

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

ESCOLA DE VETERINÁRIA

Programa de Pós-graduação em Zootecnia

ANA PAULA SALDANHA FRANZONI

**Efeito do processamento do milho no desenvolvimento do rúmen,
desempenho de bezerros e digestibilidade *in vitro* do grão**

**Belo Horizonte
Escola de Veterinária – UFMG
2012**

ANA PAULA SALDANHA FRANZONI

Efeito do processamento do milho no desenvolvimento do rúmen, desempenho de bezerros e na digestibilidade *in vitro* do grão

Dissertação apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Zootecnia.

Área de concentração: Produção Animal

Orientadora: Sandra Gesteira Coelho

Co-orientador: Rogério Martins Maurício

Belo Horizonte
Escola de Veterinária – UFMG
2012

Aos meus pais, Elci e William,

Ao meu marido Thiago,

Pelo apoio incondicional sempre,

dedico a vocês esta obra, com todo meu amor e carinho

"No semblante do animal que não fala existe todo um discurso, que somente um espírito sábio é capaz de entender."

"Poema Indu"

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Elci e William, por serem minha base, inspiração, e pelo amor e apoio incondicional!!

Ao meu marido Thiago, meu amor, por toda ajuda prática durante os experimentos, paciência carinho e apoio! E à sua família, Maju, José Carlos, Arthur e João Henrique.

À Professora Sandra, pela excelente orientação desde a graduação e pelos inúmeros ensinamentos, disponibilidade e amizade.

Ao Professor Último, por todo carinho sempre e por me acolher em sua casa, com sua família linda! Por toda ajuda prática durante o experimento, sem a qual nada seria possível! Pelos conhecimentos compartilhados sempre com muita humildade, carinho e didática! Além de nos proporcionar os melhores cafés da manhã, almoços e lanches da tarde que qualquer mestranda pode ter!

Ao Professor Lobão, pela amizade, carinho e atenção sempre! Pelos conselhos e ajuda durante toda minha formação, em especial para a escolha da minha área de atuação.

Aos meus irmãos de experimento, Júlia, Leandro e Dani por todos os momentos inesquecíveis que tornaram o experimento muito mais leve! Vocês são o mais precioso que levo deste mestrado.

À Bruna e Cibele pelo auxílio experimental.

Ao Thierry, pela amizade, paciência e ajuda durante o experimento *in vitro* e realização das análises estatísticas.

À Professora Fabíola e Professor Paulo por disponibilizarem o Laboratório de Patologia Clínica para armazenamento e realização de inúmeras amostras.

Aos funcionários da Escola de Veterinária que nos proporcionaram inúmeras adaptações fundamentais no bezerreiro experimental e pela ajuda nas análises laboratoriais.

À Tortuga Companhia Zootécnica Agrária pela colaboração na aquisição do sucedâneo de leite e do concentrado e a Belgo Bekart pela doação dos materiais utilizados na construção do bezerreiro.

À CAPES bela bolsa de mestrado.

Ao CNPq e FAPEMIG pelo auxílio financeiro indispensável para condução do experimento.

Aos meus amigos que sempre estavam presentes, ajudando muito durante todo o experimento, Luciele, Gustavo, Moisés, Rodrigo, Felipe, Emerson, José, Marina, Tiaguinho, Saulo, Ju carioca, Betânia, sem os quais nada seria possível.

Aos meus irmãos da graduação que me ajudaram sempre que precisei, Nemo, Tchonga, Mãozinha, Cecília, Leo, Gaby, Janice, Chris e Camila.

Aos meus queridos estagiários, que além de ajudarem muito durante todo o período experimental se tornaram grandes amigos! Em especial Nanda, Lucas, Magela, Zé Neto, Natan, Dudu, Balt, Letícia, Camila, Elias, Dani e Ju Leão.

SUMÁRIO

Conteúdo

1. CAPÍTULO 1	13
INTRODUÇÃO	15
2. CAPÍTULO 2	17
REVISÃO DE LITERATURA	17
CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DO RÚMEN	17
DESENVOLVIMENTO DO RÚMEN	19
DESENVOLVIMENTO DA MICROBIOTA RUMINAL	26
PH RUMINAL	29
ÁCIDOS GRAXOS VOLÁTEIS	31
NITROGÊNIO AMONÍACAL	33
CONSUMO E GANHO DE PESO	34
ÁGUA	35
GLICOSE	37
PROPRIEDADES DO AMIDO	38
PROCESSAMENTO DO MILHO	39
TIPOS DE PROCESSAMENTO	40
PROCESSAMENTO DO MILHO E O AMBIENTE RUMINAL	42
TÉCNICA <i>IN VITRO</i> DE PRODUÇÃO DE GASES	44
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	46
3. CAPÍTULO 3	60
EFEITO DO PROCESSAMENTO DO MILHO NO DESEMPENHO E DESENVOLVIMENTO DO RÚMEN DE BEZERROS	60
RESUMO	60
EFFECT OF CORN PROCESSING ON RUMEN DEVELOPMENT AND PERFORMANCE OF CALVES	61
ABSTRACT	61
INTRODUÇÃO	62
MATERIAL E MÉTODOS	62
LOCAL DE EXECUÇÃO DO EXPERIMENTO	62
ANIMAIS	63
GRUPOS EXPERIMENTAIS	65

PROCEDIMENTO PARA COLHEITA DE DADOS.....	67
ANÁLISES LABORATORIAIS	69
ANÁLISE ESTATÍSTICA	71
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	73
COMENTÁRIOS INICIAIS	73
CONSUMO DE ALIMENTOS	75
COMPORTAMENTO DO PH RUMINAL.....	78
ÁCIDOS GRAXOS VOLÁTEIS	80
NITROGÊNIO AMONÍACAL.....	85
CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE GLICOSE	86
GANHO DE PESO	88
PESO DOS ÓRGÃOS.....	90
ASPECTOS ANATOMO-HISTOLÓGICOS DO RÚMEN.....	93
CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES.....	104
APÊNDICE - 1	105
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	106
4. CAPÍTULO 4.....	112
USO DE SACOS F57 (ANKOM [®]) PELA TÉCNICA <i>IN VITRO</i> SEMI-AUTOMÁTICA DE PRODUÇÃO DE GASES	112
RESUMO	112
USE OF F57 (ANKOM [®]) BAGS BY THE SEMI-AUTOMATIC <i>IN VITRO</i> TECHNIQUE OF GAS PRODUCTION.....	113
ABSTRACT.....	113
INTRODUÇÃO	114
MATERIAL E MÉTODOS	114
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	116
CONCLUSÕES	117
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	118
5. CAPÍTULO 5.....	119
DIGESTIBILIDADE <i>IN VITRO</i> DO GRÃO DE MILHO SUBMETIDO A QUATRO PROCESSAMENTOS, UTILIZANDO INÓCULO RUMINAL DE BEZERROS EM DIFERENTES IDADES.....	119
RESUMO	119

IN VITRO DIGESTIBILITY OF FOUR CORN GRAIN PROCESSING USING RUMEN INOCULUM OF CALVES WITH DIFERENTS AGES	120
ABSTRACT	120
INTRODUÇÃO	121
MATERIAL E MÉTODOS	121
LOCAL DE EXECUÇÃO	121
DEGRADABILIDADE DA MATÉRIA SECA (DMS).....	126
ANÁLISE ESTATÍSTICA	127
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	128
CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES	137
IMPLICAÇÕES.....	137
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	138

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Variação na proporção dos pré estômagos de bovinos de acordo com o desenvolvimento.....	21
Tabela 2 - Constantes de dissociação (pKa) dos principais ácidos presentes no rúmen, e sua taxa de absorção ruminal em função do pH	30
Tabela 3 - Distribuição dos bezerros nos grupos experimentais	65
Tabela 4 - Composição nutricional dos concentrados fornecidos com milho floculado, milho grosso, milho farelado, do capim e do sucedâneo do leite	66
Tabela 5 - Porcentagem de partículas dos diferentes concentrados retidas em cada peneira GRANUTEST®	67
Tabela 6 - Médias mensais das temperaturas mínimas e máximas durante o período experimental	73
Tabela 7 – Consumo de concentrado (kg/dia) na matéria seca a cada semana de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho	76
Tabela 8 - Valores de pH do conteúdo ruminal nas diferentes idades avaliadas de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho	78
Tabela 9 - Concentrações de acetato (mMol/100mL) nas diferentes idades avaliadas de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho.....	80
Tabela 10 - Concentrações de propionato (mMol/100mL) nas diferentes idades avaliadas de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho.....	81
Tabela 11 - Concentrações de butirato (mMol/100mL) nas diferentes idades avaliadas de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho.....	82
Tabela 12 - Médias das concentrações molares (mMol/100mL) dos ácidos graxos voláteis totais do conteúdo ruminal nas diferentes idades avaliadas de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho.....	82
Tabela 13 - Porcentagens molares de acetato, propionato e butirato, do conteúdo ruminal nas diferentes idades avaliadas de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho.....	84
Tabela 14 - Concentração (mg/100mL) de nitrogênio amoniacal do conteúdo ruminal nas diferentes idades avaliadas de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho.....	85

Tabela 15 - Concentração plasmática de glicose (mg/dL) de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho.....	86
Tabela 16 - Peso vivo (kg) nas diferentes idades avaliadas de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho.....	89
Tabela 17- Peso do ruminorretículo (kg), omaso e abomaso vazios e a relação abomaso/ruminorretículo de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho.....	91
Tabela 18 - Proporção entre os pré-estômagos de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho e dados da literatura	92
Tabela 19 - Média dos pesos (kg) do fígado, baço, pâncreas e gordura perirenal de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado.....	92
Tabela 20 - Altura média (cm) das papilas do saco ventral do rúmen de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho...	93
Tabela 21 - Avaliações histológicas expressas em percentagem de ocorrências no saco ventral do rúmen de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho.....	94
Tabela 22 - Avaliações histológicas expressas em percentagem das camadas de queratina das papilas do saco ventral do rúmen de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho.....	94
Tabela 23 - Média dos pesos (kg) do baço, gordura perirenal, fígado, pâncreas, ruminorretículo, abomaso e omaso de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado.....	105
Tabela 24 - Composição nutricional do concentrado capim e sucedâneo.....	122
Tabela 25 - Porcentagem de partículas retidas em cada peneira GRANUTEST® de acordo com o tipo de milho.....	124
Tabela 26 - Composição química dos milhos floculado, grosso, farelado e silagem de milho reidratado.....	125
Tabela 27- Média do consumo de concentrado (kg/dia) na matéria seca por bezerros aleitados até 60 dias de idade.....	128
Tabela 28 - Produção de gases (Gás) (mL) e degradabilidade da matéria seca (%) de milhos com diferentes processamentos incubados com inócuo ruminal de bezerros com idade média de 22 dias.....	129
Tabela 29 - Produção de gases (Gás) (mL) e degradabilidade da matéria seca (Deg) (%) de milhos com diferentes processamentos incubados com inóculo ruminal de bezerros com idade média de 42 dias.....	130
Tabela 30 - Produção de gases (mL) e degradabilidade da matéria seca (%) de milhos com diferentes processamentos incubados com inócuo ruminal de bezerros com idade média de 64 dias.....	131

Tabela 31 - Produção de gases (mL) e degradabilidade da matéria seca (%) de milhos com diferentes processamentos incubados com inócuo ruminal de bezerros com idade média de 84 dias.....	133
Tabela 32 - Produção de gases dos diferentes processamentos do milho com os inócuos de bezerros de diferentes idades	136
Tabela 33 - Degradabilidade da matéria seca (%) dos diferentes processamentos do milho com os inócuos de bezerros de diferentes idades	136

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Desenho esquemático do Bezerreiro Experimental	63
Figura 2 - Desenho esquemático da bomba de vácuo (sem escala).....	68
Figura 3 - Médias das temperaturas mínima e máxima ao longo do período experimental.....	73
Figura 4 - Distribuição das chuvas (mm) ao longo dos meses experimentais novembro de 2010 a Abril de 2011	74
Figura 5 - Equações de regressão de cada grupo nas diferentes idades avaliadas para o consumo de concentrado de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho (F = Floculado, Q = Quebrado e FA = Farelado).....	77
Figura 6 - Média geral do pH ruminal nas diferentes idades avaliadas de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho...	78
Figura 7 - Concentrações de acetato (mMol/100mL) nas diferentes idades avaliadas de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho.....	80
Figura 8- Concentrações molares dos ácidos graxos voláteis totais (mMol/100mL) nas diferentes idades avaliadas de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho.....	83
Figura 9 - Concentração plasmática de glicose (mg/dL) nas diferentes idades avaliadas de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho.....	87
Figura 10 - Ganho de peso (kg) nas diferentes idades avaliadas de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho.....	89
Figura 11- Ruminorretículo, omaso e abomaso de bezerro com 30 dias de vida do grupo milho quebrado	95
Figura 12 - Ruminorretículo, omaso e abomaso de bezerro com 60 dias de vida.....	95
Figura 13 - Ruminorretículo, omaso e abomaso de bezerro com 90 dias de vida.....	96
Figura 14 - Ruminorretículo de bezerro com 30 dias de idade do grupo milho floculado.....	96
Figura 15 - Ruminorretículo de bezerro com 60 dias de idade do grupo milho floculado.....	97
Figura 16 - Ruminorretículo de bezerro com 90 dias de idade do grupo farelado	97
Figura 17 - Papilas do saco cranial (A) e ventral (B) de bezerro com 30 dias de vida do grupo milho floculado.....	98

Figura 18 - Papilas do saco cranial (A) e ventral (B) de bezerro com 60 dias de vida do grupo milho grosso	98
Figura 19 - Papilas do saco cranial (A) e ventral (B) de bezerro com 90 dias de vida do grupo milho grosso	99
Figura 20 - Goteira esofágica de bezerro com 90 dias de idade do grupo milho grosso.....	99
Figura 21 - Papilas com o ápice hiperêmico do saco ventral de bezerro do grupo milho floculado com 90 dias de vida milho floculado.....	100
Figura 22 - Tricobezoário presente no abomaso de bezerro com 60 dias de idade do grupo farelado	101
Figura 23 - Tricobezoários no abomaso de bezerro de 30 dias de idade do grupo farelado .	101
Figura 24 - Epitélio ruminal de bezerro com 30 dias de idade do grupo farelado. Observa-se a tunica muscular (1) seguida pelas submucosa (2), lâmina própria (3) e papilas. Hematoxilina e eosina (x10).	102
Figura 25 - Ápice da papila do rúmen de bezerro com 60 dias de idade do grupo farelado observa-se de dentro para fora: lâmina própria, camada basal, estratos espinho, granuloso e córneo. Hematoxilina eosina (x450).....	102
Figura 26 - Epitélio ruminal de bezerro com 90 dias de idade do grupo floculado com descamação da camada de queratina e acúmulo dos fragmentos da mesma (ocorrência pontual no corte). Hematoxilina e eosina (x10).	103
Figura 27 - Epitélio ruminal de bezerro com 30 dias de idade do grupo milho floculado com camada de queratina moderadamente espessa. Hematoxilina e eosina (x10).	103
Figura 28 - Desenho esquemático do equipamento para mensuração de pressão e volume dos gases durante fermentação <i>in vitro</i>	115
Figura 29 - Dados de pressão e volume obtidos por meio da técnica <i>in vitro</i> semi-automática de produção de gases obtidos por meio da fermentação de partes da planta (colmo, folha e panícula) e planta inteira de Sorgo BRS 506 (* pressão por polegada quadrada).....	117
Figura 30 – Porções de milho quebrado, milho floculado e milho farelado retidas em cada peneira GRANUTEST®.....	124
Figura 31 - Volume de gases produzidos até 48 horas após a inoculação de milhos com diferentes processamentos com inócuo de bezerros aos 22 dias de idade.....	129
Figura 32 - Volume de gases produzidos até 48 horas após a inoculação de milhos com diferentes processamentos com inócuo de bezerros aos 42 dias de idade.....	130
Figura 33 - Volume de gases produzidos até 48 horas após a inoculação de milhos com diferentes processamentos com inócuo de bezerros aos 64 dias de idade.....	131
Figura 34 - Volume de gases produzidos até 48 horas após a inoculação de milhos com diferentes processamentos com inócuo de bezerros aos 84 dias de idade.....	133

RESUMO

Realizou-se dois experimentos para avaliar os efeitos do processamento do milho, moído fino, floculado e quebrado (30%) sobre desempenho e saúde de bezerros (*in vivo*), e parâmetros de degradação, (*in vitro*). No experimento *in vivo* foram utilizados cinquenta e quatro bezerros Holandeses do nascimento a 90 dias de idade. Seis animais de cada grupo foram eutanasiados aos 30, 60 e 90 dias para pesagem dos órgãos e coleta de fragmento do epitélio do saco ventral do rúmen para análise histológica e morfométrica. O consumo de concentrado da 5^a a 8^a semanas foi menor no grupo farelado ($p < 0,06$) e semelhante entre grupos a partir da 9^a semana ($p > 0,06$). O grupo farelado teve o menor peso corporal ($p < 0,06$). As concentrações de acetato, propionato e butirato foram diferentes entre grupos ($p < 0,06$). Os pesos dos órgãos não diferiram entre grupos ($p > 0,06$) exceto o ruminoretículo que foi maior no grupo milho quebrado ($p < 0,06$). Não foram encontradas alterações histológicas no epitélio ruminal nos diferentes grupos. Para realização do segundo experimento foi necessário o desenvolvimento de uma equação para estimar o volume de gases produzidos a partir de dados de pressão (P) e volume (V) obtidos pela fermentação de sorgo forrageiro incubados em sacos F57 (Ankom[®]). Foram quantificados 474 dados simultâneos de P e V, os quais variaram de 0 a 4.670 psi e os de volume entre 0 e 38 mL. A equação relacionando P e V obtida foi: $V \text{ (mL)} = 0.747 \text{ (s.e. } 0.0733) + 7.23 P \text{ (s.e. } 0.1165) + 0.101 P^2 \text{ (s.e. } 0.0372)$, ($R^2 = 0.99$). O desenvolvimento desta equação viabilizou a utilização dos sacos F57 (Ankom[®]) pela na técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases. O segundo experimento *in vitro* foi realizado para avaliar a degradabilidade da matéria seca (DMS) e produção de gases de diferentes processamentos de milho: moído fino ou farelado, floculado, quebrado e silagem do milho reidratado. Foram utilizados sete bezerros Holandeses, fistulados aos 30 dias de idade, como doadores de inoculo ruminal. As avaliações foram realizadas aos 22, 42, 64 e 84 dias de vida. Utilizou-se três horários para avaliação da DMS e produção de gases: seis, 12 e 48 horas após a inoculação do líquido ruminal. Os grupos com maior produção de gás e DMS foram, em escala decrescente, milho reidratado, farelado, floculado e quebrado. A DMS e produção de gás foram maiores ($p < 0,05$) aos 42 dias de vida (39,19% e 108,87 mL), quando comparada a 22 dias (30,13% e 85,61 mL). As análises com inócuo ruminal de bezerros com 64 e 84 dias de vida foram semelhantes às de 42 dias de vida ($p > 0,05$). O que indica que aos 22 dias a microbiota degrada o milho com menor eficiência do que a partir de 42 dias de vida. Os processamentos de moagem e silagem do milho reidratado se mostraram semelhantes quanto a produção de gases e DMS, indicando que ambos têm potencial para produzir o mesmo desempenho de bezerros quando avaliada apenas a disponibilidade energética, no entanto, os efeitos no ambiente ruminal devem ser considerados.

Palavras-chave: floculação, milho farelado, milho quebrado, *in vitro*, sacos F57, produção de gases

ABSTRACT

Two experiments were conducted to evaluate the effects of corn processing, fine ground, flaked and broken (30 %) on performance and health of calves (*in vivo*), and parameters of degradation (*in vitro*). In the *in vivo* experiment fifty-four Holstein calves were used from birth to 90 days old. Six animals from each group were euthanized at 30, 60 and 90 days for weighing organs and collect a fragment of the ventral sac epithelium of the rumen for histological and morphometric analysis. The concentrate intake from 5th to 8th weeks of life was lower in fine ground group ($p < 0,06$) and similar between groups from the 9th week ($p > 0,06$). Fine ground group had the lower body weight ($p < 0,06$). Acetate, propionate and butyrate concentrations were different between groups ($p < 0.06$). The organs weights did not differ between groups ($p > 0,06$) except reticulorumen which was heavier in the cracked corn group ($p < 0,06$). There were no histological changes in ruminal epithelium between different groups. To perform the second experiment was necessary to develop an equation to estimate the volume of gas produced from pressure data (P) and volume (V) obtained by the fermentation of sorghum incubated in F57 bags (Ankom ®). 474 simultaneous P and V data were quantified, which varied from 0 to 4670 psi and the volume between 0 and 38 mL. The equation relating V and P obtained was: $V \text{ (ml)} = 0.747 \text{ (where } 0.0733 \text{)} + 7.23 P \text{ (where } 0.1165 \text{)} + 0.101 P^2 \text{ (where } 0.0372 \text{)}$ ($R^2 = 0.99$). The development of this equation allowed the use of F57 bags (Ankom ®) for the *in vitro* semi - automatic gas production technique. The second *in vitro* experiment was conducted to evaluate the dry matter degradability (DMD) and gas production of different corn processing : finely ground, flaked , cracked corn silage and rehydrated. Seven fistulated Holstein calves were used at 30 days of age as rumen inoculum donors. The evaluations were performed at 22 , 42 , 64 and 84 days of life. Three moments were used to evaluate the DMS and gas production: Six , 12 and 48 hours after ruminal fluid inoculation. The greatest gas production and DMS were, in descending scale, rehydrated corn, finely ground, flaked and broken. DMS and gas production were higher ($p < 0,05$) at 42 days (39,19% and 108,87 mL) compared to 22 days (30,13% and 85,61 mL). Analyses with rumen innocuous of calves with 64 and 84 days were similar to those of 42 days ($p > 0,05$). This indicates that after 22 days of microbial degradation maize with less efficiency than from 42 days of age. The grinding and processing of rehydrated corn silage were similar for the production of gases and DMS, indicating that both have the potential to produce the same performance in calves when the evaluated only available energy, however, the effects on ruminal environment should be considered.

Keywords: flocculation, fine ground corn, cracked corn, *in vitro*, bags F57, gas production

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

A nutrição adequada das bezerras pode reduzir a mortalidade e susceptibilidade a doenças, aumentar a taxa de ganho após a desmama e, em análise mais ampla, aumentar o ganho genético (diminuindo a taxa de descartes involuntários). A fase inicial da vida, quando ocorre o desenvolvimento do rúmen, é marcada pelo desafio fisiológico mais dramático do bezerro. Consiste também de mudanças nos nutrientes que chegam a órgãos como intestino e fígado e conseqüentemente aos tecidos periféricos. Para utilização eficiente da dieta sólida, a transição de monogástrico para ruminante requer tamanho e desenvolvimentos adequados do ruminoretículo.

Entre os grãos, o milho é o alimento energético mais utilizado em concentrados para bezerros. Os grãos inteiros são protegidos pelo pericarpo o qual resiste à digestão microbiana. Além do pericarpo, as fortes ligações entre os grânulos de amido e a presença da matriz protéica circundando estes grânulos também limitam a digestibilidade.

Trabalhos de pesquisa mostram que o processamento do milho aumenta a utilização do amido e pode influenciar a taxa e a extensão do desenvolvimento do rúmen.

As indústrias de alimentos utilizam nas rações para bezerros em aleitamento, com maior frequência a moagem fina, peletização e a floculação do milho. Destes processamentos teoricamente a floculação seria o melhor, por disponibilizar mais o amido ao ataque microbiano e por manter o milho com granulometria que provoca movimentação do rúmen. A moagem fina, a peletização e a silagem de grãos úmidos teriam o inconveniente de não estimular a movimentação do rúmen, mas também disponibilizariam adequadamente o amido para ataque microbiano. Já a moagem grosseira seria interessante para estimular a movimentação do rúmen, no entanto, pode trazer prejuízos energéticos e protéicos para o animal se a produção de AGV e proteína microbiana não forem mantidas como nos outros processamentos, embora seja um processamento fácil de ser utilizado em qualquer fazenda de gado de leite.

As técnicas *in vitro* baseadas na produção de gases durante as fermentações ruminais simulam o ambiente ruminal e os processos digestivos nos ruminantes e permitem descrever a

cinética de fermentação ruminal. A técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases possibilita a avaliação de grande número de substratos, apresenta alta repetibilidade e oferece a possibilidade de descrição da cinética da fermentação do rúmen, estimando a taxa e a extensão da degradação de diferentes alimentos e dietas. Além disso, representa baixo custo quando comparada com as técnicas *in vivo*. Apesar do potencial dessa técnica, ainda não foi utilizada para avaliação de alimentos para bezerros. A possibilidade de conhecimento da cinética de fermentação nas diferentes fases do desenvolvimento do rúmen por técnicas não invasivas se mostra importante para estudos de tecnologias que estimulem o desenvolvimento do rúmen, trazendo importantes consequências econômicas para produtores e pesquisas aplicadas.

Objetivou-se utilizar a associação de metodologias *in vivo* e *in vitro* para avaliação dos efeitos das diferentes granulometrias do milho na fermentação e desenvolvimento ruminal de bezerros em desenvolvimento.

CAPÍTULO 2

REVISÃO DE LITERATURA

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DO RÚMEN

Os ruminantes se diferenciam da maioria dos mamíferos por possuírem quatro estômagos. Esses são constituídos pelos pré-estômagos, retículo, rúmen e omaso e pelo único estômago glandular, que se assemelha ao dos monogástricos, o abomaso. Por não existir barreira física separando completamente o rúmen e o retículo e estes estarem em constante comunicação, podem ser considerados um só compartimento, ruminoretículo, (Church, 1988; Van Soest, 1994; Cunningham, 2004).

O ruminoretículo, no animal adulto, é o maior compartimento e ocupa grande parte da lateral esquerda da cavidade abdominal. Externamente possui vários sulcos, nos quais se encontram vasos sanguíneos, linfonodos e tecido adiposo. Esses sulcos formam internamente os pilares, os quais delimitam os sacos cranial, dorsal, ventral, cego caudo dorsal e cego caudo ventral. Além disso, os pilares são muito importantes para a movimentação do rúmen. Juntamente com a própria parede se contraem e relaxam alternadamente, acentuando ou diminuindo as divisões dentro da luz do ruminoretículo (Church, 1988; Van Soest, 1994; Cunningham, 2004).

Internamente, a mucosa ruminal é constituída por várias papilas, que são prolongamentos da mesma, formadas por tecido conjuntivo com fibras de colágeno e elastina, ricamente vascularizadas. Possuem tamanhos e formas variáveis de acordo com a idade, dieta e região do rúmen (Church, 1988; Gloobe, 1989; Davis e Drackley, 1998; Eurell e Frappier, 2006). As papilas aumentam a área da mucosa, facilitando a absorção de nutrientes e o transporte de íons através do epitélio ruminal (Church, 1988; Baldwin e Jesse, 1991). Não há nenhuma área do rúmen sem papilas, inclusive os pilares possuem algumas, mas são maiores e mais densas nas regiões ventrais dos sacos ruminais (Church, 1988).

Os pré-estômagos se originam do mesmo tecido embrionário (Van Soest, 1994). O epitélio ruminal não possui glândulas e é caracterizado como estratificado pavimentoso queratinizado, semelhante ao epitélio da pele e outras superfícies. Possui pelo menos três

funções importantes: proteção, metabolismo e absorção (Eurell e Frappier, 2006). Quatro camadas celulares podem ser distinguidas a partir do lúmen, os estratos córneo, granuloso, espinhoso e basal (Church, 1988; Gloobe, 1989; Davis e Drackley, 1998; Graham e Simmons, 2005; Eurell e Frappier, 2006).

O estrato córneo é a camada mais queratinizada e mais externa, protege o epitélio contra a abrasão química do alimento e da invasão pela microbiota. Varia de uma a duas camadas de células a até 10 a 20 camadas. As células do estrato córneo são de formato pavimentoso, e núcleos coráceos podem estar presentes ou não. Parecem ser metabolicamente inativas, devido à presença de grande quantidade de queratina no citoplasma e poucas organelas celulares (Dellmann e Brown, 1982; Banks, 1992; Eurell e Frappier, 2006). Apesar disso, o estrato córneo é permeável, principalmente sob condições de saturação do conteúdo ruminal, quando a queratina é modificada e se torna menos densa, mais permeável a água e alguns solutos (Church, 1988).

O estrato granuloso normalmente possui de uma a três camadas de células, as quais são achatadas e possuem grânulos de querato-hialina no citoplasma (Dellmann e Brown, 1982). Nessa camada já se encontram sinais de degeneração celular e redução do espaço intercelular, quando comparado com o estrato espinhoso (Church, 1988). As junções intercelulares dessas células se assemelham funcionalmente às junções de oclusão dos enterócitos (Cunningham, 2004).

O estrato espinhoso varia de espessura entre uma e dez camadas de células com forma poliédrica ligeiramente maiores que as células basais. Estão unidas por inúmeros desmossomos e possuem numerosas mitocôndrias e ribossomos distribuídos por todo o citoplasma. Membranas do retículo endoplasmático são escassas e o complexo de Golgi é pouco desenvolvido (Dellmann e Brown, 1982). Segundo Baldwin e Jesse (1992), esse epitélio é responsável pela metabolização dos ácidos graxos voláteis.

O estrato basal é a camada mais importante para assimilação e metabolismo dos produtos absorvidos. Para isso possui grandes vesículas, numerosos ribossomos, mitocôndrias e complexos de Golgi (Church, 1988). Suas células são cilíndricas e estão apoiadas na membrana basal (Dellmann e Brown, 1982).

A lâmina própria se mistura à submucosa e é formada por tecido conjuntivo com fibras de colágeno, elásticas, e reticulares que se estendem formado o centro de cada papila. Logo abaixo da membrana basal do epitélio corre uma densa rede de capilares fenestrados. A

lâmina própria é desprovida de nódulos linfóides e de glândulas (Dellmann e Brown, 1982; Banks, 1992; Eurell e Frappier, 2006).

A submucosa é formada por fibras elásticas e de colágeno. Como não há camada muscular da mucosa, a submucosa se une a lâmina própria sem demarcação evidente. Uma rede de vasos e nervos corre por toda essa camada, sendo que os nervos formam plexos (plexos submucosos) contendo muitos gânglios do sistema nervoso autônomo (Dellmann e Brown, 1982; Banks, 1992; Eurell e Frappier, 2006).

A túnica muscular é formada por duas camadas de músculo liso, sendo que a interna contém fibras circulares e a externa, fibras longitudinais. Possuem extenso sistema nervoso intrínseco. Entre essas camadas há plexos nervosos autônomos com gânglios, e são capazes de apresentar padrões de motilidade altamente complexos e coordenados (Dellmann e Brown, 1982; Banks, 1992; Cunningham, 2004; Eurell e Frappier, 2006). O desenvolvimento da musculatura após o nascimento está relacionado ao estímulo da movimentação do rúmen, sendo esse mais intenso e mais frequente com alimentos sólidos de granulometria mais grosseira, seja por concentrado, fibra ou materiais inertes (Church, 1988; Davis e Drackley, 1998; Cunningham, 2004).

A serosa do rúmen é típica, composta por tecido conjuntivo colágeno elástico, coberta por mesotélio. Possui vasos sanguíneos, linfáticos e nervos (Dellmann e Brown, 1982).

DESENVOLVIMENTO DO RÚMEN

Os estômagos do ruminante começam a se desenvolver no estágio embrionário e podem ser vistos com 56 dias após a concepção (Warner et al., 1956). Durante a gestação o sangue materno possui ácidos graxos voláteis que suprem o tecido ruminal do feto. Por isso, as papilas ruminais estão parcialmente desenvolvidas em bezerros recém-nascidos (0 a 3 dias). No entanto, se o bezerro receber apenas leite ou seus substitutos, as papilas regridem seu desenvolvimento, tanto em comprimento como em forma (Tamate et al., 1962).

Segundo Quigley (1997) há cinco requerimentos para o desenvolvimento do rúmen: estabelecimento da microbiota, presença de líquido no lúmen ruminal, efluxo do conteúdo do rúmen (contração muscular), atividade absorptiva da mucosa e disponibilidade de substrato.

Beharka et al. (1998) compararam o fornecimento de dietas com a mesma composição (25% de feno de alfafa e 75% de mistura de grãos) que variavam na granulometria, finamente

moída ou sem moer, para oito bezerros holandeses. Os animais foram fistulados para avaliar o pH do líquido ruminal, os produtos da fermentação, a capacidade tamponante e enumerar as bactérias. Foram sacrificados na décima semana de vida para pesagem dos pré-estômagos e coleta de fragmento do epitélio ruminal para avaliação do desenvolvimento papilar pela morfometria. A partir dos resultados os autores afirmam que a idade tem pouca influência no desenvolvimento papilar do rúmen, e está muito mais relacionada com os produtos da fermentação bacteriana, evidenciando a relação entre o desenvolvimento ruminal e a atividade microbiana e, além disso, que a sequência de estabelecimento da população bacteriana é dependente da dieta do bezerro. Anderson et al. (1987), avaliaram diferentes idades de desmama (quatro x seis semanas de vida) utilizando oito bezerros holandeses fistulados. Os autores realizaram biópsias do epitélio ruminal quando os bezerros atingiram uma, quatro, oito e 12 semanas de vida. Nas mesmas idades realizaram-se coletas do conteúdo ruminal à zero, um, dois, três, quatro, seis, oito e 12 horas após a alimentação para aferição do pH, concentração de lactato, ácidos graxos voláteis e nitrogênio amoniacal. Os autores concluíram que o desenvolvimento das papilas ruminais está relacionado a fermentação do concentrado em ácidos graxos voláteis pela microbiota.

Nas primeiras semanas de vida de um bezerro, os processos de digestão e metabolismo estão em estado de transição. Os bezerros possuem o ruminorretículo e o omaso pouco desenvolvidos. Pela existência da goteira esofágica e pelo status enzimático do abomaso e intestino, o sistema gastrointestinal dos bezerros funciona como de animais monogástricos, subsistindo a partir da dieta líquida com muita eficiência (Church, 1988; Van Soest, 1994; Davis e Drackley, 1998). Quando o animal passa pelo desaleitamento os processos característicos de monogástricos são alterados para processos típicos de ruminantes (Huber, 1969). A principal alteração fisiológica neste período está relacionada à fonte de energia para o organismo. Quando o animal é ruminante não funcional, a energia é derivada da absorção de hexoses provenientes de fontes lácteas, e quando ruminante funcional os ácidos graxos voláteis derivados da fermentação ruminal tornam-se a mais importante fonte de energia. Portanto, a nutrição é um dos principais fatores para este processo de transição (Huber, 1969). Inicialmente achava-se que o consumo de volumoso era essencial para o desenvolvimento do ruminorretículo, mas pesquisas posteriores mostraram que a dieta sólida por si é o estímulo principal (Warner et al., 1956; Flatt et al., 1958; Sander et al., 1959; Tamate et al., 1962). A composição química das dietas e os produtos resultantes da fermentação microbiana têm a

maior influência no desenvolvimento epitelial (Warner et al., 1956; Flatt et al., 1958; Harrison et al., 1960).

Segundo Tamate et al. (1962), ao nascimento o ruminorretículo e o omaso são pouco desenvolvidos, não-funcionais, pequenos quando comparados ao abomaso, e desproporcionais ao sistema digestivo dos animais adultos (Tabela 1). O abomaso corresponde a aproximadamente 50% do peso total dos estômagos (Davis e Drackley, 1998).

Tabela 1 – Variação na proporção dos pré estômagos de bovinos de acordo com o desenvolvimento

% do compartimento total	Nascimento	28 dias de vida	56 dias de vida	84 dias de vida
Ruminorretículo	38	52	60	64
Omaso	13	12	13	14
Abomaso	49	36	27	22

Adaptado de Church (1988).

Nesse momento, as papilas, musculatura, e vascularização do rúmen são mínimas, além disso, a parede do rúmen é fina e levemente transparente (Warner et al., 1956; Flatt et al. 1958; Sander et al., 1959; Harrison et al., 1960; Tamate et al., 1962). A atividade metabólica do epitélio parece que se inicia na primeira semana de vida dos bezerros e aumenta com a idade (Sutton et al., 1963; Nocek e Kesler, 1980). Várias modificações metabólicas acontecem no epitélio ruminal durante o desenvolvimento morfológico do rúmen, incluindo redução da oxidação de glicose, aumento da oxidação dos AGV e aumento da produção de corpos cetônicos a partir do butirato (Heitmann, et al., 1987). Baldwin e Jesse (1992) realizaram experimento *in vitro* com células do epitélio ruminal de cordeiros para avaliar as taxas de metabolização dos tecidos em diferentes idades. As taxas de oxidação da glicose foram muito mais altas em células de animais que tinham 14 a 49 dias de idade quando comparados a tecidos de cordeiros que tinham um, quatro e sete dias de vida. No entanto, após a desmama aos 56 dias, as taxas de oxidação da glicose pelas células ruminais caíram para os índices observados nos animais recém nascidos. A oxidação do butirato seguiu o mesmo padrão, sendo baixa até sete dias e aumentando até a desmama.

O desenvolvimento da musculatura e do volume do rúmen ocorre independente do desenvolvimento epitelial. Experimentos realizados com objetos inertes confirmam essa

afirmação, já que são incapazes de desenvolver o epitélio, mas aumentam significativamente o volume e musculatura do rúmen (Flatt et al., 1958; Harrison et al., 1960). Sendo que Flatt et al. (1958) introduziram no rúmen de bezerros fistulados esponjas de plástico como objeto inerte durante 12 semanas após o nascimento e Harrison et al. (1960) permitiram que bezerros recebendo apenas leite ingerissem serragem da cama durante um mês.

Concentrados com a granulometria grosseira provocaram aumento na capacidade e musculatura do rúmen, quando comparados com concentrados finamente moídos ou peletizados (Greenwood et al., 1997; Beharka et al., 1998). Além de serem importantes para a movimentação do rúmen e salivação, concentrados com a granulometria mais grosseira também são importantes para ao raspar a parede ruminal retirar camadas de queratina que podem dificultar a absorção dos ácidos graxos voláteis (Quigley, 1997). Portanto, os concentrados que possuem maior granulometria são capazes de estimular tanto o crescimento do volume e musculatura do rúmen quanto o desenvolvimento do epitélio ruminal.

O desenvolvimento das papilas, aumentando a área da mucosa, é necessário para permitir absorção e utilização dos produtos finais da fermentação bacteriana, especialmente os ácidos graxos voláteis (Warner et al., 1956; Church, 1988; Van Soest, 1994). Esse é resultado da estimulação física de alimentos sólidos e dos ácidos graxos voláteis, produtos da fermentação bacteriana (Sander et al., 1959; Harrison et al., 1960; Tamate et al., 1962). A presença e absorção desses ácidos graxos voláteis estimula o metabolismo do epitélio ruminal e pode ser o principal fator relacionado ao desenvolvimento do epitélio do rúmen (Sander et al., 1959; Tamate et al., 1962, Costa et al., 2008). No entanto, o estímulo realizado pelos ácidos graxos voláteis varia de acordo com o ácido. O butirato apresenta o maior efeito estimulatório seguido pelo propionato. O acetato está pouco envolvido no desenvolvimento do epitélio ruminal (Warner et al., 1956; Flatt et al., 1958; Nocek e Kesler 1980). Portanto, é esperado que dietas que proporcionem fermentações diferentes afetem também de forma diferente o crescimento do epitélio ruminal, o que já foi reportado em vários trabalhos (Warner et al., 1956; Harrison et al., 1960; Tamate et al., 1962).

Beharka et al.(1998) não encontraram diferenças na concentração de ácidos graxos voláteis no rúmen em bezerros alimentados com dietas de granulometria grosseira ou fina, e ambas as dietas proporcionaram espessura da parede ruminal semelhantes. Porém, bezerros que ingeriram a dieta com maior granulometria tiveram papilas mais longas no saco dorsal.

Quando o butirato de sódio foi introduzido no rúmen como sal purificado obteve o melhor resultado de desenvolvimento do rúmen, seguido pelo propionato de sódio, enquanto o

acetato de sódio e a glicose tiveram efeitos mínimos (Flatt et al., 1958; Sander et al., 1959; Tamate et al., 1962). Costa et al. (2008) ao infundirem ácidos graxos voláteis diretamente no rúmen de 17 bezerras fistuladas, observaram que o ácido butírico, juntamente com o lactato foram os maiores indutores de alterações patológicas no epitélio ruminal. De acordo com Gorka et al. (2009) o ácido butírico é um inibidor específico de apoptose no rúmen em estudo *in vivo*. Além disso, pesquisas mostram que butirato e propionato são os ácidos graxos voláteis mais rapidamente absorvidos no rúmen, principalmente quando estão presentes em concentrações fisiológicas (Sander et al., 1959; Baldwin e Mcleod, 2004). Sakata e Tamate, (1978) infundiram ácido butírico diretamente no rúmen de ovelhas, o que resultou em estímulo no índice de mitoses. Contrariamente a resultados *in vivo*, pesquisas utilizando células ruminais ou cultura de tecido *in vitro* mostram que o butirato ou propionato utilizados sozinhos diretamente nas células inibem a proliferação celular, mesmo em concentrações fisiológicas (Baldwin, 1999). Os autores sugerem que outros fatores, provavelmente indiretos, estejam envolvidos na proliferação celular e Baldwin et al. (2004) questiona se o butirato não estaria atuando de forma permissiva a proliferação celular e não como fator estimulatório.

Sakata et al. (1979) mostraram que os índices mitóticos são estimulados por infusões endovenosas de insulina. No mesmo trabalho, os autores afirmam que o propionato estimula a secreção de insulina *in vivo*, tornando a insulina um mediador do efeito estimulatório do propionato na mitose do epitélio ruminal. A administração de pentagastrina, insulina e glucagon em células ruminais isoladas resultam em estímulo para a proliferação celular (Sakata e Tamate, 1978; Sakata e Tamate 1979). A utilização do fator de crescimento semelhante a insulina (IGF-1) também estimula a proliferação celular. Além disso, o IGF-1, o fator de crescimento epidermal e em menor escala a insulina foram capazes de sobrepor o efeito inibitório do butirato (Baldwin, 1999).

No trabalho de Zitnan et al. (2005), os animais com maior desenvolvimento papilar possuíam maiores concentrações plasmáticas de IGF-1 e menores concentrações plasmáticas de glicose e insulina. Segundo Shen et al. (2004) o desenvolvimento papilar do rúmen de cabras foi influenciado pela concentração de IGF-1 sanguínea. Provavelmente mediado por proteínas ligadoras de IGF no epitélio (Zitnan et al., 2005). Além disso, existem diferenças no metabolismo do epitélio ruminal de animais adultos para animais jovens, parece que a insulina não é necessária para controlar a proliferação epitelial do rúmen de bezerras recém-nascidos (Zitnan et al., 2005).

Outros fatores como a ação direta exercida pelos nutrientes não pode ser eliminada como possível agente controlando a proliferação do epitélio ruminal (Baldwin et al., 2004). Estimular os bezerros a ingerir alimentos sólidos (como concentrado e volumoso) têm efeitos positivos no processo de desenvolvimento do rúmen (Jones e Heinrichs, 2007). O consumo precoce de alimentos sólidos, que está relacionado ao desenvolvimento da fermentação microbiana no rúmen, irá influenciar positivamente o desenvolvimento funcional do rúmen em bezerros (Church, 1988; Van Soest 1994; Davis e Drackley, 1998; Cunningham, 2004). Os ácidos graxos voláteis produzidos são estímulos químicos para o desenvolvimento do epitélio ruminal, promovendo o desenvolvimento estrutural e atividade absorptiva (Lesmeister e Heinrichs, 2004). A presença contínua de ácidos graxos voláteis mantém o crescimento, desenvolvimento e função das papilas ruminais (Warner et al., 1956; Harrison et al., 1960). Segundo Davis e Drackley (1998), a inclusão de concentrado o mais cedo possível na vida dos bezerros é um fator importante para o sucesso da criação de bezerras. Bezerros alimentados com concentrado inicial desde o nascimento apresentam o rúmen qualitativamente semelhante ao adulto por volta da sexta semana de vida. Após esta fase, o órgão continua crescendo em tamanho (Huber, 1969). Quando os bezerros começam a consumir concentrado e água precocemente, a maturação do rúmen acontece antes, quando comparado a animais que ingeriram apenas leite (Ward, 2008). Quando os bezerros ingerem apenas leite o desenvolvimento ruminal é pequeno. Ao ingerir leite juntamente à dieta sólida há aumento significativo no volume e peso do rúmen, assim como maior comprimento e densidade das papilas (Jesse e Lane, 1997).

Leite ou sucedâneo é a dieta primária de bezerros jovens, porém sua composição e o fechamento da goteira esofágica conduzindo-os diretamente para o abomaso limitam sua habilidade em desenvolver o epitélio ruminal (Warner et al., 1956; Harrison et al., 1960; Tamate et al., 1962; Lane et al., 2000).

Warner et al. (1956) utilizaram 30 bezerros Holandeses para avaliar o desenvolvimento do rúmen. Os animais foram submetidos a dietas predominantemente de leite, grãos, feno, ou uma mistura de grãos e feno. Dois bezerros de cada grupo foram eutanasiados ao nascimento, com quatro, sete, 10, 13 e 16 semanas de vida para estudo do desenvolvimento do rúmen. Com quatro semanas já se podia verificar o maior volume do ruminorretículo dos animais alimentados com dieta sólida em comparação aos que receberam apenas leite (3,7 L/45,4kg para o grupo que recebia apenas leite, 5,8 L/45, 4kg para o grupo que recebia predominantemente ração e 4,4 L/45,4kg para o grupo que recebia

predominantemente feno). O comprimento das papilas ruminais do grupo que recebeu apenas leite foi menor que 2 mm às quatro semanas de vida e manteve o mesmo comprimento até as 16 semanas. Já os bezerros que receberam predominantemente grãos ou feno apresentaram crescimento expressivo das papilas, chegando a 1 cm as sete semanas de vida. Não houve diferença significativa no comprimento das papilas entre os grupos que receberam predominantemente grãos, feno e grãos e feno.

Harrison et al. (1960) utilizaram 12 bezerras recém nascidas, distribuídas em dois grupos recebendo duas dietas que predominavam concentrado (90%), ou forragem (75% até a sétima semana e depois 90%). Quando chegaram a 16 semanas, dois animais de cada grupo foram eutanasiados para avaliação dos estômagos e, no mesmo dia, outros dois animais de cada grupo foram alocados em baias individuais recebendo apenas leite até atingirem 22 semanas de vida, quando foram eutanasiados. Os bezerros convertidos para a dieta a base de leite perderam praticamente todas as papilas, o rúmen ficou com a parede muito fina, mas o volume foi o mesmo dos bezerros que recebiam concentrado e tinham sido abatidos no dia que houve a conversão da dieta. O rúmen manteve seu volume, porém ocorreu estase no crescimento do omaso e o abomaso continuou a crescer de acordo com o crescimento corporal.

Bezerros recebendo apenas leite também mostraram mínima atividade metabólica do epitélio ruminal e absorção de ácidos graxos voláteis, que não aumentou com a idade (Sutton et al., 1963). Portanto, enquanto o leite e seus substitutos podem resultar em rápido e eficiente crescimento, fazem pouco para preparar o animal para a desmama ou utilização de dietas baseadas em grão ou forragem (Lesmeister e Heinrichs, 2004). Além disso, segundo Khan et al. (2007) bezerros que têm fornecimento de leite à vontade ingerem o concentrado mais tardiamente na fase lactante. O fornecimento apenas de dieta líquida além de limitar o desenvolvimento fisiológico do rúmen retarda as atividades orais como a mastigação e ruminação, que são rapidamente exibidas por bezerros que recebem alimentos sólidos (Cozzi et al., 2002).

Goncu et al. (2010), realizaram experimento utilizando bezerros Holandeses para testar o fornecimento apenas de concentrado, concentrado e alfafa fornecidos separadamente e ração total no desenvolvimento do rúmen. Os autores observaram que os bezerros alimentados apenas com concentrado apresentaram maior número total de bactérias no rúmen. O que pode ser explicado pela maior disponibilidade de nutrientes para os microorganismos (Demeyer e Van Nevel, 1986; Leng, 1990). O aumento no peso do ruminorretículo em dietas com

concentrado comparadas a dietas com volumoso pode ser mais atribuído ao aumento no comprimento das papilas do que ao aumento na musculatura do órgão (Stobo et al., 1966).

Várias pesquisas mostraram que não é recomendado fornecer volumoso até que os bezerros sejam desmamados, entre três e seis semanas, já que esse é menos energético por unidade que o grão (Coelho, 1999; Heinrichs e Lesmeister, 2000; Harris e Sheare, 2003; Jones e Heinrichs, 2007). Os grãos e o concentrado são mais eficientes para acelerar o desenvolvimento epitelial do rúmen quando comparado a forragem (Nocek e Kesler, 1980; Suarez et al., 2007). Além disso, Coelho (1999) mostrou que dietas sem a participação do volumoso, até 60 dias de idade não afetaram o consumo de matéria seca do concentrado, de água, o ganho de peso, o peso dos compartimentos dos estômagos, o pH ruminal, as concentrações de acetato e propionato e a concentração plasmática de glicose, além do tamanho e áreas das papilas do saco cego ventral do rúmen.

Além de responsáveis pelo crescimento e desenvolvimento do epitélio do rúmen os ácidos graxos voláteis passam a ser a principal fonte de energia para os bezerros, permitindo assim o fim do fornecimento do leite e a redução dos custos nessa fase.

DESENVOLVIMENTO DA MICROBIOTA RUMINAL

Os pré-estômagos do bezerro são estéreis ao nascimento, mas são rapidamente expostos e colonizados por várias populações microbianas, principalmente organismos facultativos, durante o parto e nos momentos seguintes, que contribuem para o estabelecimento da população microbiana do sistema gastrointestinal (Tokoyama e Johnson, 1988; Cunningham, 2004). Dessa forma, o desenvolvimento da microbiota dos pré-estômagos ocorre independentemente de qualquer processo de inoculação especial e, de fato, é impossível impedi-lo, exceto por criar os bezerros em condições gnotobióticas (Cunningham, 2004).

As principais bactérias que aparecem no rúmen de bezerros às três semanas de vida, são diferentes da população microbiana de animais adultos. Somente entre nove e treze semanas de vida, a população microbiana reflete às correspondentes aos animais adultos (Tokoyama e Johnson, 1988).

À medida que a fermentação bacteriana começa a ocorrer no meio anaeróbico dos pré-estômagos, a força eletromotriz se torna baixa e a ação das bactérias cria no rúmen ambiente

reduzido típico. Este ambiente cria as condições necessárias para o crescimento e o estabelecimento de anaeróbios estritos (Cunningham, 2004).

Segundo Anderson et al. (1986), populações bacterianas adequadas parecem estar presentes desde muito cedo no rúmen de bezerros e, o desenvolvimento subsequente, é estimulado pelo aumento do consumo de alimento sólido. Os autores sugerem que quanto mais cedo o alimento sólido é introduzido na alimentação dos bezerros, mais precoce será o desenvolvimento microbiano, resultando assim, em maior atividade metabólica ruminal. Corroborando com esta informação, Beharka et al. (1998) citaram que a sequência de estabelecimento da população bacteriana ruminal em bezerros parece ser essencialmente dependente da dieta.

Bryant et al. (1958), realizaram experimento utilizando três bezerros, sendo um da raça Holandês e dois Jersey, retirados da mãe 24 horas após o nascimento. Os animais foram criados em baias individuais até 30 dias de idade e posteriormente em piquetes com outros bezerros, porém alimentados individualmente. As coletas de conteúdo ruminal foram realizadas utilizando sonda esofágica quando os bezerros estavam com uma, três, seis, nove e 13 semanas de vida. As amostras foram levadas imediatamente para o laboratório e submetidas à técnica de “tubos rolantes” e posteriormente as colônias foram submetidas a identificação no microscópio. Os resultados mostraram que as bactérias produtoras de lactato estavam presentes em grandes quantidades na primeira e terceira semanas de vida, havendo decréscimo até a nona semana quando as concentrações se igualaram as de animais adultos e se mantiveram até a décima terceira semana. Bactérias aeróbicas tinham altas concentrações nas três primeiras semanas de vida e foram diminuindo a medida que os bezerros foram envelhecendo, porém mesmo na décima terceira semana de vida não haviam atingido números semelhantes aos animais adultos. Os autores encontraram ainda a presença significativa de bactérias celulolíticas desde a primeira semana de vida, o que surpreendeu os pesquisadores já que os animais não tinham qualquer acesso a forragem e eram criados em baias individualizadas. O fato levou os autores a concluir que mesmo bem jovem o rúmen do bezerro já é um ambiente favorável ao estabelecimento de bactérias celulolíticas e que a presença das mesmas está pouco relacionada a dieta.

Os achados descritos acima são semelhantes aos resultados de Bryant e Burkey (1953), os quais mostraram que mesmo recebendo dieta com apenas 6,3% de fibra bruta os animais mantinham altos números de bactérias celulolíticas. As bactérias celulolíticas não são as primeiras a serem encontradas no rúmen de animais ao desmame, apesar de, como citado,

estarem presentes em grande número, mesmo antes da ingestão de alimentos sólidos (Fonty et al., 1987). A população predominante seria inicialmente composta por microrganismos anaeróbios facultativos, que com o avançar da idade do animal, dariam lugar à bactérias estritamente anaeróbias (Williams e Dinusson, 1972).

Anderson et al. (1986) verificaram a presença de bactérias celulolíticas e microrganismos metanogênicos no rúmen de bezerros aos três dias de idade. O aparecimento de bactérias celulolíticas (obrigatoriamente anaeróbias) se daria nas primeiras 24 a 48 horas após o nascimento, por meio do contato do recém-nascido com a mãe, havendo maximização da inoculação através do consumo de água e alimentos (Williams e Dinusson, 1972). Segundo Fonty et al. (1987), as bactérias celulolíticas não necessitam da parede celular do material vegetal para suportar seu crescimento, uma vez que foram encontradas em números relativamente elevados em cordeiros alimentados exclusivamente com leite. Segundo esses autores o contato entre o cordeiro recém-nascido e sua mãe ou outro ruminante adulto durante os primeiros dias de vida foi necessário para o seu estabelecimento.

Fonty (1987) observou que apesar de grande população de bactérias estritamente anaeróbias colonizarem o rúmen de cordeiros recém-nascidos, as espécies predominantes são diferentes daquelas encontrados no animal adulto. Esse autor isolou em grande número os gêneros *Propionibacterium*, *Clostridium*, *Peptostreptococcus* e *Bifidobacterium*, que, raramente são encontrados como membros predominantes da população microbiana do animal maduro. Além disso, grande número de bactérias do gênero *Clostridium* são características da microbiota de cordeiros jovens, enquanto no adulto esta é composta essencialmente de espécies não-esporulantes.

Anderson et al. (1986) estudaram o desenvolvimento da microbiota ruminal de bezerros da raça Holandesa e Ayrshire em sistema de desmama “convencional” (seis semanas de idade) e “precoce” (quatro semanas de idade). Os animais do grupo “desmama precoce” receberam ração pré-inicial junto ao leite e ração inicial e, os animais do grupo “desmama convencional” receberam apenas ração inicial (fornecida quando os animais atingiam três semanas de idade). *Streptococcus bovis* e populações bacterianas anaeróbias facultativas não diferiram entre os tratamentos. No entanto, *Lactobacillus ssp.* tenderam a ser mais expressivos em bezerros desmamados precocemente do que da maneira convencional, talvez em função dos substratos altamente fermentáveis na ração pré-inicial. Os bezerros desmamados precocemente tinham contagens mais elevadas de bactérias amilolíticas com seis semanas de idade e, maior contagens de bactérias utilizadoras de lactato com cinco semanas

de idade em relação aos animais desmamados da forma convencional. As bactérias celulolíticas estavam presentes em ambos os grupos aos três dias de idade e, aumentaram linearmente com a idade dos bezerros. Os microorganismos metanogênicos foram detectados no rúmen dos animais em ambos os grupos também aos três dias de idade, e sua contagem aumentou linearmente com a idade não sendo detectado a presença de protozoários. Embora ambos os grupos tenham apresentado padrões similares de desenvolvimento bacteriano, os bezerros desmamados precocemente apresentaram maior consumo de alimento sólido e tenderam a maior e mais precoce atividade microbiana ruminal em relação aos bezerros desmamados convencionalmente (os quais apenas consumiram alimento sólido com três semanas de idade).

Para que o bezerro esteja pronto para a desmama esse deve ser capaz de ingerir no mínimo 1,5% de seu peso corporal ao nascimento (Greenwood et al, 1997). Para tal, o rumen deve conter populações de microorganismos capazes de fermentar a dieta, possuir epitélio desenvolvido e volume adequado para absorção dos ácidos graxos produzidos a partir da fermentação do alimento sólido (Sander et al., 1959; Davis e Drackley, 1998).

PH RUMINAL

O pH ruminal está diretamente relacionado com os produtos finais da fermentação, com a taxa de crescimento dos microorganismos ruminais, com a taxa de absorção do epitélio e pode ser afetado por diversos fatores, principalmente pela dieta. Dietas com alta concentração de amido rapidamente fermentável e redução do tamanho de partículas tendem a reduzir rapidamente o pH e comprometer não apenas a microbiota como o próprio epitélio ruminal (Church, 1988).

O pH ruminal reflete o balanço entre a produção de ácidos graxos voláteis e secreção de saliva, e mesmo sofrendo influência do alimento consumido, sua estabilidade é atribuída principalmente à saliva, que possui alto poder tamponante e à capacidade da mucosa ruminal em absorver os ácidos produzidos na fermentação ruminal (Van Soest 1994).

A taxa de absorção dos ácidos graxos voláteis pela mucosa ruminal é influenciada pelo pH. Os ácidos são absorvidos na sua forma livre (não dissociada) e o pH do sangue é alcalino. Baixo pH ruminal aumenta a proporção de ácidos livres e conseqüentemente aumenta a absorção dos ácidos graxos voláteis para o sangue (Quigley et al., 1991). Isso ocorre devido a

baixa constante de dissociação (pKa) desses ácidos, que irão variar de acordo com o tipo de ácido e consequentemente influenciar a taxa de absorção dos mesmos (Tabela 2) (Calsamiglia e Ferret, 2002).

Tabela 2 - Constantes de dissociação (pKa) dos principais ácidos presentes no rúmen, e sua taxa de absorção ruminal em função do pH

ÁCIDO	pKa	Taxa de absorção ruminal (%)	
		pH = 7,0	pH = 4,7
Acético	4,76	0,31	0,31
Propiônico	4,87	0,35	0,68
Butírico	4,81	0,28	0,85

Adaptado de (Calsamiglia e Ferret, 2002)

Para o estabelecimento de fermentação típica de animal adulto, manter o pH em um nível ótimo (6,0 - 8,0) durante a maior parte do ciclo alimentar é fator crítico (Davis e Drackley, 1998).

Coelho (1999) observou queda no pH nas três primeiras horas após a alimentação e aumento seis e nove horas após, porém sem retorno ao valor anterior ao consumo de alimentos. Segundo Orskov (1986) a queda no pH atinge seu ponto mais baixo entre meia e quatro horas após a alimentação, devido a rápida taxa de fermentação do alimento. Segundo o autor, a alimentação com grãos de cereais moídos resulta em queda na secreção de saliva e inadequada estrutura física para estimular a motilidade ruminal o que pode causar queda do pH à concentrações indesejados. Valores muito baixos de pH tendem a reduzir a atividade proteolítica e a capacidade das bactérias de desaminar aos aminoácidos, reduzindo a produção ruminal de nitrogênio amoniacal (Lana et al., 1998).

Segundo Anderson et al. (1978), utilizando bezerros fistulados, o pH nas primeiras semanas de vida é mais alto, já que, nessa fase, a fermentação ocorre de forma irrisória. As mudanças mais significativas de pH ocorrem quando os animais começam a ingerir quantidades maiores de dieta sólida, normalmente entre a quarta e sétima semanas de vida (Davis e Drackley, 1998).

No trabalho de Beharka et al. (1998) o comportamento do pH foi muito semelhante ao encontrado por Anderson et al. (1978), declinou após a segunda semana e depois aumentou na décima semana de vida. Os autores relataram menor pH ruminal na quarta e sexta semanas de vida em bezerros que receberam a dieta farelada. A quantidade total de ácidos graxos voláteis

produzidos não foi diferente entre os grupos, portanto a diferença no pH não pôde ser atribuída à concentração desses ácidos e segundo os autores, pode estar relacionada à menor salivação dos bezerros alimentados com a ração farelada e ao conseqüente menor tamponamento do ambiente ruminal.

A forma de coleta do líquido ruminal também pode afetar o pH. Análises utilizando coletas pela sonda esofágica podem causar contaminação do líquido ruminal pela saliva e alterar o resultado pelo tamponamento da mesma (Davis e Drackley, 1998), portanto, o ideal é a coleta diretamente do rúmen através da fístula. Porém, segundo Hungate (1966), a colheita de líquido ruminal por sonda apresenta a vantagem de ser realizada com grande número de animais, com maior número de unidades experimentais aumentando o número de repetições por tratamento.

ÁCIDOS GRAXOS VOLÁTEIS

Os ácidos graxos voláteis também são conhecidos como ácidos graxos de cadeia curta, e possuem de um a sete átomos de carbono. Incluem os ácidos fórmico, acético, propiônico, butírico, isobutírico, valérico, isovalérico, 2-metilbutírico, hexanóico, e heptanóico (Bergman, 1990). São produzidos no ruminorretículo, como descarte, resultantes da atividade microbiana sobre a matéria orgânica, (France e Siddons, 1993). Porém para o hospedeiro os ácidos graxos voláteis representam a maior fonte de energia absorvível e na maioria das dietas representam aproximadamente 80% da energia desaparecida no rúmen, sendo o restante perdido na forma de metano e calor. Dos ácidos graxos produzidos no rúmen, entre 12 e 35% passam para o omaso e abomaso e são absorvidos nesses órgãos. Os carboidratos, como celulose, hemicelulose, pectina, amido e açúcares solúveis são os principais substratos para a fermentação (Dijkstra et al., 1993).

Os ácidos graxos voláteis possuem $pK \leq 4,8$ e como o pH do rúmen no animal adulto, é próximo ao neutro, entre 90% e 99% dos ácidos graxos voláteis estão na forma ionizada e não na forma livre. Portanto com a queda do pH ruminal a absorção dos ácidos graxos voláteis é mais rápida, pois eles passam para a forma não ionizada que é mais permeável a parede ruminal. A concentração de ácidos graxos voláteis no rúmen reflete a diferença entre a taxa de produção e a taxa de desaparecimento. Logo após a ingestão a produção excede o desaparecimento e a concentração aumenta, porém, após algum tempo após a ingestão a

situação se inverte e a concentração diminui (Dijkstra et al., 1993). A taxa de absorção e o metabolismo do epitélio variam de acordo com o ácido. Durante o transporte do butirato para a corrente sanguínea a maior parte (90%) é metabolizada a CO₂ ou corpos cetônicos pelo epitélio ruminal. A capacidade cetogênica do epitélio ruminal para produzir D-3-hidroxibutirato e acetoacetato a partir do butirato aumenta com a idade independente do consumo de dieta sólida e das concentrações de ácidos graxos voláteis no rúmen de ovelhas (Lane et al., 2000). A taxa cetogênica do rúmen é provavelmente controlada pela expressão de genes que codificam a enzima que controla a síntese de 3-hidroxi-3-metil-glutaril 1-CoA a partir de acetoacetil 1-CoA e acetil 1-CoA. A expressão desse gene aumenta com o aumento na idade do bezerro, independente de qualquer dieta (Lane et al., 2002). No entanto, a capacidade de absorção da mucosa ruminal aumenta com a ingestão de alimentos sólidos, mas não com a idade (Sutton et al., 1963).

Na absorção do propionato, quantidade menor, mas significativa (10-50%) do ácido é metabolizada pelo epitélio do rúmen. O restante do propionato e do butirato, juntamente com o acetato são transportados para o fígado via veia porta. O fígado então normalmente remove o butirato e propionato remanescente da corrente sanguínea e o acetato se torna cerca de 90-98% da concentração de ácidos graxos voláteis no sangue. Portanto a maior parte do butirato é metabolizado no rúmen, o propionato no fígado e o acetato nos tecidos periféricos, sendo que todos eles são eficientemente utilizados como fonte de energia pra manutenção, crescimento e lipogênese (Bergman, 1990).

Em todos os mamíferos, independente da dieta o acetato é o ácido graxo volátil predominante no rúmen na maioria das situações. O propionato e butirato também estão presentes em grandes quantidades, mas variam muito de acordo com a dieta (Bergman, 1990). Em animais que consomem concentrado, a razão acetato/propionato no rúmen diminui de forma cúbica com a idade, como resultado de redução quadrática das proporções molares de acetato, e crescimento linear das proporções molares de propionato com a idade (Anderson et al., 1987). Butirato e propionato são os principais produtos da fermentação do concentrado, os quais são os principais responsáveis pelo desenvolvimento das papilas (Warner, 1991).

NITROGÊNIO AMONIACAL

A concentração de amônia do rúmen é função da produção e remoção da mesma. As principais fontes de nitrogênio amoniacal no rúmen são a fermentação dos alimentos, fragmentos de células lisadas, proteínas endógenas, compostos de nitrogênio solúveis como uréia endógena, ácidos nucleicos, ácidos úricos e nitratos, além de saliva e excreção dos protozoários (Dutra et al., 2004). A concentração de nitrogênio amoniacal ruminal é indispensável para o crescimento microbiano e está diretamente relacionada à solubilidade da proteína dietética e à retenção do nitrogênio pelo animal (Van Soest, 1994).

A determinação das concentrações de nitrogênio amoniacal ruminal permite o conhecimento do desbalanceamento da dieta do animal, principalmente da proteína, já que altas concentrações indicam excesso de proteína degradada no rúmen ou baixa concentração de carboidratos degradados no rúmen. Tudo isso proporciona menor utilização do nitrogênio amoniacal pela microbiota ruminal, implicando em menor desempenho animal. Cerca de 40 a 100% do nitrogênio microbiano é derivado do nitrogênio amoniacal, variando de acordo com a situação (Hoover, 1986).

Segundo Mathis et al. (2000), a concentração do nitrogênio amoniacal no rúmen é parâmetro de grande influência na eficiência e aproveitamento alimentar. A digestibilidade está altamente correlacionada com a presença de compostos nitrogenados provenientes dos substratos que compõem a dieta.

Anderson et al. (1978) demonstraram que há queda no nitrogênio amoniacal do rúmen com o aumento da idade do bezerro, principalmente após a desmama. Segundo os autores a ingestão de leite tende a aumentar a concentração de nitrogênio amoniacal no rúmen e a queda na concentração de acordo com a idade é indicativa do aumento na população microbiana e da absorção ruminal. Beharka et al. (1998) também relataram queda na concentração de nitrogênio amoniacal com o avançar da idade, que segundo o autor foi devido ao aumento da utilização pelas bactérias e talvez pela maior capacidade absorptiva. Além disso, no mesmo trabalho, bezerros alimentados com dieta farelada apresentaram maiores concentrações de nitrogênio amoniacal no rúmen na segunda semana de vida e maiores concentrações na sexta semana de vida quando comparados com bezerros que ingeriram dietas com maior granulometria.

CONSUMO E GANHO DE PESO

Coelho (1999), Bernardes et al. (2007), França et al. (2011) observaram baixo consumo e ganho de peso nas primeiras quatro semanas de vida, mesmo apresentando diferentes condições experimentais e dietas. Após a desmama todos os trabalhos apresentaram aumento significativo do consumo e peso vivo ao longo da idade.

Bezerros consomem mais concentrados iniciais com partículas maiores em detrimento aos farelados (Lassiter et al., 1955; Gardner, 1967; Kertz et al., 1979). Coverdale et al. (2004) observaram aumento na média de ganho diário quando bezerros eram alimentados, de forma restrita, com concentrado inicial texturizado comparado com concentrado inicial farelado. Porém, quando os bezerros tiveram acesso à vontade ao concentrado essas diferenças não foram encontradas. Porter et al. (2007) observaram maior média de ganho de peso diária, maior consumo e início da ruminação precoce de bezerros alimentados com dieta texturizada comparada com farelada que foi posteriormente peletizada. Hill et al. (2008) concluíram que quando o concentrado inicial possui o tamanho de partícula médio aproximadamente de dois milímetros, aumentando o conteúdo de fibra, diminuí a média de ganho de peso diário provavelmente devido ao efeito de enchimento nos estômagos interferindo no consumo de energia. Bateman et al. (2008) afirmam que em seu trabalho o processamento do milho não afetou diretamente a média de ganho de peso diário e a eficiência alimentar dos bezerros, mas sim o consumo do concentrado farelado foi reduzido comparado ao peletizado, o que resultou em menor ganho diário.

Segundo Zinn et al. (2002) a flocculação adequada dos grãos de milho resulta em aumento de 15% no teor de energia líquida de manutenção e de 18% no teor de energia líquida para ganho em comparação com a laminação a seco. Segundo Owens et al. (1997), para bovinos em confinamento na fase de terminação, a flocculação reduziu o consumo de matéria seca, não afetou o ganho de peso e melhorou a eficiência alimentar do milho em 10% em comparação a laminação a seco.

No mesmo trabalho, Owens et al. (1997) compararam os resultados de 419 trabalhos envolvendo mais de 16 mil animais e verificaram que animais tratados com milho grão úmido ganharam menos peso (5,5%) e reduziram a ingestão de matéria seca (MS) (7,7%), mas tiveram conversão alimentar mais eficiente (2%) que os tratados com milho grão seco. De acordo com esses autores, o maior processamento do grão causa pequena redução no

ganho de peso, que pode ser atribuída à redução na ingestão de matéria seca. Essa menor ingestão de grãos rapidamente fermentáveis no rúmen pode ser decorrente do excesso de produção de ácidos e acidose subclínica, o que aumenta as variações diárias de consumo.

No trabalho de Quigley et al. (1991) com bezerras da raça Holandesa distribuídas em dois tratamentos, desmama precoce (28 dias) e desmama tardia (56 dias), os pesos inicial (41,1kg) e final (91,2 kg) não diferiram entre os grupos. O ganho de peso diário não foi afetado pelos tratamentos, sendo baixo nas semanas anteriores a desmama, apresentando ganhos de 0,260; 0,530 e 0,660 kg/d do nascimento a quarta semana, da quinta a oitava semana e da nona a 14ª semana de vida, respectivamente.

Lesmeister e Heinrichs (2004) compararam os efeitos da inclusão na dieta de bezerros de milho grão inteiro, milho laminado a seco, milho floculado a vapor e milho tostado laminado. O ganho de peso não diferiu na fase anterior a desmama (28 dias), mas favoreceu os bezerros alimentados com milho inteiro e milho laminado a seco na pós desmama (29 a 42 dias). O consumo de alimentos também tendeu a ser melhor nos alimentados com milho inteiro e milho laminado a seco, mas não diferiu na pós desmama. Observaram também tendência de maior produção de AGV nos bezerros recebendo grãos tostados, laminado e floculado a vapor que milho inteiro ou milho tostado laminado. Porter et al. (2007) reportaram maior média de ganho diário e consumo, bem como início da ruminação precoce em bezerros que receberam concentrado grosseiro quando comparados com bezerros que receberam dieta farelada peletizada. Remond et al. (2004) mostraram que o milho finamente moído é degradado rapidamente no rúmen e digerido mais completamente no resto do trato gastrointestinal em relação ao milho grosseiramente moído em vacas de leite. Além disso, o fornecimento de milho finamente moído pode levar a paraqueratose devido a rápida fermentação e produção de ácidos associado à baixa produção de saliva proporcionando lesão direta do epitélio, portanto tamanho mínimo da partícula deve ser preconizado (Greenwood et al., 1997).

ÁGUA

Para que as bactérias se desenvolvam no rúmen deve haver presença de água. Sem suficiente quantidade de água as bactérias não conseguem crescer e se multiplicar o que compromete o desenvolvimento ruminal. A maior parte da água que chega ao rúmen advém da água ingerida livremente pelo bezerro (Quigley, 1997).

Segundo Holmes e Wilson (1990) o consumo de água pode ser afetado por vários fatores, entre eles: pelas necessidades fisiológicas (período seco ou chuvoso), consumo de matéria seca, natureza química e física da dieta, temperatura ambiente e variação individual entre os animais.

Kertz et al. (1984) avaliaram 355 bezerros durante três anos em dois tratamentos, fornecimento restrito de água e fornecimento à vontade de água. O perfil de consumo de água dos bezerros foi alto após o nascimento e caiu após três a quatro dias de vida. Segundo o autor isso acontece pois, após o nascimento foram fornecidos quatro litros de colostro durante três dias consecutivos divididos em dois fornecimentos diários. O colostro possui maior concentração de sólidos e ao mudar a dieta para o sucedâneo no quarto dia de vida, na mesma quantidade, houve queda brusca na concentração do alimento fornecido, diminuindo a sede do animal. Após 21 dias de vida, o fornecimento de sucedâneo passou a ser apenas em uma refeição diária o que causou aumento significativo e progressivo no consumo de água e concentrado pelos animais. Porém os bezerros do grupo com consumo de água restrito apresentaram menor consumo de concentrado e menor ganho de peso. No grupo com acesso irrestrito a água a taxa de consumo de concentrado foi muito semelhante à de consumo de água, o que indica a relação estreita entre as mesmas. Além disso, quando os bezerros apresentavam diarreia aumentavam o consumo de água para compensar a desidratação.

Atkeson et al. (1937) obtiveram o consumo semanal de bezerros Holandeses submetidos a diversos tipos de aleitamento a partir do nascimento. Na média geral, o consumo de água diário pelos bezerros foi de 230 ml com quatro semanas de vida, aproximadamente sete litros na oitava semana, 20 litros na décima segunda semana, 41 litros na décima sexta semana, 58 litros na vigésima semana e 106 litros na vigésima sexta semana de vida. Batista (2009) avaliou o consumo de água de 128 bezerras alojadas em casinhas sobre areia, recebendo quatro litros diários de leite até 60 dias de idade. As médias de consumo foram de 2,2 L aos 7 dias de idade, 3,35 aos 35 dias de idade e 5,2 aos 60 dias de idade.

Coelho (1999) e Bernardes et al. (2007) observaram aumento do consumo de água de acordo com o aumento do consumo de matéria seca, apresentando correlação positiva ($p < 0,05$) entre as duas variáveis.

É importante salientar que o leite ou seus substitutos não constituem fonte de água direta para o rúmen, já que irão passar pela goteira esofágica e cair diretamente no abomaso (Quigley, 1997). Portanto, a água deve ser fornecida à vontade a partir do nascimento.

GLICOSE

O pico de concentração de glicose pode variar de acordo com a fonte da mesma que entra na circulação periférica. A glicose absorvida diretamente no intestino provavelmente irá atingir a circulação periférica mais rápido do que quando for absorvida pela circulação via fermentação ruminal de carboidratos a propionato e gliconeogênese no fígado (Quigley et al., 1991).

Baixas concentrações de glicose sanguínea e aumento nas concentrações de uréia e β -hidroxibutirato podem ser indicadores metabólicos do desenvolvimento ruminal (Khan et al., 2007).

Quigley et al. (1991) realizaram coletas sanguíneas semanais em bezerras Holandesas desmamadas precocemente ou tardiamente, com 26 e 56 dias de vida respectivamente para avaliação, entre outros parâmetros, da glicose. As coletas foram realizadas duas horas após a alimentação matinal. As concentrações plasmáticas de glicose por semana declinaram significativamente com a idade. Inicialmente as concentrações eram típicas de animais não ruminantes (114,5 mg/dl) e atingiram a menor concentração (76 mg/dl) entre as semanas nove a 11 do estudo. As bezerras atingiram concentrações de glicose de animais adultos apenas entre a nona e a décima quarta semana de vida, e esses não foram diferentes entre os tratamentos (desmama precoce ou tardia). Os autores afirmam que a queda da glicose com a idade está mais relacionada ao fim do aleitamento do que a maturação ruminal.

Coelho (1999) encontraram concentrações de glicose maiores antes (100,2 mg/dl) que após (76,0 mg/dl) a desmama para as coletas após o aleitamento. Nas coletas realizada antes do aleitamento, à zero hora, as concentrações aumentaram ou não variaram com a idade. Bernardes et al. (2007) não observaram alterações significativas na concentração de glicose ao longo da idade, mas encontraram queda da concentração três horas após a alimentação em todas as idades avaliadas (45, 60, 75 e 90 dias de idade) e posterior aumento gradual com as horas (6 e 9 horas após a alimentação).

PROPRIEDADES DO AMIDO

O amido é um polissacarídeo não estrutural de elevado peso molecular. Possui função de reserva de energia para os vegetais, sendo que as plantas armazenam o amido nas raízes, caules, tubérculos e grãos. Representa entre 70 e 80% da composição da maioria dos grãos de cereais, sendo a porção mais atingida pelos diferentes tipos de processamento (Nocek e Tamminga, 1991). Segundo Rooney e Pflugfelder (1986) a estrutura do amido, sua composição e interações com outros nutrientes tem papel essencial na determinação da digestibilidade e valor nutritivo dos grãos cereais.

A molécula de amido é composta por dois polímeros de glicose, amilose e amilopectina que se diferem na estrutura química, tamanho da molécula e propriedades químicas (Rooney e Pflugfelder, 1986).

A amilose é um polímero linear, longo, disposto em dupla hélice, com ligações alfa 1-4 entre suas unidades de glicose. Os grãos cereais mais utilizados para alimentação animal possuem de 20 a 30% de amilose, sendo que o milho possui 25% (Rooney e Pflugfelder, 1986). A amilopectina é um polímero ramificado, maior com cadeias lineares de glicose unidas por ligações alfa 1-4 com pontos de ramificação alfa 1-6 a cada 20 a 25 moléculas de glicose. A estrutura resultante é muito organizada. É o componente mais abundante no amido, constituindo cerca de 70 a 80% do amido na maioria dos grãos cereais, sendo o principal componente do milho (Rooney e Pflugfelder, 1986).

Segundo Nocek e Tamminga (1991), as moléculas de amilose e amilopectina são mantidas unidas por pontes de hidrogênio, resultando em grânulos de amido com a estrutura altamente organizada dentro das células do endosperma do grão. Devido a essa estrutura os grânulos íntegros apresentam baixa capacidade de absorção de água. Cada espécie vegetal produz grânulos com determinadas características, variando o tamanho, a forma e as propriedades. Os grânulos de amido são pseudocristais e podem ser divididos em duas regiões, cristalina e amorfa. A região cristalina, também chamada de micelar é mais organizada e composta principalmente por amilopectina. Já a região amorfa é menos organizada, composta principalmente por amilose e possui densidade menor que a área cristalina (Wang et al., 1998). Todos os fatores que causam modificações físico químicas no amido atacam primeiramente a região amorfa (Rooney e Pflugfelder, 1986).

PROCESSAMENTO DO MILHO

O processamento de grãos na alimentação animal é praticado há vários anos. Tais métodos tem a finalidade de melhorar o consumo e o aproveitamento destes alimentos pelos ruminantes, principalmente bovinos (Hale, 1973; Orskov, 1986). Pode ser definido como qualquer processo físico que muda a estrutura molecular original ou a composição física do grão (Theurer, 1986). Há diversos tipos de processamentos de grãos e os métodos podem ser classificados em processamento a seco, como quebrar, moer, tostar e peletizar, e processamentos úmidos como flocular, expandir e cozer sob pressão (Hale, 1973). Também podemos adicionar ao segundo grupo a re-hidratação do milho.

O amido é o nutriente primário em dietas de ruminantes, sendo as principais fontes os grãos dos cereais, mais comumente o milho e o sorgo (Theurer, 1986). A ótima utilização do amido é fundamental para melhorar a eficiência dos animais, pois a digestibilidade ruminal e intestinal do amido tem impacto importante na produção animal (Zinn et al., 2002). Esses fatores irão depender do método de processamento, da espécie animal, da idade do animal e da fonte do grão. Dependendo da fonte do amido e do processamento do mesmo, as unidades de glicose que o formam ficarão fortemente ou fracamente aderidas umas as outras. A digestibilidade do amido é afetada por vários fatores, principalmente pelo tipo de grão cereal, teor de amilose e amilopectina, camada externa do grânulo, presença de matriz protéica revestindo o grânulo de amido e método de processamento do grão (Theurer, 1986; Huntington, 1997; Owens et al., 1997). A digestibilidade do amido oriundo do milho é limitada pela matriz protéica que envolve os grânulos de amido e pela própria natureza compacta do mesmo (Zinn et al., 2002). A digestibilidade do amido do milho pode ser aumentada pelo processamento, sendo a maior no milho floculado, seguido pelo milho finamente moído, laminado a seco, e o milho grão inteiro que possui a menor digestibilidade (Plascencia e Zinn, 1996; Joy et al., 1997; Crocker et al., 1998; Knowlton et al., 1998). Os grãos cereais possuem três principais regiões, constituídas pelo pericarpo, o embrião e o endosperma, que possui a maior parte do amido. O endosperma é dividido em três camadas, aleurona, endosperma periférico, endosperma córneo e endosperma farináceo. O endosperma periférico é resistente a hidratação e a ação de enzimas, pois os grânulos de amido ficam envolvidos pela matriz protéica. O endosperma farináceo, que concentra grande quantidade do

amido, apresenta pouca estrutura celular e conseqüentemente é facilmente degradado (Rooney e Pflugfelder, 1986).

O método de processamento deve ser selecionado para aumentar a digestibilidade e a palatabilidade do grão, de forma economicamente viável, sem causar disfunções digestivas.

O processamento do milho visa quebrar o pericarpo da semente, aumentar a área de superfície, romper as ligações da matriz protéica e gelatinizar os grânulos de amido (Theurer, 1986; Hale, 1973; Huntington, 1997; Owens et al., 1997). Com isso, o principal efeito do processamento de grãos é a mudança no local de digestão do amido do intestino delgado para o rúmen. Porém essa mudança irá variar de acordo com o tipo de processamento utilizado. Segundo Theurer (1986), o milho flocculado terá escape de 10-25% do amido do rúmen, e o milho moído de 30-45%. Owens et al. (1986) acreditavam que priorizar a digestão no rúmen poderia ser uma desvantagem pelo aumento das perdas com a maior produção de metano e calor. Segundo esses autores a digestão intestinal do amido seria 42% mais eficiente energeticamente que a digestão ruminal e em materiais processados adequadamente, de 70 a 85% da digestão do amido ocorre no rúmen.

No entanto, de acordo com Huntington (1997) os processamentos adequados dos grãos resultam em aumento da degradação do amido tanto na sua digestão ruminal quanto no pós rúmen, ou seja, há aumento na digestão total do amido e melhor desempenho animal. Outro fator importante é o aumento de proteína microbiana para o animal. Além disso, no caso de bezerras ao priorizar a digestão no rúmen estaremos aumentando o substrato para as bactérias em desenvolvimento e conseqüentemente a produção de ácidos graxos voláteis, fundamental para o desenvolvimento epitelial do rúmen.

TIPOS DE PROCESSAMENTO

A moagem é o processo pelo qual os ingredientes são reduzidos em seu tamanho pela força do impacto, corte ou atrito. Seguindo-se a moagem está o peneiramento, que pode influenciar na digestibilidade dos nutrientes (Bellaver e Nones, 2000). Esse processamento resulta em quebra do pericarpo na parte externa do grão, tornando o endosperma mais acessível a microbiota ruminal. Causa também o rompimento parcial da matriz protéica, aumentando a digestibilidade do amido tanto no rúmen quanto no intestino (Theurer, 1986; Owens et al., 1997). Mas segundo Theurer et al. (1999) a estrutura química é pouco ou não

modificada. Segundo os mesmos autores a moagem pode resultar em diversos tamanhos de partícula, dependendo da malha das peneiras utilizadas durante o processamento e os processos digestivos são intensamente influenciados pelo tamanho da partícula do grão e seu fluxo no rúmen. A moagem fina do milho facilita a mistura manuseio e transporte da ração, aumenta a taxa de degradação e conseqüentemente diminui as quantidades de milho perdidos nas fezes, entretanto, em excesso pode causar acidose ruminal e paraqueratose (Theurer, 1986; Owens et al., 1997). A paraqueratose, segundo Nussio et al. (2003), é o principal fator limitante para a utilização de concentrado farelado para bezerros.

A moagem grosseira do milho apresenta menor segregação na ração, pode permanecer maior tempo no ambiente ruminal, e os animais podem ter maior estímulo mastigatório, porém apresenta menor digestibilidade do que o milho fino (Theurer et al., 1999).

A floculação é um processo mais complexo mais caro e exige maior controle de qualidade que os processamentos mais simples. Segundo Theurer et al. (1999) o grão é exposto ao vapor por 30 a 60 minutos em uma câmara vertical, de aço inoxidável cujas dimensões são geralmente 3,1 a 9,2 m de altura e 91 a 183 cm de diâmetro. Nesta etapa o grão adquire de 18 a 20 % de umidade e em seguida é floculado entre os cilindros pré aquecidos até que se tenha a densidade desejada. Os cilindros são aquecidos pela própria passagem dos grãos que foram expostos ao vapor. A magnitude do processo (pressão de floculação) aumenta conforme a densidade do floco diminui (Theurer et al., 1999).

Segundo Santos et al. (1997) após a floculação a área superficial dos grãos é aumentada significativamente e a matriz protéica que envolve o grânulo do amido é quebrada. A digestibilidade do amido tanto no rúmen quanto no restante do trato digestivo é maior para o milho floculado em comparação com o grão moído finamente ou quebrado (Theurer et al., 1986). A floculação do milho causa gelatinização do amido, por meio da ruptura das pontes de hidrogênio, e aumenta a superfície do grão sujeita ao ataque microbiano, resultando em maior digestão ruminal do amido (Rooney e Pflugfelder, 1986). Segundo Cone et al. (1989), o impacto da floculação sobre a degradabilidade do amido é maior do que os efeitos da moagem dos grãos.

A reidratação do grão de milho maduro consiste em lhe devolver a umidade adequada, simulando a colheita do grão úmido, para que seja fermentado no silo. A silagem de milho reidratado é uma alternativa para reduzir os problemas e riscos da silagem de grãos úmidos, que possui pequeno período reservado para o ponto de colheita e ainda problemas corriqueiros com a máquina picadeira (Pereira, 2011). Segundo o mesmo autor, ao utilizar o grão

reidratado o produtor pode programar a produção no momento que desejar e reduzir os custos com transporte.

A ensilagem de grão úmido segue os mesmos princípios para ensilagem de volumosos e consiste na colheita dos grãos logo após a maturação fisiológica, quando o milho apresenta teores de umidade entre 25 e 30% (Costa et al., 1999).

A produção da silagem de grãos reidratados se inicia com a moagem bem fina dos grãos e adição de água (30%) realizando-se mistura bem homogênea, formando uma pasta que será colocada no silo. Posteriormente adiciona-se o inoculante para silagem e realiza-se a compactação bem feita e fechamento hermético do silo. Durante a ensilagem ocorre proteólise da matriz protéica que envolve os grânulos de amido pelas enzimas microbianas, aumentando a digestibilidade ruminal do amido. Quanto mais tempo o milho ficar ensilado melhor será a qualidade do alimento, período mínimo de três meses é indicado (Pereira, 2011).

PROCESSAMENTO DO MILHO E O AMBIENTE RUMINAL

A alteração das características física e química de grãos processados e a conseqüente mudança na digestibilidade, modifica o ambiente ruminal. A disponibilidade do amido normalmente é mais elevada em grãos floculados, seguidos por grãos finamente moídos e grãos laminados, e é mais baixa em grãos inteiros (Theurer, 1986; Crocker et al., 1998).

A utilização de milho floculado aumenta a concentração de propionato e valerato e diminui acetato e butirato, além de diminuir a proporção acetato:propionato quando comparado com milho fino (Plascencia e Zinn, 1996; Joy et al., 1997; Crocker et al., 1998), mostrando que o padrão dos AGV do líquido ruminal reflete a composição do substrato, principalmente às taxas de degradação do carboidrato no rúmen. O aumento na concentração de propionato reflete a maior disponibilidade do amido fermentável metabolizado (Murphy et al., 1982).

Knowlton et al. (1998) observaram aumento nas concentrações de butirato em detrimento da produção de propionato e acetato ao utilizar milho fino em comparação com milho moído grosseiramente. A produção total de ácidos graxos voláteis e o pH ruminal não foram afetados pelos diferentes milhos fornecidos: floculado, moído fino e moído grosso (Plascencia e Zinn, 1996; Joy et al., 1997; Crocker et al., 1998; Knowlton et al., 1998). No entanto, Murphy et al. (1982) observaram aumento na concentração total de ácidos graxos

voláteis e queda no pH ruminal utilizando milho moído fino comparado a milho inteiro. Além disso, ao realizar experimento *in vitro* de produção de gases, Trei et al. (1970) observaram aumento crescente de produção de gases nos milhos inteiro, moído fino e floculado.

Theurer et al. (1999), relataram que a floculação resultou em aumento na digestão ruminal do amido de 49% em relação ao milho quebrado (52% vs. 35%), aumentando também a digestão pós-ruminal em 52% (93% vs. 61%) e no trato total em 24% (97% vs. 78%).

Lykos e Varga (1995), observaram valores de degradação do amido superiores no milho floculado (75,4%), seguido pelo milho moído fino (64,5%) e pelo milho quebrado (44,6%). Os autores observaram ainda aumentos na degradabilidade do amido proveniente da floculação de 16,9%, em relação à moagem fina, e de 69,1% em relação à quebra, este estudo foi feito em vacas fistuladas em lactação.

Concentrado farelado, peletizado, também afeta a fermentação ruminal, pela redução da partícula, diminuindo o tempo de ruminação, conseqüentemente a salivacão, e por fim o tamponamento do rúmen (Welch e Smith, 1971). Dietas fareladas aumentam a taxa de passagem e diminuem a digestibilidade, mesmo que peletizadas (Wilkins et al., 1972). Teixeira et al. (1996), estudando a degradabilidade *in situ* do milho moído e quebrado, concluíram que a degradabilidade efetiva da matéria seca e a taxa de degradação foram superiores na forma moída. Sindt et al. (1993) estudaram dietas à base de milho quebrado ou sorgo finamente moído para novilhos e observaram que a taxa de desaparecimento do amido e a extensão da digestão às 12 e 18 horas foi maior no sorgo finamente moído do que no milho quebrado. Já Callison, et. al. (2001), pesquisaram a influência de diferentes tamanhos de partícula de milho na dieta de vacas de leite no sítio de digestão de carboidratos não-estruturais (CNE) e fibra em detergente neutro (FDN), observando que houve aumento quadrático da digestibilidade ruminal verdadeira de CNE, em relação ao decréscimo na granulometria do milho. Contraditoriamente menores granulometrias não tiveram efeito significativo sobre o fluxo de N microbiano no rúmen. Mesmo com tais dados os autores concluem que a moagem fina do grão de milho ou o tratamento a vapor podem proporcionar apenas modesto impacto sobre a digestibilidade da matéria orgânica no trato gastrintestinal total. De acordo com Owens, et al., (1997), de modo geral o processamento mais extensivo do grão resulta em maiores valores de energia metabolizável, embora o desempenho animal seja mais ou menos similar, sob as várias formas de processamento e fontes de grãos utilizados.

Lesmeister e Heinrichs (2004) compararam os efeitos da inclusão na dieta de bezerros de milho grão inteiro, milho laminado a seco, milho floculado a vapor e milho tostado laminado. O ganho de peso não diferiu na fase anterior a desmama (28 dias), mas favoreceu os bezerros alimentados com milho inteiro e milho laminado a seco na pós desmama (29 a 42 dias). O consumo de alimentos também tendeu a ser melhor nos alimentados com milho inteiro e milho laminado a seco, mas não diferiu na pós desmama. Observaram também tendência de maior produção de AGV nos bezerros recebendo grãos tostados, laminado e floculado a vapor que milho inteiro ou milho tostado laminado.

TÉCNICA *IN VITRO* DE PRODUÇÃO DE GASES

Apesar dos experimentos *in vivo* apresentarem resultados mais precisos para determinar o valor nutricional dos alimentos, esses demandam muito tempo, trabalho, grande quantidade de alimento, maior número de animais e conseqüentemente aumentam o custo financeiro. Para contornar esses problemas, técnicas para utilização na rotina de avaliação do valor nutricional dos alimentos, como as técnicas *in vitro* e *in situ* foram desenvolvidas.

A técnica de produção de gases foi desenvolvida na Universidade de Reading-Inglaterra e é baseada na mensuração do volume de gases produzidos pela degradação anaeróbica dos substratos no líquido ruminal, durante a fermentação *in vitro*. Consiste na utilização de substrato, em meio de cultura anaeróbico e inócuo microbiano proveniente do fluido ruminal. A partir de dados experimentais, obteve-se uma equação quadrática entre pressão (P) e volume (V) para realizar-se a estimativa do volume de gases produzidos dentro de cada frasco de fermentação. Para estimar o volume de gases através dos valores de pressão, inicialmente foi avaliado o uso da "lei dos gases" de Boyle e Gay-Lussac, em que:

$$PG = V_s / P_a * P_t,$$

sendo PG = produção de gases (ml),

V_s = volume de gases na parte superior do frasco (ml),

P_a = pressão atmosférica (psi) e P_t = pressão obtida pelo transdutor (psi).

Entretanto, verificou-se que a lei não se aplica para estimar a produção de gases durante a fermentação no interior de frascos devido à difusão de gases na fase líquida, fator não considerado por ela.

Por isso, houve a necessidade de desenvolvimento de novas técnicas ao longo dos anos. A técnica desenvolvida por Theodorou et al. (1994) utiliza frascos de vidro (160 mL) para acondicionar o substrato, inócuo e meio de cultura, lacrando-os com rolhas de borracha para que o acúmulo de gases ocorra no espaço entre a tampa e o líquido. A pressão gerada é quantificada por aparelho transdutor conectado a agulha que será introduzida nas tampas de borrachas para leitura da pressão de cada frasco. A pressão é posteriormente convertida em volume de gás produzido em mL. As leituras são realizadas em intervalos sequenciais pré-determinados após a inoculação do fluido ruminal, variando com o substrato, permitindo a construção gráfica do volume de gases produzido e o tempo de fermentação do substrato. Essa técnica permite testar vários substratos simultaneamente de forma rápida e eficaz. Maurício et al. (1999) adaptaram a técnica de Theodorou et al. (1994) eliminando as medições manuais de volume de gases utilizando-se seringas. Além disso, o desenvolvimento de uma equação estabelecendo a relação entre P e V (Maurício et al., 1999) eliminou as aferições manuais do V feitas através de seringas plásticas, como proposto na técnica de Theodorou et al. (1994). Essa modificação levou à redução no erro do operador, maior velocidade de leitura e aumento da capacidade do sistema (336 frascos). Dessa forma, a cinética, e mais especificamente o período inicial de fermentação denominado "lag phase", puderam ser descritos com maior acurácia, ou seja, maior número de pontos devido à redução nos intervalos de leituras do volume de gases produzidos. O sistema é relativamente barato, de fácil manutenção e adaptabilidade. O diferencial desta técnica frente outras técnicas *in vitro* ou *in situ* é que ela avalia a parte do alimento que é realmente fermentada, já que se avalia os produtos da fermentação.

Os gases produzidos são derivados principalmente da fermentação dos carboidratos, pois a contribuição das proteínas é pequena e da gordura desprezível. A produção pode ser direta, pela fermentação de carboidratos até CO₂ e metano, ou indireta pelo tamponamento dos ácidos graxos de cadeia curta pelo bicarbonato liberando CO₂ (Blummel e Orskov, 1993). Maiores produções de gases são observadas para substratos fermentados até acetato e butirato. Segundo Fondevilla e Barrios (2001), para cada mol de ácido butírico produzido pela fermentação *in vitro* são produzidos um total de 3 mmol de CO₂, e para cada mmol de ácido acético são produzidos 2 mmol de CO₂, enquanto os ácidos propiônico e láctico tem produção total de 1mmol de CO₂ cada. Segundo Van Soest (1994) isso acontece devido a origem indireta dos gases formados pelos substratos que são fermentados até propionato, já que são formados a partir do tamponamento desse ácido. As produções de gases estão diretamente

ligadas às proporções molares dos ácidos graxos gerados a partir da fermentação dos substratos fornecidos (Getachew et al., 1998).

Vários fatores são responsáveis por alterar o perfil de fermentação *in vitro* e conseqüentemente a produção de gases, dentre eles o preparo das amostras, meio de cultura, líquido ruminal e os microorganismos que o constituem, mistura de tampões, anaerobiose, pH e temperatura (Willians, 2003).

As metodologias *in vitro* apresentam alta correlação com o consumo e digestibilidade *in vivo* em experimentos que utilizam animais adultos, além de demandarem menos tempo e possuírem ambiente mais controlado (Getachew et al., 1998), porém, poucas pesquisas foram realizadas com bezerros. Portanto há necessidade de realização de experimentos para desenvolvimento de técnicas que sejam capazes de estimar o valor energético dos alimentos para animais jovens.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ANDERSON, K.L.; NAGARAJA, T.G.; MORRILL, J.L. Ruminal metabolic development in calves weaned conventionally or early. *Journal of Dairy Science*, n. 70, p.1000-1005. 1987.

ATKESON, F. W.; WARREN, T. R.; ANDERSON, G. C. Water requirements of dairy calves. *Department of Dairy Husbandry, Idaho Agricultural Experiment Station, Moscow, Idaho*, n. 109, p. 249-256. 1937.

BANKS, W. J. *Histologia veterinária aplicada*. 2 ed. São Paulo: Manole, 1992. 629 p.

BALDWIN, R. L.; JESSE, B. W. Technical note: isolation and characterization of sheep ruminal epithelial cells. *Journal of Animal Science*, n. 69, p. 3603-3609. 1991.

BALDWIN, R. L., VI. The proliferative actions of insulin, insulin-like growth factor-I, epidermal growth factor, butyrate and propionate on ruminal epithelial cells *in vitro*. *Small Ruminant Research*. n. 32, p. 261-268. 1999.

BALDWIN, R. L.; MCLEOD, K. R.; KLOTZ, J. L.; HEITMANN, R. N. Rumen development, intestinal growth and hepatic metabolism in the pre- and postweaning ruminant *Journal of Dairy Science*, n. 87, p. E55-E65. 2004.

BATEMAN, H. G.; HILL, T. M.; ALDRICH, J. M.; SCHLOTTERBECK, R. L. Effects of corn processing, particle size, and diet form on performance of calves in bedded pens. *Journal of Dairy Science*, n. 92, p. 782–789. 2008.

BATISTA, C. G. Utilização de complexos orgânicos de minerais no pré-parto de vacas, e durante o aleitamento de bezerras holandesas. 2009. 56p. Tese (Doutorado em Produção Animal) Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

BEHARKA, A.A.; NAGAJARA, T.G.; MORRILL, L.J.; KENNEDY, G.A.; KLEMM, R.D. Effect of form of the diet on anatomical, microbial, and fermentative development of the rumen of neo-natal calves. *Journal of Dairy Science*, n. 81, p. 1946-1955. 1998.

BELLAVER, C.; NONES, K. A importância da granulometria, da mistura e da peletização da ração avícola. In: *Simpósio Goiano de Avicultura*, 4., 2000, Goiânia. Anais... Goiânia: UFG, p. 1-18. 2000. Disponível em:

http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/publicacao_s3f21x6f.pdf

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

BERNARDES, E. B.; COELHO, S. G.; CARVALHO, A. U.; OLIVEIRA, H. N. ; REIS, R. B.; SATURNINO, H. M. ; SILVA, C. A.; COSTA, T. C. Efeito da substituição do feno de Tifton 85 pelo caroço de algodão como fonte de fibra na dieta de bezerros. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 59, p. 955-964. 2007.

BLÜMMEL, M.; ØRSKOV, E.R. Comparison of “in vitro” gas production and nylon degradability of roughage in predicting feed intake in cattle. *Animal Feed Science and Technology*, v.40, p.109- 119. 1993.

BRYANT, M. P., BURKEY, L. A. Numbers and Some Predominant Groups of Bacteria in the Rumen of Cows Fed Different Rations. *Journal of Dairy Science*, n. 36, 218 p. 1953.

BRYANT, M. P.; SMALL, N.; BOUMA, C.; ROBINSON, I. Studies on the composition of the ruminal flora and fauna of young calves. *Dairy Cattle Research Branch*. p.1747 - 1767. 1958.

CALLISON, S.L.; FIRKINS, J.L.; EASTRIDGE, M.L. Site of nutrient digestion by dairy cows fed corn of different particle sizes or steam-rolled. *Journal of Dairy Science*, v.84, n.6, p.1458-1467. 2001.

CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A. Fisiología ruminal relacionada con la patologia digestiva: acidosis y meteorismo. In: *XVIII Curso de Especializacion FEDNA*, Barcelona. Anais...Barcelona: Universidad Autónoma de Barcelona, p. 97-115. 2002.

CHURCH, D. C. The ruminant animal: digestive physiology and nutrition. New Jersey: Prentice-Hall, 1988. 564p.

COELHO, S. G. Ganho de peso e desenvolvimento do estômago de bezerros desaleitados aos trinta dias de idade e alimentados com concentrado e com ou sem feno. 1999. 123 p. Tese (Doutorado em Nutrição Animal) Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1999.

CONE, J.W.; CLINE-THEIL, W.; MALESTEIN, A.; KLOOSTER, A.T. V. Degradation of starch by incubation with rumen fluid: a comparison of different starch sources. *Journal of the Science of Food Agriculture*, v.49, p.173-178. 1989.

COSTA, C.; ARRIGONI, M. D. B.; SILVEIRA, A. C. e CHARDULO, L. A. L. Silagem de grãos úmidos. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 7. Anais...Piracicaba: FEALQ, p.69-88. 1999.

COSTA, S.F.; PEREIRA, M.N.; MELO, L.Q.; CALIARI, M.V.; CHAVES, M.L. Alterações morfológicas induzidas por butirato, propionato e lactato sobre a mucosa ruminal e epiderme

de bezerros : II. Aspectos ultra-estruturais. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* , vol.60, n.1, pp. 10-18. 2008.

COVERDALE, J. A., TYLER, H. D.; QUIGLEY III, J. D.; BRUMM, J. A. Effect of various levels of forage and form of diet on rumen development and growth in calves. *Journal of Dairy Science* n. 87, p.2554–2562. 2004.

COZZI, G.; GOTTARDO, F.; MATTIELLO, S.; CANALI, E.; SCANZIANI, E.; VERGA, M.; ANDRIGHETTO, I. The provision of solid feeds to veal calves: I. Growth performance, forestomach development, and carcass and meat quality. *Journal of Animal Science*, n. 80, p.357-366. 2002.

CROCKER, L. M., DEPETERS, E. J.; FADEL, J. G.; PEREZ-MONTI, H.; TAYLOR, S. J.; WYCKOFF, J. A.; ZINN, R. A. Influence of processed corn grain in diets of dairy cows on digestion of nutrients and milk composition. *Journal of Dairy Science*, n. 81, p. 2394-2407. 1998.

CUNNINGHAM, J.G. Digestão: os processos fermentativos. In: *Fisiologia veterinária*. Quarta edição. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2004.

DANIELS, L.B.; WINNINGHAM, R.M.; HORNSBY, Q.R. Expansion-extrusion processed sorghum grain and soybeans in diets of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, v.56, n.6, p.932-934. 1972.

DAVIS, C. L.; DRACKLEY, J. K. The development, nutrition, and management of the young calf. *Iowa State University Press*. Iowa. Primeira edição. 339 p. 1998.

DELLMANN, H. D.; BROWN, E. M. *Histologia veterinária*. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 397 p. 1982.

DEMEYER, D.; VAN NEVEL, C. Influence of substrate and microbial interaction on efficiency of rumen microbial growth. *Reproduction Nutrition Development* n. 26(1), p. 161-179. 1986.

DIJKSTRA, J.; BOER, H.; BRUCHEM, J. V.; BRUINING, M.; TAMMINGA, S. Absorption of volatile fatty acids from the rumen of lactating dairy cows as influenced by volatile fatty acid concentration, pH and rumen liquid volume *British Journal of Nutrition*, n. 69, p. 385-396. 1993.

DRACKLEY, J. K. Calf nutrition from birth to breeding. *Vet. Clin. Food Anim.*, v.24, p. 55-86, 2008.

DUTRA, A. R.; QUEIROZ, A. C.; THIÉBAUT, J. T. L.; DUTRA, L. G.; WASCHECK, R.C.; MOREIRA, P. C. Efeitos dos Níveis de Fibra e de Fontes de Proteínas sobre a Concentração do Nitrogênio Amônia e pH Ruminal em Novilhos *R. Bras. Zootec.*, v.33, n.3, p.714-722, 2004.

EURELL, J. A.; FRAPPIER, B. L. Dellmann's textbook of veterinary histology. 6^o edição, 2006, Blackwell Publishing. Australia.

FLATT, W. P.; WARNER, R. G.; LOOSLI, J. K. Influence of purified materials on the development of the ruminant stomach. *Journal of Dairy Science*, n.41, p.1593-1600. 1958.

FONDEVILLA, M.; BARRIOS, A. The gas production and its application to the study of the nutritive value of forages *Cuban Journal of Agriculture Science*, v.35, n.3, p.187-199. 2001.

FONTY, G.; GOUET, P.; JOUANY, J.; SENAUD, J. Establishment of the Microflora and Anaerobic Fungi in the Rumen of Lambs. *Journal of General Microbiology*, n. 133, p. 1835-1843. *Printed in Great Britain*. 1987.

FRANÇA, S. R. A.; COELHO, S. G.; CARVALHO, A. U.; MARTINS, R. G. R.; RIBEIRO, S. L. M. Desempenho de bezerros alimentados usando de sucedâneo até 56 dias de idade. *Reista Ceres*, vol.58, n.6, pp. 790-793. 2011.

FRANCE, J.; SIDDON, R. C. Volatile Fatty Acid Production. In: FORBES J. M. Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism. Wallingford: *C.A.B International*, Cap.5, p.107-121. 1993.

GARDNER, R.W. Digestible protein requirements of calves fed high energy rations ad libitum. *Journal of Dairy Science*, v.51, n. 6, p. 888 - 897. 1967.

GETACHEW, G., MAKKAR, H.P.S., BECKER, K. The in vitro gas coupled with ammonia measurement for evaluation of nitrogen degradability in low quality roughages using incubation medium of different buffering capacity. *Journal of Science and Food Agriculture*, v. 77, n. 1, p. 87-95. 1998.

GLOOBE, H. Anatomía aplicada del bovino. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José. Costa Rica. 1 ed., 226p. 1989.

GÖNCÜ, S.; BOĞA, M.; KILIÇ, Ü.; GÖRGÜLÜ, M.; DORAN, F.; Effects of Feeding Regime Without Roughage on Performances and Rumen Development of Calves During Preweaning Period. *Tarım bilimleri dergisi. Journal of agricultural sciences*, n. 16, p.123-128. 2010.

GORKA, P.; KOWALSKI, Z.M.; PIETRZAK, P.; KOTUNIA, A.; KILJANCZYK, R.; FLAGA, J.; HOLST, J.J.; GUILLOTEAU, P.; ZABIELSKI, R. Effect of sodium butyrate supplementation in milk replacer and starter diet on rumen development in calves. *Journal of physiology and pharmacology*. 2009, v. 60, n. 3, p. 47-53 disponível em: http://www.jpp.krakow.pl/journal/archive/10_09_s3/pdf/47_10_09_s3_article.pdf

GRAHAM, C. SIMMONS, N. L. Functional organization of the bovine rumen epithelium. *American Journal of Physiology. Regulatory Integrative and Comparative Physiology*. v.288, p. R173-R181. 2005.

GREENWOOD, R. H.; MORRIL, J. L.; TITGEMEYER, E. C.; KENNEDY, G. A. A new method of measuring diet abrasion and its effect on the development of the forestomach. *Journal of Dairy Science*, v. 80, p 2534–2541. 1997.

HALE, W. H. Influence of processing on the utilization of grains (starch) by ruminants. *Journal of Animal Science*, v.37, p.1075-1080. 1973.

HARRIS, B.; SHEARER, J. K. 2003. Feeding and management of young dairy calves. Disponível em: <http://edis.ifas.ufl.edu/ds117> , acesso em :15 Dezembro 2011.

HARRISON, H. N.; WARNER, R. G.; SANDER, E. G.; LOOSLI, J. K. Changes in the tissue and volume of the stomachs of calves following the removal of dry feed or consumption of inert bulk. *Journal of Dairy Science*, v.43, p.1301-1312. 1960.

HILL, T.M.; BATEMAN, H.G.; ALDRICH, J.M. SCHLOTTERBECK, R.L. Effects of the amount of chopped hay or cottonseed hulls in a texturized calf starter on young calf performance. *Journal of Dairy Science*, v.91, p. 2684-2693. 2008.

HOLMES, C.W.; WILSON, G.F. Produção de leite a pasto. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 708p. 1990.

HOOVER, W.H. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. *Journal Dairy Science*, Champing, v. 69, n.10 p. 2755-2766, 1986.

HEINRICHS, A. J.; LESMEISTER, K. Why you should hold off on feeding forage to calves. *Hoard's Dairyman*. v. 145, p. 638. 2000.

HEITMANN, R. N.; DAWES, D. J.; SENSENIG, S. C. Hepatic Ketogenesis peripheral Ketone body utilization in the ruminant. *Journal of Nutrition*, v.117, p. 1174-1180. 1987.

HUBER, J.T. Development of the digestive and metabolic apparatus of the calf. *Journal of Dairy Science*, v.52, p. 1303-1315. 1969.

HUNGATE, R. E. The rumen and its microbes. New York: Ed: Academic Press. 465p. 1966.

HUNTINGTON, G. B. Starch utilization by ruminants: From basics to the bunk. *Journal of Animal Science*, v.75, p. 852-867. 1997.

JESSE, M. A.; LANE, B. W. Effect of volatile fatty acid infusion on development of the rumen epithelium in Neonatal sheep., *Journal of Dairy Science*, v.80, p. 740-746. 1997.

JONES, C.; HEINRICHS, J. Early Weaning Strategies. 2007. (Disponível em: <http://www.extension.org/pages/10862/early-weaning-strategies> , acessado em: 15 Dezembro 2011)

JOY, M. T.; DEPETERS, E. J.; FADEL, J. G.; ZINN, R. A. Effects of corn processing on the site and extent of digestion in lactating cows. *Journal of Dairy Science*, v.80, p. 2087-2097. 1997.

KHAN, M. A.; LEE, H. J.; LEE, W. S.; KIM, H. S.; KI, K. S.; HUR, T. Y.; SUH, G. H. Structural growth, rumen development, and metabolic and immune response of holstein males calves fed milk through step-down and convention method. *Journal of Dairy Science*, v.90, p. 3376- 3387. 2007.

KNOWLTON, K. F.; GLENN, B. P.; ERDMAN, R. A. Performance, ruminal fermentation, and site of starch digestion in early lactation cows fed corn grain harvested and processed differently. *Journal of Dairy Science*, v.81, p.1972-1984. 1998.

KERTZ, A.F.; PREWITT, L.R.; EVERETT JR., J.P. An early weaning calf program: Summarization and review. *Journal of Dairy Science*, v.62, p. 1835-1843. 1979.

KERTZ, A. F.; REUTZEL, L. F.; MAHONEY, J. H. Ad libitum water intake by neonatal calves and its relationship to calf starter intake, weight gain, feces score, and season. *Journal of Dairy Science*, v.67, p. 2964-2969, 1984.

LANA, R.P.; RUSSELL, J.B.; VAN AMBURGH, M.E. The role of pH in regulating ruminal methane and ammonia production. *Journal of Animal Science*, v. 76, p. 2190- 2196. 1998.

LANE, M. A.; BALDWIN, R. L.; JESSE, B. W. Sheep rumen metabolic development in response to age and dietary treatments. *Journal of Animal Science*, v. 78, p.1990-1996. 2000.

LANE, M. A.; BALDWIN, R. L.; JESSE, B. W. Development changes in ketogenic enzyme gene expression during sheep rumen development. *Journal of Animal Science*, v. 80, p.1538-1544. 2002.

LASSITER, C. A.; DENTON, T. W.; RUST, J. W. The effects of aureomycin and Ethomid C/15 on growth, apparent digestibility and blood levels of urea and total non-protein nitrogen in young dairy calves. *Journal of Animal Science*, v.14, p. 760. 1955.

LENG, R. A. Factors affecting the utilization of “poor-quality” forages by ruminants particularly under tropical conditions. *Nutrition Reserve Review*, Bethesda v.3, n.3, p.277-303. 1990.

LESMEISTER K. E., HEINRICHS A. J. Effects of corn processing on growth characteristics, rumen development, and rumen parameters in neonatal dairy calves. *Journal of Dairy Science*, v.87, p.3439–3450. 2004.

LYKOS, T.; VARGA, G. Effects of processing method on degradation characteristics of protein and carbohydrate sources *in situ*. *Journal of Dairy Science*, v.78, p.1789-1801, 1995.

MATHIS, C. P.; CONCHRAN, R. C.; HELDT, J. S. Effects of supplemental degradable intake protein on utilization of médium-to low-quality forages. *Journal of Animal Science*, v.78, p. 224-232, 2000.

MAURICIO, R.M., MOULD, F.L., DHANOA, M.S., OWEN, E., CHANNA, K.S, e THEODOROU, M.K. A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. *Animal Feed Science and Technology*. v.79, n.4, p.321-330, 1999.

MURPHY, M. R.; BALDWIN, R. L.; KOONG, L. J. Estimation of stoichiometric parameters for rumen fermentation of roughage and concentrate diets. *Journal of Animal Science*, v.55, n. 2, 411 - 421. 1982.

NOCEK, J. E.; KESLER, E. M. Growth and rumen characteristics of Holstein steers fed pelleted or conventional diets. *Journal of Dairy Science*, v.63, p. 249–254. 1980.

NOCEK, J. E.; TAMMINGA, S. Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. *Journal of Dairy Science*, v.74, p.3598-3629. 1991.

NUSSIO, C. M. B.; SANTOS, F. A.; ZOPOLLATTO, M.; PIRES, A. V.; MORAIS, J. B. Processamento (Floculado vs Laminado a vapor) e adição de monensina para bezerras leiteiras, pré e pós desmame. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, MG, v. 32, n. 1, p. 229-239. 2003.

ØRSKOV, E. R. Starch digestion and utilization in ruminants. *Journal of Animal Science*, v.63, n.5, p.1624 - 1633. 1986.

OWENS, F. N.; SECRIST, D. S.; HILL, W. J.; GILL, D. R. The effect of grain source and grain processing on performance of feedlot cattle: A review. *Journal of Animal Science*, v.75, p.868-879. 1997.

PEREIRA, M. N. Grão de Milho Reidratado: Um Alimento Melhor Aproveitado. *Revista Balde branco*. 2011. Disponível em: http://www.baldebranco.com.br/noticias/pgnoticias_det.asp?MDc6Mjk6MDB8MnwxFA==
Acessado em: 24/12/2011.

PLASCENCIA, A.; ZINN, R. A. Influence of flake density on the feeding value of steam-processed corn in diets for lactating cows. *Journal of Animal Science*, v.74, p.310-316. 1996.

PORTER, J. C.; WARNER, R. G.; KERTZ, A. F. Effect of fiber level and physical form of starter on growth and development of dairy calves fed no forage. *Professional Animal Scientist*, v.23, p.395–400. 2007.

QUIGLEY, J. D.; CALDWELL, L. A.; SINKS, O. D.; HEITMANN, R. N. Changes in Blood Glucose, Nonesterified Fatty Acids, and Ketones in Response to Weaning and Feed Intake in Young Calves. *Journal of Dairy Science*, v. 74, p. 250-257. 1991.

QUIGLEY, J. D. 1997. Replacement heifers from birth to weaning. *Western dairy management conference*, March 13-15, 1997. Las Vegas, Nevada.

REMOND, D.; CABRERA-ESTRADA, J. I.; CHAMPION, M.; CHAUVEAU, BCOUDURE, R.; PONCET, C. Effect of corn particle size on site and extent of starch digestion in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.87, p.1389–1399. 2004.

ROONEY, L. W.; PFLUGFELDER, R. L. Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn. *Journal of Animal Science*, v.63, p.1607-1623. 1986.

SAKATA, T.; TAMATE, H. Rumen epithelial cell proliferation accelerated by rapid increase in intraruminal butyrate. *Journal of Dairy Science*, v.61, p.1109–1113. 1978.

SAKATA, T.; TAMATE, H. Rumen epithelium cell proliferation accelerated by propionate and acetate. *Journal of Dairy Science*, v.62, p.49–52. 1979.

SAKATA, T.; HIKOSAKA, K.; YOKO SHIOMURA; TAMATE, H. Stimulatory effect of insulin on ruminal epithelium cell mitosis in adult sheep. *The British journal of nutrition*, v. 44, n. 3, p. 325-31, nov. 1980.

SANDER, E. G.; WARNER, R. G.; HARRISON, H. N.; LOOSLI, J. K. The stimulatory effect of sodium butyrate and sodium propionate on the development of rumen mucosa in the young calf. *Journal of Dairy Science*, v.42, p.1600-1605. 1959.

SANTOS, F.A P.; HUBER, J.T.; THEURER, C.B.; SWINGLE. R.S.; SIMAS. J.M. Response of lactating cows to various densities of sorghum grain. *Journal of Animal Science*, v.75, p.1681-1685. 1997.

SINDT, M.H.; STOCK, R.A.; KLOPFENSTEIN, T.J.; SHAIN, D.H. Effect of protein source and grain type on finishing calf performance and ruminal metabolism. *Journal of Animal Science*, v.71, p.1047-1056. 1993.

SHEN Z.; SEYFERT H.M.; LOHRKE B.; SCHNEIDER F.; ZITNAN R.; CHUDY A.; KUHLA S.; HAMMON H.M.; BLUM J.W.; MARTENS H.; HAGEMMEISTER H.; VOIGT J. An energy-rich diet causes rumen papillae proliferation associated with more IGF type 1 receptors and increased plasma IGF-1 concentrations in young goats. *Journal of Nutrition*, v.134, p.11-17. 2004.

STOBO, I.; ROY, J.F.; GASTON, H.J. Rumen development in the calf. The effect of diets containing different proportions of concentrates to hay on rumen development. *The British Journal of Nutrition*, v.20, p.171-192. 1966.

SUÁREZ, B. J.; VAN REENEN, C. G.; STOCKHOFE, N.; DIJKSTRA, J.; GERRITS, W. J. J. Effect of roughage source and roughage to concentrate ratio on animal performance and rumen development in veal calves. *Journal of Dairy Science*, v.90, p.2390-2403. 2007.

SUTTON, J. D.; MCGILLIARD, A. D.; JACOBSON, N. L. Functional development of rumen mucosa. I. Absorptive ability. *Journal of Dairy Science*, v.46, p.426-436. 1963.

TAMATE, H.; MCGILLIARD, A. D.; JACOBSON, N. L.; GETTY, R. Effect of various dietaries on the anatomical development of the stomach in the calf. *Journal of Dairy Science*, v.45, p.408-420. 1962.

TEIXEIRA, J.C.; SANTOS, R.M.; OLIVEIRA, A.I.G. Degradabilidade ruminal da matéria seca, proteína bruta e fibra em detergente neutro de rações contendo caroço de algodão e grão de milho, em diferentes formas físicas, em vacas da raça Holandesa. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.25, p.814-823, 1996.

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

THEURER, C. B. Grain processing effects on starch utilization by ruminants. *Journal of Animal Science*, v.63, p.1649-1662. 1986.

THEURER, C. B.; HUBER, J. T.; DELGADO-ELORDUY, A.; WANDERLEY, R. Invited Review: Summary of steam-flaking corn or sorghum grain for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.82, p.1950-1959. 1999.

TOKOYAMA, M. T.; JOHNSON, K. A. Microbiology of the Rumen and Intestine. In: CHURCH, d.c. (Ed.) *The ruminant animal: digestive physiology and nutrition*. Englewood Cliffs: Prentice Hall, p.125-144. 1988.

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

WARD, G. A. A. Effect of Pre-Weaning Diet on Lamb's Rumen Development. *American-Eurasian Journal of Agriculture and Environment Science*, v.3, n.4, p.561-567. 2008.

WANG, T. L.; BOGRACHEVA, T. Y. A.; HEDLEY, C. F. L. Starch: as simple as A, B, C? *Journal of Experimental Botany*, v. 49, n. 320, pp. 481–502. 1998.

WARNER, R.G. Nutritional factors affecting the development of a functional ruminant - a historical perspective. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE, 1991, Ithaca. **Proceedings...** Ithaca: Cornell University, p.1-12. 1991.

WARNER, R. G.; FLATT, W. P.; LOOSLI, J. K. Dietary factors influencing the development of the ruminant stomach. *Agriculture Food Chemistry* v. 4, p.788-801. 1956.

WELCH, J. G.; SMITH, A. M. Physical Stimulation of Rumination Activity. *Journal of Animal Science*, v. 33 n. 5, p.1118-1123. 1971.

WILLIAMS, B. A. Cumulative gas production: how to measure it, and what it can(not) tell you. In: Proceedings of the Satellite Symposium "Wild and Domestic Herbivore Diet Characterization", Merida, Mexico, p. 1-3. 2003.

WILLIAMS, P.P.; DINUSSON, W.E. Composition of the Ruminal Flora and Establishment of Ruminal Ciliated Protozoal Species in Isolated Calves. *Journal of Animal Science*. v. 34, n.3, 469–474. 1972.

WILKINS, R. J.; LONSDALE, C. R.; TETLOW, R. M.; FORREST, T. J. The voluntary intake and digestibility by cattle and sheep of dried grass wafers containing particles of different size. *Animal Production*, v.14, p.177-188. 1972.

ZINN, R. A.; OWENS, F. N.; WARE, R. A. Flaking corn: processing mechanics, quality standards, and impacts on energy availability and performance of feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, v.80, p.1145-1156. 2002.

ZITNAN, R.; KUHLA, S.; SANFTLEBEN, P.; BILSKA, A.; SCHNEIDER, F.; M. ZUPCANOVA; VOIGT, J. Diet induced ruminal papillae development in neonatal calves not correlating with rumen butyrate. *Veterinarni Medicini*, v.50, n.11, p.472–479. 2005.

CAPÍTULO 3

EFEITO DO PROCESSAMENTO DO MILHO NO DESEMPENHO E DESENVOLVIMENTO DO RÚMEN DE BEZERROS

RESUMO

Cinquenta e quatro bezerros Holandeses desaleitados aos 60 dias de idade foram utilizados para avaliar os efeitos do processamento do milho, moído fino (farelado), floculado e quebrado (30%). O consumo de concentrado foi aferido diariamente, e o ganho de peso semanalmente. As concentrações de glicose plasmática, ácidos graxos voláteis (AGV), nitrogênio amoniacal e pH do conteúdo ruminal mensuradas a cada 15 dias, antes do aleitamento. Seis animais de cada grupo foram eutanasiados aos 30, 60 e 90 dias para pesagem dos órgãos e coleta de fragmento do epitélio do saco ventral do rúmen para análise histológica e morfométrica. O consumo de concentrado da 5ª a 8ª semanas foi menor no grupo farelado ($p < 0,06$) e semelhante entre grupos a partir da 9ª semana ($p > 0,06$). O grupo farelado teve o menor peso corporal ($p < 0,06$). A concentração plasmática glicose foi maior no grupo floculado comparada ao farelado ($p < 0,06$) e aumentou com a idade. As concentrações de acetato, propionato e butirato foram diferentes entre grupos ($p < 0,06$). A concentração de nitrogênio amoniacal foi maior nos grupos milho quebrado e farelado ($p < 0,06$) e não variaram com a idade ($p > 0,06$). Os pesos dos órgãos não diferiram entre grupos ($p > 0,06$) exceto o ruminoretículo que foi maior no grupo milho quebrado ($p < 0,06$). A altura das papilas do saco ventral foi maior nos grupos milho quebrado e farelado ($p < 0,06$) aos 90 dias. Não foram encontradas alterações histológicas no epitélio ruminal nos diferentes grupos.

Palavras-chave: floculação, milho farelado, milho quebrado, consumo de matéria seca

EFFECT OF CORN PROCESSING ON RUMEN DEVELOPMENT AND PERFORMANCE OF CALVES

ABSTRACT

Fifty four Holstein calves, weaned at 60 days, were fed with starter different in corn processing dry rolled corn (control, steam flaked and cracked corn. The dry matter intake were measured daily and weight gain weekly. Plasma glucose, VFA, ammoniacal nitrogen and rumen pH were measured every 15 days, before milking. Six animals of each treatment were euthanized with 30, 60 and 90 days to weigh of organs and collection of a rumen ventral sac fragment to histological and morphometric analysis. Starter intake between 5th and 8th week were lesser to control group ($p < 0,06$) and had no difference between groups from 9th week ($p > 0,06$). Control group had the lesser body weight ($p < 0,06$). Plasma glucose were greater for steam flaked corn ($p < 0,06$), and increased with age. Acetate, propionate and butyrate were different between groups ($p < 0,06$). Ammoniacal nitrogen were greater in control and cracked corn ($p < 0,06$) and didn't changed with age. Organs weight were similar between groups ($p < 0,06$) except for ruminorreticulum that were superior to cracked corn ($p < 0,06$). Papillae height were greater to cracked and control groups at 90 days ($p < 0,06$). No pathology were found in rumen epithelium.

Key words: steam flaked, dry rolled corn, cracked corn, dry matter intake

INTRODUÇÃO

A maioria dos estudos com processamento do milho foi realizada com animais adultos. Os poucos trabalhos com animais jovens mediram o desempenho em ganho de peso e altura e o consumo de alimentos, mas não foram capazes de estudar a cinética da degradação do milho processado. A extrapolação dos resultados obtidos em animais adultos para ruminantes imaturos pode ser limitada, devido a diferenças na cinética de degradação, população microbiana e capacidade do rúmen, além disso, os estudos com relação a diferenças na produção de AGV frente aos diferentes processamentos são ainda poucos.

Portanto, compreender os fatores responsáveis para iniciação, condução e estabelecimento do desenvolvimento e função do rúmen no bezerro jovem é muito importante.

Desta forma, objetivou-se com a execução desse trabalho avaliar o desempenho dos bezerros, com ênfase no desenvolvimento dos seus pré-estômagos, em resposta a três diferentes processamentos do milho (moagens fina e grossa e floculação) inseridos na sua dieta, do nascimento a 90 dias de idade.

MATERIAL E MÉTODOS

LOCAL DE EXECUÇÃO DO EXPERIMENTO

Este experimento foi conduzido no Bezerreiro Experimental da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais. Todos os procedimentos realizados no experimento foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFMG, protocolo 196/2010 CETEA/UFMG.

O período experimental foi de 14 de setembro de 2010 a 20 de abril de 2011. O bezerreiro foi construído em um piquete de 35,3m por 40m (1412 m²), que foi dividido em cinco fileiras com tela de sombreamento (2m x 35m) estilo bezerreiro “Argentino” que

continham nove subdivisões com arames de cinco metros de comprimento para alocar cada animal individualmente. Em cada subdivisão, o arame foi fixado rente ao chão, por dois mourões de 1m nas extremidades que foram enterrados no solo, formando ângulo de 90 graus com a tela de sombreamento (80%). Os bezerros foram presos individualmente a esse arame por uma corrente de aproximadamente um metro transpassada a uma corda que circulava o pescoço dos mesmos. Os animais foram distribuídos no bezerreiro experimental de forma aleatória. No lado oposto a tela de sombreamento foi fixado o suporte para os baldes de água/leite e ração (Figura 1).

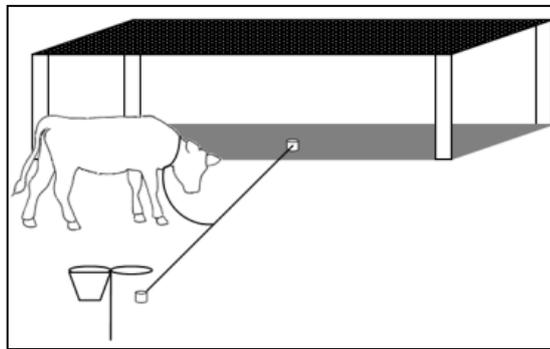


Figura 1 - Desenho esquemático do Bezerreiro Experimental

O piquete era formado principalmente pela a gramínea *Paspalum notatum*.

As chuvas e a temperatura foram quantificadas todos os dias, utilizando-se o pluviômetro e termômetro de máxima e mínima, tipo capela com botão central automático com função zeradora de memória.

ANIMAIS

Para realização do experimento foram utilizados 54 bezerros holandeses, machos, recém-nascidos. Para a obtenção desse número de animais em boas condições de saúde, foi necessária a aquisição de 72 bezerros em duas propriedades de exploração leiteira localizadas em Inhaúma e Matozinhos, MG. Imediatamente após o nascimento, os bezerros tinham o umbigo curado com iodo a 7% e recebiam dois litros de colostro proveniente de banco de colostro nas próprias fazendas. O banco de colostro foi preparado antes do início do experimento a partir da coleta do colostro na Fazenda Experimental Prof. Hélio Barbosa e

Fazenda Experimental Felixlândia -EPAMIG. O colostro foi armazenado congelado em garrafas pets e posteriormente levado para as fazendas de origem dos bezerros. Após chegarem à Escola de Veterinária, nos dias de chuva intensa foram alocados em baias de alvenaria dentro de galpão experimental, durante dois dias antes de irem para o bezerreiro. Todos os bezerros foram avaliados para hidratação e condições físicas gerais. Caso não tivessem recebido o leite após a colostragem na fazenda de origem, recebiam dois litros de sucedâneo. Todos os animais foram pesados na chegada, antes do fornecimento de sucedâneo em balança da marca COIMMA®, modelo ICS-300 com capacidade entre dois e 300kg, sendo então distribuídos ao grupos experimentais, homogeneizando os pesos. Os bezerros tinham idade entre um e três dias e eram alocados em cada tratamento no terceiro dia de vida, quando começavam a receber o concentrado.

A cura do umbigo foi realizada com iodo a 7% duas vezes ao dia durante três dias consecutivos.

Diariamente, os bezerros foram observados quanto às condições físicas, mensurando-se a temperatura retal após o aleitamento da manhã e avaliando-se a ocorrência de enfermidades.

Quando os animais apresentavam diarreia foram tratados a partir do primeiro dia, com fluidoterapia oral (dois litros, duas vezes ao dia; 20 g de glicose de milho, 5 g NaCl, 4 g NaHCO₃ e 1 g KCl para um litro de água morna) durante o período que apresentassem os sintomas clínicos. Caso não bebessem espontaneamente, o soro era fornecido via sonda esofágica. Quando os animais persistiam com a diarreia e apresentavam febre, foram medicados com Enrofloxacino (7,5 mg/kg intramuscular - I.M.) durante cinco dias consecutivos e Flunixin Meglumine (2,2 mg/kg I.M.) durante três dias consecutivos.

Animais que apresentavam sintomas clínicos de doenças respiratórias foram medicados com penicilina (30.000 U.I./Kg) durante cinco dias consecutivos e caso o quadro persistisse Florfenicol (20 mg/Kg intramuscular - I.M.) duas doses com intervalo de 48 horas.

Todos os animais receberam dose única de Dipropionato de Imidocarb, (25 mg/kg) administrado subcutâneo para profilaxia de anaplasnose e babesiose com 15 dias de vida.

As infecções umbilicais graves foram tratadas com Flunixin Meglumine (2,2 mg/kg I.M.) e penicilina (30.000 U.I./Kg) ou Enrofloxacina (7,5 mg/kg I.M.).

Os casos de beber ruminal foram tratados inicialmente pela coleta do conteúdo ruminal via sonda esofágica, fornecimento de 50g de bicarbonato de sódio em pó diluído em 100 mL de água morna via oral, e fornecimento de glicose 5%, NaCl 0,9%, bicarbonato de

sódio 5%, ringer e soro fisiológico via endovenosa de acordo com o grau de desidratação do animal. Posteriormente, iniciou-se o tratamento utilizando além dos fármacos acima amoxicilina 500 mg oral, um comprimido pela manhã e um pela tarde diluído em 100 mL de água morna, durante sete dias consecutivos.

GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os animais foram distribuídos em três tratamentos, de acordo com o peso ao nascimento. Os tratamentos consistiram no fornecimento de concentrado com diferentes processamentos da fonte energética: milho floculado, milho quebrado e milho farelado. Cada grupo foi formado por 18 animais, sendo seis bezerros de cada grupo eutanasiados aos 30, 60 e 90 dias de vida (Tabela 3).

Tabela 3 - Distribuição dos bezerros nos grupos experimentais

Tratamentos	Número de animais	Eutanásia (dias de vida)		
		30	60	90
Floculado	18	6	6	6
Quebrado	18	6	6	6
Farelado	18	6	6	6

O concentrado do grupo milho floculado possuía toda sua fonte de milho sob a forma de milho floculado. O concentrado do grupo milho quebrado possuía 30% do seu milho sob a forma de milho quebrado, também chamado de “quirela” ou “canjica” e os 70% restantes na forma de milho farelado. E o concentrado do grupo farelado possuía todo o milho na forma farelada. A composição nutricional dos concentrados, sucedâneo e gramínea presente no bezerreiro pode ser observada na Tabela 4, e a granulometria dos concentrados na Tabela 5.

Utilizou-se concentrado protéico e mineral comercial, sendo esse fabricado especificamente para o experimento, sem adição de milho. O milho foi misturado ao concentrado em uma proporção de 51,6% de milho e o restante 48,4% composto por concentrado protéico acrescido de mineral e vitaminas e monensina sódica (21,05 mg/kg), dentro de um tonel de plástico com tampa sendo rolado até que a mistura se tornasse homogênea.

A granulometria dos concentrados foi quantificada utilizando-se peneiras GRANUTEST® com malhas de 3,36; 2,38; 2,00; 1,41; 1,19; 0,71; 0,50 mm colocadas uma sobre a outra em ordem decrescente e, por último, o prato (Tabela 5). Colocou-se acima da pilha de peneiras 100 ou 200 g de amostra de cada concentrado e a mesma foi balanceada manualmente durante 60 segundos, sendo 30 segundos direcionados para a esquerda e 30 para a direita. Posteriormente cada peneira foi cuidadosamente pesada. Os resultados foram obtidos descontando o peso das peneiras sem amostras do peso obtido com as amostras. As amostras foram coletadas semanalmente e realizada a média dos resultados.

Tabela 4 - Composição nutricional dos concentrados fornecidos com milho floculado, milho grosso, milho farelado, do capim e do sucedâneo do leite

	FLOCULADO	QUEBRADO	FARELADO	CAPIM	SUCEDÂNEO
Matéria Seca (%)	89,86	88,90	89,00	24,14	94,60
Proteína Bruta	24,15	20,28	20,27	15,94	20,70
Extrato Etéreo	2,85	2,86	2,96	1,70	17,00
Fibra Detergente Neutro	12,85	12,16	12,54	49,03	
Fibra Detergente Ácido	4,48	3,68	4,00	25,27	
Cálcio	2,95	2,92	2,95	3,20	2,88
Fósforo	1,61	1,40	1,26	0,24	0,76
Cinzas	21,86	15,43	15,98	12,85	9,70
CNF	29,25	41,27	40,04		
NDT	73,55	80,05	79,49		
Energia Metabolizável* (Mcal/kgMS)	2,21	2,35	2,34		4,41

Dados expressos na base de matéria seca.

*A energia metabolizável (EM) do sucedâneo e do concentrado foram calculadas segundo NRC (2001).

EM sucedâneo: $EM = 0,93 \times (0,057 \times \%PB + 0,092 \times \%EE + 0,0395 \times \%lactose)$

EM concentrado: $EM = [(1,01 \times ED) - 0,45] + [0,0046 \times (\%EE - 3)]$

Sendo que energia digestível $ED = 0,7 \times [0,057 \times \%PB] + (0,092 \times \%EE) + (0,0415 \times \%carboidratos)$

Sendo que % de carboidratos = $100 - EE - PB - cinzas$

Os bezerros receberam quatro litros de sucedâneo do leite Lacthor (Tortuga Companhia Zootécnica Agrária ©), diariamente durante os primeiros 60 dias de vida, sendo esses divididos em duas porções diárias de dois litros pela manhã (8:00) e dois litros a tarde (16:00). A desmama foi realizada de forma abrupta.

A diluição utilizada foi a recomendada pelo fabricante sendo adicionados 125g de sucedâneo a cada litro de água à temperatura entre 40 e 50°C, minutos antes ao fornecimento. O sucedâneo foi fornecido em baldes de metal.

Tabela 5 - Porcentagem de partículas dos diferentes concentrados retidas em cada peneira GRANUTEST®

Peneiras (mm)	% DE PARTÍCULAS RETIDAS (MÉDIA)					
	MILHO FLOCULADO		MILHO QUEBRADO		MILHO FINO	
	Fornecido	Sobra	Fornecido	Sobra	Fornecido	Sobra
3,36	38,68	1,93	5,63	4,16	0,20	0,05
2,38	7,37	1,73	2,52	3,10	2,20	1,86
2,00	4,02	0,60	2,81	3,35	2,85	3,14
1,41	8,12	3,77	8,62	7,65	9,05	6,24
1,19	2,23	2,97	6,37	4,52	5,80	9,80
0,71	14,03	11,33	24,37	26,40	28,30	25,87
0,50	6,58	12,53	13,87	16,52	14,20	16,14
Prato	19,63	64,73	36,10	34,23	37,35	35,98

O concentrado foi oferecido à vontade a partir do terceiro dia de vida. O consumo diário foi medido descontando-se o peso da sobra no dia seguinte do total fornecido. O consumo de capim não foi aferido e era limitado a área de cada bezerro.

A água foi fornecida a vontade em baldes de metal a partir do primeiro dia de chegada ao bezerreiro, sendo que o mesmo balde foi utilizado para o fornecimento do sucedâneo. Diariamente os baldes eram lavados com detergente e água.

PROCEDIMENTO PARA COLHEITA DE DADOS

Os animais foram pesados assim que chegavam ao bezerreiro e a cada sete dias, antes da ingestão de alimentos. Utilizou-se balança da marca COIMMA®, modelo ICS - 300 com capacidade entre dois e 300kg.

Aos cinco dias de idade, 5 mL de sangue foram colhidos em tubos Vacutainer® sem anticoagulante da veia jugular para avaliação da colostragem pelo método de proteína total. Amostras de sangue de 5 mL foram colhidas a cada 15 dias iniciando-se no décimo quinto dia de vida dos seis animais de cada grupo que viveram até 90 dias, para dosagem de glicose plasmática. O sangue foi coletado em tubos Vacutainer® Fluoreto/EDTA, na veia jugular,

antes da alimentação. Os tubos foram centrifugados a 2.000 rpm por cinco a 10 minutos e o plasma armazenado em eppendorf de 0,5 mL e congelado a -20°C .

O conteúdo ruminal foi coletado a cada 15 dias a partir do décimo quinto dia dos mesmos seis animais de cada grupo que viveram até 90 dias. As coletas foram realizadas quatro horas após o fornecimento do sucedâneo e, após a desmama, quatro horas após o fornecimento matinal do concentrado. O conteúdo ruminal foi coletado utilizando-se a passagem de sonda esofágica de silicone com aproximadamente 1,50 m de comprimento e um cm de diâmetro interno. A sonda era acoplada a um frasco de plástico com capacidade aproximada de um litro com tampa de rosca que possuía dois orifícios, um para a sonda e outro para mangueira acoplada a bomba de vácuo. Como bomba de vácuo utilizou-se bomba de encher bola com o êmbolo invertido, para, quando acioná-la, produzir sucção (Figura 2).

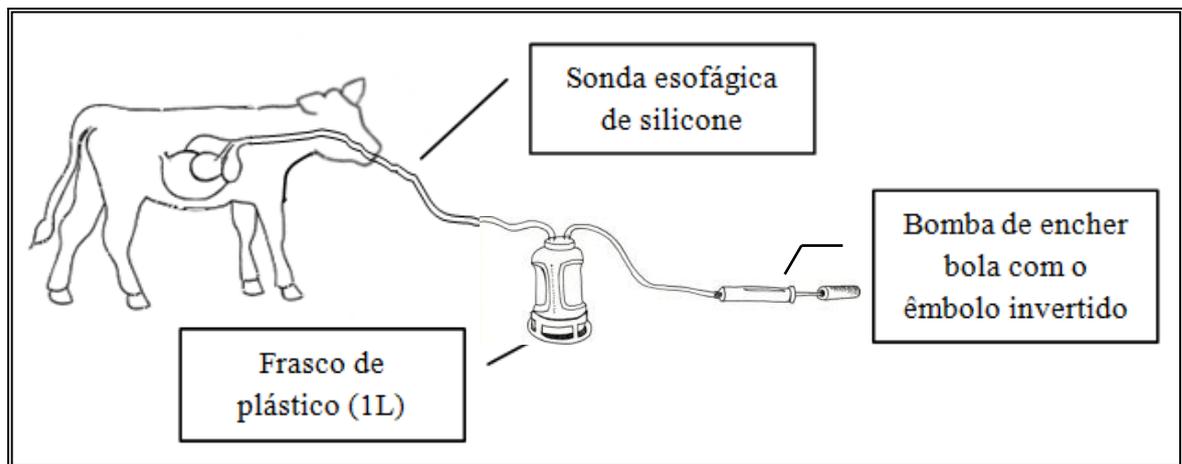


Figura 2 - Desenho esquemático da bomba de vácuo (sem escala)

Após a filtragem do conteúdo ruminal em peneira, o pH do líquido foi aferido utilizando-se pHmetro portátil da marca Phtek, faixa de 0,0 a 14,0, modelo PH 100, sendo colhidas duas amostras e divididas em duas alíquotas. Uma delas de cinco mL de líquido foi acondicionada em frasco contendo um mL ácido metafosfórico 20% para posterior análise de ácidos graxos voláteis. Outra alíquota de 50 mL foi acondicionada em frasco contendo 5 mL de ácido sulfúrico a 50% para posterior análise de N amoniacal. As duas alíquotas foram congeladas a -20°C para posterior análise.

Seis animais de cada grupo foram eutanasiados aos 30, 60 e 90 dias de idade seguindo o protocolo determinado pelo CETEA - UFMG que indica a utilização de Xilazina (3ml/100kg PV), Tiopental (60-90 mg/kg PV) e cloreto de potássio (10 a 20 mL à efeito).

Após verificação do fim dos batimentos cardíacos e movimentos respiratórios os animais foram necropsiados. Após abertura da cavidade abdominal, realizou-se uma dupla ligadura no cárdia e no piloro e retirou-se os pré-estômagos e abomaso da carcaça. Em sequência, os compartimentos foram abertos, o pH do conteúdo ruminal aferido, retirou-se os conteúdos de todos compartimentos e os órgãos foram lavados e esticados para secar. Após algum tempo os órgão eram pesados vazios separadamente. Também foram pesados fígado, baço, pâncreas e a gordura perirenal (com capsula). Três amostras de aproximadamente três centímetros da mucosa do saco ventral do rúmen foram colhidas para estudo histológico e morfométrico.

ANÁLISES LABORATORIAIS

A análise de proteína total foi realizada após centrifugação das amostras de sangue a 2000 rpm/min durante cinco a 10min, e separação do plasma sanguíneo. Utilizou-se refratômetro portátil RTP-12.

A análise da glicose foi realizada no Laboratório de Patologia Clínica da EV/UFMG. As amostras foram descongeladas a temperatura ambiente e para análise utilizou-se o aparelho COBAS MIRA PLUS da marca ROCHE®, com o kit enzimático de Glicose da SYNERMED™.

As amostras de concentrado (fornecido e sobras em pool mensal de quatro amostras semanais) capim e sucedâneo foram pré-secas em estufa a 65°C e posteriormente analisadas para MS (105°C), cinzas, PB, EE, Cálcio e Fósforo segundo AOAC (1995). Os componentes da parede celular (FDN e FDA) foram analisados pelo método sequencial de Van Soest et al. (1991).

Os ácidos graxos voláteis foram analisados por cromatografia gasosa no Laboratório de Nutrição da EV/UFMG.

Para determinação dos ácidos graxos voláteis as amostras foram descongeladas a temperatura ambiente e centrifugadas, em centrífuga Sorval RC-58 resfriada entre 10 e 20°C, a 5000 rpm/min durante 15 minutos e posteriormente filtradas em filtros milipore 0,45 µm de poro em eppendorf de 0,5 mL. Para as análises utilizou-se o cromatógrafo gasoso SHIMADZU® modelo GC-17^a, com coluna capilar de sílica NUKOL®, Supelco 0,53mm 30m 0,5µm. A temperatura inicial foi de 120°C, a primeira rampa variou de 90 a 190°C durante um minuto e a segunda rampa foi de 195°C durante um minuto para limpar a coluna.

O gás utilizado como carreador foi o hidrogênio. O programa de leitura dos dados foi o CLASS-CR10, Analysis System e Software versão 1.2, 1992, 1993; Shimadzu Corporation.

O nitrogênio amoniacal foi analisado seguindo a metodologia de Cotta e Russell (1982). Foram transferidos para um tubo Kjeldahl: 1 grama de óxido de magnésio, 2 ml de solução de CaCl_2 (10%), bolas de vidro (antiespumante) e 50 mL de fluido ruminal. O tubo foi acoplado ao destilador Micro Kjeldahl para realização da destilação com arraste a vapor e adicionados 25 mL de solução de NaOH (50%) no reservatório do destilador. Foi colocado um erlenmayer com 25 mL de solução de ácido bórico na saída do destilador, para então se iniciar a destilação. O final da destilação ocorreu quando a solução de ácido bórico adicionado ao destilado passa da cor rósea para verde. Depois da destilação, a concentração de N na solução do erlenmayer foi determinada por titulação com ácido clorídrico a 0,1 N.

Os fragmentos do rúmen foram fixados em papelão com taxinhas e armazenados em frascos de vidro com formol tamponado a 10%, por 24 horas. Posteriormente, foram cortados e processados em equipamento histoquímico (Layca; processamento na sequência: álcool 70%, álcool 80%, álcool 90% usado, álcool 90% novo, xilol) e incluídos em parafina, cortados em micrótomo (4 μm), corados pela técnica de hematoxilina-eosina (HE) segundo Luna (1968) e analisados ao microscópio óptico para descrição morfológica. O epitélio do rúmen foi caracterizado, de forma descritiva, de acordo com adaptação do critério utilizado por Coelho (1999):

- 1- Epitélio normal
- 2- Desproporção entre as camadas celulares
- 3- Desproporção entre as camadas com formação de vesículas
- 4- Desproporção entre as camadas com formação de vesículas, infiltrado inflamatório e erosão

A camada córnea foi classificada em:

- 1- Normal
- 2- Moderadamente espessa
- 3- Bastante espessa

As lâminas foram posteriormente fotografadas em microscópio Olympus bx 41, acoplado a câmera fotográfica Spot Insight Color - 3.2.0 e diretamente salvas no programa Spot Basic version 3.4.5 para Windows no Laboratório de Patologia Comparada -ICB/UFMG. As fotos foram analisadas pelo programa ImageJ 1.45s do National Institutes of

Health - USA, para aferição da altura das papilas. Foi realizada a média de altura de 50 papilas por animal.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

O experimento foi montado seguindo o delineamento estatístico inteiramente casualizado.

Os dados de consumo de alimento, peso vivo, concentração de ácidos graxos voláteis, nitrogênio amoniacal, glicose e pH ruminal foram analisados em arranjo em parcelas subdivididas estando nas parcelas os diferentes processamentos do milho e nas subparcelas a idade de avaliação. As diferenças entre as médias foram testadas pelo teste de Tukey a 6% de significância. E para a diferença de peso vivo entre as semanas foi utilizado o teste de Scott-Knott a 6% de significância.

Os dados de altura de papilas e peso dos órgãos e pH coletado no dia da necropsia (diretamente no conteúdo ruminal) foram analisados em arranjo fatorial 3 x 3, sendo três dietas e três idades de avaliação. Para testar as diferenças entre as médias foi utilizado o teste de Tukey 6% de significância.

Para os tempos de avaliação foram realizadas estimativas de modelos de regressão para consumo de concentrado, ganho de peso, glicose, ácidos graxos voláteis, pH ruminal. Foi também realizada a estimativa de correlações de Pearson ou Spearman entre variáveis dependentes.

Realizou-se os testes de Lilliefors e Bartlett para verificar os pressupostos de normalidade e homocedasticidade de variâncias, respectivamente. Para variáveis que não atenderam pelo menos uma destas condições foi realizada transformação dos dados. Realizou-se transformação para logarítimo das respostas para as variáveis proporção molar de acetato, propionato e butirato; realizou-se o logarítimo das respostas mais um ($\log x + 1,0$) para as variáveis concentração molar de butirato, concentração de nitrogênio amoniacal e consumo de matéria seca; e realizou-se o logarítimo mais 0,5 ($\log x + 0,5$) para as respostas da variável concentração molar de propionato.

O modelo matemático utilizado na análise para avaliar o consumo de matéria seca, ganho de peso, concentração de ácidos graxos voláteis, nitrogênio amoniacal, glicose e pH ruminal foi o seguinte:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + e_{ik} + I_j + (T*I)_{ij} + \alpha_{ijk}$$

Onde:

Y_{ijk} = Observação do tipo de milho i da idade j do bezerro k

μ = Média geral

T_i = Efeito do tratamento i (i = 1, 2, 3)

e_{ik} = erro aleatório atribuído a parcela do tratamento i na repetição k

I_j = Efeito da idade j (j=7, 14, 21...90) para consumo de matéria seca, ganho de peso ou (j=15, 30, 45, 60,75,90) para concentração de ácidos graxos voláteis, nitrogênio amoniacal, glicose e pH ruminal

$T*I$ = efeito da interação do tratamento com a idade

α_{ijk} = erro aleatório atribuído à subparcela do tratamento i na idade j da repetição k

Os dados de altura de papilas e peso dos órgãos foram analisados em arranjo fatorial 3 x 3, sendo três dietas e três idades de avaliação. Para testar as diferenças entre as médias foi utilizado o teste de Tukey.

O modelo matemático utilizado na análise de altura de papilas e peso dos órgãos foi o seguinte:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + I_j + (T*I)_{ij} + e_{ijk}$$

Y_{ijk} = Observação do tipo de milho i na idade j do bezerro k

μ = Média geral

T_i = Efeito do tratamento i (i=1,2,3)

I_j = Efeito da idade i (i = 30, 60, 90)

$T*I$ = Efeito da interação tratamento e idade

e_{ijk} = Erro aleatório atribuído à observação do tratamento i na idade j da repetição k

As análises dos dados gerados foram realizadas utilizando-se os programas estatísticos SISVAR, versão 5.0 (Ferreira, 2007) e SAEG - Sistema de Análises Estatísticas, Versão 9.1 (SAEG, 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

COMENTÁRIOS INICIAIS

Durante o período experimental a temperatura ambiente média mínima foi de 20,3°C, variando de 15,0°C a 29,0°C e máxima de 31,1°C, variando de 23,0°C a 41,0°C (Tabela 6 e Figura 3). Segundo Hahn (1981) o intervalo de temperatura ideal para bezerros holandeses é de 10 a 26°C, dessa forma os animais passaram por estresse térmico durante alguns momentos do experimento. O volume total de chuvas foi de 1074 mm com variações diárias de 0 a 85 mm (Figura 4).

Tabela 6 - Médias mensais das temperaturas mínimas e máximas durante o período experimental

MÊS	MÍNIMA	INTERVALO	MÁXIMA	INTERVALO
SET	21,7	17,0 - 23,0	29,8	27,0 - 34,0
OUT	20,4	15,0 - 29,0	32,6	26,0 - 38,0
NOV	19,7	17,0 - 28,0	30,7	24,0 - 41,0
DEZ	20,5	18,0 - 26,0	33,6	26,0 - 40,0
JAN	19,5	17,0 - 22,0	32,5	26,0 - 39,0
FEV	20,4	18,0 - 26,0	33,5	27,0 - 36,0
MAR	20,3	18,0 - 22,0	28,6	23,0 - 37,0
ABR	20,1	16,0 - 22,0	27,8	24,0 - 31,0

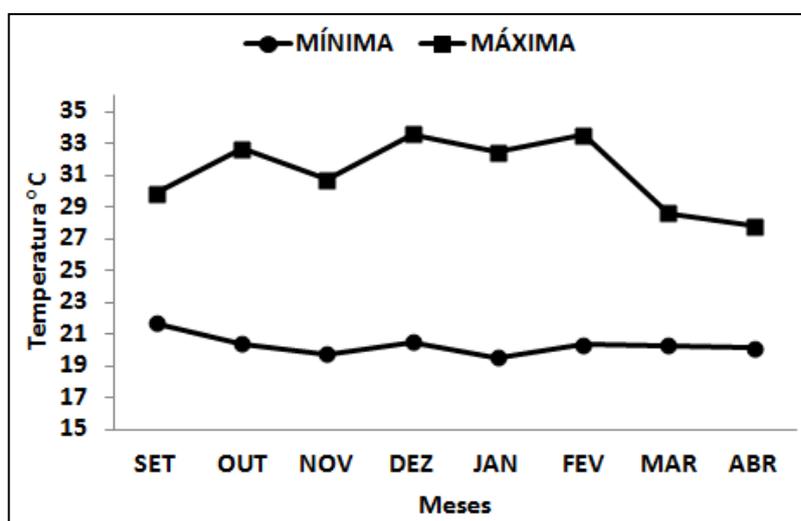


Figura 3 - Médias das temperaturas mínima e máxima ao longo do período experimental

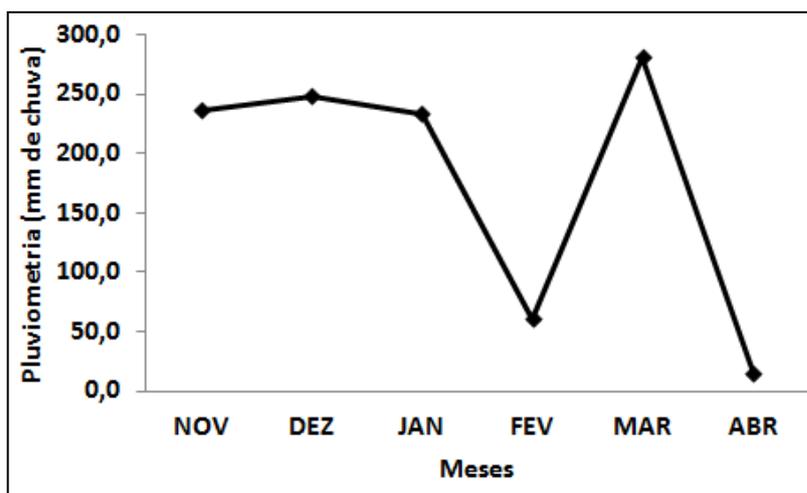


Figura 4 - Distribuição das chuvas (mm) ao longo dos meses experimentais novembro de 2010 a Abril de 2011

Durante o período experimental 18 animais morreram ou foram retirados do experimento devido a doenças, totalizando a taxa de mortalidade de 33,3%, valor acima do encontrado por Frois et al. (1994) em Minas Gerais (14%), mas dentro do intervalo citado por Campbell et al. (2008) de 10,3 a 34,0% de mortalidade de bezerros em Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo. A alta taxa de mortalidade encontrada está provavelmente relacionada ao estresse causado pelo transporte das fazendas de origem ao local experimental, à época do ano que o experimento foi realizado, com grande variação térmica diária, ao alto volume de chuvas concentradas, e ocorrência de doenças. Além disso, o tipo de instalação utilizada para alojar os bezerros, semelhante à maioria das instalações utilizadas no país, não protege os animais de chuva, frio ou calor.

Dois animais morreram devido à diarreia e suas consequências, um do grupo farelado, aos cinco dias de idade e o outro do grupo milho floculado, que morreu aos 15 dias de idade. Três bezerros morreram de pneumonia, um animal de cada grupo e um animal do grupo milho quebrado foi retirado do experimento devido ao baixo desempenho consequente à doença. Desses, dois possuíam onfaloflebite grave. Um animal do grupo farelado morreu de abomasite e enterite hemorrágica aos dois dias de idade. Dois bezerros do grupo farelado morreram acometidos por beber ruminal e suas consequências, aos 11 e 12 dias de idade. Um bezerro do grupo farelado morreu enforcado aos oito dias de idade. Houve um caso de atresia de reto. Um animal do grupo milho quebrado morreu de torção de ceco aos 43 dias de vida. Embora essa enfermidade acometa com maior frequência fêmeas bovinas adultas, também já foi descrita em bezerros e machos castrados (Afonso et al., 2006). Um bezerro do grupo farelado

morreu de babesiose cerebral e um do grupo milho quebrado foi retirado do experimento aos seis dias de idade devido à poliartrite. Nenhuma afecção foi correlacionada ao grupo experimental que o animal foi submetido.

Todos os animais utilizados no experimento apresentaram diarreia, variando a intensidade e duração. Nove bezerros apresentaram sintomas clínicos de pneumonia, sendo os casos confirmados nas necropsias, desses, dois eram do grupo farelado, três do grupo milho quebrado e quatro do grupo milho floculado. É importante ressaltar que dos treze animais dez possuíam o lobo cranial afetado, o que pode ser indicativo de pneumonia causada por aspiração de líquido, proveniente provavelmente do soro oral fornecido por sonda esofágica ou por líquido ruminal aspirado nas coletas quinzenais. Dois animais do grupo milho quebrado apresentaram beber ruminal crônico, com duração de mais de três dias sendo que um iniciou o quadro aos sete dias de vida e o outro com 18 dias de vida. Um animal do grupo milho floculado foi acometido por otite, sendo medicado com Sulfato de Cefquinoma, (COBACTAN® 2,5% - 1 mL/25 kg) durante quinze dias. Quatro bezerros foram acometidos por infecção umbilical, três do grupo milho quebrado e um do grupo farelado.

CONSUMO DE ALIMENTOS

Nas duas primeiras semanas as médias de consumo de concentrado foram baixas em todos os grupos, não ultrapassando valores de 0,100 kg (Tabela 7, Figura 5). Esse baixo consumo pode ser justificado pelo baixo desenvolvimento ruminal nessa fase e pelos desafios enfrentados pelos bezerros: alta incidência de diarreia acometendo os animais na segunda e terceira semanas de vida, alto volume de chuvas e alternância constante entre temperatura, principalmente nessa fase, quando o bezerro ainda não consegue controlar adequadamente sua temperatura corporal.

Coelho (1999) observou consumo de concentrado mais alto (0,064; 0,047; 0,103; 0,222) para as quatro primeiras semanas de vida, respectivamente. No entanto, os animais foram alojados em gaiolas dentro de galpão de alvenaria bem arejado, reduzindo o estresse térmico dos animais e protegendo-os de chuva.

Entre a quinta e a oitava semanas de vida, os bezerros dos grupos milho floculado e quebrado apresentaram aumento no consumo ($p < 0,06$) quando comparados ao grupo farelado. Esse efeito parece ter sido causado pelo processamento do milho, que além de provocar

alterações na disponibilidade energética, muda a granulometria do concentrado, e é relatado por vários autores que os bezerros preferem ingerir alimentos com maior granulometria (Lassiter et al., 1955; Gardner, 1967; Kertz et al., 1979; Davis e Drackley, 1998). Segundo Beharka et al. (1998), a forma física do concentrado, dentre outros fatores, tem grande efeito no consumo. Lesmeister e Heinrichs et al. (2004) relataram consumo de concentrado maior para o grupo milho inteiro quando comparado ao milho floculado entre uma e seis semanas de vida, sendo que a desmama foi realizada aos 28 dias de vida. Bateman et al. (2008) também relataram queda no consumo de dieta farelada comparada a dieta com maior granulometria, refletindo em menor ganho de peso. Owens et al. (1997) observaram maior consumo em dietas contendo grãos laminados a seco, seguido por grãos inteiros, laminados a vapor, floculados a vapor e os grãos finamente moídos resultaram na mais baixa ingestão. Já Santos et al. (2004) não encontraram diferença no consumo entre o fornecimento de concentrado farelado e peletizado para bezerros da raça Holandesa até 60 dias de idade.

O consumo de concentrado foi semelhante entre os grupos a partir da nona semana de vida ($p > 0,06$) quando o desaleitamento ocorreu. A partir daí o concentrado era a única fonte energética e os bezerros do grupo farelado praticamente dobraram o consumo e o igualaram dos outros grupos ($p > 0,06$).

Tabela 7 – Consumo de concentrado (kg/dia) na matéria seca a cada semana de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho

Idade (semanas)	Grupos		
	Floculado	Quebrado	Farelado
1	0,024 I ab	0,015 H b	0,037 G a
2	0,043 H b	0,047 G ab	0,065 F a
3	0,129 G ab	0,073 G b	0,099E a
4	0,140 F a	0,167 F a	0,102 E a
5	0,219 E a	0,269 E a	0,104 E b
6	0,322 D ab	0,422 D a	0,212 D b
7	0,543 C a	0,635 C a	0,287 D b
8	0,765 B a	0,822 C a	0,479 C b
9	0,928 B a	1,075 B a	0,700 B a
10	1,582 A a	1,816 A a	1,460 A a
11	1,665 A a	1,875 A a	1,753 A a
12	1,890 A a	2,017 A a	1,966 A a
13	1,949 A a	2,264 A a	2,207 A a

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,06$), CV = 4,93.

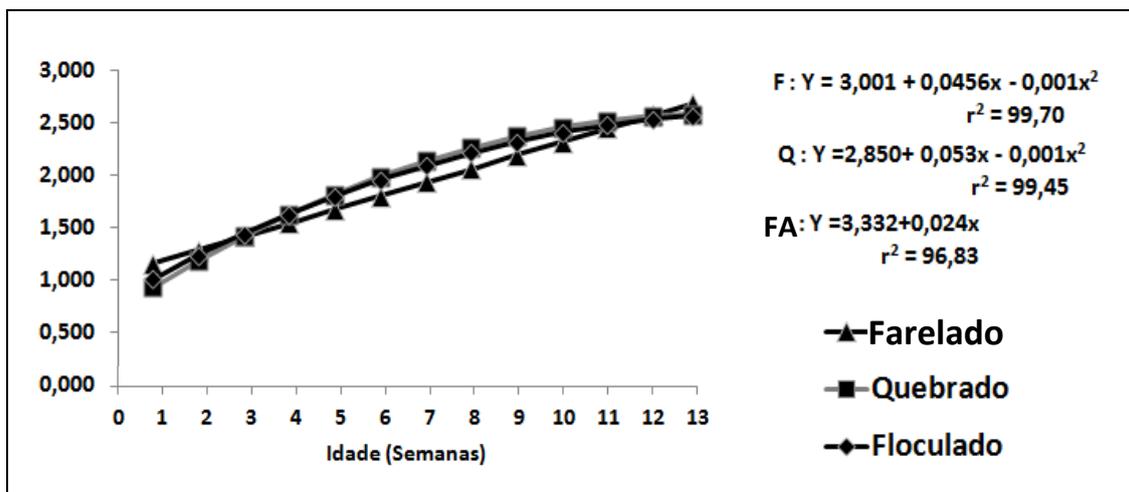


Figura 5 - Equações de regressão de cada grupo nas diferentes idades avaliadas para o consumo de concentrado de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho (F = Floculado, Q = Quebrado e FA = Farelado)

Owens et al., (1997) estudando animais em confinamento na fase de terminação observaram queda no consumo devido a floculação, justificada pelo excesso de produção de ácidos causada pela rápida fermentação e acidose subclínica, o que aumenta as variações diárias de consumo. O mesmo não foi observado no presente estudo, provavelmente devido à ingestão, mesmo que em pequena quantidade, da gramínea presente no bezerreiro. Segundo Davis e Drackley (1998) o consumo de volumoso por bezerros é muito baixo entre o nascimento e a sexta a oitava semanas de vida, devido à dificuldade de apreensão e digestão do mesmo.

Segundo Jasper e Weary (2002), o consumo de volumoso acompanha o consumo de concentrado, e ambos aumentam significativamente após a desmama.

O acesso dos animais à gramínea foi restrito a área que os bezerros eram presos, e essa não variava entre os animais, além disso, os bezerros foram alocados de forma aleatória no piquete experimental, independente do tratamento. Nussio et al. (2003) não relataram diferenças no consumo de feno entre os tratamentos ao avaliar o fornecimento de milho floculado e milho laminado a vapor para bezerras leiteiras.

Observou-se que nos primeiros dias de vida os animais do grupo milho floculado selecionavam e ingeriam o milho antes de todo o concentrado. No entanto com o passar dos dias as sobras tinham composição uniforme.

COMPORTAMENTO DO PH RUMINAL

Entre os tratamentos, o grupo milho quebrado apresentou o maior pH ruminal ($p < 0,06$) (Tabela 8 e Figura 6), que pode estar associado a sua granulometria mais grosseira, proporcionando maior mastigação e produção de saliva, além disso, o estímulo mecânico de maiores partículas na parede ruminal é capaz de retirar camadas de queratina que podem dificultar a absorção dos ácidos graxos voláteis (Quigley, 1997). Beharka et al. (1998) ao analisarem histologicamente fragmentos do rúmen, verificaram menores índices de queratinização para animais que receberam o concentrado com maior abrasividade. Lesmeister e Heinrichs (2004) estudando bezerros fistulados, também observaram maior pH durante todos os períodos para os animais que receberam milho inteiro, em comparação ao milho floculado.

Tabela 8 - Valores de pH do conteúdo ruminal nas diferentes idades avaliadas de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho

Grupos	Idade (Dias)						Média
	15	30	45	60	75	90	
Floculado	5,9	5,9	5,5	5,7	5,9	5,9	5,8 C
Quebrado	6,9	6,7	6,7	6,7	6,7	7,2	6,8 A
Farelado	6,4	6,4	6,0	6,7	6,4	7,0	6,5 B
Média	6,4 ab	6,4 ab	6,1 b	6,3 ab	6,3 ab	6,7 a	

Médias seguidas de letras minúsculas nas linhas e maiúsculas na coluna diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,06$), CV = 7,53.

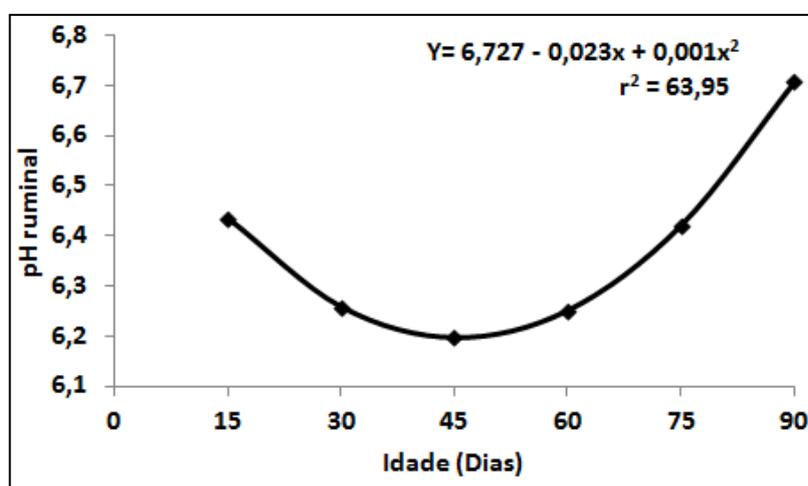


Figura 6 - Média geral do pH ruminal nas diferentes idades avaliadas de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho

No presente estudo, o milho floculado, apesar de possuir maior granulometria que o farelado, não foi capaz de estimular a mastigação e a conseqüente salivação para compensar a rápida e maior fermentação do amido e produção de ácidos, proporcionando o menor pH médio por grupo (5,8). Além disso, os animais desse grupo apresentaram pH abaixo de 6,0 em todos os momentos avaliados, o que é indicativo de acidose subclínica durante todo o experimento, que pode ser um risco a saúde dos animais. Theurer (1986) relatou queda no pH ruminal com o fornecimento de grãos com alta degradabilidade, como é o caso do milho floculado, para novilhas de corte e vacas leiteiras.

O grupo farelado apresentou valores de pH acima ou igual a 6,0 em todas as idades avaliadas e a média total foi intermediária entre os outros grupos. Provavelmente o grupo farelado apresentou pH superior ao grupo floculado devido ao menor consumo de concentrado (entre a 5ª e 8 semanas) e maior taxa de passagem, diminuindo a degradabilidade do amido disponível e conseqüentemente a produção de ácidos.

Ao longo da idade o pH apresentou os menores valores quando os bezerros estavam entre 45 e 60 dias de vida, quando o consumo de concentrado médio foi de 0,433 kg, provavelmente devido à reduzida área de absorção do epitélio ruminal e à absorção mais lenta dos ácidos nessa idade. O aumento do pH aos 90 dias, quando o consumo médio foi de 2,025 kg, pode estar relacionado a maior desenvolvimento do epitélio ruminal, tornando a absorção dos ácidos graxos voláteis mais eficiente. Além disso, a produção de saliva também aumenta em resposta ao aumento do consumo. Beharka et al. (1998) relataram aumento da capacidade tamponante do fluido ruminal com o aumento da idade e sugeriram ser devido ao aumento na produção de saliva.

Os resultados obtidos estão de acordo com Davis e Drackley (1998), que afirmam que as mudanças mais significativas de pH ocorrem quando os animais começam a ingerir quantidades maiores de dieta sólida, normalmente entre a quarta e sétima semanas de vida. E também com Anderson et al. (1987) e Beharka et al. (1998), que relataram queda no pH ruminal após a segunda semana de vida e aumento após a décima semana.

ÁCIDOS GRAXOS VOLÁTEIS

As concentrações de acetato, em mMol/100mL de líquido ruminal, diferiram entre os tratamentos, sendo observada a maior média geral no grupo milho quebrado ($p < 0,06$) (Tabela 9 e Figura 7).

Tabela 9 - Concentrações de acetato (mMol/100mL) nas diferentes idades avaliadas de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho

Grupo	Idade (Dias)						Média
	15	30	45	60	75	90	
Floculado	1,222	2,530	4,767	4,855	4,786	5,738	3,983 B
Quebrado	2,093	3,370	6,097	5,704	7,784	5,655	5,117 A
Farelado	1,440	2,472	2,463	2,583	4,661	3,612	2,872 B
Média	1,585 b	2,791 b	4,442 a	4,381 a	5,744 a	5,002 a	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,06$), CV = 37,8.

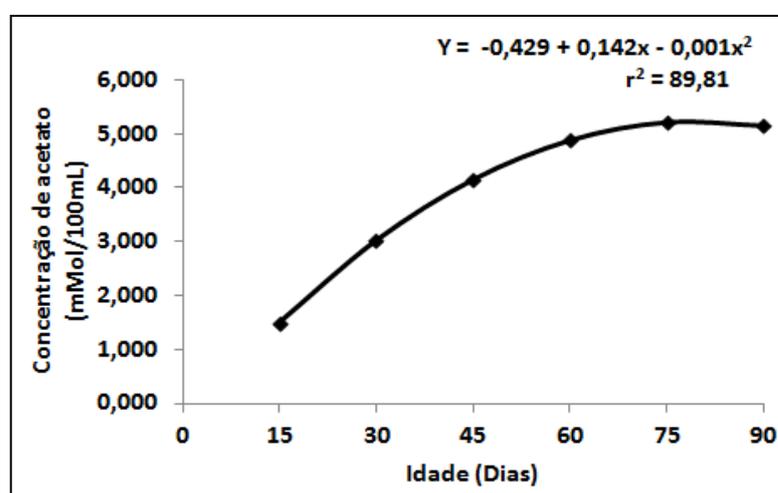


Figura 7 - Concentrações de acetato (mMol/100mL) nas diferentes idades avaliadas de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho

Como o grupo milho quebrado possuiu as maiores médias de pH ao longo das idades, o ambiente ruminal pode ter se tornado mais propício para o desenvolvimento e estabelecimento de bactérias celulolíticas, que são muito sensíveis a baixo pH ruminal.

Beharka et al. (1998) relataram maior número de bactérias celulolíticas no rúmen de bezerros alimentados com dieta com granulometria mais grosseira, sendo que esse grupo também apresentou maior pH quando comparado aos dos animais que ingeriram dieta farelada.

As concentrações de propionato, em mMol/100mL de líquido ruminal, diferiram entre os grupos ($p < 0,06$) apenas nas avaliações dos dias 15, 75 e 90 de vida, sendo que o grupo farelado apresentou as maiores concentrações (Tabela 8). Esses resultados não estão de acordo com Plascencia e Zinn, (1996); Joy et al. (1997); Crocker et al. (1998); Lesmeister e Heinrichs, (2004), que observaram que a utilização de milho floculado aumentou a concentração de propionato e valerato e diminuiu acetato e butirato, quando comparado com milho fino em vacas de leite. No entanto, segundo Beharka et al. (1998) as concentrações de AGV no conteúdo ruminal podem, ao mesmo tempo, significar maior produção ou menor absorção dos AGV. Desta forma, é plausível admitir que no grupo milho floculado tenha ocorrido maior absorção uma vez que este grupo apresentou em todos os momentos avaliados os menores valores de pH o que favorece a absorção de AGV. Já no grupo milho grosso os menores valores de propionato estão relacionados também, provavelmente, a maior absorção uma vez que este grupo apresentou o maior peso de ruminoretículo aos 90 dias de idade ($p < 0,06$) (Tabela 10).

Tabela 10 - Concentrações de propionato (mMol/100mL) nas diferentes idades avaliadas de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho

Grupo	Idade (Dias)					
	15	30	45	60	75	90
Floculado	0,309 c B	0,784 bc A	1,629 ab A	1,602 ab A	1,719 ab B	2,357 a B
Quebrado	0,251 c B	0,788 bc A	1,987 a A	1,639 ab A	1,702 ab B	1,770 a B
Farelado	1,159 d A	1,307 d A	1,904 cd A	2,574 bc A	4,197 ab A	4,604 a A

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,06$), CV = 27,9.

As concentrações de butirato, em mMol/100mL de líquido ruminal foram maiores para o grupo farelado aos 75 dias de idade ($p < 0,06$) e aos 90 dias de idade quando comparado ao grupo floculado ($p < 0,06$) (Tabela 11). Lesmeister e Heinrichs (2004) não encontraram diferenças nas concentrações de butirato entre os grupos milho floculado, milho moído fino e milho inteiro. Coverdale et al. (2004) encontraram maiores concentrações de butirato no

rúmen de bezerros alimentados com dieta com granulometria mais grosseira do que nos animais recebendo dieta farelada. Os resultados estão de acordo com a hipótese de menores taxas de absorção devido ao menor desenvolvimento ruminal para os animais do grupo farelado aos 75 e 90 dias de idade.

Tabela 11 - Concentrações de butirato (mMol/100mL) nas diferentes idades avaliadas de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho

Grupo	Idade (Dias)					
	15	30	45	60	75	90
Floculado	0,094 b A	0,244 ab A	0,435 a A	0,308 ab A	0,275 ab B	0,267 ab B
Quebrado	0,065 b A	0,207 ab A	0,49 a A	0,393 a A	0,287 ab B	0,363a AB
Farelado	0,213 c A	0,185 c A	0,357 bc A	0,574 ab A	0,773 a A	0,602 ab A

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,06$), CV = 44,8.

Entre as idades, todos os ácidos graxos voláteis e os ácidos graxos voláteis totais se comportaram da mesma forma em todos os grupos (Tabela 12, Figura 8). Sendo que a concentração de AGV aumentou de acordo com a idade, devido ao aumento de consumo de concentrado e maior disponibilidade de substrato para as bactérias. Anderson et al. (1978) e Nussio et al. (2003) também observaram aumento nas proporções molares dos ácidos graxos voláteis com a idade no rúmen de bezerros em desenvolvimento.

Tabela 12 - Médias das concentrações molares (mMol/100mL) dos ácidos graxos voláteis totais do conteúdo ruminal nas diferentes idades avaliadas de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho

Idade (dias)	Grupos			Média
	Floculado	Quebrado	Farelado	
15	1,625	2,408	2,812	2,282 B
30	3,558	4,365	3,963	3,962 B
45	6,832	8,574	4,724	6,710 A
60	6,765	7,735	5,730	6,744 A
75	6,780	9,772	9,630	8,727 A
90	8,363	7,788	8,818	8,321 A
Média	5,576	6,774	6,003	

Médias seguidas de letras distintas diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,06$), CV = 4,12.

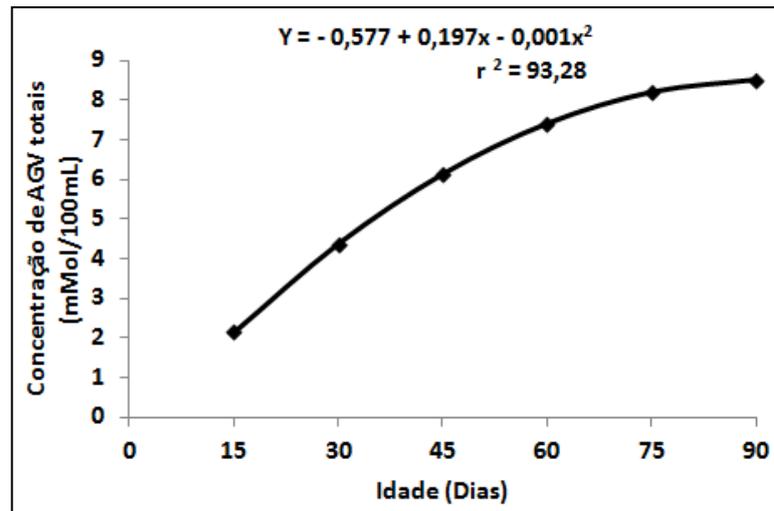


Figura 8- Concentrações molares dos ácidos graxos voláteis totais (mMol/100mL) nas diferentes idades avaliadas de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho

O grupo milho quebrado apresentou a maior proporção de acetato, seguido pelo grupo floculado e farelado respectivamente ($p < 0,06$) (Tabela 13). As proporções de propionato foram semelhantes entre os grupos apenas com 30 e 45 dias de vida ($p > 0,06$), sendo que nas outras idades foi sempre superior para o grupo farelado ($p < 0,06$). As proporções médias de butirato foram superiores para o grupo farelado ($p < 0,06$). As proporções médias de acetato e propionato de todos os grupos aumentaram com a idade. As proporções de butirato não apresentaram variação com a idade ($p > 0,06$).

Tabela 13 - Porcentagens molares de acetato, propionato e butirato, do conteúdo ruminal nas diferentes idades avaliadas de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho

Idade (dias)	%	Grupos			Médias
		Floculado	Quebrado	Farelado	
15	Acetato	71,32	85,10	52,57	70,97 A
	Propionato	19,64 b C	11,88 b C	39,95 a C	23,82
	Butirato	5,13	3,02	7,48	5,21
30	Acetato	72,72	78,26	58,14	69,71 AB
	Propionato	21,06 a BC	17,45 a BC	36,37 a C	24,96
	Butirato	6,22	4,28	5,48	5,32
45	Acetato	69,44	71,78	53,15	64,79 BC
	Propionato	24,11 a AB	22,37 a A	39,11a BC	28,53
	Butirato	6,43	5,84	7,74	6,67
60	Acetato	71,13	73,99	45,93	63,68 C
	Propionato	24,08 b AB	20,99 b AB	43,20 a AB	29,42
	Butirato	4,79	5,00	10,88	6,89
75	Acetato	70,38	78,33	48,53	65,75 ABC
	Propionato	24,76 b AB	18,66 b AB	43,62 a A	29,01
	Butirato	4,86	3,11	7,86	5,28
90	Acetato	68,61	72,41	41,94	60,98 C
	Propionato	28,10 b A	22,96 b A	51,30 a A	34,12
	Butirato	3,20	4,64	6,79	4,98
Médias	Acetato	71,25 b	76,64 a	50,04 c	
	Butirato	5,16 b	4,32 b	7,77 a	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha, e maiúsculas na coluna, diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,06$)

NITROGÊNIO AMONIACAL

Os valores de nitrogênio amoniacal não diferiram entre as idades avaliadas e foram maiores para os tratamentos milho quebrado e farelado ($p < 0,06$) (Tabela 14).

Tabela 14 - Concentração (mg/100mL) de nitrogênio amoniacal do conteúdo ruminal nas diferentes idades avaliadas de bezerras aleitadas até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho

Grupos	Idade (Dias)						Média
	15	30	45	60	75	90	
Floculado	2,590	5,153	2,935	2,397	1,267	5,084	3,238 B
Quebrado	11,077	11,436	12,193	9,887	7,419	8,608	10,103 A
Farelado	8,777	14,729	9,562	12,689	9,397	11,188	11,057 A
Média	7,481	10,439	8,229	8,325	6,028	8,293	

Médias seguidas de letras distintas diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,06$), CV = 36,9.

Aldrich et al. (1993) demonstraram que há tendência de queda no nitrogênio amoniacal do rúmen a medida que a degradabilidade do amido aumenta. Theurer et al. (1999) relataram que a floculação resultou em aumento na degradação ruminal do amido de 49% em relação ao milho quebrado e Passini et al. (2004) encontraram aumento da degradabilidade efetiva do amido de 32,47% com a floculação em relação ao milho moído fino e 62,51% em relação ao milho quebrado. Portanto, a menor concentração de nitrogênio amoniacal no grupo milho floculado pode estar relacionada a maior utilização desse pela microbiota ruminal, devido a maior degradabilidade do milho floculado com maior disponibilidade de energia. Além disso, valores muito baixos de pH, que foram observados no grupo floculado, tendem a reduzir a atividade proteolítica e a capacidade das bactérias de desaminar aos aminoácidos, reduzindo a produção ruminal de nitrogênio amoniacal (Lana et al., 1998). Segundo Dias (1999) a otimização do crescimento microbiano e da digestão da matéria orgânica no rúmen ocorre quando as concentrações de nitrogênio amoniacal atingem 3,3 e 8,0 mg/dL, respectivamente. Já Preston (1987) afirma que 5 mg/dL parece ser baixo para otimizar a taxa de degradação de substratos fibrosos. Portanto o grupo floculado apresentou concentrações mínimas ou inferiores ao ideal durante todo o período analisado. Porém deve-se ressaltar que os dados das análises do líquido ruminal representam situações pontuais no dia e no experimento, não representando de forma adequada a dinâmica ruminal.

Anderson et al. (1978) e Beharka et al. (1998) demonstraram que há queda no nitrogênio amoniacal do rúmen com o aumento da idade do bezerro, principalmente após a desmama. Segundo os autores isso ocorre devido ao aumento da população microbiana e desenvolvimento do rúmen aumentando a capacidade absorptiva do epitélio, o que não foi confirmado pelo presente estudo, já que não foi observado nenhum padrão de comportamento para a concentração do nitrogênio amoniacal com o avançar da idade.

CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE GLICOSE

A concentração plasmática média de glicose foi maior para o grupo milho floculado, quando comparado ao grupo farelado ($p < 0,06$) (Tabela 15), não sendo observada diferença na concentração de glicose entre os grupos milho floculado e milho quebrado e milho quebrado e farelado ($p > 0,06$). Esse resultado reforça a hipótese de maior absorção de propionato no grupo milho floculado devido ao menor pH ruminal, o que causa dissociação dos ácidos graxos voláteis e absorção mais rápida dos mesmos, sendo convertidos em glicose pela gliconeogênese do fígado mais rapidamente que nos outros grupos.

Os animais apresentaram a menor concentração de glicose aos 15 e 60 dias de idade e a maior aos 90 dias ($p < 0,06$). Nas idades de 30, 45 e 75 dias a concentração de glicose foi semelhante aos outros períodos (Figura 9).

Tabela 15 - Concentração plasmática de glicose (mg/dL) de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho

Grupos	Idade (dias)						Média
	15	30	45	60	75	90	
Floculado	92,0	125,3	85,7	114,0	98,4	120,4	106,0 A
Quebrado	75,0	79,2	99,5	90,0	80,8	105,8	88,4 AB
Farelado	64,4	51,8	59,2	70,3	76,5	85,0	67,9 B
Média	77,1 b	85,5 ab	81,5 ab	91,4 b	85,2 ab	103,7 a	

Médias seguidas de letras distintas, entre as linhas ou entre as colunas, diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,06$), CV = 28,4.

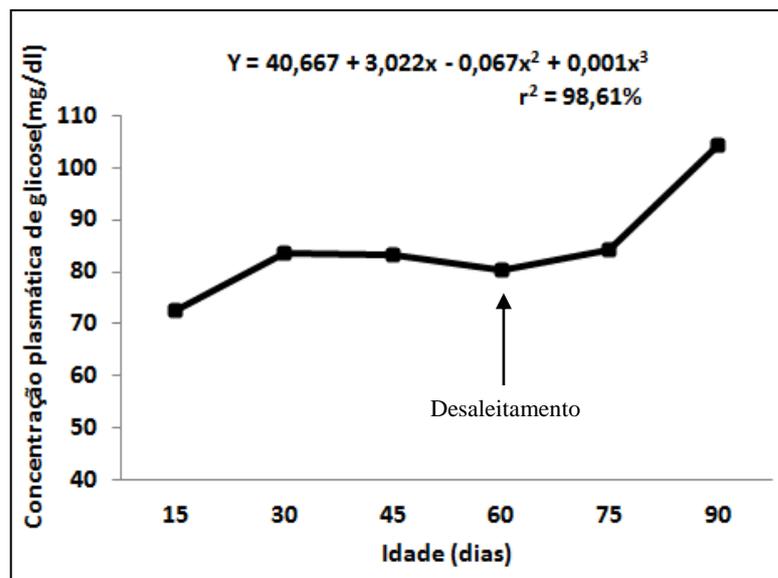


Figura 9 - Concentração plasmática de glicose (mg/dL) nas diferentes idades avaliadas de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho

As concentrações plasmáticas médias de glicose ao longo do tempo são opostas as relatadas por outros autores. Quigley et al. (1991), relataram queda nas concentrações de glicose a medida que os animais desenvolviam. No início da vida os bezerros apresentavam concentrações maiores (114,5 mg/dL) e atingiram a menor concentração (76 mg/dL) entre as semanas nove a 11 do estudo, as coletas de sangue foram realizadas pela manhã, duas horas após a alimentação. Coimbra et al. (2002) analisando bezerros alimentados com concentrado a base de milho e desaleitados aos 30 dias de idade, observaram concentração inicial de 89,2 mg/dL aos 10 dias de idade e 47,9 mg/dl quando os animais atingiram aproximadamente 80 dias de vida. Bernardes et al. (2007) relataram concentração média de glicose de 68,0 mg/dL aos 45 dias de vida e 55,6 mg/dL aos 90 dias de idade, na coleta antes da alimentação, de bezerros holandeses alimentados com feno e caroço de algodão e concentrado com fonte energética de milho.

Os resultados encontrados no presente estudo podem ser justificados pelo momento de coleta do sangue, realizado pela manhã antes do fornecimento do sucedâneo. Os bezerros passavam por um período de jejum, aproximadamente de 16 horas antes da coleta. De acordo com Nussio et al. (2003), o pico de glicose em bezerros em aleitamento ocorre duas horas após a alimentação, diminuindo a concentrações anteriores, 12 horas após a alimentação. Coelho (1999) encontrou concentrações médias de glicose plasmática de 78,2 mg/dL aos 13

dias de idade e de 85,7 mg/dL aos 73 dias de idade quando a coleta foi realizada antes da alimentação. O comportamento ao longo da idade foi diferente nas coletas realizadas três, seis e nove horas após a alimentação, com redução da glicemia, o que sustenta a suposição que o jejum foi responsável pelo aumento das concentrações de glicose com a idade.

O aumento da concentração de glicose com a idade, principalmente após o desaleitamento, pode ser justificado pelo aumento do consumo de concentrado e ingestão durante todo o dia, não propiciando tempo de jejum para os animais.

GANHO DE PESO

O peso médio dos bezerros foi maior para os grupos floculado e quebrado quando comparado ao farelado ($p < 0,06$) (Tabela 16, Figura 10). Os animais de todos os grupos não ganharam peso no primeiro mês ($p > 0,06$), provavelmente devido ao baixo consumo consequente dos desafios nessa idade relacionados ao clima, já que nessa idade o bezerro ainda não consegue controlar sua temperatura corporal e à ocorrência de doenças, principalmente a diarreia, além de volume restrito de dieta líquida. A partir da quinta semana o peso aumentou com o aumento do consumo e redução dos desafios uma vez que a medida que o animal cresce, ele tem maior capacidade termogênica reduzindo os gastos energéticos na manutenção da temperatura corporal.

Apesar do grupo farelado ter igualado o consumo a partir da nona semana de vida, os animais não apresentaram ganho compensatório suficiente para atingir o mesmo peso que os dos outros grupos. Bateman et al. (2008) também relataram menor ganho de peso de animais que receberam dieta farelada quando comparados a animais que receberam dietas com maior granulometria, consequente ao menor consumo da primeira, apesar da eficiência alimentar ter sido semelhante. Franklin et al. (2003), relataram que bezerros recebendo concentrado texturizado apresentaram maior consumo de concentrado e ganharam mais peso que os animais alimentados com dieta farelada ou peletizada.

Nenhum grupo foi capaz de dobrar o peso ao nascimento à desmama, meta que deve ser alcançada na criação de bezerros segundo Soberon et. al (2012), consequência do baixo desempenho dos animais nos primeiros meses de vida. Como o consumo de concentrado foi muito baixo, o desempenho está provavelmente relacionado ao baixo aporte energético concedido pelos quatro litros de sucedâneo fornecidos, associados à alta demanda energética

dos bezerros nesta fase, para vencer doenças, controlar a temperatura corporal e se desenvolver.

Tabela 16 - Peso vivo (kg) nas diferentes idades avaliadas de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho

Idade (Semanas)	Grupos			Média
	Floculado	Quebrado	Farelado	
1	38,10	38,28	38,98	38,45 J
2	38,50	37,54	38,58	38,20 J
3	39,30	38,14	38,73	38,72 J
4	41,03	40,10	40,04	40,39 J
5	43,60	43,04	41,83	42,82 I
6	45,61	46,29	43,94	45,28 H
7	49,24	50,14	47,22	48,86 G
8	54,09	55,32	52,10	53,83 F
9	59,16	58,71	55,25	57,70 E
10	64,57	65,78	60,94	63,76 D
11	69,55	70,55	66,64	68,91 C
12	73,89	75,98	72,09	73,98 B
13	78,27	81,68	75,34	78,43 A
Média	53,86 a	54,30 a	51,92 b	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas nas linhas diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,06$) e maiúsculas nas colunas diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,06$), CV=10,5.

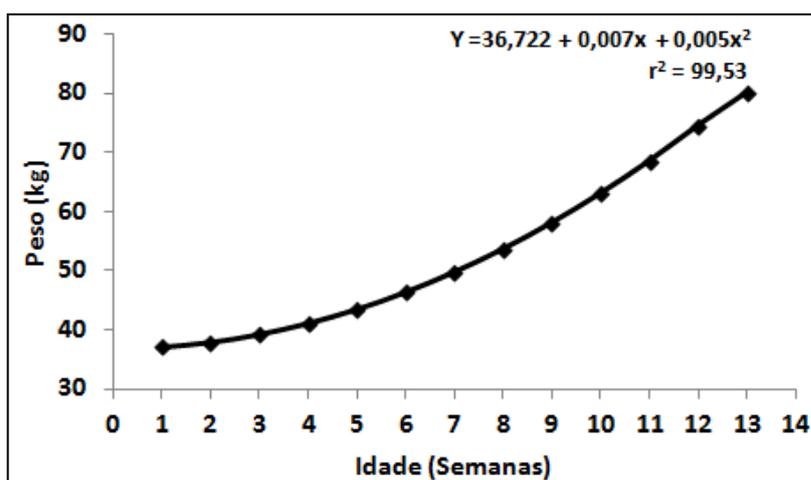


Figura 10 - Ganho de peso (kg) nas diferentes idades avaliadas de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho

Os resultados relatados aqui reforçam pesquisas atuais (Khan et al., 2007) que demonstram que a quantidade de dieta líquida inicial deve ser superior ao utilizado (quatro litros) para que forneça os nutrientes adequados aos bezerros de forma que o desenvolvimento não seja prejudicado por doenças e intempéries. O que pode ser extrapolado para as fazendas nacionais, as quais, em sua maioria, possuem instalações semelhantes à utilizada no experimento e fornecem a mesma quantidade de dieta líquida, que mesmo que na sua maioria seja composta de leite, provavelmente não atende as necessidades dos animais em meses como outubro a janeiro, com grande variação de temperatura diária e grande volume de chuva e barro. Segundo Drackley (2008) a energia metabolizável (EM) necessária para manutenção em condições termoneutras é de 1,75 Mcal por dia para um bezerro de 45 kg. Seguindo o NRC (2001), para bezerros com 38,45kg (peso a primeira semana do experimento) a EM para manutenção é 1,54 Mcal por dia. A cada litro de sucedâneo fornecido foram diluídos 250g de pó, o qual possui 94,6%MS. Portanto ao fornecer quatro litros diários aos bezerros, esses ingeriam 0,474kg MS. Como em um kg de MS do sucedâneo utilizado há 3,6 Mcal, os bezerros recebiam 1,7 Mcal por dia, ou seja, 91% da energia ingerida foi consumida apenas para a manutenção em condições termoneutras, que não foram a realidade do experimento. Portanto, durante o primeiro mês a demanda energética dos animais, provavelmente estava além do fornecido.

Coverdale et al. (2004) e Lesmeister e Heinrichs (2004) também não conseguiram dobrar o peso ao nascimento dos bezerros à desmama, utilizando sucedâneo do leite no volume de 10% do peso vivo (quatro litros), com desmama com 28 e 51 dias de idade, respectivamente, e concentrados semelhantes aos utilizados no experimento. O que mostra o grande desafio para se atingir essa meta.

PESO DOS ÓRGÃOS

Com exceção do ruminorretículo, todos os pesos dos pré-estômagos e órgãos foram semelhantes entre os grupos ($p>0,06$) e diferentes entre as idades ($p<0,06$) (Tabela 17).

O peso do ruminorretículo vazio diferiu entre os tratamentos aos 90 dias de idade, sendo que o grupo milho quebrado teve o maior peso ($p<0,06$). Além de ter apresentado maior comprimento de papilas, quando comparado com o grupo milho floculado, o grupo milho grosso pode ter apresentado maior peso devido ao estímulo mecânico provocando

maior desenvolvimento da musculatura ruminal, além de ter tido numericamente maior consumo. Suárez et al. (2007) relataram maior peso do rúmen de bezerros consumindo dietas com mesma granulometria (farelada), porém com maior proporção de FDN ou pectina quando comparados a animais consumindo dietas ricas em amido. Chaves et al. (2010) não encontraram diferença do peso do ruminorretículo entre bezerros holandeses que receberam concentrado extrusado ou farelado. Nussio et al. (2003); Beharka et al. (1998), Greenwood et al. (1997) não relataram efeito no peso do ruminorretículo com bezerros alimentados de dietas com diferentes processamentos.

Os pesos do abomaso e omaso foram semelhantes entre os grupos ($p > 0,06$). Beharka et al. (1998) relataram maior peso do omaso para o grupo que recebeu a dieta farelada, segundo o autor pode ter sido devido à maior taxa de passagem e consequente aumento no fluxo de partículas do rúmen para o omaso, o que não foi observado nesse experimento.

Entre as idades, todos os grupos apresentaram aumento crescente do peso do órgão com o aumento da idade ($p < 0,06$), seguindo o crescimento corporal, e a relação abomaso/ruminorretículo apresentou queda com a idade ($p < 0,06$).

Tabela 17- Peso do ruminorretículo (kg), omaso e abomaso vazios e a relação abomaso/ruminorretículo de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho

Idade	Ruminorretículo			Omaso	Abomaso	Ab/Rr (%)
	Floculado	Quebrado	Farelado			
30	0,350 a B	0,370 a C	0,500 a C	0,085 C	0,272 C	71,9 A
60	0,850 a B	1,210 a B	1,230 a B	0,207 B	0,335 B	33,1 B
90	2,360 b A	3,040 a A	2,220 b A	0,486 A	0,488 A	20,0 C

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,06$), CV= 31,1 Ruminorretículo; CV = 19,7 Abomaso; CV= 42,6 Omaso.

A proporção entre os pré-estômagos foi semelhante a relatada por Church (1988) e Coelho (1999) (Tabela 18). Church (1988) apresentou dados de bezerros criados livremente com a mãe, recebendo diferentes proporções de concentrado e volumoso e com desmama depois de seis semanas de idade. Coelho (1999) trabalhou com bezerros desaleitados aos 30 dias de idade e alimentados com concentrado e com feno ou apenas com concentrado (média dos grupos). Todos esses dados mostram que mesmo com dietas diferentes os animais

apresentaram proporções entre os órgãos semelhantes, o que corrobora com Baldwin et al. (2004) que afirmaram que ainda não está claro se a dieta, por si só, é capaz de afetar a capacidade absorptiva e digestiva do sistema gastrointestinal ou se esse desenvolvimento ocorre devido apenas ao desenvolvimento corporal do animal.

Tabela 18 - Proporção entre os pré-estômagos de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho e dados da literatura

Idade (Dias)	Autores	Proporção entre os pré-estômagos (%)		
		Retículo-rúmen	Omaso	Abomaso
30	Presente estudo	53,25	11,13	35,62
	Church (1988)	54,1	11,48	34,43
	Coelho (1999)	42,03	18,84	39,13
60	Presente estudo	66,92	12,63	20,44
	Church (1988)	65,25	13,56	21,19
	Coelho (1999)	68,89	12,78	18,33
90	Presente estudo	72,28	13,83	13,89
	Church (1988)	66,09	14,94	18,97
	Coelho (1999)	71,7	13,5	14,79

Os pesos do fígado, baço, pâncreas e gordura perirenal foram semelhantes entre os diferentes grupos ($p > 0,06$) (Tabela 19), diferindo apenas entre as idades ($p < 0,06$) de forma lógica, acompanhando o crescimento corporal.

Tabela 19 - Média dos pesos (kg) do fígado, baço, pâncreas e gordura perirenal de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado

Idade	Fígado	Baço	Pâncreas	Gordura Perirenal
30	0,941 B	0,103 B	0,037 C	0,067 B
60	1,114 B	0,171 A	0,061 B	0,086 B
90	1,646 A	0,204 A	0,136 A	0,141 A

Médias seguidas de letras distintas diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,06$), CV = 21,0 fígado; CV = 34,5 baço; CV = 10,1 pâncreas, CV = 45,1 gordura perirenal.

ASPECTOS ANATOMO-HISTOLÓGICOS DO RÚMEN

A média das alturas das papilas ruminais foi maior para o grupo milho quebrado e farelado quando comparado ao grupo floculado ($p < 0,06$) (Tabela 20). O que está de acordo com a literatura, já que esses grupos apresentaram concentrações de butirato maiores que o grupo floculado e segundo Church (1988); Van Soest (1994) e Warner et al. (1956), esse ácido graxo volátil é o principal responsável pelo desenvolvimento papilar.

Lesmeister e Heinrichs (2004) relataram comprimento de papilas para o grupo milho floculado e grupo milho inteiro semelhantes (0,870 cm e 0,890 cm respectivamente), apesar do menor consumo do primeiro em animais com quatro semanas de vida. Comprimentos maiores aos encontrados nesse experimento, porém o consumo no experimento citado foi maior no primeiro mês, 164g/dia e 126g/dia para o grupo milho inteiro e floculado respectivamente.

Bittar et al. (2009) relataram valores semelhantes de altura das papilas para bezerros alimentados com concentrado peletizado ou farelado às 10 semanas de vida, 0,337 cm e 0,243 cm, respectivamente.

Tabela 20 - Altura média (cm) das papilas do saco ventral do rúmen de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho

Grupos	Idade (Dias)			Média
	30	60	90	
Floculado	0,207	0,273	0,387	0,289 B
Quebrado	0,295	0,339	0,483	0,372 A
Farelado	0,300	0,352	0,436	0,362 A
Média	0,267 b	0,321 b	0,435 a	

Médias seguidas de letras distintas diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,06$), CV = 23,3.

Entre as idades houve semelhança entre a altura das papilas dos animais de 30 e 60 dias de vida ($p > 0,06$), provavelmente devido ao baixo consumo de concentrado e desempenho no primeiro mês.

O epitélio do rúmen foi considerado normal para todos os grupos em todas as idades, provavelmente devido ao pequeno consumo de concentrado nos dois primeiros meses de vida e também pela granulometria dos concentrados do grupo floculado e grosso além também de algum consumo de volumoso pelos animais (Tabela 21). Não foram encontradas lesões do

tipo 3 - Desproporção entre as camadas com formação de vesículas e nem do tipo 4 - Desproporção entre as camadas com formação de vesículas, presença de infiltrado inflamatório polimorfonuclear e áreas de erosão.

Tabela 21 - Avaliações histológicas expressas em percentagem de ocorrências no saco ventral do rúmen de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho

Idade	Floculado		Quebrado		Farelado	
	Alterações % *					
	1	2	1	2	1	2
30	94,5	5,5	94,5	5,5	100,0	0,0
60	100,0	0,0	100,0	0,0	88,9	11,1
90	94,5	5,5	94,5	5,5	100,0	0,0

*1 - Epitélio normal, 2 - Desproporção entre as camadas.

Não houve efeito dos processamentos do milho sobre a camada de queratina classificada como 3-bastante espessa (Tabela 22). Os grupos milho floculado e milho quebrado apresentaram 11,1% de animais com a queratina moderadamente espessa, aos 60 e aos 30 dias respectivamente. O grupo milho farelado apresentou 11,1% de animais com a camada de queratina moderadamente espessa aos 60 dias e 5,5 % aos 30 dias. Não observou-se influência dos tratamentos no espessamento de queratina, provavelmente devido aos mesmos fatores relatados acima.

Tabela 22 - Avaliações histológicas expressas em percentagem das camadas de queratina das papilas do saco ventral do rúmen de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado com diferentes processamentos de milho

Idade	Floculado		Quebrado		Farelado	
	Alterações % *					
	1	2	1	2	1	2
30	100,0	0,0	88,9	11,1	94,5	5,5
60	88,9	11,1	100,0	0,0	88,9	11,1
90	100,0	0,0	100,0	0,0	100,0	0,0

*1 - Normal, 2 - Moderadamente espessa.

As figuras de 11 a 24 ilustram as diferenças do desenvolvimento do ruminorretículo ao longo da idade e algumas ocorrências encontradas durante o período experimental.

As figuras de 25 a 28 seguem para ilustrar a histologia do epitélio normal de bezerros de 30 e 60 dias e alterações pontuais em alguns cortes.

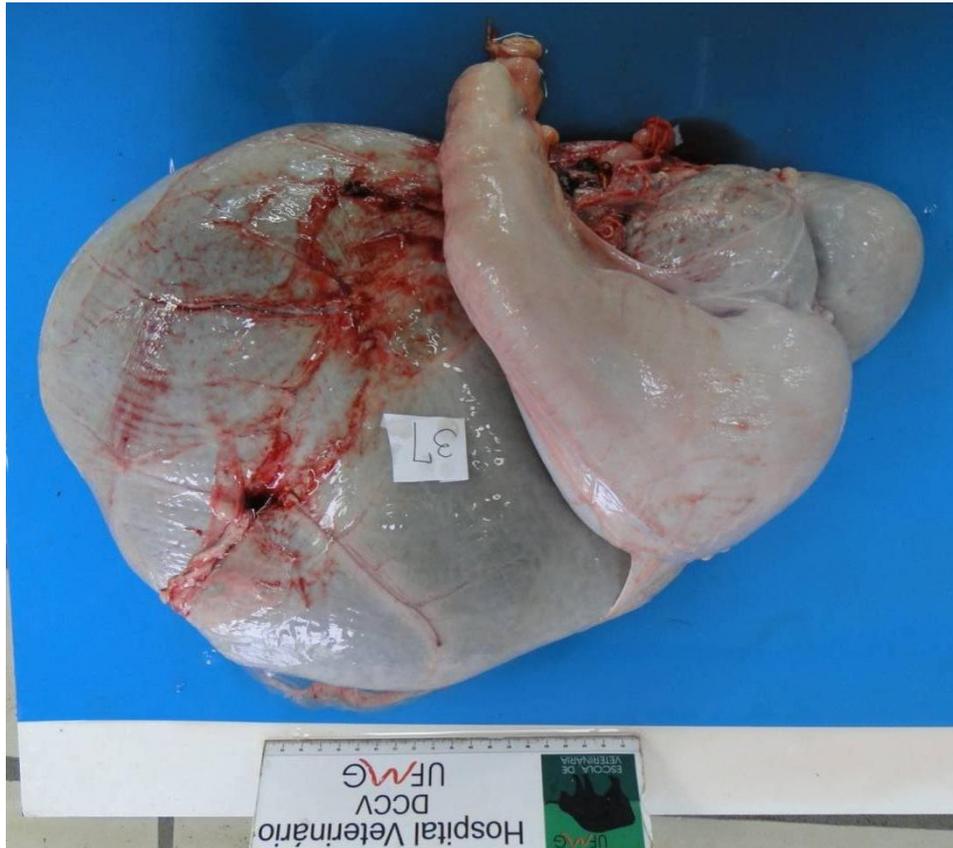


Figura 11- Ruminorretículo, omaso e abomaso de bezerro com 30 dias de vida do grupo milho quebrado



Figura 12 - Ruminorretículo, omaso e abomaso de bezerro com 60 dias de vida do grupo milho quebrado

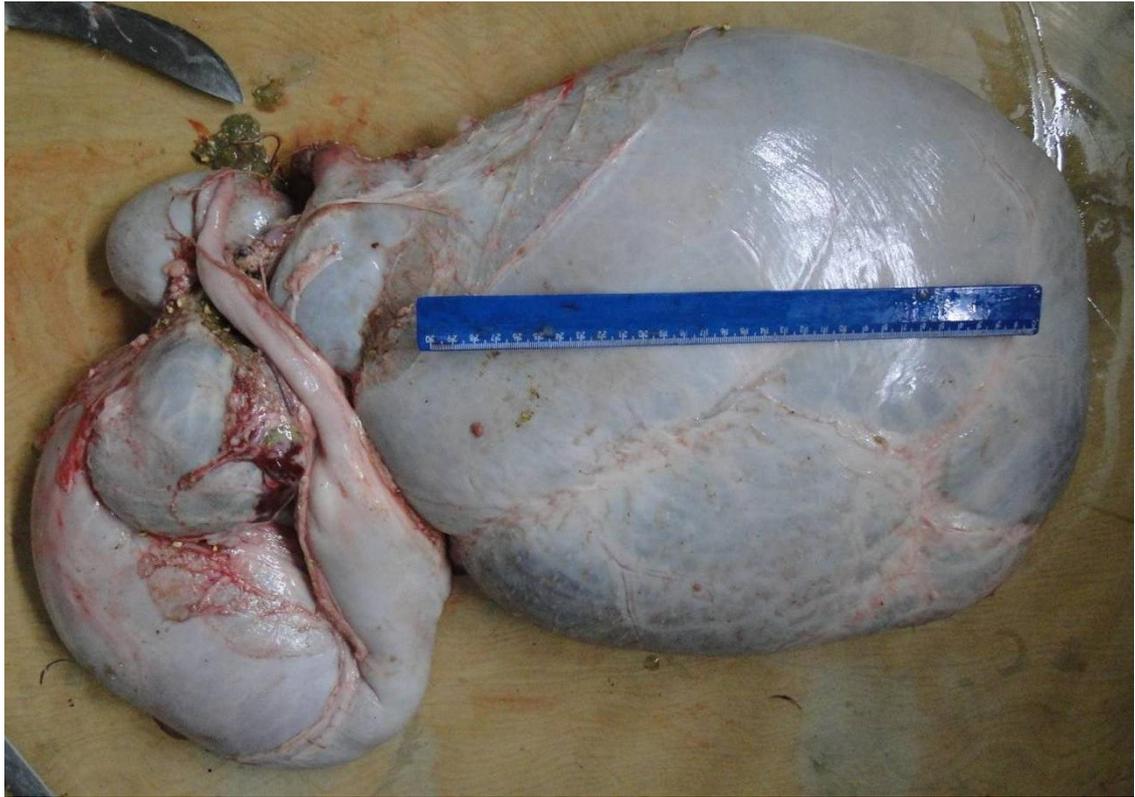


Figura 13 - Ruminorretículo, omaso e abomaso de bezerro com 90 dias de vida do grupo milho quebrado



Figura 14 - Ruminorretículo de bezerro com 30 dias de idade do grupo milho flocculado



Figura 15 - Ruminoretículo de bezerro com 60 dias de idade do grupo milho flocculado



Figura 16 - Ruminoretículo de bezerro com 90 dias de idade do grupo farelado

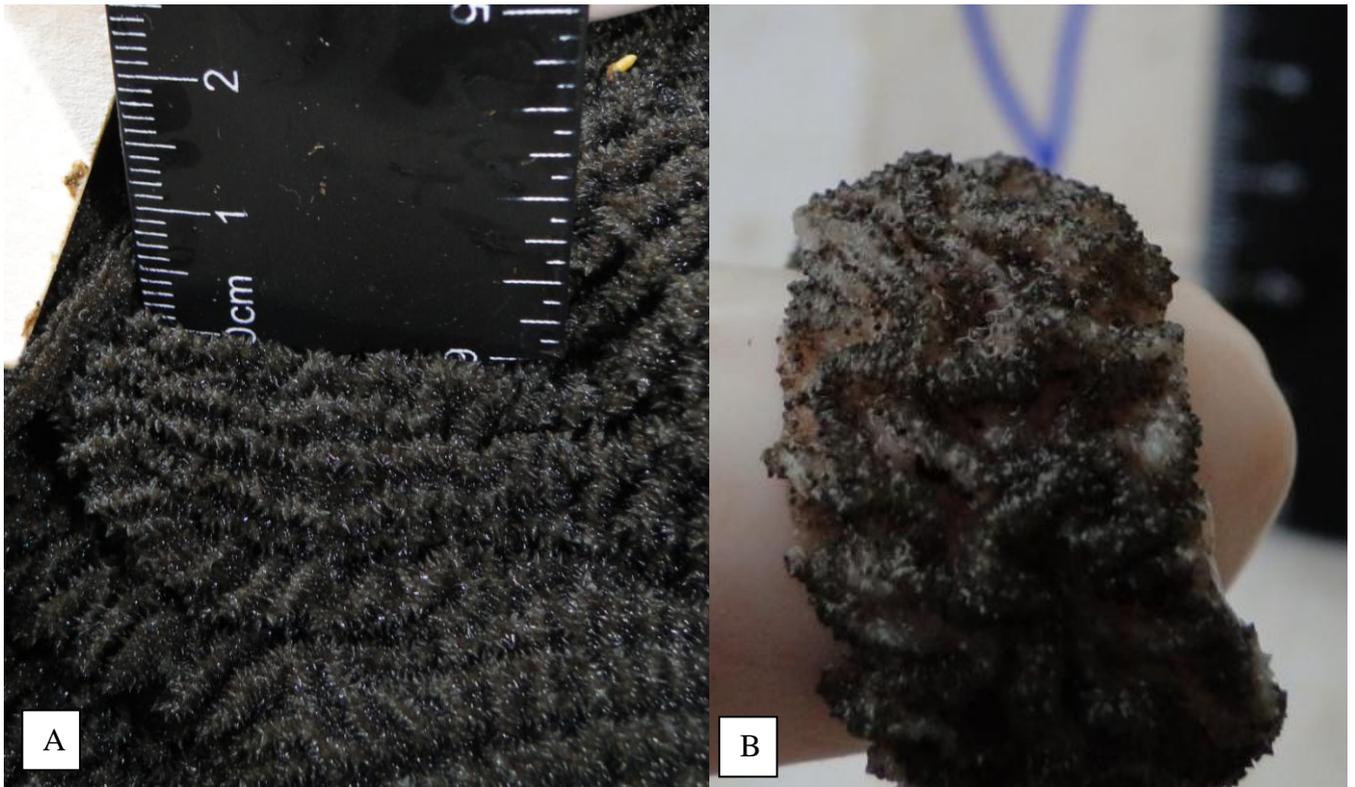


Figura 17 - Papilas do saco cranial (A) e ventral (B) de bezerro com 30 dias de vida do grupo milho floculado

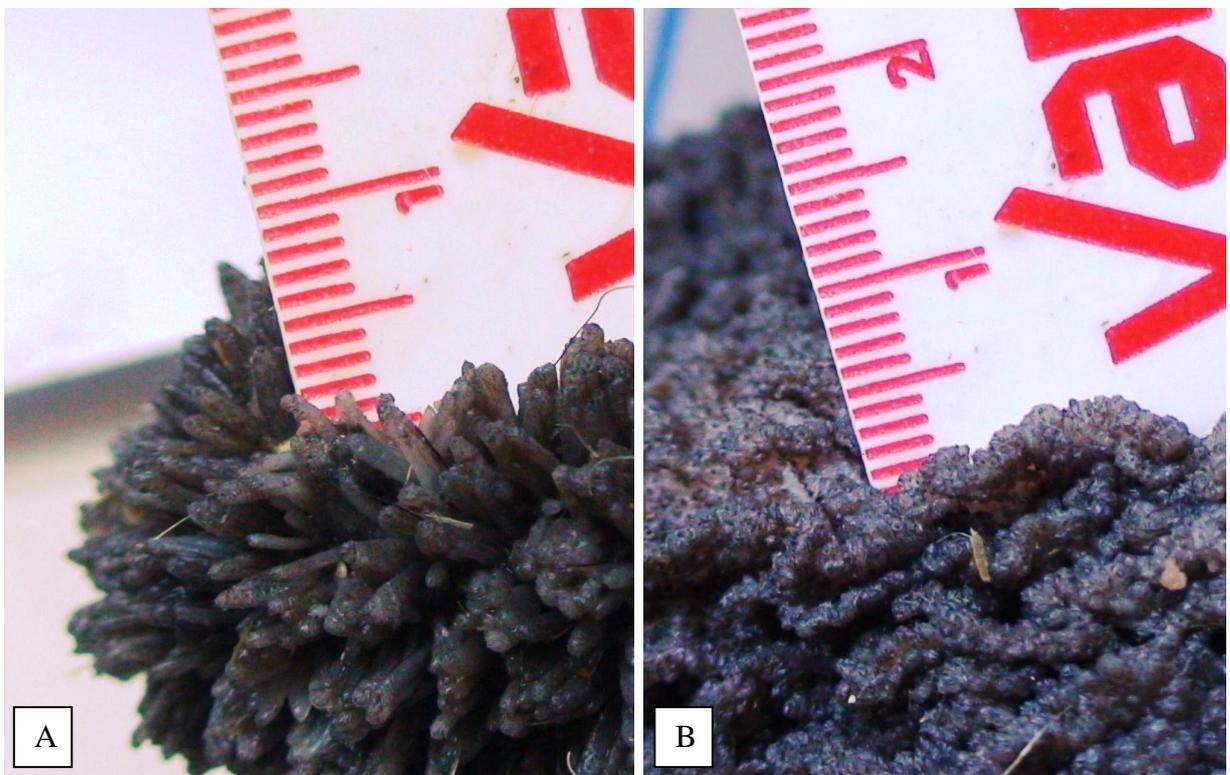


Figura 18 - Papilas do saco cranial (A) e ventral (B) de bezerro com 60 dias de vida do grupo milho grosso

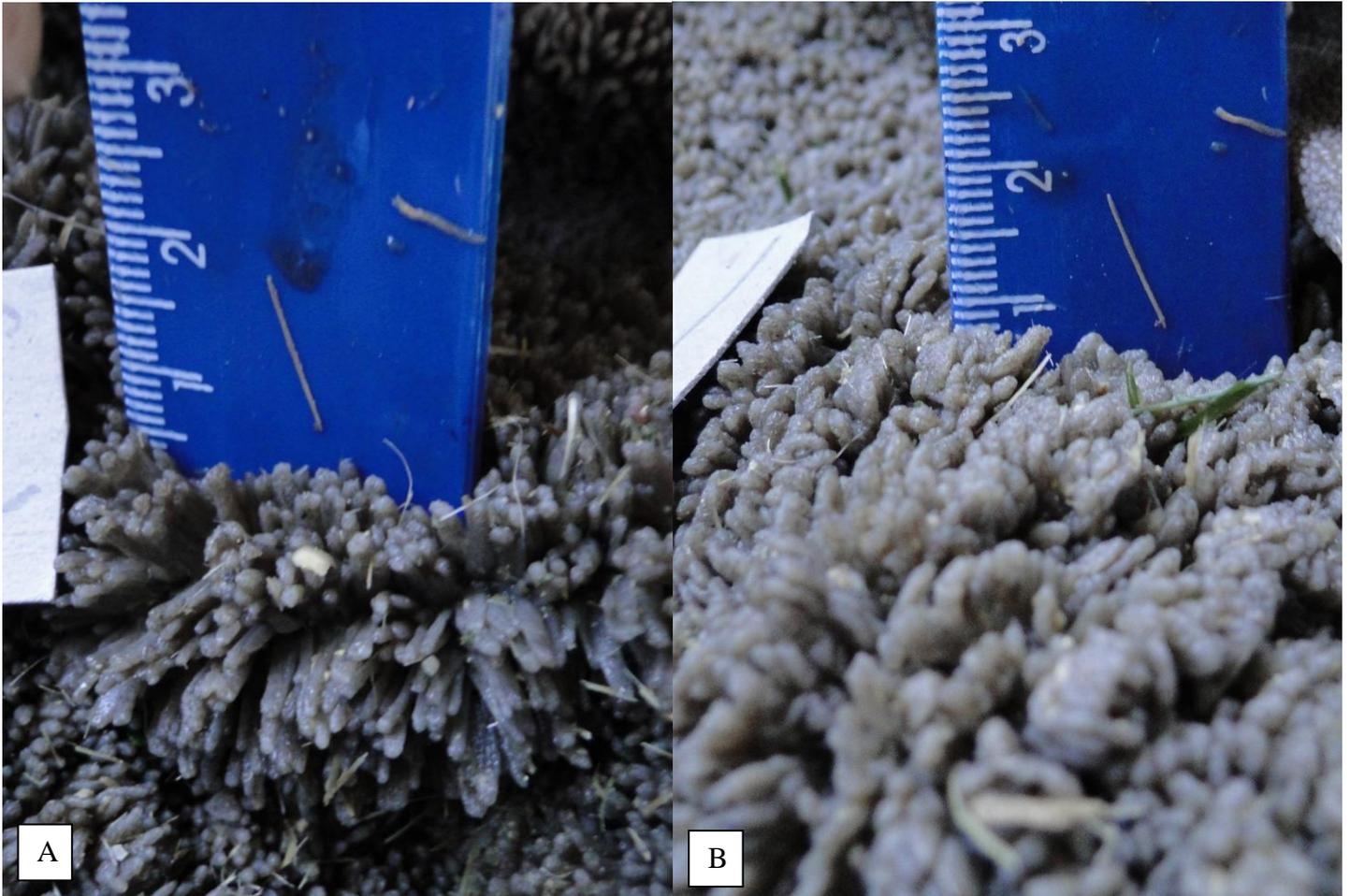


Figura 19 - Papilas do saco cranial (A) e ventral (B) de bezerro com 90 dias de vida do grupo milho grosso



Figura 20 - Goteira esofágica de bezerro com 90 dias de idade do grupo milho grosso

Três bezerros do grupo milho floculado com 90 dias de idade apresentaram pequenas áreas no rúmen com papilas com o ápice hiperêmico, tanto no saco ventral quanto no cranial, porém não foram encontradas alterações histológicas nesses animais, nem alterações clínicas (Figura 21).



Figura 21 - Papilas com o ápice hiperêmico do saco ventral de bezerro do grupo milho floculado com 90 dias de vida milho floculado

Dez animais (18,52%), três do grupo farelado de 30, 60 e 90 dias de vida, cinco do grupo floclado, um de 30 e quatro de 90 dias e dois do grupo quebrado, um de 30 e um de 60 dias de vida apresentaram tricobezoário nos pré-estômagos, que variavam muito de tamanho e forma. Sendo que desses, três estavam no abomaso, cinco no rúmen e dois no rúmen e no abomaso (Figura 24). Não foi possível relacionar esses achados a qualquer fato ocorrido durante a fase experimental e também não foi encontrado nenhum relato na literatura consultada.

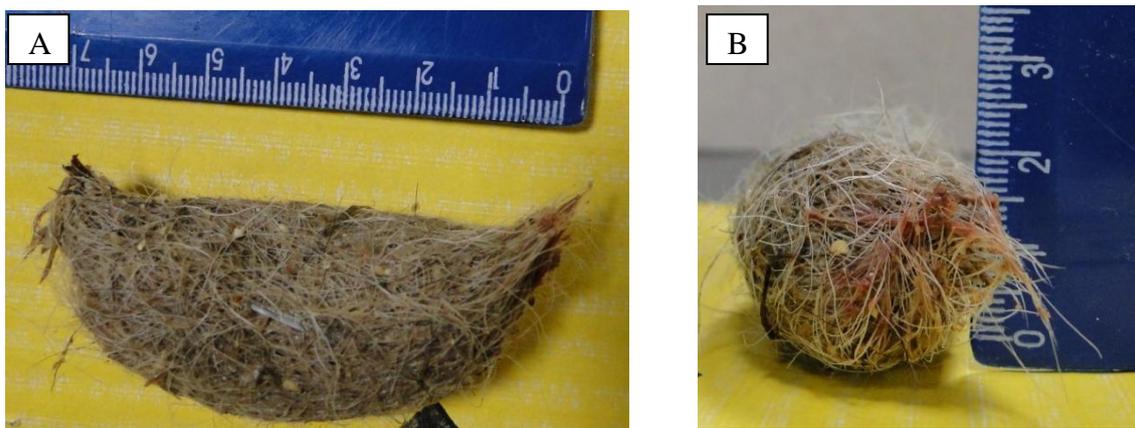


Figura 22 - Tricobezoário presente no abomaso de bezerro com 60 dias de idade do grupo farelado



Figura 23 - Tricobezoários no abomaso de bezerro de 30 dias de idade do grupo farelado

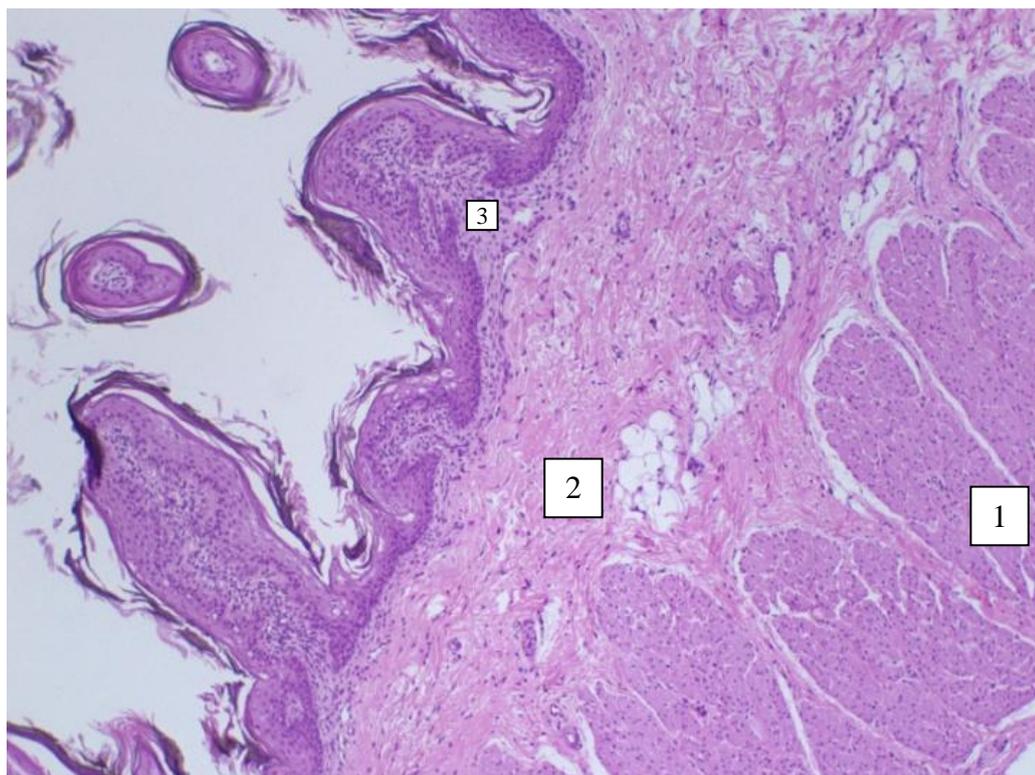


Figura 24 - Epitélio ruminal de bezerro com 30 dias de idade do grupo farelado. Observa-se a tunica muscular (1) seguida pelas submucosa (2), lâmina própria (3) e papilas. Hematoxilina e eosina (x10).

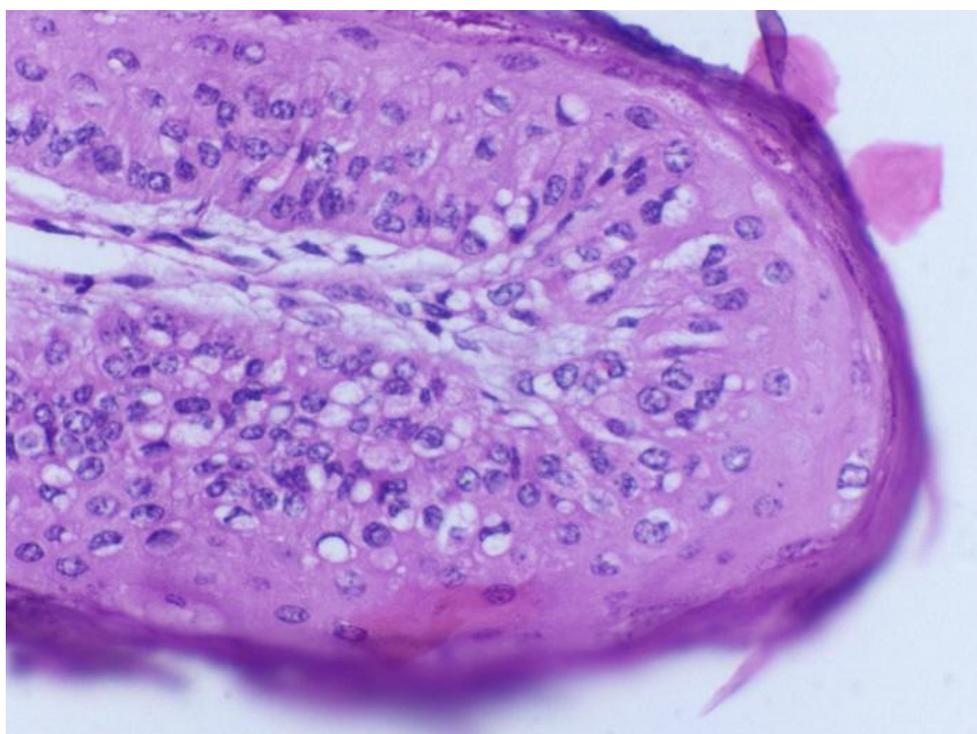


Figura 25 - Ápice da papila do rúmen de bezerro com 60 dias de idade do grupo farelado observa-se de dentro para fora: lâmina própria, camada basal, estratos espinho, granuloso e córneo. Hematoxilina eosina (x450).

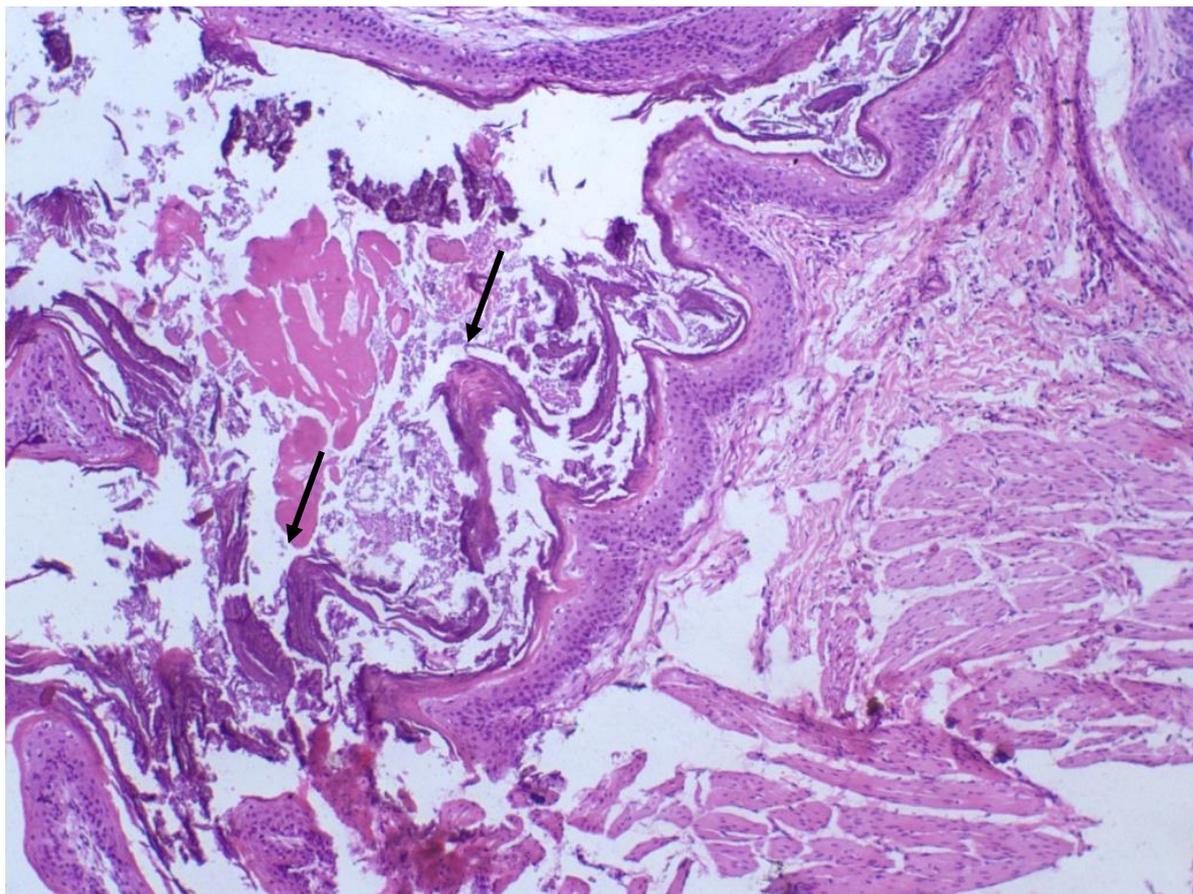


Figura 26 - Epitélio ruminal de bezerro com 90 dias de idade do grupo floclado com descamação da camada de queratina e acúmulo dos fragmentos da mesma (ocorrência pontual no corte). Hematoxilina e eosina (x10).

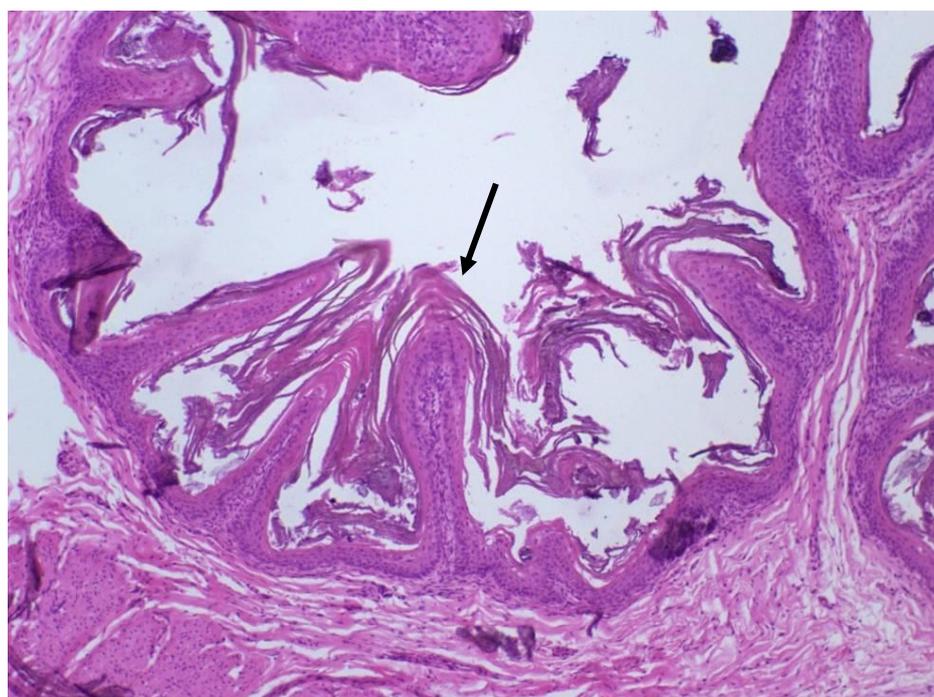


Figura 27 - Epitélio ruminal de bezerro com 30 dias de idade do grupo milho floclado com camada de queratina moderadamente espessa. Hematoxilina e eosina (x10).

CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES

De acordo com os resultados desse experimento, a utilização de 30% do milho do concentrado na forma grosseira e o restante na forma farelada foi capaz de manter bom ambiente ruminal pH médio 6,8, integridade do epitélio; glicemia e peso final semelhante aos do grupo floculado e superior ao farelado e maior tamanho de papilas que o grupo floculado e semelhante ao do farelado. Esse conjunto de dados aponta que o uso de 30% de milho quebrado pode ser utilizado e preparado na fazenda objetivando bom desempenho animal.

Os métodos de processamento do milho não interferiram com a saúde do rúmen.

APÊNDICE - 1

Tabela 23 - Média dos pesos (kg) do baço, gordura perirenal, fígado, pâncreas, ruminorretículo, abomaso e omaso de bezerros aleitados até 60 dias de idade e alimentados com concentrado

Grupos	Idade	Baço	Gord perir	Fígado	Pâncreas	R.retículo	Abomaso	Omaso
Floculado	30	0,098	0,085	0,952	0,038	0,351	0,267	0,084
	60	0,195	0,071	0,993	0,054	0,850	0,297	0,174
	90	0,181	0,115	1,604	0,081	2,362	0,455	0,473
Quebrado	30	0,128	0,064	0,973	0,334	0,369	0,268	0,069
	60	0,167	0,087	1,168	0,060	1,210	0,336	0,213
	90	0,226	0,130	1,663	0,231	3,040	0,500	0,519
Farelado	30	0,082	0,052	0,897	0,040	0,500	0,283	0,100
	60	0,152	0,101	1,181	0,070	1,235	0,373	0,234
	90	0,204	0,178	1,671	0,095	2,224	0,510	0,466

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFONSO, J. A. B.; MOTA, I. O. ; COSTA, N. A. ; MENDONÇA, C. L.; SOUZA, M. I. . Terapia e evolução clínica de bovinos com dilatação do ceco: 36 análise de 14 casos. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, Rio de Janeiro, v.28, 37 n.4, p.172-176. 2006.

ALDRICH, J. M.; MULLER, L. D.; VARGA, G. A.; GRIEL, L. C. Nonstructural carbohydrate and protein effects on rumen fermentation, nutrient flow, and performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. n. 76, p 1091–1105. 1993.

ALMEIDA JÚNIOR, G. A.; COSTA, C.; MONTEIRO, A.L.G. Desempenho, características de carcaça e resultado econômico de cordeiros criados em creep feeding com silagem de grãos úmidos de milho. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.33, n.4, p.1048-1059. 2004.

ANDERSON, K.L.; NAGARAJA, T.G.; MORRILL, J.L. Ruminant metabolic development in calves weaned conventionally or early. *Journal of Dairy Science*, n. 70, p.1000-1005. 1987.

AOAC. (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS). *Official methods of analysis*. 16.ed. Washington:AOAC, 1995.

BALDWIN, R. L.; MCLEOD, K. R.; KLOTZ, J. L.; HEITMANN, R. N. Rumen development, intestinal growth and hepatic metabolism in the pre- and postweaning ruminant *Journal of Dairy Science*, n. 87, p. E55-E65. 2004.

BALGADO A. R.; PIRES A. V.; MEYER P. M.; SANTOS F. A. P.; SIMAS J. M. C.; SUSIN, I. Efeitos do uso de sucedâneo do leite e milho processado no desempenho de bezerros da raça holandesa até o desmame. *Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, v. 23, n. 4, p.967-972. 2001.

BATEMAN, H. G.; HILL, T. M.; ALDRICH, J. M.; SCHLOTTERBECK, R. L. Effects of corn processing, particle size, and diet form on performance of calves in bedded pens. *Journal of Dairy Science*, n. 92, p. 782–789. 2008.

BERNARDES, E. B.; COELHO, S. G.; CARVALHO, A. U.; OLIVEIRA, H. N. ; REIS, R. B.; SATURNINO, H. M. ; SILVA, C. A.; COSTA, T. C. Efeito da substituição do feno de Tifton 85 pelo caroço de algodão como fonte de fibra na dieta de bezerros. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 59, p. 955-964. 2007.

BITTAR, C. M. M.; FERREIRA, L. S.; SANTOS, F. A. P.; ZOPOLLATTO, M. R. Desempenho e desenvolvimento do trato digestório superior de bezerros leiteiros alimentados com concentrado de diferentes formas físicas. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.38, n.8, p.1561-1567. 2009.

CAMPBELL, R.C.; BOTTEON, M.; BOTTEON, P.T.L.; Júnior, J. C. B. S.; Pinna, M. H.; Lóss, Z. G. Frequência de diarreia em bezerros mestiços sob diferentes condições de manejo na região do médio Paraíba Rio de Janeiro e Minas Gerais. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal*, v.45, n.2, p.153-160. 2008.

CHAVES, A. S. ; COSTA, S. F. ; OLIVEIRA, R.C. ; MELO, L. Q. ; TEOFILLO, T. S. ; PEREIRA, M. N. . Morfologia do estômago de bezerros submetido a protocolos utilizando concentrados extrusado. In: 47 *Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, 2010, Salvador. Empreendedorismo e Progresso Científicos na Zootecnia Brasileira de Vanguarda, 2010.

CHURCH, D. C. The ruminant animal: digestive physiology and nutrition. New Jersey: Prentice-Hall, 1988. 564p.

COELHO, S. G. Ganho de peso e desenvolvimento do estômago de bezerros desaleitados aos trinta dias de idade e alimentados com concentrado e com ou sem feno. 1999. 123 p. Tese (Doutorado em Nutrição Animal) Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1999.

COIMBRA, L. E. P. *Avaliação da substituição do milho pela polpa cítrica em concentrados para bezerros: Desempenho e parâmetros da fermentação ruminais*. 2002. 65 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

COTTA, M.A.; RUSSELL, J.B. Effect of peptides and amino acids on efficiency of rumen bacterial protein synthesis in continuous culture. *Journal of Dairy Science*, v.65, p.226-234. 1982.

COVERDALE, J. A., TYLER, H. D.; QUIGLEY III, J. D.; BRUMM, J. A. Effect of various levels of forage and form of diet on rumen development and growth in calves. *Journal of Dairy Science* n. 87, p.2554–2562. 2004.

CROCKER, L. M., DEPETERS, E. J.; FADEL, J. G.; PEREZ-MONTI, H.; TAYLOR, S. J.; WYCKOFF, J. A.; ZINN, R. A. Influence of processed corn grain in diets of dairy cows on digestion of nutrients and milk composition. *Journal of Dairy Science*, n. 81, p. 2394-2407. 1998.

DANIELS, L.B.; WINNINGHAM, R.M.; HORNSBY, Q.R. Expansion-extrusion processed sorghum grain and soybeans in diets of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, v.56, n.6, p.932-934. 1972.

DAVIS, C. L.; DRACKLEY, J. K. The development, nutrition, and management of the young calf. *Iowa State University Press*. Iowa. Primeira edição. 339 p. 1998.

DIAS, H.L.C. *Consumo, digestibilidades aparentes totais e parciais de dietas contendo diferentes níveis de concentrado, em novilhos F1 Limousin x Nelore*. Viçosa, MG: UFV, 1999, 76p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 1999.

DRACKLEY, J. K. Calf nutrition from birth to breeding. *Vet. Clin. Food Anim.*, v.24, p. 55-86, 2008.

FERREIRA, D.F. SISVAR. Versão 5.0. Lavras: UFLA. 2007.

FRANKLIN, S. T.; AMARAL-PHILLIPS, D. M.; JACKSON, J. A. CAMBELL, A. A. Health and performance of Holstein calves that suckled or were hand-fed colostrums and were

fed one of three physical forms of starter. *Journal of Dairy Science* , n. 86, p. 2145–2153. 2003.

FROIS, M. C. M.; MODENA, C. M.; VIEGAS, D. M. et al. Tendência histórica dos coeficientes de mortalidade de bezerros em Minas Gerais, 1960 a 1985. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.46, n.6, p.741-747. 1994.

GARDNER, R.W. Digestible protein requirements of calves fed high energy rations ad libitum. *Journal of Dairy Science*, v.51, n. 6, p. 888 - 897. 1967.

GREENWOOD, R. H.; MORRIL, J. L.; TITGEMEYER, E. C.; KENNEDY, G. A. A new method of measuring diet abrasion and its effect on the development of the forestomach. *Journal of Dairy Science*, v. 80, p 2534–2541. 1997.

HAHN, G. L. Housing and Management to Reduce Climatic Impacts on Livestock *Journal of Animal Science*, v.52, p.175-186. 1981.

JASPER, J.; WEARY, D. M. Effects of Ad Libitum Milk Intake on Dairy Calves. *Journal of Dairy Science* , v. 85, p. 3054–3058. 2002.

JOY, M. T.; DEPETERS, E. J.; FADEL, J. G.; ZINN, R. A. Effects of corn processing on the site and extent of digestion in lactating cows. *Journal of Dairy Science*, v.80, p. 2087-2097. 1997.

KHAN, M. A.; LEE, H. J.; LEE, W. S.; KIM, H. S.; KI, K. S.; HUR, T. Y.; SUH, G. H. Structural growth, rumen development, and metabolic and immune response of holstein males calves fed milk through step-down and convention method. *Journal of Dairy Science*, v.90, p. 3376- 3387. 2007.

KERTZ, A.F.; PREWITT, L.R.; EVERETT JR., J.P. An early weaning calf program: Summarization and review. *Journal of Dairy Science*, v.62, p. 1835-1843. 1979.

LANA, R.P.; RUSSELL, J.B.; VAN AMBURGH, M.E. The role of pH in regulating ruminal methane and ammonia production. *Journal of Animal Science*, v. 76, p. 2190- 2196. 1998.

LASSITER, C. A.; DENTON, T. W.; RUST, J. W. The effects of aureomycin and Ethomid C/15 on growth, apparent digestibility and blood levels of urea and total non-protein nitrogen in young dairy calves. *Journal of Animal Science*, v.14, p. 760. 1955.

LESMEISTER K. E., HEINRICHS A. J. Effects of corn processing on growth characteristics, rumen development, and rumen parameters in neonatal dairy calves. *Journal of Dairy Science*, v.87, p.3439–3450. 2004.

LUNA, L.G. (Ed). *Manual of histology staining methods of the Armed Forces Institute Pathology*. 3.ed. New York: McGraw Hill, 258p. 1968.

NUSSIO, C. M. B.; SANTOS, F. A.; ZOPOLLATTO, M.; PIRES, A. V.; MORAIS, J. B. Processamento (Floculado vs Laminado a vapor) e adição demonensina para bezerras leiteiras, pré e pós desmame. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, MG, v. 32, n. 1, p. 229-239. 2003.

NUTRIENT REQUIREMENTS OF DAIRY CATTLE (NRC). 7 ed. Washington: National Academy, 2001.

OWENS, F. N.; SECRIST, D. S.; HILL, W. J.; GILL, D. R. The effect of grain source and grain processing on performance of feedlot cattle: A review. *Journal of Animal Science*, v.75, p.868-879. 1997.

PASSINI, R.; BORGATTI, L. M. O.; FERREIRA, F. A. Degradabilidade no rúmen bovino de grãos de milho processados de diferentes formas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.39, n.3, p.271-276, 2004.

PLASCENCIA, A.; ZINN, R. A. Influence of flake density on the feeding value of steam-processed corn in diets for lactating cows. *Journal of Animal Science*, v.74, p.310-316. 1996.

PRESTON, T. R., LENG, R.A. Matching ruminant production systems with available resources in the tropics and subtropics. *Penambul Books*. Armidale, Austrália. 245p. 1987.

QUIGLEY, J. D. 1997. Replacement heifers from birth to weaning. *Western dairy management conference*, March 13-15, 1997. Las Vegas, Nevada.

SAEG - Sistema de Análises Estatísticas Versão 9.1 Viçosa, MG. *Universidade Federal de Viçosa*, 2007.

SCHUH, J.D.; LIMA, J.O.A.; HALE, W.H. Steam-processed flaked grains versus steam-rolled grains for dairy calves. *Journal of Dairy Science*, v.53, n.4, p.475-479. 1970.

SOBERON, F.; RAFFRENATO, E.; EVERETT, R. W.; VAN AMBURGH, M. E. Pre-weaning milk replacer intake and effects on long-term productivity of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, v.95, p.783–793. 2012.

SUÁREZ, B. J.; VAN REENEN, C. G.; STOCKHOFE, N.; DIJKSTRA, J.; GERRITS, W. J. J. Effect of roughage source and roughage to concentrate ratio on animal performance and rumen development in veal calves. *Journal of Dairy Science*, v.90, p.2390-2403. 2007.

THEURER, C. B. Grain processing effects on starch utilization by ruminants. *Journal of Animal Science*, v.63, p.1649-1662. 1986.

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

WARNER, R. G.; FLATT, W. P.; LOOSLI, J. K. Dietary factors influencing the development of the ruminant stomach. *Agriculture Food Chemistry* v. 4, p.788-801. 1956.

CAPÍTULO 4

USO DE SACOS F57 (ANKOM[®]) PELA TÉCNICA *IN VITRO* SEMI-AUTOMÁTICA DE PRODUÇÃO DE GASES

RESUMO

Os cadinhos filtrantes (porosidade 1) originalmente usados na técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases estabelecida no Laboratório de Produção de Gases da Escola de Veterinária da UFMG podem ocasionar interferências nos estudos de quantificação da degradação de alimentos, principalmente os ricos em amido, devido à obstrução dos poros da placa filtrante pelo material residual após fermentação. Este estudo objetivou avaliar a substituição dos cadinhos filtrantes por sacos F57 (Ankom[®]) visando a realização de experimentos *in vitro* para descrição da cinética de fermentação e degradação ruminal. Esta substituição causou a redução do peso/volume da amostra incubada e desta forma, interferiu na relação pressão (P) / volume (V) e conseqüentemente inviabilizou a utilização de equação previamente estabelecida por Mauricio et al. (2003). Desta forma, objetivou-se neste estudo estabelecer equação para estimar o volume de gases produzidos a partir de dados de P e V obtidos pela fermentação de sorgo forrageiro, incluindo partes da planta e planta inteira, incubados em sacos F57 (Ankom[®]). Foram quantificados 474 dados simultâneos de pressão e volume os quais variaram de 0 a 4.670 psi e os de volume entre 0 e 38 mL. A equação relacionando P e V obtida foi: $V \text{ (mL)} = 0.747 \text{ (s.e. 0.0733)} + 7.23 P \text{ (s.e. 0.1165)} + 0.101 P^2 \text{ (s.e. 0.0372)}$, ($R^2 = 0.99$). O desenvolvimento desta equação viabilizou a utilização dos sacos F57 (Ankom[®]) pela na técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases e, portanto permitindo a quantificação dos resíduos da fermentação favorecendo a acurácia dos resultados.

Palavras chaves: *in vitro*, avaliação de forrageiras, sacos F57, produção de gases

USE OF F57 (ANKOM[®]) BAGS BY THE SEMI-AUTOMATIC *IN VITRO* TECHNIQUE OF GAS PRODUCTION

ABSTRACT

Filter crucibles (porosity 1) originally used in the semi-automatic *in vitro* technique of gas production established in the Laboratory of Gas Production at the college of Veterinary Medicine from UFMG may cause interference in studies of quantification of food degradation, mainly those rich in starch, due to blockage of the pores on the filter plate by the residual material after fermentation. The objective of this study was to evaluate the substitution of filter crucibles for F57 (Ankom[®]) bags on *in vitro* experiments for description of fermentation kinetics and ruminal degradation. This substitution caused a reduction in the weight/volume of the incubated sample, therefore, interfering in the pressure (P) / volume (V) relationship and consequently rendering impractical the use of an equation previously established by Mauricio et al. (2003). This study aimed at establishing an equation to estimate the volume of gases produced from P and V data obtained through the fermentation of forage sorghum, including parts of the plant as well as the entire plant, incubated in F57 (Ankom[®]) bags. 474 simultaneous pressure and volume data were quantified where pressure values ranged from 0 to 4,670 psi while volume ranged from 0 to 38 mL. The equation obtained for the P and V relationship was: $V \text{ (mL)} = 0,747 \text{ (s.e. 0.0733)} + 7,23 P \text{ (s.e. 0.1165)} + 0,101 P^2 \text{ (s.e. 0.0372)}$, ($R^2 = 0,99$). Acquiring this equation made the use of the F57 (Ankom[®]) bags possible, through the semi-automatic *in vitro* technique of gas production, therefore allowing the quantification of fermentation residues, thus improving the accuracy of the results.

Keywords: *in vitro*, forage evaluation, F57 bags, gas production

INTRODUÇÃO

A técnica descrita por Maurício et al. (1999) utiliza cadinhos de vidro com placa de borossilicato de porosidade 1 para filtração do material resultante das fermentações *in vitro*. Porém, quando a amostra analisada é um substrato com alta concentração de amido (ex. concentrado), este processo torna-se ineficiente devido a obstrução dos poros pelos resíduos da amostra. Alternativamente, a utilização de saco F57 (Ankom[®]), em substituição aos cadinhos filtrantes, poderia evitar o processo de filtração já que o saco, previamente pesado, seria removido do frasco, secado e pesado para quantificação da amostra sem interferência da filtração. Entretanto, torna-se necessário a redução da quantidade de amostra incubada, já que foram estes sacos foram delineados para armazenar quantidade de amostra inferiores a 0,8 gramas, segundo recomendação do fabricante Ankom[®]. Devido a redução da quantidade de amostra incubada faz-se também necessário a redução do volume de meio de cultura e inóculo, de forma a preservar a relação original descrita por Maurício et al. (1999).

Portanto, objetivou-se com esse trabalho desenvolver equação que permita calcular o volume de gases produzidos a partir dos dados de pressão oriundos da fermentação *in vitro* de substratos incubados dentro de sacos F57 (Ankom[®]).

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Produção de Gases, pertencente à Escola de Veterinária da UFMG localizado a uma altitude de 836m. Foram utilizadas 64 amostras de sorgo (BRS 506), pré-secas à (55°C) e moídas (1mm) incluindo partes da planta (colmo, folha e panícula) e planta inteira. As amostras (0,5 gramas) foram acondicionadas em saco F57 (Ankom[®]), previamente pesados, e estes selados a quente. Os sacos foram incubados em frascos de vidro (160 mL) previamente gaseificados com CO₂ visando manter a anaerobiose do mesmo. Foram incluídos frascos contendo somente líquido ruminal, meio de cultura (brancos) e sacos vazios de F57 (Ankom[®]) como controle. Em cada frasco, foram adicionados manualmente 45 mL de meio de cultura (Theodorou et al., 1994) e posteriormente vedados com rolha de silicone, e mantidos a 4°C durante a noite anterior a inoculação. Cinco horas antes da inoculação, os frascos foram acondicionados em estufa para estabilização da temperatura de acordo com as condições ruminais (39°C). O inóculo ruminal

foi removido de um bovino adulto fistulado no rúmen, mantido em piquete de *Paspalum notatum* e, durante oito dias prévios a coleta do inócuo, foi fornecido dois quilos de concentrado a base de milho e farelo de soja (220 g Kg / MS de proteína). O líquido ruminal foi retirado e armazenado em garrafas térmicas previamente aquecidas. No laboratório, o líquido ruminal foi filtrado em duas camadas de gaze de algodão sob injeção contínua de CO₂ e mantido em banho termostático aquecido a 39°C. A inoculação foi feita por meio de injeção de cinco mL de inócuo por frasco utilizando seringa plástica. Uma válvula modelo Luer-lock de três saídas foi acoplada a uma seringa de 60 mL e a um transdutor de pressão (tipo T443A, Bailey & Mackey, Inglaterra) e uma agulha (para perfuração da rolha de silicone) foi utilizada para mensuração do volume (seringa) e pressão (transdutor) dos gases produzidos no interior dos frascos de fermentação. Assim que a pressão era registrada, girava-se a válvula e os gases impulsionavam o êmbolo da seringa até o registro de pressão igual a zero pelo transdutor seguido do registro do volume (Figura 28). Foram obtidos simultaneamente dados de P e V mesurados a 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 19, 24, 30, 36, 48, 72 e 96 horas após a inoculação.

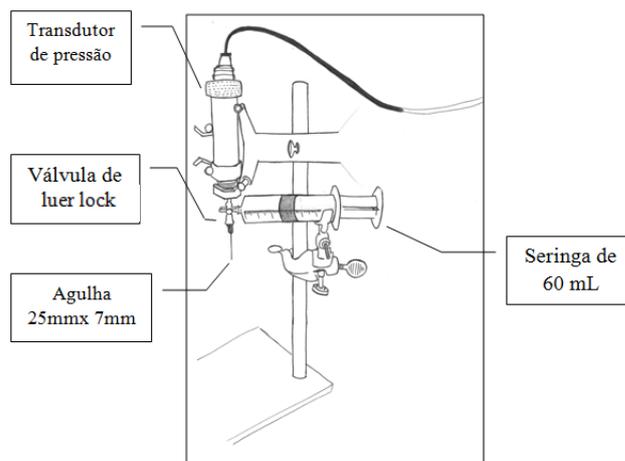


Figura 28 - Desenho esquemático do equipamento para mensuração de pressão e volume dos gases durante fermentação *in vitro*

Para a análise dos dados, empregou-se o procedimento de regressão polinomial utilizando o programa Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas (SAEG), segundo Ribeiro Júnior (2001) sendo o volume de gases considerado como variável dependente e a pressão como variável independente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores obtidos de pressão variaram de 0 a 4,8 psi e os de volume de 0 a 36,7 mL oriundos de 474 observações (Figura 29). Segundo Theodorou et al. (2004) a pressão máxima recomendada para o sistema *in vitro* de produção de gases é de 7 psi, pois acima deste valor a linearidade da relação P x V tende a ser reduzida devido a dispersão ou instabilidade dos dados, fato este não evidenciado neste estudo. A equação encontrada para os dados deste trabalho foi: $V \text{ (mL)} = 0.747 \text{ (s.e. 0.0733)} + 7.23 P \text{ (s.e. 0.1165)} + 0,101 P^2 \text{ (s.e. 0.0372)}$, ($R^2 = 0,99$). Esta equação diferiu da anterior obtida por Mauricio et. (2003) a qual utilizou cadinhos filtrantes; [$V \text{ (mL)} = -0.004 \text{ (s.e. 0.06)} + 4,43 P \text{ (s.e. 0.043)} + 0,051 P^2 \text{ (s.e. 0.007)}$, ($R^2 = 0,99$)]. Estas diferenças foram devidas as mudanças nos volumes de meio de cultura (90mL versus 45mL) e líquido ruminal (10mL versus 5mL), a quantidade de substrato fermentado (1g versus 0.5g), ao aparato para coleta do resíduo (cadinho filtrante versus saco F57) e conseqüentemente pelo volume (60 mL versus 110 mL) a ser ocupado pelos gases em cada frasco (head space) utilizados pela técnica descrita por Mauricio et. (2003) e a proposta neste trabalho, respectivamente. Na equação originada do presente estudo o coeficiente linear (7,23 versus 4,43) e angular (0,202 versus 0,102) referentes à taxa de variação do volume de gases em relação à pressão gerada utilizando sacos F57 foram superiores aos valores da equação proposta por Mauricio et. (2003) respectivamente.

Salienta-se que na equação descrita por Maurício et al. (2003), para cada 1.0 psi de pressão registrado pelo transdutor estima-se a produção de 4.38 mL de gases. Utilizando a equação obtida neste estudo, cada 1.0 psi de pressão correspondeu ao volume de 8.11 mL de gases. Embora os valores sejam distintos, há coerência dos resultados calculados de volume de gases obtidos com o emprego das duas equações, tendo em vista que a estratégia empregada no presente estudo para segregação dos resíduos de incubação requereu a utilização de apenas 50% das quantidades de amostra, meio de cultura e inóculo em relação ao protocolo original descrito por Maurício et al. (1999). Este fato, resultou em cerca do dobro de volume disponível (head space) para acúmulo de gases no frasco de incubação.

Desta forma, o planejamento experimental, utilizando substratos incluindo diferentes partes da planta de sorgo e fermentados em sacos F57 (Ankom[®]), proporcionou uma alta variabilidade nos dados e, portanto o desenvolvimento de uma equação que permitisse estimar

o volume por meio da pressão de acordo com a metodologia de incubação proposta para aplicação no Laboratório de Produção de Gases da Escola de Veterinária UFMG.

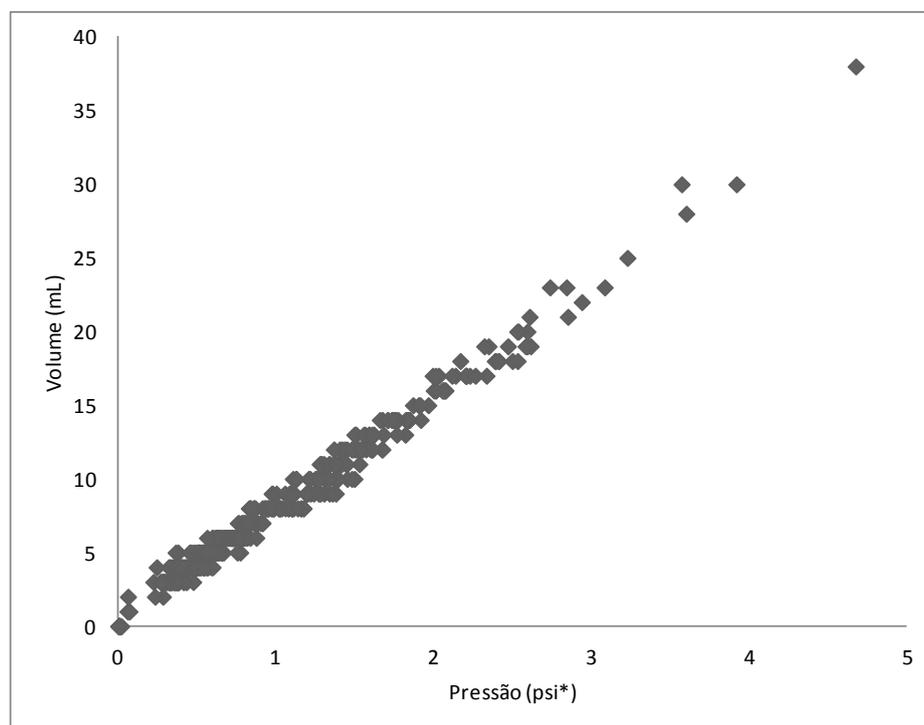


Figura 29 - Dados de pressão e volume obtidos por meio da técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases obtidos por meio da fermentação de partes da planta (colmo, folha e panícula) e planta inteira de Sorgo BRS 506 (* pressão por polegada quadrada)

CONCLUSÕES

O desenvolvimento da equação matemática estimando o volume de gases por meio da pressão utilizando sacos F57 (Ankom[®]) como veículo para fermentação de substratos aumentou a acurácia das determinações gravimétricas dos resíduos oriundos das fermentações utilizando a técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases instalada no laboratório de produção de gases do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária da UFMG.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BLÜMMEL, M.; ØRSKOV, E.R. Comparison of "in vitro" gas production and nylon degradability of roughage in predicting feed intake in cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v.40, p.109-119, 1993.

GETACHEW, G.; BLÜMMEL, M.; MAKKAR, H.P.S. et al. *In vitro* gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v.72, p.261-281, 1998.

JÚNIOR, R. G.; FILHO, S.L.S. C.; FERNANDES, F.D.; VILELA, L.; MARTHA JÚNIOR, G.B. Relação entre Pressão e Volume para Implantação da Técnica in vitro Semi-automática de Produção de Gases na Embrapa Cerrados. Planaltina: EMBRAPA/CPAC, 2008. 8 p. (EMBRAPA/CPAC. Comunicado Técnico, 144).

MAURICIO, R. M.; MOULD, F. L.; DHANOA, M. S.; OWEN, E.; CHANNA, K. S.; THEODOROU, M. K. A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. *Animal Feed Science and Technology*. v.79, n.4, p.321-330, 1999.

MAURÍCIO, R. M.; PEREIRA, L. G. R.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUES, N. M. Relação entre pressão e volume para implantação da técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases na avaliação de forrageiras tropicais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 55, n. 2, 2003.

RIBEIRO JÚNIOR, J.I. SAEG - Sistema para análises estatísticas e genética, versão 8.0. Viçosa, MG: Fundação Arthur Bernardes, 2001. 301p.

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

CAPÍTULO 5

DIGESTIBILIDADE *IN VITRO* DO GRÃO DE MILHO SUBMETIDO A QUATRO PROCESSAMENTOS, UTILIZANDO INÓCULO RUMINAL DE BEZERROS EM DIFERENTES IDADES

RESUMO

A técnica *in vitro* de produção de gases foi utilizada para avaliar a degradabilidade da matéria seca (DMS) e produção de gases de diferentes processamentos de milho: moído fino ou farelado, floculado, quebrado e silagem do milho reidratado. Foram utilizados sete bezerros Holandeses fistulados aos 30 dias de idade, como doadores de inoculo ruminal. As avaliações foram realizadas aos 22, 42, 64 e 84 dias de vida. Utilizou-se três horários para avaliação da DMS e produção de gases: seis, 12 e 48 horas após a inoculação do líquido ruminal. Os grupos com maior produção de gás e DMS foram, em escala decrescente, milho reidratado, farelado, floculado e quebrado. A DMS e produção de gás foram maiores ($p < 0,05$) aos 42 dias de vida (39,19% e 108,87 mL), quando comparada a 22 dias (30,13% e 85,61 mL). As análises com inoculo ruminal de bezerros com 64 e 84 dias de vida foram semelhantes às de 42 dias de vida ($p > 0,05$). Indicando que aos 22 dias a microbiota degrada o milho com menor eficiência que a partir de 42 dias de vida. Os processamentos de moagem e silagem do milho reidratado se mostraram semelhantes quanto a produção de gases e DMS, indicando que ambos tem potencial para produzir o mesmo desempenho de bezerros quando avaliada apenas a disponibilidade energética, no entanto, os efeitos no ambiente ruminal devem ser considerados.

Palavras-chave: floculação, milho reidratado, milho quebrado, técnica *in vitro* de produção de gases

IN VITRO DIGESTIBILITY OF FOUR CORN GRAIN PROCESSING USING RUMEN INOCULUM OF CALVES WITH DIFERENTS AGES

ABSTRACT

In vitro gas production technique can describe ruminal fermentation kinetics, and was used to evaluate dry matter degradability and gas production of different corn processing: dry rolled corn, steam flaked, cracked corn and high moisture corn. Seven Holstein calves, canulated at 30 days were used for collect of ruminal fluid. The analysis were made when calves were 22, 42, 64 e 84 days of life. Gas production and dry matter degradability were evaluated at six, 12 and 48 hours after inoculation of ruminal fluid. The highest gas production and degradability were of high moisture corn, dry rolled corn, steam flaked and cracked corn being the lowest. Gas production and dry matter degradability were higher ($p < 0,05$) at 42 days (39,19% e 108,87 mL) than at 22 days (30,13% e 85,61 mL) ($p < 0,05$). Results of 64 and 84 days were similar of 22 days old ($p > 0,05$). Indicating that at 22 days the microbiota degrades corn with lowest efficiency than from 42 days old. Grind process and high moisture corn were similar to gas production and dry matter degradability, indicating that both has the potential to provide the same calf performance, considering only energetic availability, however the ruminal environment must be evaluated.

Key words: steam flaked, high moisture corn, cracked corn, gas production semi automatic technique

INTRODUÇÃO

A técnica *in vitro* de produção de gases (Maurício *et al.*, 1999) tem a capacidade de descrever a cinética de fermentação ruminal, e é utilizada para a determinação do valor nutricional de alimentos sendo estas características relacionadas com o consumo e a digestibilidade.

Esta técnica foi desenvolvida na Universidade de Reading (Inglaterra) baseando-se na mensuração da pressão de gases produzidos pela degradação anaeróbica de substratos incubados em frascos de fermentação contendo líquido ruminal e meio de cultura tamponante. Posteriormente, os dados de pressão eram utilizados para calcular o volume de gases por meio de equação de regressão (P x V) específica para cada laboratório onde a técnica foi implantada. A relação entre P e V é dependente da altitude e portanto variável de acordo com a posição geográfica de cada centro de pesquisa (Maurício *et al.*, 2003). Maurício *et al.* (1999) modificaram a técnica descrita por Theodorou *et al.* (1994) eliminando as medições manuais de volume de gases e propondo o uso da equação oriunda da relação entre P e V. Dessa forma, a cinética de degradação, e mais especificamente o período inicial de fermentação lag phase, puderam ser descritos com maior acurácia devido ao maior número de medidas e portanto contribuir para estudos ligados a avaliação de alimentos.

Desta forma, objetivou-se avaliar a cinética de fermentação *in vitro* de diferentes processamentos do milho (técnicas de moagens fina e grossa, floculação e silagem de milho reidratado) utilizando a técnica *in vitro* de produção de gases com inóculo ruminal de bezerros em diferentes fases do desenvolvimento ruminal.

MATERIAL E MÉTODOS

LOCAL DE EXECUÇÃO

O experimento foi conduzido no Bezerreiro Experimental e no Laboratório de Produção de Gases, ambos da EV/UFMG, no período de 18 de julho a 15 de outubro de 2011. Todos os procedimentos realizados no experimento foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFMG, segundo processo número 196 /2010 CETEA/UFMG.

Para coleta do inócuo ruminal foram utilizados sete bezerros machos da raça Holandesa provenientes de uma fazenda localizada no município de Inhaúma, MG.

Imediatamente após o nascimento os bezerros receberam dois litros de colostro na mamadeira ou via sonda e tiveram o umbigo curado com iodo a 7% na fazenda.

Após chegarem ao Bezerreiro Experimental, os bezerros foram avaliados quanto a hidratação e condições físicas gerais e receberam dois litros de colostro proveniente de banco de colostro previamente preparado. Todos os animais foram pesados na chegada, antes do fornecimento de alimento ou água. Os bezerros tinham a idade entre um e quatro dias, sendo a diferença de idade entre o bezerro mais velho e o mais novo de dez dias. A cura do umbigo foi novamente realizada com iodo 7%, duas vezes ao dia, durante três dias consecutivos.

Diariamente, os bezerros foram observados quanto às condições físicas, mensurando-se a temperatura retal após o aleitamento da manhã e avaliando-se a ocorrência de enfermidades.

Os bezerros receberam seis litros de sucedâneo o leite Lacthor (Tortuga Companhia Zootécnica Agrária ©), diariamente durante os primeiros até 40 dias de idade e quatro litros por dia dos 40 aos 60 dias de idade, divididos em dois fornecimentos, pela manhã (7:00) e a tarde (16:00).

O concentrado foi fornecido a vontade até o consumo máximo de 2 kg. A composição do sucedâneo, do concentrado e da gramínea presente no bezerreiro estão apresentados na Tabela 24.

Tabela 24 - Composição nutricional do concentrado capim e sucedâneo

	CONCENTRADO	CAPIM	SUCEDÂNEO
Matéria Seca (%)	88,50	24,14	94,60
Proteína Bruta	13,50	15,94	20,70
Extrato Etéreo	2,93	1,70	11,21
Fibra Detergente Neutro	15,00	49,03	
Fibra Detergente Ácido	4,30	25,27	
Cálcio	2,39	3,20	2,88
Fósforo	0,40	0,24	0,76
Cinzas	5,70	12,85	9,70
Energia Metabolizável* (Mcal/kgMS)	2,56		3,60

*A energia metabolizável (EM) do sucedâneo e do concentrado foram calculadas segundo NRC (2001).

EM sucedâneo: $EM = 0,93 \times (0,057 \times \%PB + 0,092 \times \%EE + 0,0395 \times \%lactose)$

EM concentrado: $EM = [(1,01 \times ED) - 0,45] + [0,0046 \times (\%EE - 3)]$

Sendo que energia digestível $ED = 0,7 \times [(0,057 \times \%PB) + (0,092 \times \%EE) + (0,0415 \times \%carboidratos)]$

Quando os bezerros atingiram a média de 30 dias de idade foi realizada a cirurgia para colocação de cânula no rúmen. Antes da cirurgia os animais foram sedados utilizando-se Xilazina (0,05mg/kg) por via endovenosa. A anestesia local foi realizada utilizando-se lidocaína sem vasoconstritor no flanco esquerdo. O comprimento da incisão foi estimado pelo metade do perímetro interno da fístula. A incisão foi realizada na pele e músculo oblíquo externo. Os músculos oblíquo interno e transversos do abdômen foram divulsionados no sentido das fibras. Foi realizada a incisão do peritônio no mesmo comprimento da incisão da pele. Realizou-se a fixação do rúmen com duas suturas. A primeira foi realizada por reverdin, suturando-se a muscular do rúmen, peritônio e o músculo transversos do abdômen. A segunda foi realizada na serosa do rúmen, utilizando-se reverdin suturando a serosa do rúmen próximo a linha de incisão do órgão suturando-se juntamente o oblíquo interno e o externo. Após essa sutura foi realizada a incisão no rúmen e sutura da borda interna do órgão à pele. Para finalizar colocou-se a cânula para rúmen da marca KEHL Ltda, com diâmetro do orifício central de 4,9 cm e diâmetro total de 9,8 cm.

Todos os animais receberam por cinco dias penicilina (30.000 UI/kg) via intramuscular. Os animais foram examinados diariamente e submetidos a curativos na ferida cirúrgica com aplicação tópica de antissépticos (P.V.P.I.) e sulfadiazina de prata. Os bezerros foram selecionados para cada pool de acordo com a saúde e integridade das fístulas nos dias anteriores à coleta e a idade dos bezerros. Conteúdos de rúmen de bezerros mais jovens foram utilizados no mesmo pool de conteúdos obtidos dos bezerros mais velhos do grupo, para que a idade média dos bezerros fornecedores de inóculo nos pools fosse semelhante.

As coletas do fluido ruminal foram realizadas nos dias 22, 42, 64 e 84 dias de vida médios dos bezerros. Como os bezerros ainda não haviam sido fistulados, a colheita aos 22 dias de idade média foi realizada utilizando-se sonda esofágica acoplada à bomba de vácuo. As colheitas subsequentes foram realizadas através da fístula. Após as coletas, as alíquotas de líquido ruminal de 2 bezerros foram agrupadas, homogeneizadas e acondicionadas em garrafas térmicas previamente aquecidas para transporte até o Laboratório de Produção de Gases.

Os tratamentos constituíram em quatro diferentes tipos de processamento do milho utilizados para a determinação da degradabilidade *in vitro*, sendo eles, milho floculado, milho quebrado, milho fino ou farelado e milho reidratado cujas granulometrias podem ser observadas na Tabela 25 e na Figura 30.

Tabela 25 - Porcentagem de partículas retidas em cada peneira GRANUTEST® de acordo com o tipo de milho

% DE PARTÍCULAS RETIDAS (MÉDIA)*			
Peneiras (mm)	Milho floculado	Milho quebrado	Milho farelado
3,36	77,77	40,50	0,26
2,38	12,94	29,22	1,56
2,00	4,06	14,34	8,82
1,41	2,79	13,37	16,09
1,19	0,70	1,80	8,03
0,71	0,83	0,52	26,10
0,50	0,02	0,01	11,17
Prato	0,90	0,24	27,98

*O grupo milho reidratado não foi aferido devido à umidade unir as partículas, o que impede a análise correta da granulometria.

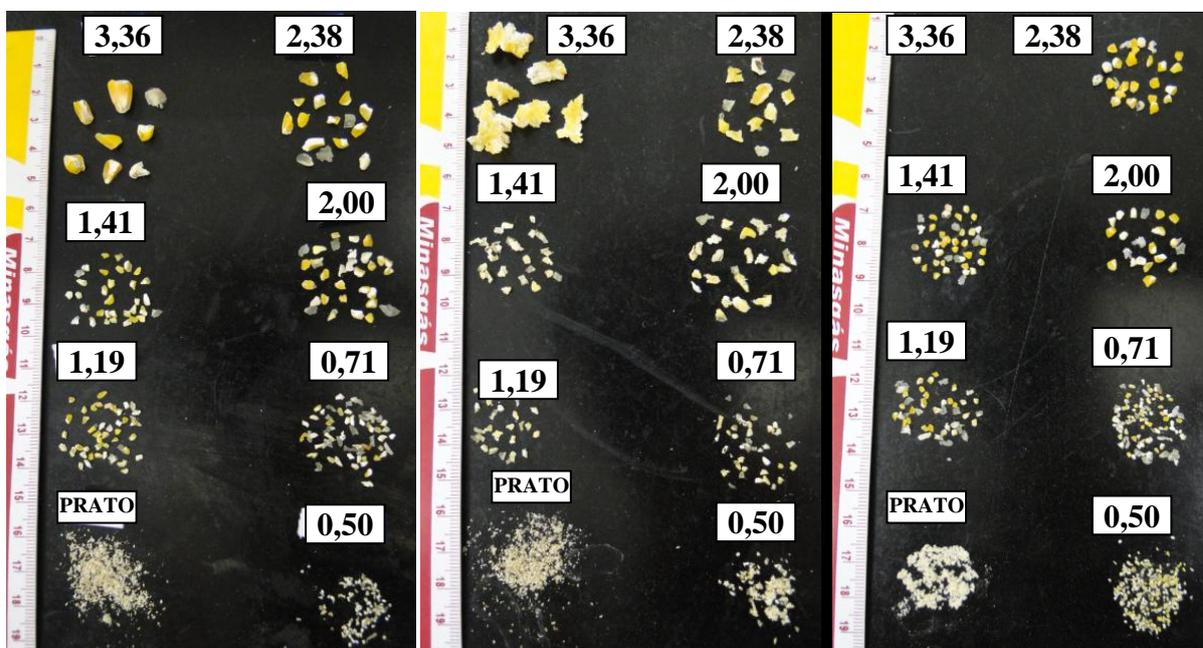


Figura 30 – Porções de milho quebrado, milho floculado e milho farelado retidas em cada peneira GRANUTEST®

A composição química dos milhos de acordo com o processamento pode ser observada na Tabela 26.

Tabela 26 - Composição química dos milhos floculado, grosso, farelado e silagem de milho reidratado

	FLOCULADO	QUEBRADO	FARELADO	REIDRATADO
Matéria Seca (%)	88,69	89,43	88,87	61,52
Proteína Bruta (%)	7,25	7,26	7,39	8,76
Extrato Etéreo (%)	5,31	3,48	5,07	4,76
Fibra Detergente Neutro (%)	24,12	29,96	29,19	8,32
Fibra Detergente Ácido (%)	3,57	5,17	4,23	2,59
Fibra Bruta (%)	1,54	2,73	2,43	2,62
Cálcio (%)	0,07	0,08	0,12	0,08
Fósforo (%)	0,05	0,14	0,11	0,21
Cinzas	0,77	1,23	1,26	1,44
Carboidratos Não Fibrosos	57,36	49,95	50,2	71,22
Nutrientes Digestíveis Totais	79,01	77,05	78,16	80,11

Dados expressos na base de matéria seca.

A incubação foi feita em frascos de vidro com capacidade para 160 mL, seguindo os procedimentos descritos por Maurício et al. (1999) com a seguinte modificação: as amostras dos alimentos testados foram incubadas em sacolas de filtragem F57 produzidas pela Ankom Technology. Foram acondicionados 0,5 gramas de matéria natural dos milhos floculado, quebrado e farelado e 0,67 gramas do milho reidratado nas sacolas de filtragem, de forma que cada sacola contivesse cerca de 0,4 g de MS da amostra. As sacolas de filtragem com as amostras foram acondicionadas dentro dos frascos de fermentação.

Foram utilizados três inócuos em cada etapa (3 pools de inóculos de dois bezerros) sendo dois frascos (replicas) por tratamento e por inóculo e dois frascos de brancos (frascos contendo apenas o meio de cultura e o inóculo). Em cada frasco, foram adicionados manualmente, utilizando-se seringas, 45 mL de meio. Os frascos foram vedados com rolhas de silicone, sendo mantidos em geladeira a 4 °C durante 30 minutos. Posteriormente, os frascos foram removidos da geladeira para estufa a 39 °C até o momento da inoculação, no dia seguinte.

O meio de cultura foi composto por 1,124 L de solução tampão de carbonato de amônio e bicarbonato de sódio; 1,124 L de solução macromineral de fosfato de sódio, fosfato de potássio e sulfato de magnésio; 0,6 mL de solução micromineral (cloreto de cálcio, cloreto

de manganês, cloreto de cobalto, cloreto ferroso); 5,6 mL de solução de rezarzurina 0,1% e 337 mL de meio B (cisteína, hidróxido de sódio 1M, sulfito de sódio), conforme descrito por Maurício et al., (1999). Este foi agitado constantemente e saturado com CO₂ até atingir coloração rosada, sendo então adicionados 45 mL desta solução aos frascos de fermentação.

Após as coletas, o conteúdo ruminal foi filtrado utilizando-se sacos de filtro. Após a filtração realizou-se a mistura para a produção dos pools dos líquidos com conteúdo de rúmen coletado de dois doadores e os mesmos foram armazenados em três garrafas térmicas previamente aquecidas. No laboratório, a inoculação foi realizada com a injeção de 5 mL do inóculo por frasco, utilizando-se seringa plástica graduada. Imediatamente após a inoculação, os frascos tiveram a pressão estabilizada inserindo-se agulhas (25 mm x 7 mm) nas tampas dos frascos. As agulhas foram posteriormente retiradas, os frascos manualmente agitados e colocados em estufa a 39°C a partir da primeira caixa que foi colocada na estufa deu-se o início da contagem dos tempos de fermentação.

A pressão originada pelos gases foi medida através de um transdutor de pressão (tipo T443A, Bailey e Mackey, Inglaterra) conectado em sua extremidade a uma agulha (25 mm x 7 mm). As leituras de pressão foram tomadas em maior frequência durante o período inicial de fermentação e reduzidas posteriormente (seis, 12 e 48 horas após a incubação). A partir da inserção da agulha na tampa de silicone a pressão produzida no interior dos frascos foi lida no leitor digital e registradas em planilhas para cálculos posteriores do volume de gases pela equação matemática que foi desenvolvida para este experimento e os demais que utilizarem os frascos de incubação de 160 mL, sacolas de filtração F57 e quantidade reduzida pela metade de amostra, meio e inóculo em relação à técnica descrita por Maurício et al. (1999).

DEGRADABILIDADE DA MATÉRIA SECA (DMS)

A DMS foi obtida pela relação entre a porcentagem do material inicialmente incubado e o resíduo que permaneceu nas sacolas de filtração após os períodos de 6, 12, e 48 horas de fermentação, empregando-se a técnica de determinação de MS a 105°C, de acordo com Association of Official Analytical Chemists (1995).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para cada idade dos animais fornecedores de inóculo, as produções acumuladas de gases e as DMS obtidas para os quatro tipos de milho foram analisadas utilizando-se delineamento experimental de blocos ao acaso, em esquema de parcelas subdivididas, tendo os pools de inóculos como blocos, os tipos de milho como parcelas e os tempos de incubação como subparcelas, segundo o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + B_i + H_j + T_k + HT_{jk} + e_{ijk}$$

Em que:

Y_{ijk} = valor referente à observação tipo de milho j, no bloco i e no tempo de incubação k

μ = média geral

B_i = efeito do bloco i (i = 1, 2, 3)

H_j = efeito do tipo de milho j (j= 1, 2, 3, 4)

T_k = efeito do tempo de incubação k (k = 6, 12, 48)

HT_{jk} = interação dos efeitos do tipo de milho j com o tempo de incubação k

e_{ijk} = erro aleatório associado à observação

Os dados de produções acumuladas de gases e de DMS obtidos para cada tipo de milho também foram analisados separadamente nas várias idades dos animais fornecedores de inóculo. Para tal, utilizou-se delineamento experimental de blocos ao acaso, em esquema de parcelas subdivididas, tendo os pools de inóculos como blocos, a idade dos animais fornecedores de inóculo como parcelas e os tempos de incubação como subparcelas, segundo o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + B_i + H_j + T_k + HT_{jk} + e_{ijk}$$

Em que:

Y_{ijk} = valor referente à observação idade dos doadores de inóculo j, no bloco i e no tempo de incubação k

μ = média geral

B_i = efeito do bloco i (i = 1, 2, 3)

H_j = efeito da idade dos doadores de inóculo j ($j= 22, 42, 64, 84$)

T_k = efeito do tempo de incubação k ($k = 6, 12, 48$)

HT_{jk} = interação dos efeitos da idade dos doadores de inóculo j com o tempo de incubação k

e_{ijk} = erro aleatório associado à observação

As médias foram comparadas pelo teste Student-Newman-Keuls (SNK) a 5%. Também foram estimados os coeficientes de correlação entre as variáveis, pelo coeficiente de correlação de Pearson. Para a análise dos dados, empregou-se o programa Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas (SAEG), segundo Euclides (1983).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O consumo de concentrado apresentado apenas de forma descritiva aumentou a cada semana (Tabela 27).

Tabela 27- Média do consumo de concentrado (kg/dia) na matéria seca por bezerros aleitados até 60 dias de idade

Consumo (kg)											
Semanas de vida											
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0,085	0,106	0,126	0,177	0,307	0,572	1,015	1,164	1,909	1,975	2,000	2,000

Utilizando-se inóculo de bezerros com 22 dias de vida observou-se que a produção de gases aumentou ($p<0,05$) com o tempo após a incubação em todos os tratamentos (Tabela 28, Figura 31)

A degradabilidade seguiu o mesmo padrão da produção de gases para os grupos milho farelado e silagem de milho reidratado ($p<0,05$) e se manteve semelhante entre as horas seis e 12 após a incubação ($p>0,05$) para os grupos floculado e quebrado aumentando ($p<0,05$) às 48 horas. O que pode indicar nesses grupos maior tempo para colonização bacteriana reduzindo a degradabilidade.

O grupo milho reidratado apresentou maiores degradabilidade e produção de gases em todos os momentos quando comparado aos grupos milho floculado e milho grosso ($p<0,05$), com exceção da análise seis horas após a incubação, em que a produção de gases do milho floculado foi semelhante ao do reidratado ($p>0,05$).

O grupo farelado apresentou a mesma degradação e produção de gases que o grupo reidratado exceto às seis horas após inoculação, onde a produção de gases foi semelhante ao reidratado e ao quebrado e 12 horas após a inoculação, onde a produção de gases foi semelhante ao floclado.

O grupo quebrado apresentou as menores degradações e produções de gases em todos os momentos ($p < 0,05$), exceto seis horas após a inoculação, quando foi semelhante ao grupo floclado para as duas respostas.

Tabela 28 - Produção de gases (Gás) (mL) e degradabilidade da matéria seca (%) de milhos com diferentes processamentos incubados com inócuo ruminal de bezerros com idade média de 22 dias

Grupos	Tempo após inoculação					
	6		12		48	
	Gás	Degradabilidade	Gás	Degradabilidade	Gás	Degradabilidade
Floclado	28,3 AB c	11,7 B b	51,2 B b	17,4 B b	154,6 B a	46,1 B a
Quebrado	15,2 B c	7,5 B b	31,5 C b	10,1 C b	119,3 C a	35,8 C a
Farelado	26,6 AB c	18,7 A c	58,9 B b	27,2 A b	202,2 A a	67,6 A a
Reidratado	38,6 A c	19,8 A c	86,6 A b	33,1 A b	214,5 A a	66,4 A a

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem pelo teste de SNK ($p < 0,05$), CV : Gás - 10,07; Deg - 12,17.

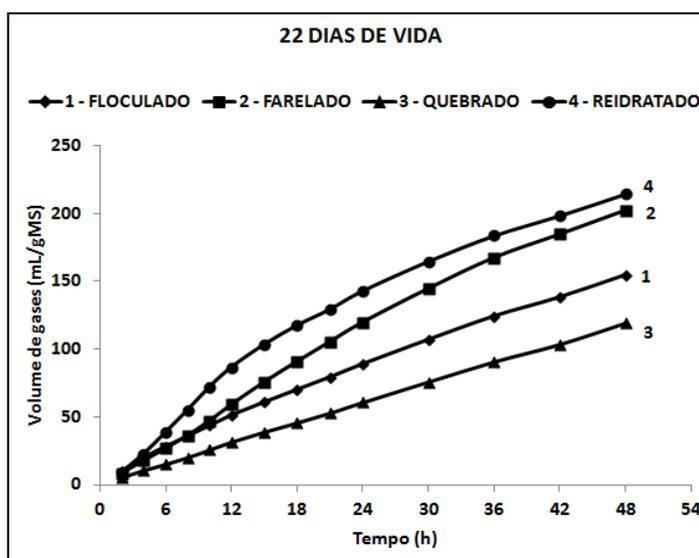


Figura 31 - Volume de gases produzidos até 48 horas após a inoculação de milhos com diferentes processamentos com inócuo de bezerros aos 22 dias de idade

Na segunda etapa, utilizando-se inóculo de bezerros com 42 dias de vida (Tabela 29 e Figura 32) observou-se que a produção de gases também aumentou ($p < 0,05$) com o tempo após a incubação em todos os tratamentos. A degradabilidade seguiu o mesmo padrão para os grupos floculado, quebrado e farelado ($p < 0,05$) e se manteve entre as horas 6 e 12 após a incubação ($p > 0,05$) para o grupo reidratado, aumentando ($p < 0,05$) às 48 horas.

Tabela 29 - Produção de gases (Gás) (mL) e degradabilidade da matéria seca (Deg) (%) de milhos com diferentes processamentos incubados com inóculo ruminal de bezerros com idade média de 42 dias

Grupos	Tempo após inoculação					
	6		12		48	
	Gás	Deg	Gás	Deg	Gás	Deg
Floculado	40,2 A c	20,9 B c	82,4 B b	27,9 C b	213,2 B a	57,4 B a
Quebrado	19,7 B c	12,1 C c	45,8 C b	19,1 D b	169,9 C a	52,3 C a
Farelado	30,3 AB c	28,7 A c	82,5 B b	41,9 A b	232,4 A a	70,1 A a
Reidratado	43,4 A c	30,2 A b	103,6 A b	36,1 B b	243,1 A a	73,5 A a

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem pelo teste de SNK ($p < 0,05$).

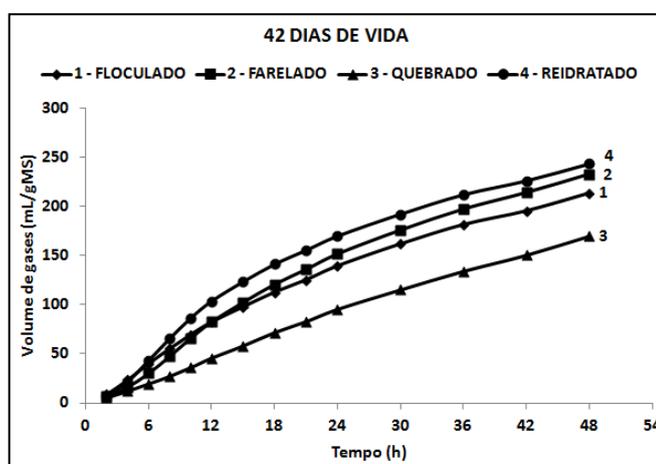


Figura 32 - Volume de gases produzidos até 48 horas após a inoculação de milhos com diferentes processamentos com inóculo de bezerros aos 42 dias de idade

O grupo reidratado apresentou degradabilidade e produção de gases semelhantes ao grupo farelado em todos os momentos ($p > 0,05$), exceto 12 horas após a inoculação, quando a produção de gases foi maior e a degradabilidade menor para o grupo reidratado quando comparado ao farelado ($p < 0,05$). Os dois grupos foram superiores aos grupos quebrado e floculado para produção de gases e degradabilidade da matéria seca em todos os momentos ($p < 0,05$), exceto na sexta hora após a inoculação, quando o grupo floculado apresentou

produção de gases semelhantes aos grupos farelado e reidratado e na décima segunda hora após a inoculação que o grupo farelado foi semelhante ao floculado para produção de gases ($p>0,05$).

O grupo farelado apresentou degradação e produção de gases semelhantes ao do grupo reidratado exceto na hora seis após inoculação, onde a produção de gases foi semelhante ao reidratado e ao quebrado e 12 horas após a inoculação, onde a produção de gases foi semelhante ao floculado ($p>0,05$).

O grupo milho quebrado, apresentou as menores degradações e produções de gases em todos os momentos ($p<0,05$), exceto na hora seis após a inoculação, quando foi semelhante ao grupo floculado para as duas respostas ($p>0,05$).

Utilizando-se inócuo de bezerros com 64 dias de vida observou-se que a produção de gases e a degradabilidade aumentaram ($p<0,05$) com o tempo após a incubação em todos os tratamentos (Tabela 30, Figura 33).

Tabela 30 - Produção de gases (mL) e degradabilidade da matéria seca (%) de milhos com diferentes processamentos incubados com inócuo ruminal de bezerros com idade média de 64 dias

Grupos	Tempo após inoculação					
	6		12		48	
	Gás	Deg	Gás	Deg	Gás	Deg
Floculado	49,0 B c	24,9 C c	89,7 B b	17,8 D b	220,7 C a	62,6 B a
Quebrado	28,3 C c	11,7 D c	55,6 C b	31,9 C b	173,7 D a	50,8 C a
Farelado	49,5 B c	30,6 B c	100,4 B b	39,1 B b	252,4 B a	72,9 A a
Reidratado	68,3 A c	42,8 A c	125,4 A b	47,2 A b	266,5 A a	74,6 A a

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem pelo teste de SNK ($p<0,05$).

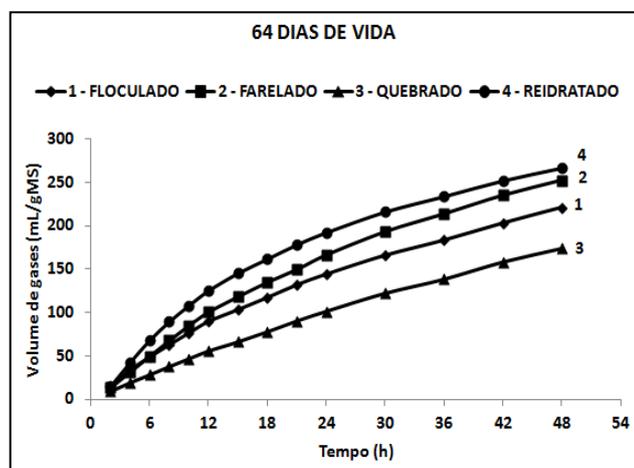


Figura 33 - Volume de gases produzidos até 48 horas após a inoculação de milhos com diferentes processamentos com inócuo de bezerros aos 64 dias de idade

O grupo reidratado apresentou degradabilidade e produção de gases maiores ($p < 0,05$) que os outros grupos em todos os momentos exceto 48 horas após a incubação quando sua degradabilidade foi semelhante ao grupo farelado ($p > 0,05$).

O grupo farelado apresentou degradabilidade superior aos grupos milho quebrado e floculado em todos os momentos ($p < 0,05$), porém a produção de gases foi superior apenas 48 horas após a inoculação, sendo semelhante ao grupo floculado nas horas seis e 12 ($p > 0,05$).

A produção de gases foi inferior em todos os momentos para o grupo milho quebrado, a degradabilidade seguiu o mesmo padrão exceto às 12 horas após a inoculação quando apresentou valores superiores ($p < 0,05$) ao milho floculado.

Ao utilizar inócuo ruminal de bezerros aos 84 dias de idade observou-se mesma produção de gases ($p > 0,05$) para os grupos reidratado e farelado em todos os momentos avaliados (Tabela 31, Figura 34), sendo que essas foram maiores ($p < 0,05$) aos outros grupos. A degradabilidade foi superior ($p < 0,05$) para o grupo reidratado na sexta e décima segunda hora após a inoculação quando comparado ao grupo farelado, porém se tornaram semelhantes 48 horas após a inoculação ($p > 0,05$).

O grupo floculado foi semelhante ($p > 0,05$) ao grupo farelado para produção de gases na sexta hora após inoculação, porém se tornou inferior ($p < 0,05$) nas horas seguintes. O grupo quebrado apresentou valores de degradabilidade e produção de gases inferior a todos os grupos em todos os momentos avaliados ($p < 0,05$).

O milho reidratado se apresentou superior em produção de gases e em degradabilidade da matéria seca de forma geral em todos os momentos avaliados. Esse resultado pode ser devido ao processamento que além de moer o grão, aumentado a área de exposição do endosperma à ação microbiana, a adição de água umidifica o grão, processo normalmente realizado pela saliva e líquido ruminal que é necessário para a associação dos microorganismos com as partículas do alimento para início da adesão (McAllister et al., 1994). Portanto, a adesão bacteriana ocorre de forma mais rápida, assim como sua degradação. Além disso, durante a ensilagem do grão ocorre fermentação, responsável pelo aumento da susceptibilidade do grão à hidrólise enzimática. Galyean et al. (1975) relataram maiores degradabilidades da MS *in vivo* em bovinos adultos para o grão úmido (89,3%), seguido pelo milho floculado (82,9%) e pelo milho moído fino (77,8) ao fornecer dietas com 78% de milho. Stock et al. (1987) trabalhando com silagem de grão úmido de milho, milho seco moído fino e misturas de ambos nas proporções de 67:33 e 33:67, respectivamente, para bovinos confinados durante 70 dias, constataram maior ganho de peso e melhor eficiência

alimentar para os animais alimentados com silagem de grão úmido e suas misturas quando comparados ao milho moído fino. Tal fato foi atribuído, segundo os autores, ao efeito associativo entre os dois processamentos, já que a silagem de grão úmido por possuir menor taxa de passagem, foi digerido em sua maior parte no rúmen, enquanto o milho moído seco no intestino delgado.

Porém, extrapolando a utilização do milho reidratado para bezerros, deve-se ter cuidado devido à rápida fermentação do grão associada ao epitélio ruminal ainda imaturo, que pode vir a causar acidose ruminal.

Tabela 31 - Produção de gases (mL) e degradabilidade da matéria seca (%) de milhos com diferentes processamentos incubados com inócuo ruminal de bezerros com idade média de 84 dias

Grupos	Tempo após inoculação					
	6		12		48	
	Gás	Deg	Gás	Deg	Gás	Deg
Floculado	45,3 B c	23,7 C c	78,1 B b	31,7 C b	195,6 B a	54,3 B a
Quebrado	26,1 C c	11,3 D c	52,5 C b	21,5 D b	155,7 C a	43,1 C a
Farelado	53,0 AB c	33,3 B c	95,6 A b	42,4 B b	236,1 A a	69,3 A a
Reidratado	64,3 A c	46,3 A b	107,4 A b	49,9 A b	241,1 A a	67,1 A a

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem pelo teste de SNK ($p < 0,05$).

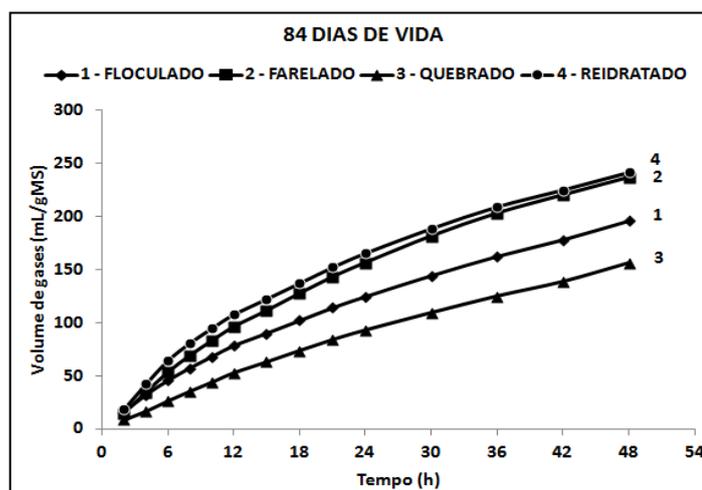


Figura 34 - Volume de gases produzidos até 48 horas após a inoculação de milhos com diferentes processamentos com inócuo de bezerros aos 84 dias de idade

O milho farelado apresentou maiores produções de gases e degradabilidades da matéria seca que os grupos floculado e milho quebrado na maioria dos momentos e em algumas horas avaliadas foi semelhante ao milho reidratado. Os resultados próximos ou semelhantes ao milho reidratado são justificados, já que a granulometria dos processamentos foi muito semelhante. Portanto, a superfície para adesão microbiana poderia, também, ser semelhante. Avalia-se que o que proporcionou resultados superiores para o milho reidratado foram os efeitos já citados do processamento, que deixam o amido do grão mais exposto ao ataque microbiano.

O milho floculado apresentou-se inferior ao milho farelado na maioria dos momentos avaliados, embora a floculação aumente a degradabilidade do milho e do sorgo quando comparado ao milho moído fino, pela gelatinização do amido, por meio da ruptura das pontes de hidrogênio intermoleculares (Huntington, 1997).

Trei et al. (1970) utilizando novilhas recebendo dieta com 65% de grão como fornecedoras do inoculo relataram maior produção de gases para o milho e cevada floculados quando comparado ao grãos sem floculação. Ainda, conforme Theurer et al. (1986), a digestibilidade do amido tanto no rúmen quanto no restante do trato digestivo é maior para o milho floculado em comparação com o grão moído finamente ou quebrado (Theurer et al., 1986). Segundo Cone et al. (1989), o impacto da floculação sobre a degradabilidade do amido é maior do que os efeitos da moagem dos grãos.

Segundo Trei et al. (1970); Hale et al. (1973), o tipo de floco formado pode ter influência sobre a degradabilidade e conseqüentemente na produção de gases. No trabalho de Hale et al. (1973) novilhas alimentadas com milho com flocos inadequados necessitaram de 11% a mais de consumo para atingir o mesmo ganho diário de novilhas que receberam flocos de qualidade excelente. A qualidade do floco é influenciada pelas temperatura, pressão e umidade utilizadas no momento de fabricação do mesmo, e os parâmetros ideais variam de acordo com a categoria animal (Ljokjel et al. 2003). Segundo Trei et al. (1970) Quanto mais fino o floco maior a gelatinização do milho.

Outro fator que pode influenciar a digestibilidade do amido é a retrogradação, que consiste na reassociação das moléculas de amido que foram separadas durante a gelatinização. Esse fenômeno é primeiramente associado à amilose, pois a retrogradação da amilopectina pode levar semanas ou meses para se desenvolver. O armazenamento do grão em altas temperaturas pode acelerar o processo (McAllister, 2007). Portanto, o tamanho do floco e o

processo de retrogradação podem ter reduzido a degradabilidade do milho flocculado utilizado, influenciando os resultados frente aos outros processamentos.

A produção de gases e a degradabilidade foram, na maioria dos grupos e momentos estudados, menores para a etapa com inoculo de bezerros com 22 dias de vida e semelhantes entre as etapas utilizando inoculos de bezerros com 42, 64 e 84 dias de vida (Tabelas 32 e 33).

Esse resultado pode ser devido à condição estéril do rúmen dos bezerros ao nascimento, que é colonizado rapidamente principalmente por organismos facultativos (Tokoyama e Johnson, 1988; Cunningham, 2004). E segundo Tokoyama e Johnson (1988) as principais bactérias que aparecem no rúmen de bezerros, às três semanas de vida, são diferentes da população microbiana de animais adultos. Somente entre nove e treze semanas de vida, a população microbiana reflete as correspondentes aos animais adultos. Portanto, com 22 dias os microorganismos provavelmente ainda não estavam bem estabelecidos, além de o consumo de concentrado nessa idade ter sido baixo (Tabela 27), dificultando a adaptação das bactérias à digestão do amido.

Tabela 32 - Produção de gases dos diferentes processamentos do milho com os inócuos de bezerros de diferentes idades

Grupos	Tempo após inoculação	Idade dos bezerros (dias)			
		22	42	64	84
Produção de Gases (mL)					
Floculado	6	28,3 a	40,2 a	49,0 a	45,3 a
	12	51,3 b	82,4 a	89,7 a	78,1 a
	48	154,6 c	213,2 a	220,7 a	195,6 b
Quebrado	6	15,2 a	19,7 a	28,3 a	26,1 a
	12	31,5 b	45,8 a	55,6 a	52,5 a
	48	119,3 c	169,9 a	173,7 a	155,7 b
Farelado	6	26,7 b	30,3 b	49,5 a	53,0 a
	12	58,9 b	82,5 a	100,4 a	95,6 a
	48	202,2 b	232,4 a	252,4 a	236,2 a
Reidratado	6	38,6 b	43,4 b	68,3 a	64,3 a
	12	86,6 b	103,6 ab	125,4 a	107,4 ab
	48	214,5 c	243,1 b	266,5 a	241,1 b

Médias seguidas de letras distintas nas linhas diferem pelo teste de SNK ($p < 0,05$).

Tabela 33 - Degradabilidade da matéria seca (%) dos diferentes processamentos do milho com os inócuos de bezerros de diferentes idades

Grupos	Tempo após inoculação	Idade dos bezerros (dias)			
		22	42	64	84
Degradabilidade MS (%)					
Floculado	6	11,7 b	20,9 a	24,9 a	23,7 a
	12	17,4 b	27,9 a	31,9 a	31,7 a
	48	46,1 b	57,4 a	62,6 a	54,3 a
Quebrado	6	7,5 a	12,1 a	11,7 a	11,3 a
	12	10,1 b	19,1 a	17,8 a	21,5 a
	48	35,8 c	52,3 a	50,8 a	43,1 b
Farelado	6	18,7 b	28,7 a	30,6 a	33,28 a
	12	27,2 b	41,9 a	39,1 a	42,4 a
	48	67,6 a	70,1 a	72,9 a	69,3 a
Reidratado	6	19,8 c	30,2 b	42,8 a	46,3 a
	12	33,1 b	36,2 b	47,2 a	49,9 a
	48	66,5 b	73,5 a	74,6 a	67,1 b

Médias seguidas de letras distintas nas linhas diferem pelo teste de SNK ($p < 0,05$).

CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES

De acordo com os resultados do presente experimento, o processamento de moagem e reidratação se mostraram semelhantes quanto a produção de gases e degradabilidade da matéria seca, na maior parte dos tempos e idades avaliadas, indicando que os dois tem potencial de produzir o mesmo desempenho de bezerros quando avaliada apenas a disponibilidade energética. No entanto é preciso considerar ainda os efeitos que os mesmos podem causar no ambiente ruminal.

Os resultados obtidos com o milho floculado indicam a necessidade de avaliação da qualidade do processamento antes da decisão de utilização, uma vez que, o tamanho e espessura do floco, a temperatura e umidade durante a floculação e a armazenagem parecem influenciar a disponibilidade energética do grão.

As diferenças de produção de gases e degradabilidades entre a avaliação com inoculo ruminal aos 22 dias de idade e as outras idades demonstram que a microbiota já é capaz de degradar o milho, no entanto, com menor eficiência que a partir dos 42 dias.

IMPLICAÇÕES

A avaliação conjunta dos resultados dos experimentos in vivo e in vitro apontam que a utilização de milho processado na alimentação de bezerros nos primeiros meses de vida deve ser feita com cuidado e associando diferentes processamentos do milho para evitar que os bezerros estejam susceptíveis a acidose ruminal e suas consequências além do fornecimento adequado de concentrações energéticas. Por exemplo, utilizando-se parte do milho reidratado, parte farelado e parte quebrado, já que são processamentos simples e baratos para se realizar na própria fazenda. Esta associação provavelmente irá evitar quedas bruscas de pH devido à maior mastigação e menor taxa de passagem proporcionada pelo milho quebrado sobrepondo os efeitos da rápida fermentação dos milhos reidratado e farelado. Para comprovar essas afirmativas mais estudos devem ser realizados para testar o fornecimento de concentrados com associações entre os processamentos do milho.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

AOAC. (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS). *Official methods of analysis*. 16.ed. Washington:AOAC, 1995.

CUNNINGHAM, J.G. Digestão: os processos fermentativos. In: *Fisiologia veterinária*. Quarta edição. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2004.

EUCLYDES, R.F. *Manual de utilização do programa SAEG (Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas)*. Viçosa: UFV, 59p. 1983.

GALYEAN, M. L.; JOHNSON, R.R.; WAGNER, D.G. 1975. Starch digestion of processed corn by steers. (Abst.) *Journal of Animal Science* n. 41, p. 400.

HALE, W. H. Influence of processing on the utilization of grains (starch) by ruminants. *Journal of Animal Science*, v.37, p.1075-1080. 1973.

HUNTINGTON, G. B. Starch utilization by ruminants: From basics to the bunk. *Journal of Animal Science*, v.75, p. 852-867. 1997.

LJOKJEL, K.; HARSTAD, O. M.; PRESTLOKKEN, E.; SKREDE, A. In situ digestibility of starch in barley grain (*Hordeumvulgare*) ad peas (*Psium sativum* L.) in dairy cows: influence of heat treatment and glucose additions. *Animal Feed Science Technology*. v.107, p.105-116. 2003.

MCALLISTER, T. A.; BAE, H. D.; JONES, G. A.; CHENG, K. J. Microbial attachment and feed digestion in the rumen. *Journal of Animal Science*, v.72, p.3004-3018. 1994.

MCALLISTER, T. A.; GIBB, D. J. BEAUCHEMIN, K. A. WANG, AND Y. starch type, structure and ruminal digestion. *Proceedings...Agriculture and Agri-Food Canada Lethbridge*. 2007.

MAURICIO, R.M., MOULD, F.L., DHANOA, M.S., OWEN, E., CHANNA, K.S, e THEODOROU, M.K. A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. *Animal Feed Science and Technology*. v.79, n.4, p.321-330, 1999.

SAEG - Sistema de Análises Estatísticas Versão 9.1 Viçosa, MG. *Universidade Federal de Viçosa*, 2007.

STOCK. R. A. Complementary effects of feed mixtures. *Roc. Great Plains Cattle Feeders Cod.* p. 81-97. 1987.

TOKOYAMA, M. T.; JOHNSON, K. A. Microbiology of the Rumen and Intestine. In: CHURCH, d.c. (Ed.) *The ruminant animal: digestive physiology and nutrition*. Englewood Cliffs: Prentice Hall, p.125-144. 1988.

TREI, J.; HALE, W. H.; THEURER, B. Effect of grain processing on *in vitro* gas production. *Journal of Animal Science*, v.30, p.825-831. 1970.