsia apresentou um fecaloma, localizado no final do cólon. Desta forma, houve uma parcela perdida neste tratamento.

Na tabela 2. pode-se observar o consumo dos fenos, consumo total de MS e o ganho de peso dos animais. Não houve diferença ($P>0,05$) entre o consumo dos fenos de alfafa e Campo Grande. Entretanto, o consumo do feno de Campo Grande não diferiu do Mineirão ($P>0,05$) e este, em relação à alfafa, teve menor consumo ($P<0,05$). Neste caso, pode-se inferir que, provavelmente, fatores ligados a palatabilidade tenham influenciado a preferência dos equinos, pois os animais são incapazes de comunicar diretamente suas preferências, e é difícil distinguir quando é a palatabilidade ou são razões fisiológicas que causam a rejeição do alimento (Van Soest, 1994).

Inúmeras pesquisas já foram desenvolvidas a respeito do consumo do feno de alfafa e, em alguns casos, comparando-o com outros alimentos volumosos. No estudo realizado por LaCasha et al. (1999) os potros sobreano da raça Quarto de Milha receberam feno de alfafa, e outros dois tipos de feno de gramíneas, um capim bermuda e um outro chamado Matua, até então não avaliado quanto ao consumo. Observaram o consumo voluntário da alfafa em 3,1% do PV, o consumo de 2,8 % do PV do capim Matua e de 2,1% PV do capim Bermuda.

As avaliações sobre consumo de alimentos volumosos alternativos são escassas nas condições nacionais e, não existem ensaios realizados no Brasil que tenham comparado a aceitação de outras opções forrageiras em estudos com potros. Contudo, Silva et al. (2009) sugeriram a utilização do estilosantes Mineirão na dieta de equinos, pois observaram valores nutricionais elevados, mas não fizeram a avaliação do consumo.

Tabela 2. Consumo voluntário de MS do feno de alfafa, feno do estilosantes Campo Grande e Mineirão, consumo total e o ganho de peso de potras Mangalarga Marchador.

Fenos	Consumo de feno (g/Kg PV)	Consumo total (g/Kg PV)	Ganho de Peso (Kg/dia)
Alfafa	15,6 ± 1,3 ^a	27,7 ± 1,3 ^a	0,58 ± 0,2 ^a
Estilosantes Campo Grande	14,2 ± 2,5 ^{ab}	26,3 ± 2,5 ^{ab}	0,54 ± 0,1 ^a
Estilosantes Mineirão	11,8 ± 1,9 ^b	24,0 ± 1,9 ^b	0,47 ± 0,2 ^a
CV (%)	14,0	7,6	34,8

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de SNK (5%)

Observou-se neste estudo que o feno de estilosantes Mineirão foi menos consumido pelas potras. Existem características que são muito peculiares à espécie equina (Domingues, 2009) de modo que, as informações sobre a qualidade nutricional não podem ser efetivamente aplicadas antes de uma avaliação minuciosa da forma de apreensão (Dittrich et al., 2005) e, de acordo com LaCasha et al. (1999), quando novos alimentos forem acrescentados nas dietas dos equinos, estes deverão ser avaliados em relação ao consumo.

No presente ensaio, as potras consumiram a mesma quantidade de concentrado em relação ao peso vivo, portanto, considerou-se que o efeito do concentrado sobre o ganho de peso dos animais durante o período experimental tenha sido semelhante para todos os tratamentos, diferindo o tipo e quantidade de feno consumido, voluntariamente, pelas potras. De maneira que, a variável consumo total (g/Kg PV), em função do fornecimento fixo do concentrado, apresentou um ajuste no coeficiente de variação, mas a diferença estatística permaneceu ($P < 0,05$) entre os tratamentos. Tanto o consumo de feno, quanto o consumo total (g/ Kg PV) foram superiores na dieta com alfafa e menores quando fornecido o feno de estilosantes Mineirão. O estilosantes Campo Grande apresentou valores intermediários de consumo.

Os potros em seu primeiro ano de vida apresentam desenvolvimento corporal acelerado e, então, necessitam de um programa nutricional adequado a fim de manter o crescimento de acordo com seu potencial genético (Rezende et al., 2000). Rezende et al. (1986) verificaram ganho de peso diário de 0,54 a 0,65kg quando avaliaram o desenvolvimento de potros Mangalarga Marchador suplementados com níveis diferentes de PB (14, 16 e 18%) da desmama aos 12 meses de idade. Da mesma forma, Santos et al. (2005) avaliaram o ganho de peso de potros da raça Mangalarga Marchador e observaram um ganho de peso médio em potros lactentes, do nascimento até os 160 dias, de 0,77 Kg/dia. Segundo o Nutrient... (2007), potros aos seis meses de idade, desmamados, que apresentam estimativa de peso vivo quando adultos de 400Kg, apresentam ganho de peso médio de 0,58 kg/dia. Valor de ganho de peso semelhante ao observado no presente estudo no grupo de animais que consumiram a dieta contendo feno de alfafa, que foi de 0,58 ± 0,2 Kg/dia.

Não houve diferença ($P > 0,05$) no ganho de peso entre as dietas avaliadas, o que não era esperado, haja vista a diferença de consumo entre as leguminosas apresentado pelas potras. De forma que, para esta variável avaliada o coeficiente de variação de 34,8% pode ter influenciado a comparação. Observou-se que as potras que receberam a dieta com feno de estilosantes Campo Grande e o de Mineirão apresentaram um desempenho no ganho de peso inferior de 0,54 e 0,47 Kg/dia, respectivamente. Pode ser que, se o período de avaliação do ganho de peso tivesse sido maior, a diferença seria detectada na análise de variância, mas deve-se considerar também que a falta de um grau de liberdade em um dos tratamentos possa ter prejudicado a comparação dos intervalos de confiança dos tratamentos experimentais.

Podem ser observados na tabela 3. o consumo de proteína bruta, energia digestível e da relação proteína bruta: energia digestível nas três dietas fornecidas as potras, considerando o consumo de concentrado e o feno.

Tabela 3. Consumo de proteína bruta (PB), Energia Digestível (ED) e a relação proteína bruta e energia digestível das dietas fornecidas as potras.

Dietas (Concentrado + Feno)	Consumo PB (Kg/dia)	Consumo ED (Mcal/dia)	Relação PB:ED (g/Mcal)
Alfafa	0,65 ± 0,10 ^a	14,0 ± 2,8	47,2 ± 2,5
Campo Grande	0,47 ± 0,05 ^b	13,0 ± 2,0	36,4 ± 2,1
Mineirão	0,44 ± 0,06 ^b	12,7 ± 2,5	34,8 ± 1,7
NRC*	0,54	12,4	43,7
CV (%)	14,6	18,3	5,5

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de SNK (5%).

* Recomendações para potros, peso adulto 400kg (Nutrient... 2007).

O balanceamento da dieta foi efetuado de acordo com as recomendações do Nutrient... (2007), a fim de suprir as necessidades das potras. Ao ser efetuado o cálculo de consumo médio de proteína bruta (Kg/dia) e ED (Mcal/dia) e da relação PB:ED referente às dietas experimentais, observou-se o atendimento das necessidades nutricionais na dieta que continha alfafa, contudo diferenças ($P < 0,05$) no consumo diário de PB foram observadas quando se comparou aos fenos de estilosantes.

As dietas que continham os fenos de estilosantes não atenderam as necessidades protéicas diárias da categoria de potros aos seis meses de idade, e não diferiram entre si ($P > 0,05$). Em relação à recomendação do Nutrient... (2007), as deficiências no atendimento das exigências protéicas foram de 13 e 18,5%, para o feno de Campo Grande e Mineirão, respectivamente. Contudo, houve o atendimento das necessidades energéticas (Mcal/dia) nas três dietas.

A respeito da relação PB:ED da dieta das potras, a que continha o feno de alfafa supriu a demanda. Nas dietas com os fenos de estilosantes Campo Grande e Mineirão essa relação se manteve abaixo do recomendado pelo Nutrient... (2007).

Pode se constatar que apesar do feno de Campo Grande não diferir em consumo com relação à alfafa, o menor conteúdo em proteína em sua composição fez com que os animais não atendessem suas necessidades em PB e, provavelmente, por isso apresentaram ganho de peso inferior, da ordem de 6,9%, quando comparado com o ganho das potras que consumiram a dieta contendo o feno de alfafa. O feno de Mineirão forneceu as potras quantidades semelhantes de proteína ($P < 0,05$) quando comparado ao do feno de Campo Grande, contudo, proporcionou um ganho de peso 19% inferior ao dos animais que consumiram alfafa. Deve-se considerar que o ganho de peso pode ter sido prejudicado pelo pequeno período experimental e / ou pelo grau de liberdade perdido em um dos tratamentos.

O momento do corte da forrageira é muito importante, pois a qualidade do feno obtido está mais associada com o estágio vegetativo da forrageira e seu nível de adubação, do que somente com a espécie forrageira em questão (Haddad & Castro, 1998). No presente estudo, as duas leguminosas foram plantadas na mesma área e cortadas com a mesma idade de corte, aos 137 dias, mas o estilosante Mineirão estava em pleno desenvolvimento, enquanto o Campo Grande já se encontrava no início do florescimento. Na tabela 4 verifica-se a comparação entre as estimativas do consumo real de feno com o estimado pelo indicador LIPE[®].

Tabela 4. Consumo de matéria seca real e o estimado pelo indicador LIPE[®] dos fenos e das dietas

Fenos	Consumo de feno (g/Kg PV)		Consumo total da dieta (g/Kg PV)	
	Real	LIPE [®]	Real	LIPE [®]
Alfafa	15,6 ± 1,3	14,3 ± 2,9	27,6 ± 1,3	26,3 ± 2,9
Campo Grande	14,3 ± 2,5	13,4 ± 3,1	26,3 ± 2,5	25,4 ± 3,1
Mineirão	11,8 ± 1,9	12,5 ± 1,3	23,8 ± 1,9	24,5 ± 1,3
CV (%)	17,1		8,9	

Não houve diferença ($P>0,05$) entre o consumo real e o estimado pelo LIPE[®], tanto na avaliação do feno quanto na dieta total caracterizando a eficiência do indicador LIPE[®] na estimativa do consumo real de matéria seca em potras.

Outros ensaios realizados com potros da raça Mangalarga Marchador também validaram a eficiência do indicador LIPE[®]. Assim como Lanzetta et al. (2009), que observaram não haver diferença entre a estimativa de produção fecal através do indicador LIPE[®], quando comparada com a coleta total.

Os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) das dietas compostas por feno de alfafa, estilosantes Campo Grande e estilosantes Mineirão podem ser observados na tabela 5.

Tabela 5. Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA%) de dietas compostas por concentrado e pelos fenos de alfafa, estilosantes Campo Grande e estilosantes Mineirão.

Dietas (Concentrado + Feno)	Coeficientes de Digestibilidade Aparente (%)						
	MS	MO	PB	FDN	FDA	HEM	EB
Alfafa	70,3 [±] 5	72,2 [±] 4	74,8 [±] 4	57,8 [±] 9	44,7 [±] 10	71,3 [±] 8	65,9 [±] 6
Campo Grande	69,1 [±] 5	72,0 [±] 4	74,0 [±] 5	57,4 [±] 7	48,3 [±] 8	68,5 [±] 9	69,6 [±] 5
Mineirão	67,0 [±] 4	69,5 [±] 4	69,9 [±] 5	55,8 [±] 7	42,4 [±] 11	72,0 [±] 3	67,8 [±] 4
CV (%)	6,9	5,5	6,4	13,8	21,4	11,0	6,7

Não houve diferença ($P>0,05$) nos valores médios de digestibilidade dos nutrientes das dietas fornecidas com a relação concentrado:volumoso de 40:60. Sendo que a fração correspondente ao volumoso, foi fornecida exclusivamente de uma leguminosa.

Hintz et al. (1971) trabalharam com uma dieta mista, composta por concentrado e volumoso fornecida a equinos, e, muito embora a dieta tivesse apresentado diferentes níveis de inclusão de concentrado, os autores não observaram efeito associativo dos nutrientes entre os alimentos. De forma semelhante, Martin-Rosset & Dulphy (1987), avaliaram o efeito de interação entre alimentos volumosos e concentrados sobre os coeficientes de digestibilidade em potros aos nove meses de idade, alimentados com feno de pastagem natural e, suplementados com 0, 30 e 60% de inclusão de concentrado na dieta. Os autores não observaram diferenças nos coeficientes de digestibilidade da MO, FB e amido. De forma que, a proporção de alimento concentrado fornecido aos potros não modificou a digestibilidade do volumoso.

Os valores médios de digestibilidade da MS da dieta contendo feno de alfafa foi de 70,3% (Tab. 5), valor superior aos descritos na literatura quanto a digestibilidade observada exclusivamente para o feno de alfafa. Entretanto, Hintz et al. (1971) forneceram aos equinos, de forma semelhante, uma dieta composta por alfafa e concentrado a uma proporção de 60:40 (vol:con) e observaram os valores dos coeficientes de digestibilidade da matéria seca 69,7%. Valores similares aos descritos no presente ensaio que apresentou as mesmas características de composição e proporção dos alimentos no que se refere à alfafa.

Na literatura, consta sobre o feno de alfafa um maior número de informações quanto ao seu fornecimento de forma exclusiva. Como por exemplo, Todd et al. (1995) avaliaram a digestibilidade através da coleta total de fezes em pôneis que consumiam o feno de alfafa em diferentes tipos de processamento e observaram valores médios de CDMS de 61,9%, enquanto que Crozier et al. (1997) observaram o valor médio da digestibilidade da MS da alfafa de 58%. LaCasha et al. (1999) que avaliaram o fornecimento do feno de alfafa em potros de um ano, observaram valores de 63%. Almeida et al. (1999) observaram CDMS de 55,2% e Silva et al. (2009) de 63,5% utilizando animais adultos em manutenção.

No que se refere ao coeficiente de digestibilidade da proteína bruta da dieta que continha o feno de alfafa, observou-se no presente estudo valor de 74,8%. Com características experimentais semelhantes, Hintz et al. (1971) observaram valor de digestibilidade da proteína bruta do feno de alfafa de 75,5%. Contudo, outros estudos observaram diferentes valores quando o feno de alfafa foi fornecido como alimento exclusivo. Como por exemplo, Todd et al. (1995) observaram 78,2%, LaCasha et al. (1999) de 83% e Silva et al. (2009) de 77,4%. Entretanto, Crozier et al. (1997)

observaram resultados médios abaixo dos referidos no presente estudo de 73%, enquanto que Almeida et al. (1999) de 71,2%. Portanto, de forma geral, o coeficiente de digestibilidade da proteína do feno de alfafa, corroborou com as informações presentes na literatura e, as diferenças podem estar associadas à qualidade do feno fornecido em cada ensaio de digestão, bem como as metodologias utilizadas na estimativa dos coeficientes de digestibilidade.

Os nutrientes que compõem a fração fibra da dieta de alfafa apresentaram digestibilidade de 57,8; 44,7 e 71,3 % para FDN, FDA e HEM, respectivamente. De acordo com Hintz et al. (1971) a digestibilidade da fração fibra, representada pelo FDN foi de 54,8%, em uma dieta composta por alfafa e concentrado a uma proporção de 60:40 (vol:con). Semelhante ao valor observado no presente estudo. Em outros ensaios, observaram coeficientes de digestibilidade do FDN, FDA e HEM de 35,5, 32,9 e 40,2%, respectivamente, para a mesma forrageira (Almeida et al., 1999). Já Crozier et al. (1997) observaram coeficientes de digestibilidade da fração fibra de 47, 45 e 55% para os mesmos nutrientes, respectivamente, valores médios mais próximos dos encontrados no presente ensaio.

Ensaio que tenham utilizado o feno das leguminosas estilosantes como fonte exclusiva de alimento volumoso de uma dieta fornecida a potros, na proporção de 60:40 (vol/con) não foram observados, embora existam estimativas de digestibilidade dos nutrientes do estilosantes Mineirão (Silva et al., 2009).

Silva et al. (2009) estimaram os coeficientes de digestibilidade de diversos alimentos volumosos através de ensaio de digestibilidade com equinos adultos, com a utilização da técnica dos sacos móveis. Avaliaram-se sete alimentos volumosos, sendo que, seis foram leguminosas. Os autores observaram os coeficientes de digestibilidade aparente da MS, MO, PB, FDN, FDA e EB do estilosantes Mineirão, com valores de 75,6; 76,4; 94,9, 53,3, 53,5, 75,6%, respectivamente. Além disso, descreveram a composição nutricional do volumoso, que apresentou 16,2% de PB, 47,5% de FDN e 33,3% de FDA, e idade de corte descrita pelos autores entre 60 a 90 dias.

No presente ensaio, o feno de estilosantes Mineirão apresentou menor teor protéico de 11,1% de PB, 67,6% de FDN, 46,6% de FDA e foi cortada aos 137 dias, idade mais tardia que no experimento de Silva et al. (2009). Provavelmente, o estágio de maturidade reduziu os teores de PB e elevou as frações fibrosas, prejudicando, conseqüentemente, a digestibilidade dos nutrientes. Fato confirmado, uma vez que os coeficientes de digestibilidade observados foram menores neste estudo, quando comparados aos observados por Silva et al. (2009).

Não foram encontrados na literatura, trabalhos avaliando os coeficientes de digestibilidade aparente do feno de Campo Grande na espécie equina, para efeito de comparação com os resultados do presente trabalho.

A semelhança na digestibilidade dos nutrientes da dieta contendo feno de alfafa comparada aos fenos de estilosantes foi um bom indicativo, levando em consideração, que as leguminosas sugeridas para serem utilizadas na alimentação dos equinos se desenvolvem em solos ácidos e de baixa fertilidade e necessitam de baixos índices pluviométricos para manutenção do seu crescimento (Skerman et al., 1991). Tornando-se uma possibilidade para utilização em regiões que apresentem dadas condições, principalmente no caso do feno de estilosantes Campo Grande, pois este alimento volumoso não apresentou diferença no consumo de matéria seca quando comparado com o feno de alfafa. No entanto, pesquisas devem ser realizadas para avaliação do desempenho dos animais com suplementação única ou combinada dos estilosantes com outras forrageiras.

CONCLUSÃO

O feno de estilosantes Campo Grande pode ser utilizado como alternativa para compor a dieta de potros desmamados, pois apresenta consumo semelhante ao da alfafa, proporciona semelhante ganho de peso. Além de aumentar as possibilidades de estratégia alimentar na propriedade. O feno de Campo Grande deve ser confeccionado antes dos 137 dias de desenvolvimento vegetativo. O feno de estilosantes Mineirão não apresenta palatabilidade a potras quando confeccionado aos 137 dias de crescimento. A estimativa de consumo de matéria seca através do indicador LIPE[®] é satisfatória em equinos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, M.I.V.; FERREIRA, W.M.; ALMEIDA, F.Q. et al. Valor nutritivo do capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum), do feno de alfafa (*Medicago sativa*, L.) e do feno de capim coast-cross (*Cynodon dactylon*, L.) para equinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 28, n. 4, p. 743-752, 1999.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY – AOAC. **Official Methods of Analysis**. 16 ed. Arlington: AOAC International, 1995, 1025p.
- CROZIER, J.A.; ALLEN, V.G.; JACK, N.E. et al. Digestibility, apparent mineral absorption, and voluntary intake by horses fed Alfafa, Tall fescue, and Caucasian Bluestem. **Journal of Animal Science**, v.75, p.1651-1658, 1997.
- DITTRICH, J.R.; CARVALHO, P.C.F.; MORAES, A. et al. Preferência de equinos em pastejo: efeito da altura de dosséis de gramíneas do gênero *Cynodon*. **Archives of Veterinary Science**, v. 10, n. 2, p. 61-67, 2005.
- DOMINGUES, J L. Uso de volumosos conservados na alimentação de equinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 259-269, 2009 (suplemento especial).
- FERREIRA, S.C.; GONÇALVES, L.C.; REZENDE, A.S.C. et al. Avaliação do consumo e da digestibilidade do capim elefante (*Pennisetum purpureum*) picado e do feno de guandu (*Cajanus cajan*) desintegrado em equinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.47, n.2, p. 239-248, 1995.
- HADDAD, C.M.; CASTRO, F.G.F. Produção de Feno. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 15, Piracicaba, 1998. **Anais...**Piracicaba: FEALQ/ESALQ, 1998. p.151-171.
- LaCASHA, P.A.; BRADY, H.A.; ALLEN, V.G. et al. Voluntary intake, digestibility and subsequent selection of matua bromegrass, coastal bermudagrass, and alfafa hays by yearling horses. **Journal Animal Science**, v. 77, p. 2766-2773, 1999.
- LANZETTA, V.A.S.; REZENDE, A.S.C.; SALIBA, E.O.S. et al. Validação do LIPE como método para determinar a digestibilidade dos nutrientes em equinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.1, p. 69-74, 2009.
- LIMA, R.A.S.; SHIROTA R.; BARROS, G.S.C. **Estudo do complexo do agronegócio cavalo**. 1 Ed. Piracicaba: ESALQ/USP, 2006, 250p.
- MANZANO, A. NOVAES, N.J.; CARVAVALHO, R.T.L. Substituição do feno de alfafa por feno de Rhodes no desempenho de equinos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 14, n. 3, p. 229-235, 1979.
- MANZANO, A.; MANZANO, M.F.F.L. Utilização do guandu (*Cajanus cajan* (L) Millsp) na alimentação de equinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 19, n. 6, p. 459-469, 1990.
- MARTIN-ROSSET, W.; DULPHY, J.P. Digestibility interactions between forages and concentrate in horses: influence of feeding level-comparison with sheep. **Livestock Production Science**, v. 17, p. 263-276, 1987.
- NUTRIENT requirements of horses**, Washington: National Academy Press, 2007, 6. Ed. 341p.

REZENDE, A.S.C.; SAMPAIO, I.B.M.; LAGORRETA, G.L. et al. Efeito de dois diferentes programas nutricionais sobre o desenvolvimento corporal de potros Mangalarga Marchador. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 2, p. 495-501, 2000.

REZENDE, A.S.C.; VELOSO, J.A.F.; VAL, L.L. et al. Efeito do nível protéico do concentrado suplementar sobre o crescimento de potros da raça Mangalarga Marchador. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 38, n. 6, p. 927-41, 1986

SALIBA, E.O.S. (Coord.). Mini Curso sobre o uso de indicadores. In: TELECONFERÊNCIA SOBRE INDICADORES EM NUTRIÇÃO ANIMAL, 1, 2005, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte. Escola de Veterinária/UFMG, 2005. p. 23-25.

SANTOS, E.M.; ALMEIDA, F.Q.; VIEIRA, A.A. et al. Lactação em éguas Mangalarga Marchador: Produção e composição do leite e ganho de peso dos potros lactentes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.2, p.627-634, 2005.

SILVA, V.P.; ALMEIDA, F.Q.; MORGADO, E.S. et al. Digestibilidade dos nutrientes de alimentos volumosos determinada pela técnica dos sacos móveis em equinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.1, p. 82-89, 2009.

SKERMAN, P.J.; CAMERON, D.G.; RIVEROS, F. **Leguminosas forrajeras tropicales** (nº2). Roma. FAO, 1991, 707pg.

TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. A two stage technique for *in vitro* digestion of forage crops. **Journal of British Grassland Society**. v. 18, p. 104–111, 1963.

TODD, L.K.; SAUER, W.C.; CHRISTOPHERSON, R.J. et al. The effect of feeding different forms of alfafa on nutrient digestibility and voluntary intake in horses. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.73, p.1-8, 1995.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. UFV. **Sistema de análises estatísticas e genéticas - SAEG**. Versão 8.0. Viçosa, MG, 2000. 142p.

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

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.P; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3583-3597, 1995.

CAPITULO TRÊS

DIGESTÃO *IN VITRO* E *IN SITU* DE LEGUMINOSAS DESTINADAS AO CONSUMO EQUINO

RESUMO

Objetivou-se avaliar a qualidade nutricional e a cinética de digestão dos nutrientes *de leguminosas in situ* e através da produção de gases. Foram utilizados os fenos de alfafa, estilosantes Campo Grande e o estilosantes Mineirão *in natura* ou pré-digeridos *in vitro*. Primeiramente, realizou-se um ensaio de pré-digestão dos alimentos. O resíduo gerado foi utilizado em dois ensaios subsequentes, sendo um *in situ* e outro *in vitro*. No ensaio *in situ* foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial 3x8. O ajuste da degradação dos nutrientes foi realizado de acordo com o modelo de Orskov & McDonald (1979). Utilizou-se uma égua de 7 anos, com 250 Kg PV, fistulada no ceco. No terceiro ensaio avaliaram-se os três fenos digeridos ou não através da técnica semi-automática de produção de gases, em um delineamento inteiramente casualizado em parcela subdividida. Utilizaram-se três equinos fistulados no cólon dorsal direito como doadores de inóculo. As produções de gases foram ajustadas de acordo com o modelo de Pell & Schofield (1993). A fração potencialmente degradável da MS foi maior no feno de alfafa, Campo Grande e Mineirão, com valores de 53,1; 45,7 e 43,2%, respectivamente. E as taxas de degradação, com valores de 15; 14,2 e 13,3%h⁻¹, respectivamente. O feno de Campo Grande apresentou degradação efetiva da proteína bruta superior. Não houve diferença (P>0,05) na degradação cecal *in situ* média do FDN nos fenos avaliados. O volume máximo de gases produzidos em 48 horas foi semelhante entre os fenos de ALF e CG tanto na forma *in natura*, quanto digeridos. O estilosantes Mineirão apresentou menor (P<0,05) volume final de produção de gases, nas duas formas de apresentação. Os alimentos digeridos enzimaticamente não ajustaram ao modelo de fermentação proposto. O feno de estilosantes Campo Grande apresenta maior degradação efetiva do conteúdo de proteína bruta. A produção de gases dos fenos de alfafa e Campo Grande *in natura* ou pré-digeridos apresentam semelhante capacidade de produção final de gases. A digestão *in vitro* influencia a cinética de produção de gases.

Palavras-chave: fermentação, gases, modelo, parâmetro, pressão, taxa

IN VITRO AND IN SITU DIGESTION OF LEGUMES FOR HORSE FEEDING

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the nutritional value and kinetics digestion of legumes hay by in situ and gas production technique. The hays Lucerne (LUC), stylo Campo Grande (CG) and stylo Mineirão (M) were evaluated in natura and pre-digested. First of all there was a predigestion trial of hays. The residue generated was used in two others assays, one in situ and other in vitro. The design used for in situ procedure was entirely randomized in factorial 3x8 arrangement. The nutrient adjustment profile was proceeded by Orskov & McDonald (1979) model. As incubation site one crossbreed horse fitted at caecum was used. The third assay evaluated hays in natura and predigested by gas production technique, which used as experimental design a split-plot randomized blocs with 3 repetitions. As inoculums donors 3 crossbreed horses fitted at right dorsal colon were used. The gas production profile was adjusted by Pell & Schofield (1993) model. The potential degradable fraction of DM was higher for LUC, CG and M, with values of 53.1; 45.7 e 43.2%, respectively. The degradation rate followed the order, with values of 15; 14.2 e 13.3%h⁻¹. The effective protein degradability was higher for CG hay. No difference was observed (P<0.05) among NDF caecal in situ degradation of predigested hays evaluated. The maximum gas production at 48 hours was the same between LUC and CG hay as in natura as predigested. Less final gas production (P<0.05) was observed on M hay into both presentation forms. Digested legume hays do not adjust to usually applied models for gas production. The CG hay present higher protein effective degradability. LUC and CG hay as in natura as predigested demonstrate the same final capacity of gas production. The predigestion influences gas production profile.

Keywords: fermentation, gas, model, parameter, pressure, rate

INTRODUÇÃO

A determinação da composição químico-bromatológica e da digestibilidade dos nutrientes de forrageiras utilizadas em dietas para equinos, permite caracterizar a qualidade do alimento. Portanto, a estimativa da digestibilidade dos nutrientes é imprescindível e, o processo normalmente utilizado consiste em medir diretamente o consumo e a excreção fecal durante certo período de tempo (Pereira et al., 1995).

A coleta total de fezes foi a primeira metodologia a ser desenvolvida para se estimar a qualidade dos nutrientes. Contudo, permite avaliar somente a digestibilidade, isto é, coeficientes estáticos. Até certo tempo, conhecer os coeficientes de digestibilidade dos nutrientes bastava para qualificar um alimento volumoso. Entretanto, este valor unicamente não é suficiente na compreensão da cinética de todo o complexo processo digestivo dos equinos.

Parte do processo digestivo é realizada através da fermentação dos resíduos que resistem, ou que escapam sem ser devidamente digeridos e absorvidos pela digestão ácida e básica da região proximal do trato gastrointestinal. Consequentemente, os nutrientes que chegam na câmara fermentativa ceco-cólon, são na sua maioria representados pela fibra dietética, ou pelos carboidratos estruturais. Os ácidos graxos voláteis (AGV) originam-se através da fermentação dos carboidratos no intestino grosso pela ação degradativa das bactérias fibrilíticas. Ácidos graxos voláteis também podem ser utilizados na produção energética. De modo que, somente no ceco, a produção de AGV pode ser suficiente para suprir 30% da energia de manutenção (Glinsky et al., 1976).

Portanto, a avaliação minuciosa dos nutrientes contidos nos alimentos volumosos fornecidos aos equinos tornou-se uma ferramenta importante na busca do maior desempenho animal. Assim, novas técnicas de avaliação dos alimentos foram se desenvolvendo. Estudos sobre a atividade fermentativa, capacidade de degradação e interações microbianas no trato gastrintestinal de animais monogástricos ou ruminantes, nem sempre requerem ensaios de coleta total de fezes.

Tendo como objetivo tornar o procedimento de avaliação dos alimentos mais rápido e versátil, novas técnicas podem ser empregadas na nutrição equina, tais como a descrita por Abdouli & Ben Attia (2007) que desenvolveram uma técnica de digestão *in vitro* em dois estágios para avaliação de alimentos para equinos. No estudo, os autores simularam a digestão ácida e básica. Sendo que, inicialmente os alimentos moídos a 1mm foram digeridos em solução de pepsina com pH igual a 2, e, seqüencialmente uma digestão efetuada com alfa-amilase com pH de 6,8. Ao término da primeira etapa, os resíduos foram filtrados em tecido de 42 µ. Observaram valores de digestibilidade enzimática da MO do feno de aveia, grão de cevada e do grão de soja de 18,8; 44,1 e 54,4%, respectivamente. Os autores concluíram que a rotina de estimativa da digestibilidade *in vitro* dos alimentos tem que ser ampliada em uso, e validada com alimentos de digestibilidade já conhecida.

Outras técnicas também podem ser utilizadas como a *in situ* (Hyslop, 2006) ou a técnica *in vitro* semi-automatizada de produção de gases, descrita por Maurício et al. (1999). Metodologia que foi inicialmente desenvolvida para ruminantes, contudo, existe interesse de sua padronização para a espécie equina, por ser capaz de avaliar diversos alimentos em curto período de tempo, e, além disso, proporcionar esclarecimentos sobre o perfil de fermentação dos alimentos volumosos.

Segundo Willians (2000) a técnica de produção de gases avalia somente a fermentação, ao invés da digestibilidade de todo o trato digestivo. Neste aspecto, a introdução de uma etapa de digestão do substrato, previamente a fermentação poderia auxiliar na observação dos parâmetros de produção de gases e, assim, gerar informações mais precisas para estimar a qualidade dos volumosos em estudos de fermentação *in vitro* e degradação *in situ* em equinos. Uma outra possibilidade quando se faz uso da técnica de produção de gases, é que no caso dos equinos, a aplicação dos modelos que descrevem a fermentação pode auxiliar a compreensão da qualidade dos carboidratos que são fermentados no ceco-cólon.

Os modelos compartimentais subdividem o tempo total despendido durante a digestão, em tempos específicos de cada segmento intestinal, e assim, caracterizam o tipo de digestão e o tempo para sua realização (Cuddeford, 2001).

Objetivou-se avaliar a qualidade nutricional dos fenos de alfafa e dos estilosantes Campo Grande e Mineirão, bem como a disponibilidade dos nutrientes que compunham os diferentes fenos de leguminosas por meio de técnicas de digestão *in vitro* e *in situ*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios deste estudo foram realizados no Laboratório de Pesquisas em Saúde Equina – EQUILAB do Instituto de Veterinária da UFRRJ que se localiza nas coordenadas: Latitude 22° 44' 38'' Sul; Longitude 43° 42' 27'' Oeste, a 26 metros de altitude.

Os alimentos avaliados foram: o feno de alfafa (*Medicago sativa*), feno do estilosantes Campo Grande⁵ (mistura física de 20% *Stylosanthes macrocephala* e 80% de *Stylosanthes capitata*) e o feno de estilosantes Mineirão (*Stylosanthes guianensis* cv. Mineirão). Os fenos de estilosantes Mineirão e Campo Grande foram produzidos na Fazenda Santa Helena⁶ e, colhidos em três áreas distintas do campo de feno, representando repetições de campo. O feno de alfafa foi adquirido no comércio, sendo colhidas amostras de três fardos de feno diferentes. Os valores médios da composição em matéria seca (MS%), proteína bruta (PB%) e da fibra em detergente neutro (FDN%) das três amostras de feno podem ser observados na tabela 6.

Tabela 6. Valores médios da matéria seca e da proteína bruta e da fibra em detergente neutro das três amostras dos fenos de alfafa, estilosantes Campo Grande e Mineirão.

	Feno de Alfafa			Feno de Campo Grande			Feno de Mineirão		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
MS (%)	88,6	89,3	88,1	88,9	89,7	91,1	88,9	89,8	89,9
PB (%)	17,9	17,3	20,6	12,2	11,8	12,7	10,8	11,3	11,2
FDN (%)	54,1	57,2	56,6	67,1	63,9	66,4	65,7	68,3	68,6

Primeiramente, realizou-se um ensaio de pré-digestão dos alimentos. Neste momento, as amostras dos alimentos foram moídas a 2mm: Utilizou-se um delineamento em blocos ao acaso, com três tratamentos e três repetições. Os blocos foram representados pelas partidas de digestão *in vitro* necessárias para a obtenção dos resíduos. O resíduo pré-digerido foi utilizado em dois ensaios subsequentes, sendo um realizado *in situ* e outro *in vitro*, utilizando a técnica cumulativa de produção de gases.

⁶ Haras Catuni – Montes Claros/MG

O primeiro procedimento foi a pré-digestão, adaptada da metodologia descrita por Abdouli & Ben Attia (2007). Neste ensaio, foi necessário o preparo de soluções digestivas. **Solução digestiva com pepsina**⁷: solução de HCL a 0,1 M com pH ajustado para $2 \pm 0,05$ acrescida de 1,25g de pepsina /Litro de solução a 39°C. **Solução digestiva com pancreatina**⁸: solução-tampão fosfato a 0,1M, com pH ajustado para $6,8 \pm 0,02$, com 10g de pancreatina /Litro a 39°C. A cada 0,5g de matéria seca (MS) de amostra adicionaram-se 40 ml de solução com pepsina, inseridos em erlenmeyers de um litro. Em seguida, os erlenmeyers foram mantidos em banho-maria por duas horas a 39°C. Realizou-se homogeneização manual a cada hora. Após a digestão ácida, aferiu-se o pH da solução (pH1) e adicionou-se 10ml de solução tampão fosfato para cada 0,5g de amostra. Ajustou-se o pH da solução para 6,8. Somente após este procedimento, adicionou-se 2ml de solução digestiva contendo pancreatina para cada 0,5g de amostra. O procedimento prosseguiu por mais quatro horas, mantendo a frequência de homogeneização. Ao final do tempo de digestão *in vitro*, aferiu-se o pH (pH2) e, em seguida, as amostras foram filtradas em tecido de náilon 45 μ ⁹ de peso conhecido, lavadas com água destilada, etanol (95%) e acetona. Os resíduos foram colocados em estufa ventilada a 55°C por 72 horas. O resíduo remanescente da pré-digestão foi pesado para a determinação da matéria seca e dos coeficientes de digestibilidade. O resíduo foi analisado quanto ao fracionamento dos carboidratos, segundo a metodologia descrita por Hoffman et al. (2001) no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Nutrição Animal e Pastagens do Instituto de Zootecnia da UFRRJ. Os resultados das análises podem ser observados na tabela 7.

Tabela 7. Valores médios (%) da composição nutricional dos fenos nas formas de apresentação *in natura* e pré-digeridos *in vitro* na base da matéria seca.

Fenos	MS	PB	EE	MM	FDN	CNF	CHO _{-H}	CHO _{-RF}	CHO _{-totais}
Alfafa <i>in natura</i>	87,7	18,6	3,3	10,9	55,9	11,1	5,9	5,1	67,0
Alfafa pré-digerido	91,9	12,8	2,3	6,2	69,1	9,3	1,7	7,6	78,5
C. Grande <i>in natura</i>	89,9	12,2	2,3	7,9	65,8	11,6	7,0	4,5	77,4
C. Grande pré-digerido	93,1	8,6	1,3	6,1	76,3	7,5	3,3	4,1	83,8
Mineirão <i>in natura</i>	89,5	11,0	3,9	8,9	67,5	8,5	6,4	2,0	76,0
Mineirão pré-digerido	92,4	7,1	1,9	6,0	76,4	8,2	1,6	6,6	84,7

CNF: carboidrato não fibroso; CHO_{-H}: carboidrato hidrolisável; CHO_{-RF} = carboidrato rapidamente fermentável; CHO_{-totais}: carboidratos totais, segundo Hoffman et al. (2001).

Na incubação cecal *in situ* utilizou-se uma égua de 7 anos, de 250 Kg PV, fistulada no ceco, segundo metodologia adaptada de Lowe et al. (1970). A dieta basal foi fornecida as 7:00; 12:00; 17:00 e 22:00 horas, em quantidades iguais, considerando um consumo de 2% PV/dia. As necessidades nutricionais foram calculadas considerando um animal em manutenção de nível médio, segundo o NUTRIENT... (2007). A dieta foi composta por feno de *coastcross* e concentrado comercial peletizado¹⁰, na proporção de 80:20. O animal foi mantido em baia individual com água e sal mineral *ad libitum*. A higiene da cânula foi realizada duas vezes ao dia. A composição dos nutrientes do feno de capim *coastcross* e da ração comercial fornecida ao animal experimental podem ser observados na tabela 8.

⁷1:10000, Vetec®, Rio de Janeiro, Brasil.

⁸1:10000, Vetec®, Rio de Janeiro, Brasil.

⁹ Teryl®, São Paulo, Brasil.

¹⁰ Corcelina

Tabela 8. Composição nutricional (%) do feno de capim *coastcross* e do concentrado comercial.

Alimento	MS	MO	PB	EE	FDN	FDA	HEM	EB (Mcal/Kg MS)
Feno de <i>Coastcross</i>	87,4	91,8	10,5	1,9	75,7	39,3	36,4	4,1
Concentrado comercial	89,4	94,2	11,6	4,5	42,4	18,5	24,0	3,7

A metodologia para a condução do ensaio *in situ* foi adaptada dos procedimentos descritos por Huntington & Givens (1995). Foram utilizados sacos de náilon de porosidade de $45\mu^3$, com dimensões internas de 6,5 x 20cm, segundo Hyslop et al. (1999). Cada saco continha 5,0g de MS de amostra digerida na relação de 19,2 mg/cm². Na extremidade superior do saco, fixou-se um fio de náilon (45mm) marcado a 20 centímetros, para permitir livre movimentação no interior do ceco. Inseriu-se uma repetição de cada tratamento em cada tempo. A incubação dos sacos foi procedida segundo metodologia descrita por Hyslop (2006), nos tempos de 2; 4; 6; 8; 12; 24 e 48 horas.

Para a realização do ensaio *in situ* foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial 3 x 8, onde o primeiro fator foram os três alimentos, e o segundo fator o tempo em oito níveis, com três repetições. O ensaio durou 21 dias, sendo 14 para a realização das digestões *in vitro* e 15 dias de incubação *in situ*. Após a retirada dos sacos do ceco, estes foram congelados à -20°C e mantidos até o final da sequência de incubação, quando foram descongelados. A lavagem foi realizada manualmente com água corrente fria, de forma suave, até que na água utilizada não apresentasse nenhum resíduo, caracterizando a remoção das impregnações. O material perdido no tempo zero foi obtido sujeitando-se três sacos de cada tratamento ao mesmo procedimento de lavagem. Ao final deste, os sacos foram colocados em estufa ventilada (55°C) para a determinação da matéria seca ao ar. As análises para a determinação da matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e fibra em detergente neutro (FDN) foram realizadas segundo AOAC (1995) e Van Soest et al. (1991), sendo executadas no laboratório de Nutrição Animal da UFMG do Departamento de Zootecnia/EV.

O terceiro ensaio foi realizado em colaboração com o Laboratório de Produção de Gases do Departamento de Zootecnia/ EV- UFMG e Laboratório de Pesquisas em Saúde Equina – EQUILAB do Instituto de Veterinária da UFRRJ.

Os três fenos de leguminosas na sua forma de apresentação *in natura* e pré-digerida foram avaliados através da técnica de produção cumulativa de gases. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado em parcela subdividida. Sendo que os alimentos pré-digeridos ou não compuseram a parcela, e o tempo representou a sub-parcela. Os frascos contendo somente o líquido do cólon e meio de cultura (tampão) foram usados como controle (brancos). Os frascos em branco e os que continham alimentos foram avaliados em tréplica.

Foram utilizados como doadores de inóculos três equinos mestiços fistulados no cólon dorsal direito (Lopes et al., 2010), com peso vivo médio de 300Kg. Os animais foram mantidos durante o ensaio em baias próprias para equinos, no Hospital Veterinário de Grandes Animais do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Os equinos consumiram dieta exclusiva de feno de *coastcross* duas vezes ao dia, com sal mineral e água *ad libitum*.

Utilizou-se a técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases descrita por Maurício et al. (1999) que utiliza frascos de vidro calibrados para um volume de 160 ml. Os recipientes utilizados no ensaio foram previamente lavados com água destilada, secos e identificados. Borrifou-se dióxido de carbono (CO₂) no interior de cada frasco antes da introdução do alimento. Inseriu-se um grama de matéria seca ao ar de amostra dos alimentos moída a 1mm. Em seguida, prepararam-se as soluções segundo Theodorou et al. (1994). Após a redução do meio de cultura pelo CO₂, inseriu-se com o auxílio de provetas, um volume de 90 ml em cada frasco, que foi lacrado com rolha de borracha. Todos os recipientes foram colocados em caixas de isopor vazadas, formando conjuntos de 28 unidades. As caixas foram previamente identificadas e permaneceram durante a noite (12h) na estufa de ventilação forçada calibrada para 39°C, até o momento da inoculação.

Os animais doadores de inóculo foram alimentados seis horas antes da coleta, a fim de aumentar o volume da digesta presente no cólon dorsal direito. Após a higienização da cânula, somente com água, iniciou-se a coleta do inóculo. A digesta foi recolhida em garrafas térmicas pré-aquecidas com água a 39°C. O procedimento de coleta do inóculo levou 30 minutos, e o material colhido foi rapidamente processado. A digesta foi filtrada em tecido poroso de 43µ e armazenada em recipiente esterilizado, com temperatura de 39°C e constantemente borrifado com CO₂.

Após a obtenção de 4L de digesta filtrada, iniciou-se a inoculação dos frascos. Utilizou-se uma seringa de 10ml no processo. Sequencialmente, foram retiradas as caixas da estufa, em partidas de 28 unidades. Cada frasco foi aberto por ordem numérica. Primeiramente, inseriu-se por alguns segundos CO₂, em seguida, colocou-se 10 mL de inóculo e imediatamente fechou-se com a rolha de borracha. Os frascos de cada caixa foram despressurizados individualmente com a inserção de uma agulha, e após a retirada, foram agitados e colocados novamente na estufa. Este procedimento foi repetido até completar todas as caixas. O tempo da finalização da primeira caixa foi anotado, a partir desse tempo, determinaram-se os horários de leitura da pressão.

As leituras foram efetuadas nos tempos 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 18, 21, 24, 28, 32, 36, 40 e 48 horas. A pressão originada dos gases acumulados do processo de fermentação foi medida por meio de um transdutor de pressão tipo T443A (Bailey e Mackey, Inglaterra). A mensuração foi realizada conectando-se uma agulha ao transdutor que perfurou o lacre de borracha. A leitura da pressão (psi = pressão por polegada quadrada) foi observada em um “Display” e digitou-se o valor em planilha. Durante a leitura, as agulhas foram mantidas nos frascos até que o último do conjunto fosse lido, somente nesse momento, retiraram-se às agulhas de todos e, então, a caixa foi agitada e reposta na estufa.

Realizou-se a análise de variância das variáveis do primeiro ensaio: pH 1, pH 2 e das digestibilidades enzimáticas, e as médias foram comparadas através do teste de Student Newman-Keuls (5%). Realizou-se análise de variância das variáveis do segundo ensaio: degradação da MS, PB e FDN e as médias foram comparadas através do teste de Student Newman-Keuls (5%). No ensaio três, realizou-se análise de variância da produção cumulativa dos gases e foi comparada através do teste Scott-Knott (5%). As estimativas das degradações *in situ* da MS, PB e FDN do segundo ensaio foram ajustadas segundo o modelo proposto por Orskov & McDonald (1979).

$$d = a + b (1 - e^{-c \cdot t});$$

Onde:

d = é a degradação ocorrida no tempo ‘t’;

a = é a fração solúvel;

b = é a fração insolúvel potencialmente degradável;

c = é a taxa de degradação da fração ‘b’;

t = tempo da incubação.

Os limites utilizados para efetuar a regressão não linear (Marquat) do ensaio de degradação realizado *in situ* foram: MS= (a= 0, 20, 5); (b= 10, 60, 20); (c= 0.02, 0.155, 0.05). Limites da regressão não linear da PB= (a= 0, 20, 5); (b= 10, 80, 20); (c= 0.02, 0.2, 0.05). Limites da regressão não linear da FDN= (a= 0, 40, 10); (b= 20, 100, 50); (c= 0.01, 1, 0.05).

$$DE = a + [(b * c) / (c + k)],$$

em que:

DE = degradabilidade efetiva;

a = é a fração solúvel;

b = é a fração insolúvel potencialmente degradável;

c = é a taxa de degradação

k = Taxa de passagem

O valor da taxa de passagem utilizada para a estimativa da degradabilidade efetiva foi segundo Hyslop et al. (1999), que utilizaram como taxas de passagem (k) valores de 0,05 e 0,025 em um modelo tempo independente.

As estimativas dos parâmetros de produção de gases foram calculados segundo o modelo proposto por Pell & Schofield (1993).

$$V(t) = Vf_1/(1+\exp(2-4*c_1*(T-L))) + Vf_2/(1+\exp(2-4*c_2*(T-L))),$$

em que:

Vf_1 = volume máximo de gases da fração de Carboidrato não Fibroso (CNF)

C_1 = taxa de digestão para a fração de CNF

L = latência ou tempo de colonização

Vf_2 = volume máximo de gás da fração de Carboidratos Fibrosos (CF)

C_2 = taxa de digestão para a fração de CF

T = Tempo de fermentação

As amplitudes dos parâmetros utilizados para efetuar a regressão não linear do ensaio de produção de gases foram: ($V_2= 50, 340, 150$); ($C_2= 0.00001, 1, 0.02$); ($C_1= -1, 1, 0.10$); ($L=1,10,1.45$); ($V_1= 0.0001, 120, 60$).

As análises foram realizadas utilizando-se o Sistema de Análises Estatísticas-SAEG (UFV-2000) e SISVAR. Este trabalho foi registrado no Comitê de Ética para Experimentação Animal (CETEA/UFMG), N° 124/08.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores dos pHs finais das digestões ácida e básica *in vitro* e os valores e da digestibilidade enzimática da MSe e PBe (%) podem ser observados na tabela 9.

Tabela 9. Médias dos valores de pH finais das digestões ácida e básica *in vitro* e os valores da digestão enzimática *in vitro* da Matéria Seca e da Proteína Bruta.

Fenos	pH		Pré-digestão <i>in vitro</i> (%)	
	1	2	MSe	PBe
Alfafa	3,42 ^a	7,02	37,9 ^a	42,5 ^c
Estilosantes Campo Grande	2,81 ^b	6,97	26,4 ^b	52,1 ^a
Estilosantes Mineirão	2,87 ^b	6,96	25,8 ^b	48,2 ^b
CV (%)	3,8	0,5	11,8	9,06

Médias seguidas de mesma letra, nas colunas não diferem entre si pelo teste de SNK (5%).

A mensuração do pH ao final das etapas de digestão ácida e básica *in vitro* foi realizada com o intuito de verificar a estabilidade da solução digestiva. Observou-se que houve alteração do pH 1 entre os alimentos. Sendo que o feno de alfafa apresentou maiores valores finais ($P<0,05$), quando comparados aos fenos de estilosantes. A variação pode ter ocorrido em função da solubilização dos nutrientes que elevaram o pH, ou pelo fato da solução tampão não ter mantido o pH. No segundo momento, o pH 2 que caracterizou a digestão básica, manteve-se estável e não diferiu ($P>0,05$) entre os tratamentos.

A digestão fermentativa ocorrida no ceco do cavalo é similar à digestão que ocorre no rúmem, entretanto, a microbiota ruminal digere alimento fresco, enquanto que os microorganismos do ceco digerem alimentos parcialmente digeridos (Applegate & Hershberger, 1969). Neste aspecto, através da

adaptação da técnica desenvolvida por Abdouli & Ben Attia (2007) que simula de maneira *in vitro* a digestão pré-cecal de equinos, buscou-se estimar as digestibilidades enzimáticas, principalmente da matéria seca e proteína bruta. Em seguida, os resíduos foram utilizados em ensaios subseqüentes, a fim de compreender o perfil de fermentação.

Quanto aos valores de pré-digestibilidade dos fenos, observou-se que a digestibilidade enzimática da MS foi maior no feno de alfafa, com valor de 37,9%. Enquanto que, foi semelhante entre os estilosantes, com valores de 26,4 e 25,8% DMSe. Caracterizando, neste caso, maior proporção de nutrientes solúveis na composição da alfafa. Além disso, pode-se inferir que, em condições reais de digestão, a quantidade de nutrientes passíveis de serem digeridos e, conseqüentemente, absorvidos pelo intestino proximal podem ser maiores no feno de alfafa.

Com o intuito de determinar os valores da digestão pré-cecal de quatro dietas experimentais, Moore-Colyer et al. (2002) inseriram sacos de náilon no estômago dos equinos e coletaram parte dos sacos através da fístula cecal. Consideraram que o material desaparecido do interior dos sacos, tivesse sido digerido e, que representava a digestão pré-cecal. Além disso, observaram o valor de digestão proximal da MS da dieta composta por feno em cubos de 32,7%. A composição nutricional desta dieta foi de 8,2% de PB, 62,3% de FDN e 35,4% de FDA. Apesar do valor da digestibilidade ter sido próximo aos observados no presente estudo, que também utilizou feno como alimento volumoso, a metodologia distinta para determinar a digestibilidade pré-cecal não permitiu comparações. De acordo com o NUTRIENT... (2007), a proteína dietética é digerida principalmente na porção proximal do trato digestivo, através da digestão enzimática do estômago e intestino delgado. No estômago, a ação da pepsina inicia a quebra da proteína e, pela ação das proteases pancreáticas a digestão continua no intestino delgado. Observou-se que a digestão enzimática *in vitro* da proteína diferiu entre todos os fenos, sendo maior no estilosantes Campo Grande, Mineirão e alfafa, com valores de 52,1; 48,2 e 42,5%, respectivamente. Muito embora, os teores de proteína bruta médio observados nos fenos de estilosantes de 12,2 e 11,1%, sejam menores quando comparados aos da alfafa de 18,6% de PB. A maior solubilidade *in vitro* observada das proteínas presentes nos fenos de estilosantes conferiu a estas duas leguminosas, nas condições de valor nutricional do presente estudo, aumento da disponibilidade protéica, que no caso do Campo Grande, foi mais próximo da disponibilidade da alfafa.

Gibbs et al. (1988) utilizaram pôneis fistulados no ceco e, observaram valores de digestão pré-cecal do feno de alfafa de 28,5%, valores inferiores aos observados no presente estudo de 42,5%. Provavelmente, muito embora a composição bromatológica dos fenos de alfafa tenham sido semelhantes entre os ensaios, a diferença entre os valores de digestibilidade pré-cecal tenha ocorrido devido à diferença de metodologia adotada nas avaliações.

Não foram encontrados trabalhos que apresentassem resultados de digestibilidade pré-cecal das leguminosas estilosantes em equinos.

Moore-Colyer et al. (2002) observaram que 52% da proteína bruta presente no interior dos sacos de náilon desapareceram entre o momento em que foram inseridos diretamente no estomago, até quando foram coletados no ceco. Este evento, caracterizou a digestão pré-cecal da PB do feno em cubos. Com o mesmo objetivo, entretanto, utilizando metodologias distintas Moore-Colyer et al. (2002) e o presente estudo buscaram caracterizar a digestão proximal.

A realização da simulação da digestão proximal *in vitro* permitiu que, o erro associado com a incubação cecal do alimento original, sobre as estimativas dos parâmetros de degradação *in situ*, pudesse ser evitado. Desta forma, considerou-se que os perfis de degradação da MS, PB e FDN, representaram com maior precisão, a digesta que realmente chega na câmara fermentativa. Na tabela 10. podem ser observadas as médias de degradação cecal *in situ* da MS, PB e FDN dos fenos de leguminosas pré-digeridas *in vitro* ao longo do tempo.

Tabela 10. Médias de degradação cecal *in situ* da matéria seca dos fenos de leguminosas pré-digeridas *in vitro* ao longo do tempo.

Fenos	Degradação <i>in situ</i> da MS (%)								
	Tempo (horas)								
	0	2	4	6	8	12	24	48	Média
Alfafa	5,0 ^a	15,6 ^a	23,9 ^a	33,7 ^a	43,5 ^a	49,6 ^a	53,5 ^a	55,6 ^a	35,1 ^a
Estilosantes Campo Grande	4,7 ^a	10,4 ^a	20,7 ^a	31,0 ^a	36,4 ^b	39,2 ^b	44,2 ^b	49,8 ^a	29,5 ^b
Estilosantes Mineirão	5,5 ^a	10,7 ^a	25,7 ^a	28,0 ^a	34,2 ^b	38,1 ^b	43,3 ^b	49,8 ^a	29,4 ^b
CV (%)	12,3								

Médias seguidas de mesma letra, nas colunas não diferem entre si pelo teste de SNK (5%).

Observou-se que a degradação cecal *in situ* média da MS diferiu ($P < 0,05$) entre os alimentos, com valor superior da alfafa de 35,1%, quando comparados aos dois tipos de fenos de estilosantes, que não diferiram entre si. Os valores médios de degradação da matéria seca foram ajustados ao modelo proposto por Ørskov & McDonald (1979) e os parâmetros do modelo podem ser observados na tabela 11.

Tabela 11. Estimativas dos parâmetros da degradação cecal *in situ* da MS dos fenos de leguminosas pré-digeridas *in vitro* e degradação efetiva.

Nutriente	Parâmetros	alfafa	Estilosantes Campo Grande	Estilosantes Mineirão
MS	a (%)	3,1 ^{ns}	2,64 ^{ns}	4,5 [*]
	b (%)	53,1 ^{***}	45,7 ^{***}	43,2 ^{***}
	c (%h ⁻¹)	15,0 ^{***}	14,2 ^{***}	13,3 ^{***}
	D. efetiva (k ₁)	48,6	41,5	40,9
	D. efetiva (k ₂)	42,9	36,4	35,9
	R ²	93,5	95,8	93,8

Significância dos parâmetros do modelo *** ($P < 0,001$); ** ($P < 0,01$); * ($P < 0,05$); ^{ns} ($P > 0,05$); Degradação Efetiva = $a+bc/(c+k)$, onde $k_1 = 0,025$; $k_2 = 0,05$.

Não houve ajuste do parâmetro “a” do perfil de degradação do feno de alfafa e estilosantes Campo Grande. Muito provavelmente, em decorrência da remoção dos nutrientes solúveis. Entretanto, o mesmo não foi observado no feno de estilosantes Mineirão, isto porque, este volumoso apresentou teor de carboidratos rapidamente fermentáveis de 6,6% após a digestão *in vitro*.

Segundo Van Soest (1994) a fibra solúvel é resistente à digestão enzimática dos mamíferos e é composta por gomas, pectinas, mucilagens, fructanas e alguns oligossacarídeos (Hoffman et al., 2001), que não são fisicamente fibrosos. E uma característica importante das pectinas, observada por Potty (1996), foi de que em presença de açúcar e de ácido, ela assumiu a forma física de gel. Portanto, justificou-se que o parâmetro “a” maior no Mineirão ocorreu, porque a pectina formou gel durante a digestão ácida e somente parte dela foi removida durante a filtragem final. De modo que, o alimento ao ser incubado *in situ* apresentava resíduos deste substrato.

A fração potencialmente degradável (b) foi maior para o feno de alfafa, estilosantes Campo Grande e estilosantes Mineirão, com valores de 53,1; 45,7 e 43,2%, respectivamente. E as taxas de degradação, seguiram a mesma tendência, com valores de 15; 14,2 e 13,3%h⁻¹.

Valores de degradação da MS do feno de alfafa e estilosantes Mineirão, incubados *in situ* no ceco, foram observados por Silva et al. (2010), entretanto, estes autores incubaram os volumosos na forma *in natura*. Observaram valores superiores do parâmetro “a” tanto na alfafa de 23,6%, quanto para o Mineirão de 30,3%. As diferenças observadas em relação aos dados do presente ensaio eram esperadas, devido à forma de apresentação do volumoso. Contudo, não houve grande oscilação do parâmetro “b” e “c” do feno de estilosantes, ao se comparar os dados observados por Silva et al. (2010), com os do presente ensaio. Mesmo após a digestão *in vitro*, a fração fibra do Mineirão apresentou parâmetros similares aos descritos por Silva et al. (2010), o que possivelmente indicou que

a digestão enzimática pouco influenciou os componentes fibrosos avaliados através da técnica *in situ* na leguminosa estilosantes Mineirão.

Consideraram-se como taxas de passagem (k) valores de 0,025 e 0,05 (Hyslop et al., 1999) na estimativa da degradação efetiva dos nutrientes. Observaram-se maiores valores de 48,6 e 42,9 % na degradação da MS do feno de alfafa. O estilosantes Campo Grande apresentou valores intermediários e o feno de estilosantes Mineirão foi o de menor valor da degradação efetiva da MS, com valores de 40,9 e 35,9%.

A compreensão da cinética da degradação da fibra nos equinos foi estudada por Úden & Van Soest (1984) e descreveram conceitos importantes sobre a degradação efetiva, pois se a taxa de fermentação e a taxa de passagem puderem ser quantificadas, ou de alguma forma, descritas matematicamente, essas informações poderiam ser combinadas. E então, poder-se-ia estimar a degradação da fibra de acordo com a taxa de passagem. Isto porque, o tempo médio de retenção da digesta *in vivo* não é equivalente ao tempo de incubação *in situ* ou *in vitro*. O ambiente *in vivo* apresenta competição entre a passagem e a digestão dos nutrientes disponíveis, o que resultará teoricamente em uma digestibilidade mais baixa, do que se fosse realizada a incubação, sendo esta de qualquer gênero, para o mesmo período de tempo.

Neste aspecto, Silva et al. (2010) incubaram alimentos *in situ* no ceco de equinos, entretanto, os autores descreveram apenas o valor final da degradação em 48 horas, e não consideraram a taxa de passagem. Assim sendo, observaram a degradação da MS do feno de alfafa e estilosantes Mineirão de 62,1 e 76,7%. Deve-se considerar, para efeito de comparação, que os valores obtidos por Silva et al. (2010) levaram em consideração o alimento incubado na forma *in natura* e as diferenças de maturação entre os alimentos. Portanto, no presente estudo, que utilizou resíduo da digestão enzimática *in vitro*, os valores observados de degradação efetiva diferiram dos descritos por Silva et al. (2010).

Um outro ensaio que descreveu a degradação efetiva da MS foi realizado por Hyslop (2006) que utilizou sacos de náilon contendo alimentos volumosos, sendo um deles a alfafa desidratada. Observou que a degradação efetiva da MS deste alimento foi de 59,3%. Contudo, não descreveu em seu estudo qual a taxa de passagem por ele considerada.

Na figura 4. pode-se observar o perfil de degradação da matéria seca das leguminosas digeridas enzimaticamente *in vitro*.

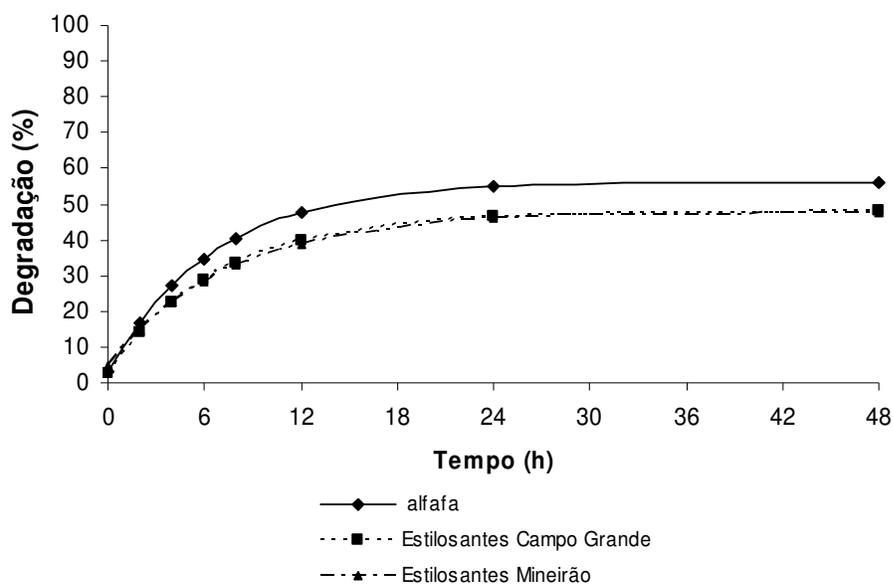


Figura 4. Perfil da cinética de degradação da MS dos fenos digeridos *in vitro* enzimaticamente.

Na tabela 12 podem ser observadas as médias de degradação cecal *in situ* da proteína bruta (PB%) dos fenos de leguminosas pré-digeridas *in vitro* ao longo do tempo. Observou-se que houve diferença entre a degradação média dos alimentos volumosos. O feno de estilosantes Campo Grande digerido *in vitro* apresentou valor médio superior de 56,2%, comparados aos da alfafa de 50,5%, e o estilosantes Mineirão com valor de 43,2%, demonstrando maior solubilidade do conteúdo da proteína remanescente.

Tabela 12. Médias de degradação cecal *in situ* da proteína bruta (PB) dos fenos de leguminosas pré-digeridas *in vitro* ao longo do tempo.

Fenos	Degradação <i>in situ</i> da PB (%)								Média
	Tempo (horas)								
	0	2	4	6	8	12	24	48	
Alfafa	12,5 ^a	22,2 ^a	31,3 ^a	46,1 ^b	61,4 ^a	73,1 ^a	77,1 ^a	80,0 ^a	50,5 ^b
Estilosantes Campo Grande	14,2 ^a	28,9 ^a	41,8 ^a	60,5 ^a	71,1 ^a	75,1 ^a	77,6 ^a	80,2 ^a	56,2 ^a
Estilosantes Mineirão	12,3 ^a	6,1 ^b	17,8 ^b	50,2 ^{ab}	53,2 ^b	63,4 ^a	70,6 ^a	72,3 ^a	43,2 ^c
CV (%)	14,3								

Médias seguidas de mesma letra, nas colunas não diferem entre si pelo teste de SNK (5%).

Ao avaliar os parâmetros do modelo de degradação da proteína na tabela 13, pode-se observar que o feno de estilosantes Campo Grande apresentou fração potencialmente fermentável de 69,9%, inferior quando comparado ao feno de Alfafa e Mineirão, com valores de 73,9 e 78,4%, respectivamente. Entretanto, o feno de Campo Grande apresentou maior conteúdo solúvel de proteína de 10,9% e taxa de 18,6 %h⁻¹. Consequentemente, esta característica conferiu a este alimento maior degradação efetiva da proteína com valores de 72,7 e 66,1%.

Tabela 13. Estimativas dos parâmetros da degradação cecal *in situ* da PB dos fenos de leguminosas pré-digeridas *in vitro* e degradação efetiva.

Nutriente	Parâmetros	alfafa	Estilosantes Campo Grande	Estilosantes Mineirão
PB	a (%)	7,9 [*]	10,9 ^{**}	0,0 ^{ns}
	b (%)	73,9 ^{***}	69,9 ^{***}	78,4 ^{***}
	c (%h ⁻¹)	13,2 ^{***}	18,6 ^{***}	13,3 ^{***}
	D. efetiva (k ₁)	70,2	72,7	66,6
	D. efetiva (k ₂)	61,6	66,1	57,7
	R ²	92,9	94,0	84,0

Significância dos parâmetros do modelo *** (P<0,001); ** (P<0,01); * (P<0,05); ^{ns} (P>0,05); Degradação Efetiva= a+bc/(c+k), onde k₁ = 0,025; k₂ = 0,05.

Ao se avaliar a degradação protéica do alimento volumoso no ceco, observou-se à qualidade da proteína remanescente da digestão enzimática *in vitro*, que contribuiu para o desenvolvimento, bem como a atividade fermentativa da microbiota presente na câmara.

Silva et al. (2010) observaram teores elevados da fração solúvel de PB no feno de alfafa e estilosantes Mineirão, na forma *in natura*, incubados *in situ* no ceco de equino. Nesta ocasião, observaram teores de 33 e 32,3%, respectivamente. Claramente, a diferença observada quando se compara com os resultados do presente estudo, com valores de 7,9 e 10,9 %, deve-se a remoção da fração solúvel da proteína, fato sugerido por Abdouli & Ben Attia (2007), pois em estudos que avaliam a cinética de degradação dos alimentos em equinos, estes deveriam sofrer previamente uma digestão a fim de simular as características nutricionais da digesta que chega no compartimento fermentativo.

A remoção da proteína solúvel pela digestão, permitiu descrever de forma mais adequada a taxa de degradação da proteína do feno de alfafa, estilosantes Campo grande e Mineirão, com valores de 13,2; 18,6 e 13,2%h⁻¹, respectivamente. Isto por que, apesar do conteúdo em PB da alfafa digerida

in vitro ter sido de 12,9%, a velocidade de disponibilidade deste substrato foi mais lenta do que a observada nos estilosantes, principalmente no caso do Campo Grande. Os resultados de taxa de fermentação observados no presente estudo podem ser mais condizentes com o biológico, pois diferiram dos resultados descritos por Silva et al. (2010), que observaram no feno de alfafa e Mineirão incubados na forma *in natura*, e observaram valores do parâmetro “c” de 17,8 e 19,1%h⁻¹, respectivamente.

Silva et al. (2010) não consideraram a taxa de passagem ao efetuar a degradação efetiva da PB, e, observaram valores de degradação em 48 horas de incubação *in situ* de 88,4 e 94,8%, respectivamente, para o feno de alfafa e estilosantes Mineirão nas formas originais. Os resultados observados no presente estudo diferiram dos descritos por Silva et al. (2010) quanto à degradação efetiva da proteína. Não foram encontrados na literatura dados para efeito de comparação com o feno de estilosantes Campo Grande.

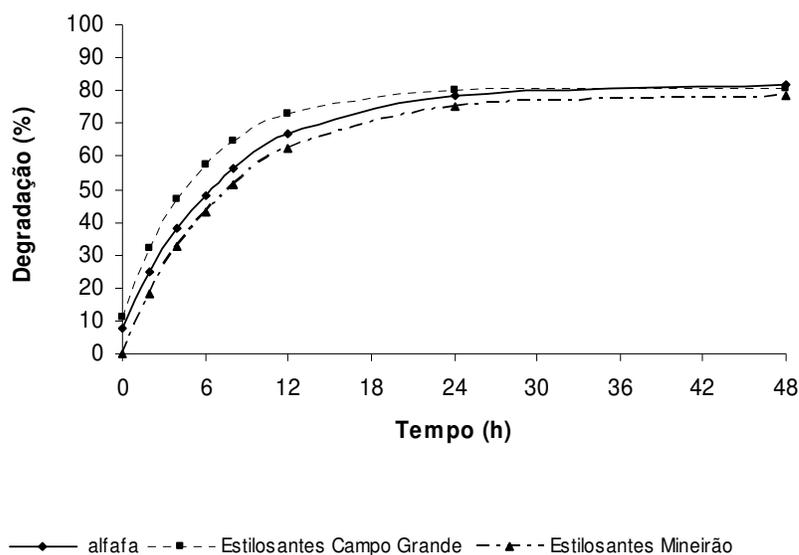


Figura 5. Perfil da cinética de degradação da PB dos fenos digeridos *in vitro* enzimaticamente.

Na tabela 14, podem ser observadas as médias de degradação cecal *in situ* da fibra em detergente neutro (FDN) dos fenos de leguminosas pré-digeridas *in vitro* ao longo do tempo.

Tabela 14. Médias de degradação cecal *in situ* da fibra em detergente neutro (FDN) dos fenos de leguminosas pré-digeridas *in vitro* ao longo do tempo.

Fenos	Degradação <i>in situ</i> da FDN (%)								Média
	Tempo (horas)								
	0	2	4	6	8	12	24	48	
Alfafa	0,2 ^b	8,2 ^a	11,6 ^b	18,6 ^a	29,6 ^a	37,0 ^a	41,5 ^a	48,7 ^a	24,4
Estilosantes Campo Grande	5,9 ^{ab}	7,9 ^a	13,3 ^b	23,3 ^a	26,7 ^a	31,8 ^{ab}	34,8 ^a	43,3 ^a	23,4
Estilosantes Mineirão	8,6 ^a	9,4 ^a	20,8 ^a	18,8 ^a	24,3 ^a	28,2 ^b	34,7 ^a	43,0 ^a	23,5
CV (%)	17,7								

Medias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de SNK (5%)

Observou-se que não houve diferença ($P < 0,05$) na degradação média cecal *in situ* do FDN entre os fenos avaliados (efeito simples). Entretanto, observou-se diferença da degradação do FDN nos tempos 0, 4, 12 horas. No instante zero, a variação ocorreu provavelmente pela presença de carboidratos que assumiram característica física de gel após a digestão enzimática *in vitro*, assim, são removidos dos sacos, quando os mesmos foram lavados em água corrente. Inicialmente, no tempo 4 horas o feno de Mineirão apresentou maior disponibilidade da fração fibrosa. Enquanto que às 12 horas o feno de alfafa foi maior comparado ao estilosantes Mineirão. Contudo, os alimentos apresentaram similar cinética de degradação *in situ*, de modo que, o ajuste de apenas uma curva foi suficiente na descrição do processo de degradação cecal da fração fibrosa das leguminosas avaliadas, assim como pode ser observado na tabela 15.

Tabela 15. Estimativas dos parâmetros médios da degradação cecal *in situ* do FDN dos fenos de leguminosas e degradação efetiva.

Parâmetros	Degradação FDN	Significância
a (%)	3,1	*
b (%)	40,74	***
c (%h ⁻¹)	9,15	***
D. efetiva (k ₁)	35,6	-
D. efetiva (k ₂)	30,0	-
R ²	98,4	

Significância dos parâmetros do modelo *** ($P < 0,001$); ** ($P < 0,01$); * ($P < 0,05$); ^{NS} ($P > 0,05$); Degradação Efetiva = $a + bc / (c + k)$, onde $k_1 = 0,025$; $k_2 = 0,05$.

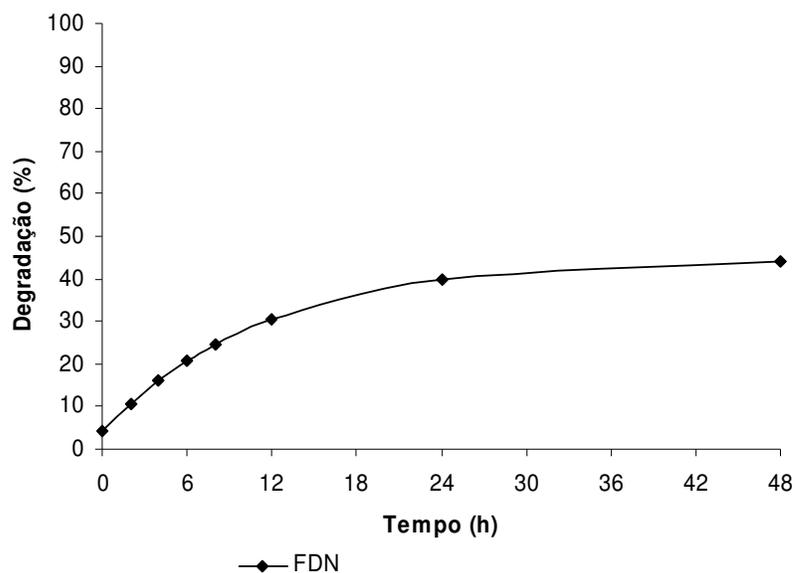


Figura 6. Perfil da cinética de degradação do FDN dos fenos digeridos *in vitro* enzimaticamente.

Esperava-se menor fração correspondente ao parâmetro “a”, haja vista que as enzimas presentes no processo digestivo dos mamíferos, segundo Van Soest (1994), são incapazes de digerir os carboidratos estruturais. Muito embora, a digestão pré-cecal tenha sido realizada *in vitro* enzimaticamente, as enzimas, bem como os tempos destinados à digestão representaram o biológico (Abdoul & Ben Attia, 2007). Assim sendo, a fração de 3,1% observada no modelo, representou as perdas de partículas através da abertura de poro, erro que está associado à metodologia *in situ*.

A fração potencialmente degradável do FDN observada no presente ensaio foi de 40,7%, valor diferente daqueles observados por Silva et al. (2010), de 38,02% e de 47,2 % para alfafa e estilosantes Mineirão, na forma de fenos incubados *in natura*, respectivamente.

A taxa de degradação do FDN de 9,15 %h⁻¹, encontrada neste trabalho, foi superior a descrita por Silva et al. (2010) para a alfafa de 7,01%h⁻¹ e, inferior a do estilosantes Mineirão de 11,37%h⁻¹.

As diferenças observadas tanto no parâmetro “b”, quanto no “a”, provavelmente, estão mais associadas às diferenças na qualidade das forrageiras do que ao efeito da digestão enzimática.

Os valores de degradação efetiva foram de 35,6 e 30%, que levaram em consideração as taxas de passagem sugeridas por Hyslop et al. (1999). Dessa forma, os resultados observados no presente ensaio diferiram dos descritos por Silva et al. (2010), que observaram que 44,4% e 52,1% de FDN das amostras dos fenos de alfafa e estilosantes Mineirão, respectivamente, que desapareceram em 48 horas. No entanto, não consideraram a taxa de passagem.

Úden & Van Soest (1984) descreveram conceitos importantes sobre degradação efetiva. Segundo estes autores se a taxa de fermentação e a taxa de passagem fossem quantificadas e/ou descritas matematicamente, seriam combinadas e então, poder-se-ia estimar a degradação da fibra de acordo com a taxa de passagem. Isto porque, o tempo médio de retenção da digesta *in vivo* não é equivalente ao tempo de incubação *in situ* ou *in vitro*. O ambiente *in vivo* apresenta competição entre a passagem e a digestão dos nutrientes disponíveis, que resultará teoricamente, em uma digestibilidade mais baixa, do que se fosse realizada a incubação *in situ* ou *in vitro*, para o mesmo período de tempo.

Considerando que o trânsito da digesta na espécie equina apresenta taxa de passagem rápida no ceco-cólon em comparação com o rúme-retículo dos ruminantes (Welyenberg et al., 2006), conseqüentemente, haverá menor tempo para ação da microbiota fibrolítica. Adicionalmente, Hyslop (2006) em revisão sobre a utilização da técnica de sacos móvel associada aos modelos de degradação na espécie equina, demonstrou que a degradação efetiva do FDN da alfafa desidratada, pode ser estimada. Hyslop (2006) observou valor de degradação efetiva do FDN de 31,4%, muito similar aos observados no presente estudo.

Abdoul & Ben Attia (2007) realizaram um ensaio objetivando padronizar uma técnica de digestão enzimática, em dois estágios, para equinos. Isto porque, observaram menor tempo de lag-fase, bem como maior produção de gases quando o alimento incubado para avaliação fermentativa, não havia sido digerido. Conseqüentemente, nos ensaios que utilizaram o processo de fermentação para avaliar a qualidade de um alimento, muitas vezes, os resultados observados poderiam não condizer com a realidade.

Os valores médios de produção de gases (ml/g MS) ao longo do tempo de incubação dos fenos na forma *in natura* e pré-digerida podem ser observados na tabela 16.

Tabela 16. Valores médios de produção de gases (ml/g MS) ao longo do tempo (horas) de incubação dos fenos na forma *in natura* e pré-digerida.

Fenos	Produção de Gases (ml/g MS)							
	Tempo (horas)							
	2	6	12	18	24	32	40	48
<i>In natura</i> Alfafa	0,30 ^a	9,3 ^b	35,1 ^b	63,4 ^b	89,7 ^b	119,7 ^a	139,9 ^a	150,5 ^a
Estilosantes Campo Grande	0,03 ^a	34,9 ^a	75,2 ^a	101,9 ^a	116,4 ^a	125,9 ^a	135,8 ^a	142,1 ^a
Estilosantes Mineirão	0,30 ^a	6,2 ^b	27,8 ^b	55,6 ^b	80,3 ^b	107,3 ^b	124,6 ^b	133,0 ^b
pré-digerido Alfafa	0,02 ^a	1,9 ^b	9,5 ^c	24,1 ^c	47,0 ^c	80,5 ^c	111,6 ^c	128,7 ^b
Estilosantes Campo Grande	0,02 ^a	3,0 ^b	12,2 ^c	27,7 ^c	54,5 ^c	89,4 ^c	112,1 ^c	123,2 ^b
Estilosantes Mineirão	0,02 ^a	1,3 ^b	5,7 ^c	15,3 ^c	31,1 ^d	69,3 ^d	98,5 ^d	110,6 ^c
CV (%)	6,49							

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (5%).

Observou-se que na primeira leitura de duas horas não houve diferença na produção de gases entre os alimentos nas suas formas normais e pré-digeridos, porque nesta fase as bactérias ainda estavam na fase de reconhecimento de substrato. Após seis horas de incubação, observou-se significativa produção de gases no feno de estilosantes Campo Grande *in natura* e de acordo com as análises bromatológicas, este alimento apresentou em sua composição maior teor de carboidratos não fibrosos de 11,6%, sendo que, 7,1% deste total foi representado por carboidratos solúveis e, 4,5% por carboidratos rapidamente fermentáveis.

O fracionamento dos carboidratos nos fenos de alfafa e estilosantes Mineirão identificou menores teores quando comparados ao estilosantes Campo Grande ($P < 0,05$), o que pode justificar as maiores produções de gases nos tempos iniciais de incubação. O feno de Campo Grande apresentou maiores produções até o tempo 24 horas de incubação ($P < 0,05$) sendo que, durante este período não houve diferença entre a alfafa e Mineirão. A partir de 32 horas até o final do tempo de fermentação de 48 horas, tanto a alfafa quanto o estilosantes Campo Grande, ambos na forma *in natura* apresentaram o mesmo padrão de produção de gases e, observou-se no mesmo período, menor produção de gases no feno de Mineirão na forma de apresentação também, *in natura*, o que demonstra que houve menor teor de substratos disponíveis para a fermentação neste feno. De acordo com a análise bromatológica, verificaram-se teores de 8,5% de CNF, sendo que 6,4% de CHO-H e 2,1% de CHO-RF, valores médios inferiores aos observados tanto na composição da alfafa quanto do estilosantes Campo Grande *in natura*.

Nos fenos pré-digeridos, observou-se que a remoção dos nutrientes solúveis influenciou diretamente na produção média de gases. Nos três fenos avaliados, houve diferença ($P < 0,05$) entre a produção de gases do feno incubado *in natura* e digerido. De forma que, ao se utilizar à técnica de produção de gases em ensaios com equinos, a incubação do alimento original pode superestimar os valores médios ao longo do estudo da fermentação.

O feno de estilosantes Mineirão *in natura* apresentou as menores médias finais de produção de gases com valores de 133 ml/g de MS, quando comparado ao feno de alfafa e estilosantes Campo Grande *in natura* com valores de 150,5 e 142,1 ml/g de MS, respectivamente. Além disso, o Mineirão na forma *in natura*, não diferiu quanto à produção de gases em 48 horas de incubação com os fenos de alfafa e Campo Grande digeridos, com valores médios de 128,7 e 123,2 ml/g de MS, demonstrando menor disponibilidade de nutrientes para o processo de fermentação. Fato confirmado, ao ser observada a produção final de gases do feno de estilosantes Mineirão que apresentou, significativamente menor digestão quando comparado a todos os tratamentos, com valor de 110,6 ml/g de MS. A remoção dos nutrientes solúveis, aliada ao estudo da fermentação da fração fibrosa que compõem o feno de estilosantes Mineirão, indicou que o alimento volumoso, nas condições de maturação as quais foi confeccionado, apresentou menor capacidade fermentativa da fração fibra.

Não houve diferença dos valores médios de produção de gases do feno de alfafa e o de Campo Grande digeridos ao longo dos tempos de incubação, indicando que a composição da fração fibra dos dois alimentos foi semelhante.

Realizou-se o ajuste das produções de gases de acordo com o modelo de de Pell & Schofield (1993) e os parâmetros do modelo de cinética de produção de gases dos fenos nas formas *in natura* e pré-digeridos podem ser observados na tabela 17.

Tabela 17. Parâmetros cinéticos de produção de gases dos fenos *in natura* e pré-digeridos *in vitro*.

Alimentos <i>in natura</i>						
Parâmetros do Modelo	Alfafa	Sig	Campo Grande	Sig	Mineirão	Sig
Vf ₁ (ml)	22,72	***	54,94	***	24,85	***
C ₁ (%h ⁻¹)	18,2	**	15,18	***	14,39	***
L (h)	8,96	***	3,96	***	9,75	***
Vf ₂ (ml)	130,57	***	82,81	***	110,53	***
C ₂ (%h ⁻¹)	3,37	***	3,77	***	3,49	***
R ²	99,8		99,3		99,8	
Alimentos pré-digeridos						
Vf ₁ (ml)	0,02014	ns	0,0126	ns	0,0087	ns
C ₁ (%h ⁻¹)	0,0	ns	3,03	ns	2,58	ns
L (h)	9,9	***	10	***	9,9	***
Vf ₂ (ml)	130,00	***	124,95	***	111,36	***
C ₂ (%h ⁻¹)	2,86	***	3,25	***	2,79	***
R ²	99,7		99,9		98,6	

Significância dos parâmetros do modelo; *** (P<0,001); ** (P<0,01); * (P<0,05); ^{NS} (P>0,05).

O perfil de produção de gases das leguminosas nas suas formas *in natura* ajustaram-se ao modelo bicompartimental de Pell & Schofield (1993). De acordo com o parâmetro Vf₁ do modelo, que define o volume de gases produzidos em decorrência da presença de CNF na composição do alimento, observou-se maior valor no feno de estilosantes Campo Grande, seguido pelo feno de estilosantes Mineirão e finalmente pelo feno de alfafa, com valores de 54,9, 24,8 e 22,7 ml/g de MS, respectivamente. Estas estimativas concordam com os valores do fracionamento dos carboidratos analisados segundo a técnica sugerida por Hoffman et al. (2001) que avaliou a qualidade da fibra na espécie equina. O maior teor de CNF presente na composição do feno de Campo Grande pode ter causado a maior produção, neste caso, principalmente, do teor de carboidratos hidrolisáveis.

A taxa de fermentação da fração dos CNF definida pelo parâmetro C₁ descreveu a ação digestiva das bactérias fibrolíticas sobre o substrato, isto é, a velocidade (%h⁻¹) da produção dos gases. Neste caso, pode-se inferir que a velocidade revelou a disponibilidade do substrato para o processo de fermentação. Apesar do feno de alfafa *in natura* ter apresentado menor Vf₁ de 22,7 ml/g de MS, quando comparado ao feno *in natura* de estilosantes Campo Grande, apresentou maior disponibilidade desta fração, com valores de 18,3%h⁻¹. O feno de Mineirão apresentou Vf₁ de 24,8 ml e taxa de fermentação de 14,3 % h⁻¹, caracterizando menor conteúdo e disponibilidade desta fração.

As bactérias fibrolíticas presentes na digesta do cólon dorsal necessitam de tempo para colonizar e iniciar a fermentação do substrato. De acordo com o parâmetro L do modelo, o tempo decorrido para o início do processo foi menor no feno de estilosantes Campo Grande *in natura* de 3,9 horas, enquanto que, observaram-se tempos mais elevados de colonização de 8,96 e 9,75 horas dos fenos *in natura* de alfafa e Mineirão. O inóculo foi o mesmo para todos os tratamentos, de modo que, o erro associado à fonte de inóculo foi homogêneo. Portanto, a diferença observada no parâmetro L entre os volumosos pode ser, principalmente, resultado da diferença de disponibilidade de substrato

para o crescimento microbiano. Godoi et al. (2005) também observaram menores tempos de *lag-fase* e maiores taxas de fermentação em decorrência do balanço adequado dos nutrientes fornecido pelo substrato aos microorganismos, durante a incubação *in vitro*.

A maior parte da composição da MS de um alimento volumoso é representada por carboidratos fibrosos (Van Soest, 1994). Portanto, é justificável que as estimativas de produção de gases do parâmetro Vf_2 , que representa o volume final (ml/ g de MS) de gases produzidos pelos carboidratos estruturais, apresentem maiores valores quando comparado ao Vf_1 . Durante o período de incubação de 48 horas o feno de alfafa *in natura* apresentou maiores valores de Vf_2 de 130,5 ml/g de MS, quando comparado aos outros fenos. Apesar do feno de estilosantes Campo Grande *in natura* ter apresentados valores superiores em Vf_1 , não significou que o mesmo apresentasse melhores desempenhos em Vf_2 . A definição do modelo de Pell & Schofield (1993) é bicompartimental, justamente para detectar a qualidade da composição nutricional dos alimentos através das diferenças entre Vf_1 e Vf_2 , como no caso do Campo Grande que apresentou menor Vf_2 de 82,8 ml/g de MS. A taxa de fermentação definida pelo parâmetro C_2 do modelo apresentou menor velocidade de fermentação quando comparada ao C_1 , dentro do mesmo alimento na forma *in natura* e digerida do feno, o que ocorreu porque esta velocidade representou a fermentação da fração descrita como de lenta fermentação (Schofield et al., 1994, Hoffman et al., 2001). As taxas de fermentação C_2 foram semelhantes entre os alimentos volumosos incubados na forma *in natura*, com valores de 3,37, 3,77 e 3,49 %h⁻¹, para os fenos de alfafa, estilosantes Campo Grande e Mineirão, respectivamente.

A remoção dos nutrientes solúveis dos fenos pré-digeridos *in vitro* reduziu os parâmetros Vf_1 e C_1 e, conseqüentemente, não foram significativos nos três fenos, pois não apresentaram padrão de fermentação exponencial como os alimentos *in natura*, muito embora, tenham apresentado elevados coeficientes de determinação. Fato que confirmou as observações de Abdouli & Ben Attia (2007), os quais sugeriram que aqueles ensaios que tenham avaliado alimentos através de processos fermentativos e que os tenham incubado na composição *in natura* devem apresentar alterações dos parâmetros de fermentação, principalmente na produção de gases e no tempo de reconhecimento de substrato. Em um ensaio de fermentação realizado por Godoi et al. (2005), sugeriram que devido à digestão précecal ocorrida na espécie equina, seria mais precisa a utilização da digesta recém chegada ao ceco como substrato em ensaios de fermentação *in vitro*.

A não significância dos dois parâmetros caracterizou a necessidade de modelos que descrevam a cinética de produção de gases específica para os substratos fermentativos do ceco-cólon dos equinos.

Observou-se que após a digestão *in vitro*, o início do processo de fermentação levou mais tempo, do que quando comparado aos tempos de colonização observados nos alimentos em suas formas originais. Provavelmente, a presença dos carboidratos não fibrosos na composição do feno original acelerou o processo de colonização, evento que foi muito mais pronunciado ao se comparar o feno de estilosantes Campo Grande *in natura*, com um tempo de 3,96 horas, com o seu resíduo digerido de 10 horas. Observou-se que todos os três fenos digeridos apresentaram valores semelhantes do parâmetro L (h).

Pode-se observar nas figuras de 7 a 9, a cinética de produção de gases dos fenos *in natura* e pré-digeridos *in vitro*.

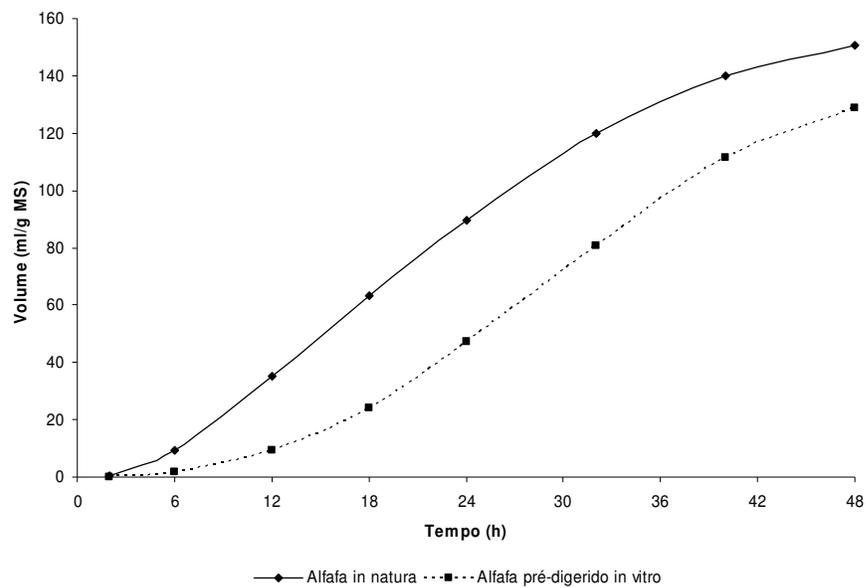


Figura 7. Cinética de produção de gases do feno de alfafa *in natura* e pré-digerido *in vitro*.

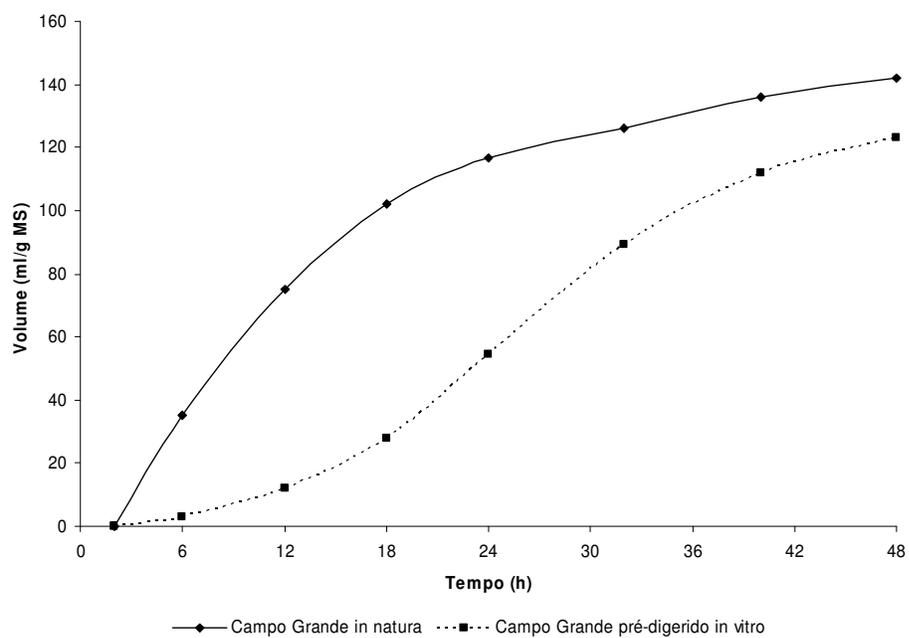


Figura 8. Cinética de produção de gases do feno de estilosantes Campo Grande *in natura* e pré-digerido *in vitro*.

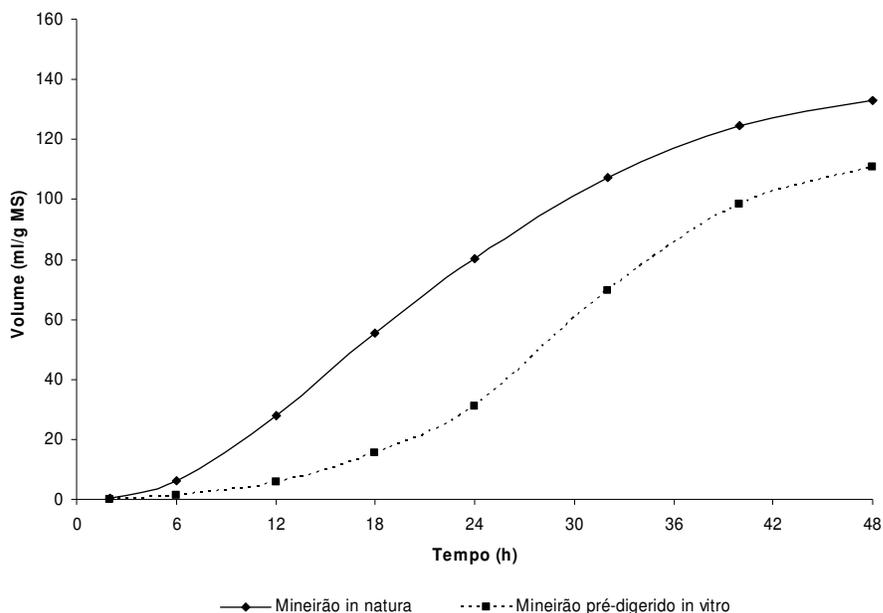


Figura 9. Cinética de produção de gases do feno de estilosantes Mineirão *in natura* e pré-digerido *in vitro*.

O parâmetro de produção de gases V_{f_2} , mesmo após a digestão, apresentou valores semelhantes sugerindo que, neste caso, para a utilização do modelo de Pell & Schofield (1993) para descrever a fermentação, não haveria a necessidade de efetuar uma digestão pois o perfil de produção de gases, no substrato em questão, seria o mesmo. Contudo, os resultados observados no presente ensaio, confirmaram os efeitos da incubação de alimentos sem sofrer a digestão sobre os parâmetros de produção de gases de um modelo. Isto porque, muito embora o parâmetro V_{f_2} da alfafa tenha sido semelhante ao do Mineirão, nas suas formas *in natura* e pré-digerido *in vitro*, observou-se nítida variação do tempo de colonização (L) e, até mesmo, do parâmetro C_2 . Observou-se aumento do parâmetro V_{f_2} após a digestão do feno de Campo Grande, fato não ocorrido com os demais alimentos.

Escolheu-se o modelo bicompartimental de Pell & Schofield (1993) para definir a qualidade nutricional dos volumosos através do ensaio de produção de gases, devido a compartimentalização da cinética de produção de gases dos carboidratos não estruturais e os carboidratos estruturais, e dentre os possíveis modelos, foi o que mais se assemelhou a característica da digesta equina e ao fracionamento de carboidratos descrito por Hoffman et al. (2001), o qual se baseou na fisiologia digestiva da espécie.

Outros autores como Murray et al. (2005) utilizaram a técnica de produção de gases, para avaliar o efeito da adição de enzimas fibrolíticas sobre o feno de alfafa durante o processo fermentativo. A alfafa sem adição de enzimas apresentou volume final de gases de 155 ml por um período de fermentação de 120h, utilizando fezes dos equinos como fonte de inóculos. Embora os resultados sejam semelhantes aos 155,5ml observados na alfafa do presente ensaio, o tempo destinado à fermentação assim como a fonte de inóculo e o modelo utilizado, foram diferentes no estudo efetuado por Murray et al. (2005), entretanto, também consideraram a técnica como uma ferramenta útil na determinação do perfil de fermentação dos alimentos. Entretanto, necessita-se de modelos específicos para descrever à cinética de fermentação na nutrição equina.

Não foram observadas na literatura as avaliações da qualidade nutricional de leguminosas tropicais por meio de ensaios *in vitro* de produção de gases, que permitissem comparações. Em função da facilidade e rapidez de execução, sugere-se que novos ensaios sejam realizados com o intuito de avaliação de alimentos volumosos com o uso das técnicas *in situ* e de produção de gases. Assim, futuramente, será possível obter informações suficientes para gerar uma tabela de avaliação nutricional de alimentos volumosos destinados ao consumo equino.

CONCLUSÃO

Os fenos de estilosantes utilizados no presente ensaio apresentam teores de proteínas mais solúveis, embora, os teores de proteína tenham sido menores que o da Alfafa.

O feno de estilosantes Campo Grande apresenta maior degradação efetiva do conteúdo de proteína bruta.

A produção de gases dos fenos de alfafa e estilosantes Campo Grande *in natura* ou pré-digeridos *in vitro* apresentam semelhante capacidade de produção final de gases.

A remoção dos nutrientes solúveis e a menor produção de gases do feno de estilosantes Mineirão indicam que, nas condições de maturação nas quais foi produzido, este feno apresenta menor qualidade e capacidade fermentativa que o feno de alfafa e de estilosantes Campo Grande.

A digestão *in vitro* influencia a cinética de produção de gases, e a produção de gases dos fenos pré-digeridos *in vitro* não se ajustaram ao modelo bicompartimental de produção de gases.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDOULI, H.; BEN ATTIA, S. Evaluation of two-stage *in vitro* technique for estimating digestibility of equine feeds using horse faeces as the source of microbial inoculum. *Animal Feed Science and Technology*, v. 132, p. 155-162, 2007.

APPLEGATE, C. S.; HERSHBERGER, T. V. Evaluation of *in vitro* and *in vivo* cecal fermentation techniques for estimating the nutritive value of forages for equine. *Journal of Animal Science*, v. 28, p. 18-22, 1969.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis**. 15. ed., Washington D.C., 1995, 1141p.

CUDDEFORD, D. *Partitioning digestion in horses and ponies In: Advances in Equine Nutrition II*. J. D. Pagan, R. J. Geor. Ed. Nottingham, UK: Nottingham University Press. 2001, p. 63-72.

GIBBS, P. G.; POTTER, G. D.; SCHELLING, G.T.; KREIDER, J.L.; BOYD, C.L. Digestion of hay protein in different segments of the equine digestive tract. *Journal Animal Science*, v. 66, p. 400-406, 1988.

GLINSKY, M.J.R.; SMITH, R.M.; SPIRES, H. R.; DAVIS, C.L. Measurement of volatile fatty acid production rates in the cecum of the pony. *Jouranl of Animal Science*, v. 42, p. 1465 – 1470, 1976.

GODOI, F. N.; ALMEIDA, F. Q.; CLIPES, R. C. VIEIRA, R.A.M.; SILVA, V.P. Kinetics of accumulative gas production from horse colon digesta. *Pferdeheilkunde*, v. 21, p. 55-56, 2005.

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.

HUNTINGTON, J.A.; GIVENS, D.L. The *in situ* technique for studying the rumen degradation of feeds: a review of the procedure. *Nutrition Abstracts and Reviews* (Series B), v.65, n.2, p.63-93, 1995.

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

HYSLOP, J.J.; STEFANSDOTTIR, G.J.; McLEAN, B.M.L. LONGLAND, A. C.; CUDDEFORD, D. *In situ* incubation sequence and its effect on degradation of food components when measured in the caecum of ponies. *Animal Science*, v.69, p.147-156, 1999.

LOPES, M.A.F.; WHITE, N.A.; Lima, L.R.; COSTA, P.R.S. Large experimental fistula of the right dorsal colon in horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 30, n. 4, p.213-219, 2010.

MAURÍCIO, R. M.; MOULD, F.; DHANOA, M. S.; OWEN, E.; CHANNA K. W.; THEODOROU, M. K. A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminants feedstuff evaluation. *Animal Feed Science and Technology*, v. 79, p. 321-330, 1999.

MOORE-COLYER, M. J. S.; HYSLOP, J. J.; LONGLAND, A. C. CUDDEFORD, D. The mobile bag technique as a method for determining the degradation of four botanically diverse fibrous feedstuffs in the small intestine and total digestive tract of ponies. *British Journal of Nutrition*, v. 88, p. 729-740, 2002.

MURRAY, J. M. D.; LONGLAND, A. C.; MOORE-COLYER, M. J. S. DUNNETT, C. The effect of enzyme treatment on the *in vitro* fermentation of Lucerne incubated with equine faecal inocula. *British Journal of Nutrition*. v. 94, p. 771-782, 2005.

NUTRIENT requirements of horses, Washington: National Academy Press, 2007, 6. Ed, 341p.

ØRSKOV, E.R.; McDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubated measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science*, v.92, p.499-503, 1979.

PELL, A.N., SCHOFIELD, P. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion *in vitro*. *Journal Dairy Science*, v.76, n.4, p.1063-1073, 1993.

PEREIRA, J. C.; QUEIROZ, A. C.; CARMO, M. B. Avaliação de métodos para determinação da digestibilidade aparente em equinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 24, p. 382-390, 1995.

POTTY, V.H. Physio-chemical aspects, physiological functions, nutritional importance and technological significance of dietary fibres – A Critical Appraisal. *Journal of Food Science Technology*, v. 33, n. 1, p.1-18, 1996.

SCHOFIELD, P.; PITT, R. E.; PELL, A. N. Kinetics of fiber digestion from *in vitro* gas production. *Journal of Animal Science*. v. 72, p.2980-2991, 1994.

SILVA, V.P.; ALMEIDA, F.Q.; MORGADO, E. M.; RODRIGUES, L. M.; SANTOS, T. M.; VENTURA, H. T. *In situ* caecal degradation of roughages in horses. *Revista Brasileira de Zootecnia*. v.39, n.2 p.349-355, 2010.

THEODOROU, M. K.; WILLIAMS, B. A.; DHANOA, M. S.; McALLAN, A. B.; FRANCE, J. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, v. 48, p. 185-197, 1994.

ÚDEN, P.; VAN SOEST, P. J. Investigation of *in situ* bag technique and a comparison of the fermentation in heifers, sheep, ponies and rabbits. *Journal of Animal Science*, v.58, p. 213-221, 1984.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. SAEG – **Sistema de análises estatísticas e genéticas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2000. Manual do usuário, 150p. (versão 8.0).

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

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

WELYENBERG, S.V.; SALES, J.; JANSSENS, G.P.J. Passage rate of digesta through the equine gastrointestinal tract: A review. *Livestock Production Science*, n. 1, v. 99, p. 3-12, 2006.

WILLIAMS, B. A. *Cumulative Gas-production Techniques for Forage Evaluation*. In: GIVENS, D. I.; AXFORD, R.F.E.; OMED, H.M. (Ed). *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*. CABI Publishing, p. 189-213, 2000.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi desenvolvida uma revisão sobre as metodologias destinadas à avaliação dos alimentos para a espécie equina. Foram considerados os aspectos fisiológicos da digestão que são inerentes aos processos *in vivo*, e que devem ser garantidos nos procedimentos de avaliação de alimentos *in vitro* ou *in situ*.

Ressalta-se o avanço da compreensão da cinética da digestão, principalmente no que se refere à fermentação na espécie equina, evolução auxiliada pelas pesquisas em suínos e, principalmente, por aquelas realizadas com nutrição de ruminantes. Além dessas áreas, a matemática juntamente com os procedimentos estatísticos nos permitiram, através dos modelos biológicos de fermentação e degradação, melhor elucidar os eventos biológicos referentes à degradação ocorridos no ceco-cólon. As áreas do conhecimento estudadas, integraram-se neste estudo a fim de gerarem informações capazes de qualificar alimentos volumosos de forma cinética, além de contribuir para a evolução das metodologias aplicadas na nutrição de equinos.

A escolha dos alimentos volumosos propostos no presente ensaio foi feita baseada no conhecimento de que pouco se sabe sobre alimentos alternativos que possam ser utilizados no sistema de produção de equinos no Brasil. Desta forma, a geração de informações aumenta as possibilidades de estratégias alimentares nas propriedades a serem utilizadas nas propriedades de criação de equinos. Entretanto, para o emprego correto desses alimentos às dietas, seriam necessários estudos específicos quanto à determinação da digestibilidade, valor nutricional e consumo voluntário. Adicionalmente, em função do avanço ocorrido na nutrição equina quanto à compreensão dos processos digestivos, optou-se, também, por avaliar os alimentos de forma cinética.

No presente ensaio, o estilosantes Campo Grande foi cortado para a fenação quando iniciava a floração e foi bem consumido pelas potras nas condições experimentais avaliadas. Entretanto, no momento do corte, estava com o estágio de maturidade avançado, afetando a composição bromatológica, o que resultou em menor teor protéico. Portanto, essa leguminosa deverá ser cortada para fenação antes do florescimento e pode ser uma fonte alternativa de alimento volumoso para potros. Já o feno de Mineirão foi menos consumido, possivelmente, por ser pouco palatável.

Não foram observadas diferenças entre a estimativa de consumo de matéria seca através do indicador LIPE[®] comparado com o consumo real, caracterizando a eficiência do indicador testado nos estudos de digestibilidade com equinos.

As dietas compostas por ração concentrada e feno de leguminosa, quando oferecidas para as potras, não apresentaram diferenças na digestibilidade dos nutrientes. Os fenos de estilosantes confeccionados no presente ensaio apresentam teores de proteínas mais solúveis, embora, tenham apresentado teores de proteína menores do que o da alfafa.

De acordo com os parâmetros cinéticos, o feno de estilosantes Campo Grande apresentou qualidade da fração fibrosa, e, além disso, teve maior degradação efetiva do conteúdo de proteína bruta. A produção de gases dos fenos de alfafa e estilosantes Campo Grande *in natura* ou pré-digeridos apresentaram semelhante capacidade de produção final de gases.

A digestão *in vitro* realizada previamente a fermentação influenciou os parâmetros da cinética de produção de gases, comprovando que os ensaios realizados utilizando alimentos na forma *in natura*, possivelmente tenham apresentado valores superestimados de alguns parâmetros da cinética de fermentação. As produções de gases dos fenos pré-digeridos não se ajustaram ao modelo proposto, indicando a necessidade de modelos específicos para descrever à cinética de fermentação de substratos que já tenham sido digeridos parcialmente.

Mais pesquisas são necessárias para verificar as respostas ao consumo do estilosantes Campo Grande em condições de pastejo e na forma de feno confeccionado antes do florescimento.

Outros estudos deverão ser efetuados visando avaliar a cinética de fermentação equina, envolvendo maior número de equinos fistulados, principalmente no ceco. Dessa forma, os procedimentos experimentais poderão ser melhorados e, conseqüentemente, as metodologias *in vitro* e *in situ* serão mais aplicadas. Valores de digestibilidade pós ileal serão observados e os resíduos coletados poderiam ser incubados *in vitro*, com o próprio inóculo cecal do animal. Naturalmente, tendemos a um contínuo progresso das pesquisas na área de nutrição equina e as informações

relacionadas aos processos biológicos que envolvem taxas de passagem de cada segmento intestinal, bem como as distintas etapas de digestão, nos levam a compartimentalizar todo o processo digestivo.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
- C E T E A -

CERTIFICADO

Certificamos que o **Protocolo nº 124/2008**, relativo ao projeto intitulado "**Avaliação nutricional do feno de *Stylosanthes sp. em eqüinos***", que tem como responsável(is) **Adalgiza Souza Carneiro de Rezende**, está(ão) de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pelo **Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA/UFMG)**, tendo sido aprovado na reunião de **13/ 08/2008**.

Este certificado expira-se em **13/ 08/ 2013**.

CERTIFICATE

We hereby certify that the **Protocol nº 124/2008**, related to the project entitled "**Nutritional evaluation of *Stylosantes sp hay fed horses***", under the supervisors of **Adalgiza Souza Carneiro de Rezende**, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the **Ethics Committee in Animal Experimentation (CETEA/UFMG)**, and was approved in **August 13, 2008**.

This certificate expires in **August 13, 2013**.

Belo Horizonte, 18 de Agosto de 2008.

Prof. Humberto Pereira Oliveira
Coordenador do CETEA/UFMG

Universidade Federal de Minas Gerais
Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha
Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005
31270-901 - Belo Horizonte, MG - Brasil
Telefone: (31) 3499-4516 – Fax: (31) 3499-4592
www.ufmg.br/bioetica/cetea - cetea@prpq.ufmg.br

1. Análises estatísticas referentes ao Capítulo 2: Consumo e digestibilidade dos nutrientes em potros alimentados com dietas compostas por concentrado e feno de leguminosas

T e s t e s d e C O C H R A N e B A R T L E T T

Variáveis	Nome do Teste	Valor Calculado	Valor (P=0.05)	Valor (P=0.01)
GP	Bartlett	1.1570	5.991	9.210
CONSG	Bartlett	1.4826	5.991	9.210
CTGRAM	Bartlett	1.4828	5.991	9.210

T e s t e d e L i l l i e f o r s

Variáveis	Valor Calculado	Valor (P=0.05)	Valor (P=0.01)
GP	0.1406	0.220	0.257
CONSG	0.1304	0.227	0.261
CTGRAM	0.1304	0.227	0.261

A n á l i s e d e V a r i a n c i a

Consumo de volumoso (g/Kg PV)

CONSG

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif
TRAT	2	33.13017	16.56509	4.230	0.04339
Resíduo	11	43.07872	3.916247		
Coeficiente de Variação =		14.076			

N E W M A N K E U L S

Variável = CVGVOL (3.684018)

TRAT	Descrição	Dados	Médias	Comparações	5%
1		5	15.6508	A	
2		5	14.2668	AB	
3		4	11.8093	B	

Consumo total (g/Kg PV)

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TRAT	2	33.13017	16.56509	4.230	0.04339
Resíduo	11	43.07872	3.916247		
Coeficiente de Variação =		7.594			

Ganho de Peso (Kg/dia)

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TRAT	2	0.2924571E-01	0.1462286E-01	0.417	*****
Resíduo	11	0.3858400	0.3507636E-01		
Coeficiente de Variação =		34.867			

Ganho de Peso (Kg/dia)

Descrição	Valores	Médias	Desvios	Dados
TRAT	Todos	0.5371429	0.1786888	14
TRAT	1.	0.5840000	0.2127910	5
TRAT	2.	0.5440000	0.1252198	5
TRAT	3.	0.4700000	0.2175623	4

Consumo de volumoso (g/Kg PV)

Descrição	Valores	Médias	Desvios	Dados
Total Geral	-----	14.05896	2.421203	14
TRAT	1.	15.65084	1.281620	5
TRAT	2.	14.26680	2.499201	5
TRAT	3.	11.80931	1.959974	4

Consumo total (g/Kg PV)

Descrição	Valores	Médias	Desvios	Dados
Total Geral	-----	26.05896	2.421203	14
TRAT	1.	27.65084	1.281620	5
TRAT	2.	26.26680	2.499201	5
TRAT	3.	23.80931	1.959974	4

Durante o período experimental a temperatura máxima e mínima e a umidade máxima e mínima das baias foram registradas por um termo-higrômetro (Mimipa- MT242). As médias das temperaturas podem ser observadas na tabela abaixo.

Tabela . Temperatura máxima (Temp. Máx.) e mínima (Temp. Min.) e a umidade relativa máxima (UR% Máx) e mínima (UR% Min) das baias de acordo com o grupo experimental.

Grupo	Período	Temp. Máx	Temp. Min.	UR% Máx	UR% Min
G1	Junho	26,30	15,00	77,00	34,0
G2	Julho	26,70	15,07	77,63	32,8
G3	Julho/agos	29,47	16,97	72,08	24,6
G4	Agos/Set	30,60	17,76	69,60	22,8
G5	Set/Out	32,35	19,82	71,96	28,2

Tabela. Data de nascimentos, desmame, peso vivo inicial e final das potras utilizadas no ensaio.

Tratamento	Nascimento	Desmame	Peso vivo Inicial (kg)	Peso vivo Final (kg)
Alfafa	3/12/2007	24/5/2008	188	197
Alfafa	12/12/2007	4/6/2008	160	170
Alfafa	10/1/2008	24/6/2008	158	175
Alfafa	31/1/2008	18/7/2008	146	168
Alfafa	20/2/2008	17/8/2008	128	143
Campo Grande	8/12/2007	7/5/2008	165	181
Campo Grande	31/12/2007	4/6/2008	160	173
Campo Grande	18/1/2008	24/6/2008	160	173
Campo Grande	13/2/2008	18/7/2008	145	154
Campo Grande	21/2/2008	20/8/2008	141	158
Mineirão	9/12/2007	24/5/2008	155	171
Mineirão	24/12/2007	1/6/2008	171	175
Mineirão	8/1/2008	24/6/2008	183	198
Mineirão	12/2/2008	18/7/2008	163	175
Mineirão	14/2/2008	20/8/2008	141	X

Tabela. Consumo de MS em Kg dos fenos, concentrado e dieta total, e da produção de fezes estimado pelo indicador LIPE.

Tratamento	Consumo real (Kg de MS)			Produção fecal estimada pelo LIPE (Kg de MS)		
	Feno (kg)	Concentrado (kg)	Total (kg)	Total (Kg)	Concentrado (Kg)	Feno (Kg)
Alf 1	2,82	2,25	5,07	1,267	0,3616	0,6428
Alf 2	2,80	1,92	4,72	1,164	0,3072	0,8568
Alf 3	2,34	1,89	4,23	1,246	0,3040	0,9420
Alf 4	2,40	1,75	4,15	1,4332	0,2800	1,1532
Alf 5	1,81	1,53	3,34	1,1756	0,2464	0,9292
Cgrand 1	1,71	1,98	3,69	1,1896	0,3168	0,8728
Cgrand 2	2,75	1,92	4,67	1,1600	0,3072	0,6488
Cgrand 3	2,35	1,92	4,27	1,4344	0,3072	1,1272
Cgrand 4	2,18	1,74	3,92	1,0628	0,2784	0,7844
Cgrand 5	1,97	1,69	3,66	1,347	0,2704	1,2306
Mineirão 1	1,80	1,84	3,64	1,3968	0,2944	1,1024
Mineirão 2	1,65	2,05	3,70	1,2588	0,3273	0,9315
Mineirão 3	2,70	2,19	4,90	1,372	0,3520	1,0200
Mineirão 4	1,87	1,95	3,82	1,215	0,3136	1,1648

Tabela . Análise bromatológica dos alimentos

Fenos	MS	MO	MM	PB	EE	FDN	FDA	HEM	Ca	P	Mg	EB (Mcal)
Alfafa 1	91,3	89,5	10,4	17,6	3,7	54,1	35,4	18,6	1,23	0,87	0,27	4,31
Alfafa 2	91,0	89,1	10,8	17,8	3,1	56,6	33,7	22,8	1,66	0,76	0,35	4,30
Alfafa 3	91,7	88,3	11,6	20,4	3,1	53,5	34,3	19,1	1,29	0,67	0,25	4,29
Alfafa	91,0	89,1	10,8	18,6	3,4	56,0	34,6	21,3	1,39	0,77	0,29	4,30
1ª Análise CG	89,3	89,5	10,4	13,0	2,6	65,3	40,1	25,2	1,68	0,31	*	*
CG 1	88,9	92,7	7,2	12,1	2,3	67,0	46,1	20,9	1,35	0,21	0,22	4,30
CG 2	89,7	91,6	8,3	11,7	2,4	63,9	44,1	19,7	1,47	0,23	0,25	4,32
CG 3	91,0	91,6	8,3	12,7	2,3	66,4	42,5	23,8	1,57	0,24	0,28	4,31
CG médio	89,9	92,0	7,9	12,2	2,3	65,8	44,2	21,5	1,46	0,23	0,25	4,31
1ª Análise M	87,4	92,3	7,7	14,0	1,7	61,7	38,8	22,9	1,65	0,27	*	*
M1	88,9	90,7	9,2	10,7	4,2	65,7	45,6	20,1	1,55	0,20	0,25	4,35
M2	89,8	91,4	8,6	11,2	3,8	68,2	48,9	19,3	1,56	0,30	0,24	4,44
M3	89,9	91,1	8,8	11,1	3,7	68,6	45,1	23,4	1,48	0,30	0,23	4,40
Mineirão	89,5	91,0	8,9	11,0	3,9	67,5	46,5	20,9	1,53	0,27	0,24	4,40
Ração G1	88,9	90,7	9,2	11,0	4,9	21,6	3,4	18,2	2,30	0,79	0,25	4,18
Ração G3	89,4	93,7	6,2	10,7	4,6	23,9	3,3	20,6	1,32	0,67	0,21	4,26
Ração G4	88,9	93,2	6,7	11,1	4,6	22,6	3,4	19,1	1,90	0,82	0,19	4,23
Ração G5	90,4	93,5	6,4	10,4	4,2	22,5	3,7	18,8	1,37	0,76	0,21	4,23
Ração	89,4	92,8	7,1	10,9	4,6	22,7	3,4	19,2	1,72	0,76	0,22	4,23

Tabela. Composição das fezes

Grupo	MS%	MO%	MM%	PB%	EE%	FDN%	FDA%	HEM%
G1T1	92,52	90,41	9,59	14,35	9,67	59,79	41,32	18,47
G2T1	94,15	84,22	15,78	12,65	9,98	53,08	36,39	16,69
G3T1	92,41	85,36	14,64	12,18	9,58	59,37	42,48	16,89
G4T1	92,93	82,82	17,18	13,48	10,55	57,97	37,62	20,35
G5T1	92,40	82,18	17,82	12,07	9,73	60,57	37,45	23,12
G1T2	92,27	85,32	14,68	9,63	7,42	59,72	41,96	17,76
G2T2	92,83	86,35	13,65	9,72	7,44	62,81	46,32	16,50
G3T2	95,87	80,88	19,12	9,06	8,93	62,60	39,83	22,77
G4T2	92,98	85,01	14,99	9,79	7,64	66,10	44,80	21,30
G5T2	94,68	81,32	18,68	10,48	7,98	64,62	40,28	24,34
G1T3	91,82	86,93	13,07	9,44	9,18	62,12	45,70	16,42
G2T3	93,09	83,28	16,72	11,38	10,25	55,35	40,30	15,06
G3T3	91,88	87,24	12,76	9,24	10,94	58,87	40,89	17,99
G4T3	91,62	82,57	17,43	9,81	10,93	63,33	44,35	18,97

Tabela. Coeficientes de digestibilidade dos nutrientes das dietas e consumo de Proteína bruta, Energia Digestível e relação Proteína/Energia.

DIETAS	MS (%)	MO (%)	PB (%)	FDN (%)	FDA (%)	HEM (%)	EB (%)	PB (g/KgPV)	PB (Kg/dia)	ED (Mcal)	PB/ED
Alf 1	75,0	75,1	76,3	63,4	50,3	77,0	75,4	40,9	0,77	16,35	0,47
Alf 2	75,3	77,0	79,8	68,9	59,0	79,5	75,7	45,6	0,73	15,28	0,48
Alf 3	70,6	72,3	76,3	57,1	39,5	75,3	71,0	40,6	0,64	12,87	0,50
Alf 4	65,5	68,4	69,7	51,9	39,5	65,1	66,0	43,7	0,64	11,74	0,54
Alf 5	64,8	68,1	71,8	47,3	35,1	59,5	65,4	39,3	0,50	9,35	0,54
Cgrand 1	67,7	70,2	72,9	54,9	39,5	71,8	68,2	25,7	0,42	10,75	0,39
Cgrand 2	75,2	76,8	79,3	67,6	58,2	80,1	75,6	34,1	0,55	15,13	0,36
Cgrand 3	66,4	70,6	73,8	54,7	48,5	62,7	67,0	31,0	0,50	12,24	0,41
Cgrand 4	72,9	75,0	77,1	61,6	53,6	71,8	73,3	31,4	0,46	12,30	0,37
Cgrand 5	63,2	67,6	66,7	48,2	41,7	56,2	63,8	30,1	0,42	9,99	0,43
Mineirão 1	61,7	63,8	67,0	47,0	29,5	68,7	62,7	25,8	0,40	9,87	0,40
Mineirão 2	66,0	69,2	64,6	55,9	39,7	74,4	66,8	23,7	0,41	10,66	0,38
Mineirão 3	72,0	73,4	76,4	65,2	58,0	75,0	72,7	29,3	0,54	15,42	0,35
Mineirão 4	68,2	71,5	71,6	54,9	42,6	70,0	69,0	25,7	0,42	11,40	0,37

T e s t e s d e C O C H R A N e B A R T L E T T

Variáveis	Nome do Teste	Valor Calculado	Valor (P=0.05)	Valor (P=0.01)
MS%	Bartlett	0.0748	5.991	9.210
MO%	Bartlett	0.0295	5.991	9.210
PB%	Bartlett	0.2139	5.991	9.210
FDN%	Bartlett	0.1080	5.991	9.210
FDA%	Bartlett	0.5013	5.991	9.210
HEM%	Bartlett	2.8831	5.991	9.210
EB	Bartlett	0.2740	5.991	9.210

T e s t e d e L i l l i e f o r s

Variáveis	Valor Calculado	Valor (P=0.05)	Valor (P=0.01)
MS%	0.1329	0.227	0.261
MO%	0.0793	0.227	0.261
PB%	0.1138	0.227	0.261
FDN%	0.1373	0.227	0.261
FDA%	0.1866	0.227	0.261
HEM%	0.0952	0.227	0.261
EB	0.0806	0.227	0.261

A n á l i s e d e V a r i a n c i a

MS%

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TRAT	2	0.2408140E-02	0.1204070E-02	0.528	*****
Resíduo	11	0.2509395E-01	0.2281268E-02		

Coeficiente de Variação = 6.930

MO%

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TRAT	2	0.2020115E-02	0.1010057E-02	0.651	*****
Resíduo	11	0.1705476E-01	0.1550433E-02		

Coeficiente de Variação = 5.515

PB%

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TRAT	2	0.5925878E-02	0.2962939E-02	1.368	0.29469
Resíduo	11	0.2382154E-01	0.2165594E-02		

Coeficiente de Variação = 6.362

FDN%

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TRAT	2	0.9327239E-03	0.4663619E-03	0.075	*****
Resíduo	11	0.6867416E-01	0.6243106E-02		

Coeficiente de Variação = 13.840

FDA%

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TRAT	2	0.7957905E-02	0.3978953E-02	0.419	*****
Resíduo	11	0.1044163	0.9492395E-02		

Coeficiente de Variação = 21.467

HEM%

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TRAT	2	0.3220509E-02	0.1610254E-02	0.267	*****
Resíduo	11	0.6640751E-01	0.6037047E-02		

Coeficiente de Variação = 11.013

A n á l i s e d e V a r i â n c i a

EB

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TRAT	2	0.1880908E-02	0.9404539E-03	0.426	*****
Resíduo	11	0.2430547E-01	0.2209588E-02		

Coeficiente de Variação = 6.761

MS%

Descrição	Valores	Médias	Desvios	Dados
TRAT	Todos	0.6892293	0.4599505E-01	14
TRAT	- - - - -	1. 0.7027405	0.5008123E-01	5
TRAT	- - - - -	2. 0.6910958	0.4877383E-01	5
TRAT	- - - - -	3. 0.6700072	0.4299565E-01	4

MO%

Descrição	Valores	Médias	Desvios	Dados
TRAT	Todos	0.7139525	0.3830532E-01	14
TRAT	- - - - -	1. 0.7222977	0.3942376E-01	5

74

TRAT	- - - - -	2.	0.7207800	0.3764023E-01	5
TRAT	- - - - -	3.	0.6949865	0.4151577E-01	4

PB%

Descrição	Valores	Médias	Desvios	Dados
TRAT	Todos	0.7314198	0.4783579E-01	14
TRAT	- - - - - 1.	0.7483059	0.4026139E-01	5
TRAT	- - - - - 2.	0.7401937	0.4803128E-01	5
TRAT	- - - - - 3.	0.6993446	0.5199232E-01	4

FDN%

Descrição	Valores	Médias	Desvios	Dados
TRAT	Todos	0.5709118	0.7317360E-01	14
TRAT	- - - - - 1.	0.5776923	0.8658953E-01	5
TRAT	- - - - - 2.	0.5742950	0.7423191E-01	5
TRAT	- - - - - 3.	0.5582073	0.7447968E-01	4

FDA%

Descrição	Valores	Médias	Desvios	Dados
TRAT	Todos	0.4538455	0.9297404E-01	14
TRAT	- - - - - 1.	0.4474423	0.9758937E-01	5
TRAT	- - - - - 2.	0.4834609	0.7866770E-01	5
TRAT	- - - - - 3.	0.4248302	0.1177103	4

HEM%

Descrição	Valores	Médias	Desvios	Dados
TRAT	Todos	0.7054873	0.7318471E-01	14
TRAT	- - - - - 1.	0.7133837	0.8562100E-01	5
TRAT	- - - - - 2.	0.6855069	0.9231051E-01	5
TRAT	- - - - - 3.	0.7205924	0.3161625E-01	4

EB

Descrição	Valores	Médias	Desvios	Dados
TRAT	Todos	0.6779431	0.4874156E-01	14
TRAT	- - - - - 1.	0.6592118	0.5674913E-01	5
TRAT	- - - - - 2.	0.6961973	0.4808317E-01	5
TRAT	- - - - - 3.	0.6785393	0.4216234E-01	4

Análise do consumo estimado pela pesagem real e através do Indicador LIPE (DIC subdividida).

T e s t e s d e C O C H R A N e B A R T L E T T				
Variáveis	Nome do Teste	Valor Calculado	Valor (P=0.05)	Valor(P=0.01)
CONG	Bartlett	4.3658	11.070	15.086
CONTOT	Bartlett	4.4265	11.070	15.086

T e s t e d e L i l l i e f o r s			
Variáveis	Valor Calculado	Valor (P=0.05)	Valor (P=0.01)
CONG2	0.0936	0.166	0.192
CONTOTG	0.0901	0.166	0.192

The GLM Procedure
Class Level Information

Class	Levels	Values
IND	2	1 2
ALI	3	1 2 3
REP	5	1 2 3 4 5

Number of observations 30

NOTE: All dependent variables are consistent with respect to the presence or absence of missing values. However only 28 observations can be used in this analysis.

The GLM Procedure

Dependent Variable: CONSUMO FENO (g/Kg PV)

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	16	104.0525259	6.5032829	1.18	0.4006
Error	11	60.8096442	5.5281495		
Corrected Total	27	164.8621701			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CONSG3 Mean
0.631149	17.08178	2.351202	13.76438

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ALI	2	35.09983452	17.54991726	3.17	0.0816
REP(ALI)	11	61.53274601	5.59388600	1.01	0.4924
IND	1	2.42968406	2.42968406	0.44	0.5210
IND*ALI	2	4.99026134	2.49513067	0.45	0.6481
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ALI	2	35.09983452	17.54991726	3.17	0.0816
REP(ALI)	11	61.53274601	5.59388600	1.01	0.4924
IND	1	1.75601447	1.75601447	0.32	0.5843
IND*ALI	2	4.99026134	2.49513067	0.45	0.6481

Tests of Hypotheses Using the Type III MS for REP(ALI) as an Error Term

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ALI	2	35.09983452	17.54991726	3.14	0.0835

Dependent Variable: **CONSUMO TOTAL (g/Kg PV)**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	16	107.3617422	6.7101089	1.29	0.3421
Error	11	57.4125209	5.2193201		
Corrected Total	27	164.7742631			

R-Square 0.651569 Coeff Var 8.868061 Root MSE 2.284583 CONTG3 Mean 25.76193

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ALI	2	35.63513106	17.81756553	3.41	0.0703
REP(ALI)	11	64.46368020	5.86033456	1.12	0.4255
IND	1	2.47038663	2.47038663	0.47	0.5057
IND*ALI	2	4.79254433	2.39627216	0.46	0.6434

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ALI	2	35.63513106	17.81756553	3.41	0.0703
REP(ALI)	11	64.46368020	5.86033456	1.12	0.4255
IND	1	1.80210489	1.80210489	0.35	0.5687
IND*ALI	2	4.79254433	2.39627216	0.46	0.6434

Tests of Hypotheses Using the Type III MS for REP(ALI) as an Error Term

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
ALI	2	35.63513106	17.81756553	3.04	0.0889

The GLM Procedure						
Level of		-----CONSG3-----		-----CONTG3-----		
ALI	N	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev	
1	10	14.9613300	2.26197040	26.9677500	2.25654708	
2	10	13.8540600	2.70319462	25.8526400	2.70112047	
3	8	12.1561000	1.60126712	24.1412500	1.58774879	
Level of		-----CONSG3-----		-----CONTG3-----		
IND	N	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev	
1	14	14.0589571	2.42120475	26.0589571	2.42120475	
2	14	13.4698071	2.57537845	25.4648929	2.57345704	
Level of	Level of	-----CONSG3-----		-----CONTG3-----		
IND	ALI	N	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
1	1	5	15.6508400	1.28162171	27.6508400	1.28162171
1	2	5	14.2668000	2.49920131	26.2668000	2.49920131
1	3	4	11.8093000	1.95997438	23.8093000	1.95997438
2	1	5	14.2718200	2.94635934	26.2846600	2.94073571
2	2	5	13.4413200	3.12561107	25.4384800	3.12110367
2	3	4	12.5029000	1.34928797	24.4732000	1.32169063

Análises estatísticas referentes ao capítulo 3: Digestão *in vitro* e *in situ* de leguminosas destinadas ao consumo equino.

T e s t e s d e C O C H R A N e B A R T L E T T

Variáveis Nome do Teste Valor Calculado Valor (P=0.05) Valor (P=0.01)

PH1	Bartlett	5.6395	5.991	9.210
PHFINAL	Bartlett	1.7691	5.991	9.210
MS	Bartlett	0.6478	5.991	9.210
PB	Bartlett	62.6215	5.991	9.210

T e s t e d e L i l l i e f o r s

Variáveis	Valor Calculado	Valor (P=0.05)	Valor (P=0.01)
PH1	0.1830	0.093	0.109
PHFINAL	0.1349	0.093	0.109
MS	0.2622	0.093	0.109
PB	0.1611	0.093	0.109

PH1 -

Número de Observações	87
Média Geral	3.021034
Desvio Padrão	0.321219
Erro Padrão	0.034438
Coefficiente de Variação	10.632740
Valor Máximo	3.700000
Valor Mínimo	2.440000
Amplitude	1.260000
Teste de t	87.723195
Probabilidade da Média = 0	0.000200
Assimetria	0.466892
Probabilidade da Assimetria = 0	0.452027
Curtose	2.421791
Probabilidade da Curtose = 3	0.383808
Intervalo de Confiança P(0.05)	0.068532
Amostra Ideal (10%)	4.477097

PHFINAL -

Número de Observações	86
Média Geral	6.847209
Desvio Padrão	0.036482
Erro Padrão	0.003934
Coefficiente de Variação	0.532803
Valor Máximo	6.980000
Valor Mínimo	6.800000
Amplitude	0.180000
Teste de t	1740.535766
Probabilidade da Média = 0	0.000200
Assimetria	0.872412
Probabilidade da Assimetria = 0	0.410397
Curtose	3.644410
Probabilidade da Curtose = 3	0.370270
Intervalo de Confiança P(0.05)	0.007829
Amostra Ideal (10%)	0.011242

MS -

Número de Observações	90
Média Geral	30.045801
Desvio Padrão	6.648954
Erro Padrão	0.700861
Coefficiente de Variação	22.129396
Valor Máximo	45.940932
Valor Mínimo	22.457794
Amplitude	23.483138
Teste de t	42.869822
Probabilidade da Média = 0	0.000200
Assimetria	0.820689
Probabilidade da Assimetria = 0	0.417436
Curtose	2.065051
Probabilidade da Curtose = 3	0.319107
Intervalo de Confiança P(0.05)	1.394714
Amostra Ideal (10%)	19.393013

PB -

Número de Observações	90
Média Geral	36.899681
Desvio Padrão	5.388537
Erro Padrão	0.568002
Coefficiente de Variação	14.603207
Valor Máximo	47.390213
Valor Mínimo	30.172108
Amplitude	17.218105
Teste de t	64.964036
Probabilidade da Média = 0	0.000200
Assimetria	0.499828
Probabilidade da Assimetria = 0	0.449491
Curtose	2.226490
Probabilidade da Curtose = 3	0.348637
Intervalo de Confiança P(0.05)	1.130323
Amostra Ideal (10%)	8.445059

Análise de Variância

PH1

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TRAT	2	5.506625	2.753312	211.93	0.00000
BLOCO	9	1.681036	0.1867818	4.377	0.00000
Resíduo	71	0.9224060	0.1299163E-01		
Coefficiente de Variação =		3.781			

NEWMAN KEULS

Variável = PH1 (0.1299163E-01)

TRAT	Descrição	Dados	Médias	Comparações	5%
1		24	3.4237	A	
3		30	2.8707	B	
2		29	2.8198	B	

PHFINAL

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
TRAT	2	0.7687216E-02	0.3843608E-02	3.025	0.05488
BLOCO	9	0.1270682E-01	0.1411869E-02	1.111	0.36643
Resíduo	71	0.9021973E-01	0.1270700E-02		
Coeficiente de Variação =		0.521			

Variável analisada: MS

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	2797.107336	1398.553668	111.556	0.0000
BLOCO	9	159.690596	17.743400	1.415	0.1961
erro	78	977.866064	12.536744		
Total corrigido		89	3934.663996		
CV (%) =	11.78				
Média geral:	30.0457778	Número de observações:		90	

Teste SNK para a FV TRAT

Médias DMS NMS: 0,05

3	2,18487624386721
2	1,82005560552868

Média harmonica do número de repetições (r): 30
 Erro padrão: 0,646445264915611

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
3	25.830333	a1
2	26.383667	a1
1	37.923333	a2

Variável analisada: PB

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	1398.218196	699.109098	37.562	0.0000
BLOCO	9	54.052138	6.005793	0.323	0.9652
erro	78	1451.749849	18.612178		
Total corrigido		89	2904.020182		
CV (%) =	9.06				

Média geral:47.6184444 Número de observações: 90

Teste SNK para a FV TRAT
Médias DMS NMS: 0,05

3 2,66215323437956
2 2,21763906793766

Média harmonica do número de repetições (r): 30
Erro padrão: 0,787658503622341

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
1	42.512000	a1
3	48.236000	a2
2	52.107333	a3

Testes de COCHRAN e BARTLETT

Variáveis	Nome do Teste	Valor Calculado	Valor(P=0.05)	Valor(P=0.01)
MS	Bartlett	3.5044	35.172	41.638
PB	Bartlett	3.0691	35.172	41.638
FDN	Bartlett	5.9515	35.172	41.638

Teste de Lilliefors

Variáveis	Valor Calculado	Valor (P=0.05)	Valor (P=0.01)
MS	0.0974	0.104	0.122
PB	0.1387	0.104	0.122
FDN	0.0765	0.104	0.122

Análise de Variância

MS		Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
ALIM			2	497.7490	248.8745	16.673	0.00000
TEMPO			7	17504.70	2500.672	167.527	0.00000
ALIM	TEMPO		14	285.4578	20.38985	1.366	0.20669
Resíduo			48	716.4943	14.92696		
Coeficiente de Variação =				12.323			

NEWMAN KEULS

Variável = MS	(14.92696)	Dados	Médias	Comparações	5%
ALIM	Descrição				
1		24	35.0698	A	
2		24	29.5643	B	
3		24	29.4228	B	

N E W M A N K E U L S

Variável = MS (14.92696)

TEMPO	Descrição	Dados	Médias	Comparações	5%
48		9	51.7334	A	
24		9	47.0421	B	
12		9	42.3280	C	
8		9	38.0243	D	
6		9	30.9233	E	
4		9	23.4617	F	
2		9	12.2189	G	
0		9	5.0865	H	

PB

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
ALIM	2	2021.327	1010.664	19.675	0.00000
TEMPO	7	42015.82	6002.261	116.848	0.00000
ALIM TEMPO	14	942.3431	67.31022	1.310	0.23662
Resíduo	48	2465.669	51.36810		
Coeficiente de Variação = 14.344					

N E W M A N K E U L S

Variável = PB (51.36810)

ALIM	Descrição	Dados	Médias	Comparações	5%
2		24	56.1855	A	
1		24	50.4775	B	
3		24	43.2371	C	

N E W M A N K E U L S

Variável = PB (51.36810)

TEMPO	Descrição	Dados	Médias	Comparações	5%
48		9	77.5235	A	
24		9	75.0870	A	
12		9	70.5512	A	
8		9	61.8998	B	
6		9	52.2667	C	
4		9	30.3365	D	
2		9	19.0725	E	
0		9	12.9962	E	

FDN

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif.
ALIM	2	16.34080	8.170401	0.463	*****
TEMPO	7	12463.55	1780.507	100.817	0.00000
ALIM TEMPO	14	598.0379	42.71699	2.419	0.01181
Resíduo	48	847.7189	17.66081		
Coeficiente de Variação = 17.683					

N E W M A N K E U L S

Variável = FDN (17.66081)

TEMPO	Descrição	Dados	Médias	Comparações	5%
-------	-----------	-------	--------	-------------	----

48	9	45.0356	A
24	9	36.9913	B
12	9	32.3572	C
8	9	26.8641	D
6	9	20.2333	E
4	9	15.2412	F
2	9	8.5003	G
0	9	4.8998	G

NEWMAN KEULS

Variável = FDN (17.66081)

Interação ALIM xTEMPO Comparações 5%

TEMPO	1	2	3
0	0.18 B	5.90 AB	8.62 AB
2	8.17 A	7.88 A	9.45 A
4	11.64 B	13.28 B	20.80 A
6	18.63 A	23.28 A	18.79 A
8	29.59 A	26.73 A	24.27 A
12	37.03 AB	31.83 AB	28.22 B
24	41.50 A	34.77 A	34.70 A
48	48.75 A	43.34 A	43.02 A

NEWMAN KEULS

Variável = FDN (17.66081)

Interação TEMPO xALIM Comparações 5%

ALIM	0	2	4	6	8	12	24	48
1	0.18 F	8.17 E	11.64 E	18.63 D	29.59 C	37.03 B	41.50 B	48.75 A
2	5.90 D	7.88 D	13.28 D	23.28 C	26.73 BC	31.83 BC	34.77 BC	43.34 A
3	8.62 E	9.45 E	20.80 CD	18.79 D	24.27 CD	28.22 BCD	34.70 BC	43.02 A

MS

Descrição	Valores	Médias	Desvios	Dados
ALIM	Todos	31.35228	16.36055	72
ALIM - - - - -	1.	35.06976	18.38395	24
TEMPO -----	0.	5.014239	4.593120	3
TEMPO - - - - -	2.	15.57993	3.693625	3
TEMPO - - - - -	4.	23.96230	6.452640	3
TEMPO - - - - -	6.	33.71744	4.330140	3
TEMPO - - - - -	8.	43.50423	4.760820	3
TEMPO - - - - -	12.	49.60925	6.375099	3
TEMPO - - - - -	24.	53.56538	6.413096	3
TEMPO - - - - -	48.	55.60532	2.235632	3
ALIM - - - - -	2.	29.56432	15.62231	24
TEMPO -----	0.	4.686619	1.813821	3
TEMPO - - - - -	2.	10.38440	0.6861700	3
TEMPO - - - - -	4.	20.70214	2.691182	3
TEMPO - - - - -	6.	31.03223	0.2016574	3
TEMPO - - - - -	8.	36.40583	0.7231705	3
TEMPO - - - - -	12.	39.25432	2.632540	3
TEMPO - - - - -	24.	44.24344	2.058016	3
TEMPO - - - - -	48.	49.80555	5.821827	3
ALIM - - - - -	3.	29.42275	14.92016	24
TEMPO -----	0.	5.558740	2.932141	3
TEMPO - - - - -	2.	10.69227	3.666449	3
TEMPO - - - - -	4.	25.72055	5.701408	3
TEMPO - - - - -	6.	28.02034	3.888320	3
TEMPO - - - - -	8.	34.16277	4.157108	3
TEMPO - - - - -	12.	38.12051	1.859986	3
TEMPO - - - - -	24.	43.31740	1.936757	3
TEMPO - - - - -	48.	49.78946	1.704093	3

PB

Descrição	Valores	Médias	Desvios	Dados
ALIM	Todos	49.96668	25.85037	72
ALIM - - - - -	1.	50.47746	25.65036	24
TEMPO -----	0.	12.49968	8.279133	3
TEMPO - - - - -	2.	22.23663	6.548872	3
TEMPO - - - - -	4.	31.34143	9.511730	3
TEMPO - - - - -	6.	46.08088	6.226583	3
TEMPO - - - - -	8.	61.36628	3.930451	3
TEMPO - - - - -	12.	73.15436	5.313385	3
TEMPO - - - - -	24.	77.11760	4.126614	3
TEMPO - - - - -	48.	80.02281	1.929703	3
ALIM - - - - -	2.	56.18549	24.24087	24
TEMPO -----	0.	14.22684	4.891558	3
TEMPO - - - - -	2.	28.87838	10.78787	3
TEMPO - - - - -	4.	41.85385	8.100443	3
TEMPO - - - - -	6.	60.52926	2.317222	3
TEMPO - - - - -	8.	71.11326	4.504237	3
TEMPO - - - - -	12.	75.05979	0.8415314	3
TEMPO - - - - -	24.	77.56776	0.3197513	3
TEMPO - - - - -	48.	80.25478	2.473068	3

ALIM	-- - - - - - - - - - -	3.	43.23708	27.00720	24
TEMPO	-----	0.	12.26222	9.165778	3
TEMPO	- - - - - - - - - - -	2.	6.102540	8.143258	3
TEMPO	- - - - - - - - - - -	4.	17.81424	11.41453	3
TEMPO	- - - - - - - - - - -	6.	50.18986	18.99192	3
TEMPO	-- - - - - - - - - - -	8.	53.21991	6.723072	3
TEMPO	-- - - - - - - - - - -	12.	63.43953	0.8451859	3
TEMPO	-- - - - - - - - - - -	24.	70.57560	1.180568	3
TEMPO	- - - - - - - - - - -	48.	72.29277	0.7763336	3

FDN

Descrição		Valores	Médias	Desvios	Dados
ALIM		Todos	23.76534	14.00485	72
ALIM	- - - - - - - - - - -	1.	24.43628	17.07165	24
TEMPO	-----	0.	0.1800000	0.3117691	3
TEMPO	- - - - - - - - - - -	2.	8.167713	6.942482	3
TEMPO	- - - - - - - - - - -	4.	11.64176	7.715511	3
TEMPO	-- - - - - - - - - - -	6.	18.62918	3.385294	3
TEMPO	-- - - - - - - - - - -	8.	29.59264	3.502175	3
TEMPO	-- - - - - - - - - - -	12.	37.02597	2.731499	3
TEMPO	- - - - - - - - - - -	24.	41.49843	3.858000	3
TEMPO	- - - - - - - - - - -	48.	48.75452	4.541306	3
ALIM	-- - - - - - - - - - -	2.	23.37682	13.26006	24
TEMPO	-----	0.	5.900070	5.165914	3
TEMPO	- - - - - - - - - - -	2.	7.882300	1.945734	3
TEMPO	- - - - - - - - - - -	4.	13.28319	3.315662	3
TEMPO	- - - - - - - - - - -	6.	23.27663	1.426860	3
TEMPO	- - - - - - - - - - -	8.	26.73176	2.017224	3
TEMPO	- - - - - - - - - - -	12.	31.83009	4.612251	3
TEMPO	- - - - - - - - - - -	24.	34.77327	3.623223	3
TEMPO	- - - - - - - - - - -	48.	43.33725	7.241145	3
ALIM	- - - - - - - - - - -	3.	23.48292	11.72528	24
TEMPO	-----	0.	8.619411	2.198878	3
TEMPO	- - - - - - - - - - -	2.	9.450743	4.458355	3
TEMPO	- - - - - - - - - - -	4.	20.79862	5.599510	3
TEMPO	- - - - - - - - - - -	6.	18.79403	4.922954	3
TEMPO	- - - - - - - - - - -	8.	24.26783	4.208403	3
TEMPO	-- - - - - - - - - - -	12.	28.21553	2.853037	3
TEMPO	- - - - - - - - - - -	24.	34.70210	2.942586	3
TEMPO	- - - - - - - - - - -	48.	43.01508	0.3515872	3

Análise de degradação da MS, PB e FDN, segundo modelo de Orskov & McDonald (1979).

Variáveis	Nome do Teste	Valor Calculado	Valor (P=0.05)	Valor (P=0.01)
ALFAFA	Bartlett	0.1524	5.991	9.210
CGRAND	Bartlett	0.2071	5.991	9.210
MINEIRA	Bartlett	0.0932	5.991	9.210

PBALF	Bartlett	0.3034	5.991	9.210
PBCG	Bartlett	0.2296	5.991	9.210
PBMIN	Bartlett	0.0141	5.991	9.210

T e s t e d e L i l l i e f o r s

Variáveis	Valor Calculado	Valor (P=0.05)	Valor (P=0.01)
MS ALFAFA	0.1060	0.176	0.223
MS CGRAND	0.1321	0.176	0.223
MS MINEIRA	0.1246	0.176	0.223
PBALF	0.1172	0.176	0.223
PBCG	0.1454	0.176	0.223
PBMIN	0.1736	0.176	0.223
FDNALF	0.1440	0.285	0.331
FDNCG	0.1492	0.285	0.331
FDNMM	0.1325	0.285	0.331

Procedimento = Marquardt
 Objetivo = Regressão não-linear
 Equação = ALFAFA ATÉ MINEIRA FUNÇÃO $A+B*(1-EXP(-C*TEMPO))$
 Amplitudes = (A=0,20,5) (B=10,60,20) (C=0.02,0.155,0.05)

Variável Dependente = ALFAFA

Parâmetros da Regressão

Parâmetros	Coefficientes	Desvios	T	Signif.
A	3.08110	2.52494	1.220	0.11795
B	53.10612	3.05821	17.365	0.00000
C	0.15057	0.01966	7.657	0.00000

Coef. de Determinação = 0.935

Variável Dependente = CGRAND

Parâmetros da Regressão

Parâmetros	Coefficientes	Desvios	T	Signif.
A	2.64454	1.71614	1.541	0.06913
B	45.67020	2.13528	21.388	0.00000
C	0.14191	0.01488	9.534	0.00000

Coef. de Determinação = 0.958

Variável Dependente = MINEIRA

Parâmetros da Regressão

Parâmetros	Coefficientes	Desvios	T	Signif.
A	4.52719	1.95904	2.311	0.01554
B	43.22403	2.45790	17.586	0.00000
C	0.13318	0.01732	7.690	0.00000

Coef. de Determinação = 0.938

Procedimento = Marquardt
 Objetivo = Regressão não-linear
 Equação = PBALF ATÉ PBMIN FUNÇÃO $A+B*(1-EXP(-C*TEMPO))$
 Amplitudes = (A=0,20,5) (B=10,80,20) (C=0.02,0.2,0.05)

Variável Dependente = PBALF
 Parâmetros da Regressão

Parâmetros	Coefficientes	Desvios	T	Signif.
A	7.96511	3.61435	2.204	0.01942
B	73.96187	4.54435	16.276	0.00000
C	0.13244	0.01853	7.146	0.00000

Coef. de Determinação = 0.929

Variável Dependente = PBCG
 Parâmetros da Regressão

Parâmetros	Coefficientes	Desvios	T	Signif.
A	10.99331	3.27122	3.361	0.00148
B	69.96293	3.89953	17.941	0.00000
C	0.18654	0.02263	8.242	0.00000

Coef. de Determinação = 0.940

Variável Dependente = PBMIN
 Parâmetros da Regressão

Parâmetros	Coefficientes	Desvios	T	Signif.
A	0.00000	7.43439	0.000	0.50000
B	78.45751	5.86336	13.381	0.00000
C	0.13388	0.02590	5.170	0.00002

Coef. de Determinação = 0.840

Procedimento = Marquardt
 Objetivo = Regressão não-linear
 Equação = FDN FUNÇÃO $A + B*(1-EXP(-C*TEMPO))$
 Amplitudes = (A=0,40,10) (B=20,100,50) (C=0.01,1,0.05)

Parâmetros da Regressão

Parâmetros	Coefficientes	Desvios	T	Signif.
A	3.61047	1.74436	2.070	0.04663
B	40.73677	2.47748	16.443	0.00001
C	0.09152	0.01350	6.777	0.00053

Soma de quadrados da regressão = 1362.007
 Soma de quadrados do resíduo = 22.83197
 Coef. de Determinação = 0.984

Análise do ensaio de produção de gases

Variável analisada: PG

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	5	41349.480337	8269.896067	46.242	0.0000
BLOCO	2	873.774543	436.887272	2.443	0.1368
erro 1	10	1788.384332	178.838433		
TEMPO	7	316963.639833	45280.519976	2687.051	0.0000
TEMPO*TRAT	35	16132.366313	460.924752	27.352	0.0000
erro 2	84	1415.515792	16.851378		

```

-----
Total corrigido      143      378523.161149
-----
CV 1 (%) =          21.16
CV 2 (%) =           6.49
Média geral:        63.2063194      Número de observações:      144
-----

```

 Teste Scott-Knott (1974) para a FV TRAT

Média harmonica do número de repetições (r): 24
 Erro padrão: 2,72976214771578

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
6	41.511250	a1
4	50.454583	a2
5	52.816250	a2
3	66.880417	a3
1	76.010417	a4
2	91.565000	a5

 Análise do desdobramento de TRAT dentro de cada nível de:TEMPO

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	/1 5	0.000378	0.000076	0.000	1.0000
TRAT	/2 5	2478.086028	495.617206	8.852	0.0001
TRAT	/3 5	10104.892694	2020.978539	36.096	0.0000
TRAT	/4 5	15755.291117	3151.058223	56.280	0.0000
TRAT	/5 5	14787.619894	2957.523979	52.823	0.0000
TRAT	/6 5	7605.299578	1521.059916	27.167	0.0000
TRAT	/7 5	3786.837094	757.367419	13.527	0.0000
TRAT	/8 5	2963.819867	592.763973	10.587	0.0000
Erro	24	1343.744179	55.989341		

Codificação usada para o desdobramento

cod. TEMPO

1 = 2

2 = 6

3 = 12

4 = 18

5 = 24

6 = 32

7 = 40

8 = 48

Teste de Scott-Knott (1974) para o desdobramento de TRAT dentro da codificação: 2 horas

Média harmonica do número de repetições (r): 3

Erro padrão: 4,32008259201741

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
5	0.020000	a1
4	0.020000	a1
6	0.020000	a1
2	0.026667	a1
1	0.030000	a1
3	0.030000	a1

Teste de Scott-Knott (1974) para o desdobramento de TRAT dentro da codificação: 6 horas

Média harmonica do número de repetições (r): 3

Erro padrão: 4,32008259201741

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
6	1.303333	a1
4	1.903333	a1
5	3.090000	a1
3	6.240000	a1
1	9.356667	a1
2	34.983333	a2

Teste de Scott-Knott (1974) para o desdobramento de TRAT dentro da codificação: 12horas

Média harmonica do número de repetições (r): 3

Erro padrão: 4,32008259201741

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
6	5.730000	a1
4	9.570000	a1
5	12.213333	a1
3	27.810000	a2
1	35.190000	a2
2	75.250000	a3

Teste de Scott-Knott (1974) para o desdobramento de TRAT dentro da codificação: 18 horas

Média harmonica do número de repetições (r): 3

Erro padrão: 4,32008259201741

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
6	15.340000	a1
4	24.130000	a1
5	27.766667	a1
3	55.610000	a2
1	63.443333	a2
2	101.940000	a3

Teste de Scott-Knott (1974) para o desdobramento de TRAT dentro da codificação: 24 horas

Média harmonica do número de repetições (r): 3

Erro padrão: 4,32008259201741

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
6	31.123333	a1
4	47.090000	a2
5	54.596667	a2
3	80.330000	a3
1	89.730000	a3
2	116.473333	a4

Teste de Scott-Knott (1974) para o desdobramento de TRAT dentro da codificação: 32 horas

Média harmonica do número de repetições (r): 3

Erro padrão: 4,32008259201741

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
6	69.386667	a1
4	80.556667	a2
5	89.416667	a2
3	107.330000	a3
1	119.796667	a4
2	125.920000	a4

Teste de Scott-Knott (1974) para o desdobramento de TRAT dentro da codificação: 40 horas

Média harmonica do número de repetições (r): 3
 Erro padrão: 4,32008259201741

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
6	98.533333	a1
4	111.626667	a2
5	112.156667	a2
3	124.693333	a3
2	135.800000	a4
1	139.986667	a4

Teste de Scott-Knott (1974) para o desdobramento de TRAT dentro da codificação: 48 horas

Média harmonica do número de repetições (r): 3
 Erro padrão: 4,32008259201741

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
6	110.653333	a1
5	123.270000	a2
4	128.740000	a2
3	133.000000	a2
2	142.126667	a3
1	150.550000	a3

Procedimento=Guauss-Newton

Objetivo= Regressão não-linear

Equação= T1 ATÉ T6 FUNÇÃO ((V1/(1+(EXP(2-4*(C1*(TEMPO-L))))))+ V2/(1+(EXP(2-4*(C2*(TEMPO-L))))))

Amplitudes=(V2=50,340,150) (C2=0.00001,1,0.02) (C1=-1,1,0.10) (L=1,10,1.45) (V1=0.0001,120,60)

Variável Dependente = T1

Parâmetros da Regressão

Parâmetros	Coefficientes	Desvios	T	Signif.
V1	22.72283	5.38796	4.217	0.00089
C1	0.18208	0.06966	2.614	0.01293
L	8.96204	0.56895	15.752	0.00000
V2	130.57824	5.23629	24.937	0.00000
C2	0.03370	0.00215	15.679	0.00000

Soma de quadrados da regressão = 38609.96

Soma de quadrados do resíduo = 108.3270

Coef. de Determinação = 0.998

Variável Dependente = T2

Parâmetros da Regressão

Parâmetros	Coefficientes	Desvios	T	Signif.
V1	54.94545	9.88406	5.559	0.00012
C1	0.15189	0.03997	3.800	0.00174
L	3.96982	0.60253	6.589	0.00003
V2	82.81808	9.00655	9.195	0.00000
C2	0.03767	0.00491	7.677	0.00001
Soma de quadrados da regressão =		28789.86		
Soma de quadrados do resíduo =		209.6475		
Coef. de Determinação =		0.993		

Variável Dependente = T3

Parâmetros da Regressão

Parâmetros	Coefficientes	Desvios	T	Signif.
V1	24.85550	5.97779	4.158	0.00098
C1	0.14391	0.04161	3.458	0.00307
L	9.75355	0.47676	20.458	0.00000
V2	110.53980	5.20841	21.223	0.00000
C2	0.03496	0.00233	14.986	0.00000
Soma de quadrados da regressão =		31877.37		
Soma de quadrados do resíduo =		66.47431		
Coef. de Determinação =		0.998		

Variável Dependente = T4

Parâmetros da Regressão

Parâmetros	Coefficientes	Desvios	T	Signif.
V1	0.02014	0.33069	0.061	0.47631
C1	0.00000	2034.77735	0.000	0.50000
L	9.99927	0.01528	654.512	0.00000
V2	130.07876	14.93453	8.710	0.00000
C2	0.02867	0.00454	6.320	0.00004
Soma de quadrados da regressão =		26469.33		
Soma de quadrados do resíduo =		836.3444		
Coef. de Determinação =		0.997		

Variável Dependente = T5

Parâmetros da Regressão

Parâmetros	Coefficientes	Desvios	T	Signif.
V1	0.01266	25.58255	0.000	0.50000
C1	0.03034	66.30748	0.000	0.50000
L	10.00000	1.36873	7.306	0.00001
V2	124.95269	29.69232	4.208	0.00090
C2	0.03258	0.00730	4.466	0.00060
Soma de quadrados da regressão =		27032.27		
Soma de quadrados do resíduo =		400.8187		
Coef. de Determinação =		0.999		

Variável Dependente = T6
Parâmetros da Regressão

Parâmetros	Coefficientes	Desvios	T	Signif.
V1	0.00876	0.11852	0.074	0.47125
C1	0.02587	50.59487	0.001	0.50000
L	9.99896	0.03185	313.954	0.00000
V2	111.36146	20.18766	5.516	0.00013
C2	0.02793	0.00810	3.448	0.00313

Soma de quadrados da regressão = 20068.98
Soma de quadrados do resíduo = 1306.272
Coef. de Determinação = 0.986