**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Suplementação com grão de milho inteiro tipo flint ou feno de gramínea
tropical na dieta de bezerros leiteiros**

Ariany Faria de Toledo

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra
em Ciências. Área de concentração: Ciência Animal e
Pastagens

**Piracicaba
2020**

Ariany Faria de Toledo
Zootecnista

**Suplementação com grão de milho inteiro tipo flint ou feno de gramínea tropical na dieta
de bezerros leiteiros**

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientadora:
Profa. Dra. **CARLA MARIS MACHADO BITTAR**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra
em Ciências. Área de concentração: Ciência Animal e
Pastagens

Piracicaba
2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Toledo, Ariany Faria de

Suplementação com grão de milho inteiro tipo flint ou feno de gramínea tropical na dieta de bezerros leiteiros / Ariany Faria de Toledo. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. -- Piracicaba, 2020.

79 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

1. Papila 2. pH 3. Vilosidades 4. Fibra I. Título

DEDICATÓRIA

A meus pais, Elisabete e Antônio, que não mediram esforços para que eu chegasse até aqui.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço,

Aos meus pais, pelo amor e apoio incondicional, que me proporcionaram incentivo nas horas difíceis de desânimo e cansaço. Obrigada meus irmãos, que sempre fizeram entender que o futuro é feito a partir da constante dedicação no presente!

A Professora Carla Maris Machado Bittar, pela oportunidade de ingressar no mestrado, pela paciência, ensinamentos e orientação.

Ao Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, ao programa de “Ciência Animal e Pastagens” e a todos os professores que contribuíram com seus ensinamentos.

A todos meus colegas do Grupo de Pesquisa em Metabolismo Animal da ESALQ e aos estagiários do Clube de Criação de Bezerros (CCB), pelo convívio e aprendizado diários, além dos muitos momentos de descontração que realizamos durante os dias de trabalho.

À querida Idalina, que me recebeu de forma muito agradável no bezerreiro e sempre se manteve disposta a ouvir-me e aconselhar-me. Ao membros do Clube de Práticas Zootécnicas (CPZ) por sempre ajudarem na lida diária.

Ao professor Danilo Millen e Alexandre Vaz Pires pelo auxílio com as análises histológicas e bromatológicas.

Aos funcionários do Setor de Não Ruminantes, Ednesio, Alexandre e todos os demais, que sempre nos auxiliaram nas dificuldades da rotina de trabalho.

As minhas amigas Milaine, Graziela, Gabriela, Ana, Gabrieli e Barbara, por tornarem minha jornada em Piracicaba mais leve e alegre, e me mostrar que a vida é melhor com amigos.

Ao meu noivo Daniel Polizel que sempre se dedicou com muito carinho, me auxiliando em todos os momentos dessa jornada.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela concessão da bolsa e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa e financiamento do projeto, (Processo: 2018/01248-0).

Muito obrigada!!

SUMÁRIO

RESUMO.....	6
ABSTRACT.....	7
LISTA DE ABREVIATURAS	8
1. INTRODUÇÃO	9
2. REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1. Sistemas de aleitamento sobre o consumo da dieta sólida	13
2.2. Papel do concentrado e volumoso no desenvolvimento ruminal	14
Anatomia e fisiologia.....	14
Estabelecimento da microbiota ruminal	18
Parâmetros histológicos do epitélio ruminal.....	20
Parâmetros histológicos do intestino delgado e ceco	21
2.3. Implicações do consumo de forragem sobre o desempenho	22
2.4. Grão de milho inteiro na dieta	26
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	29
4. RESULTADOS	37
4.1. Consumo e Desempenho	37
4.2. Crescimento corporal	42
4.3. Parâmetros de fermentação ruminal	42
4.4. Escore e pH fecal	45
4.5. Parâmetros bioquímicos.....	47
4.6. Peso dos compartimentos e dos órgãos	49
4.7. Parâmetros morfométricos.....	50
5. DISCUSSÃO	53
6. CONCLUSÃO.....	65
REFERÊNCIAS.....	67
ANEXOS.....	77

RESUMO

Suplementação com grão de milho inteiro tipo flint ou feno de gramínea tropical na dieta de bezerros leiteiros

O feno de gramínea tropical pode auxiliar na manutenção da saúde ruminal, no entanto, pode diminuir a ingestão de energia, enquanto o grão de milho inteiro pode ser uma fonte alternativa de fibra na dieta de bezerros jovens. Quarenta e dois bezerros da raça Holandesa foram utilizados em delineamento de blocos ao acaso, considerando sexo, data de nascimento e peso aos 21 dias de idade ($48,7 \pm 0,82$ kg), quando a suplementação começou. Três dietas sólidas foram comparadas: 1) Controle: concentrado comercial (24,7% PB, 13,9% FDN, 46,6% CNF); 2) Feno: concentrado comercial, suplementado com feno de Tifton picado de livre escolha; e 3) Milho: concentrado comercial suplementado com grãos de milho inteiro de livre escolha. O período experimental foi de 84 dias, onde os bezerros receberam o mesmo manejo durante os primeiros 21d alimentados com 6L/d de leite integral e concentrado comercial, seguido de redução para 4L/d de leite integral até o desaleitamento gradual aos 56 dias de idade. Aos 56d foram escolhidos aleatoriamente 4 animais por tratamento para serem abatidos e realizadas análises histológicas do rúmen, duodeno e ceco, os outros trinta animais foram desaleitados e avaliados por mais 28 dias, quando os animais do tratamento controle passaram a receber feno ad libitum. O consumo de ração foi medido diariamente. O ganho de peso e os indicadores metabólicos do metabolismo intermediário foram avaliados semanalmente. O líquido ruminal foi coletado nas semanas 6, 8, 10 e 12 de idade. O livre acesso ao feno promoveu um aumento no consumo de matéria seca (CMS) total e no CMS do concentrado, conseqüentemente, os bezerros suplementados com feno apresentaram maior ganho de peso diário e maior peso ao desaleitamento. O livre acesso ao grão de milho inteiro promoveu aumento na proporção de propionato e diminuição na relação acetato:propionato. Os parâmetros morfométricos foram afetados pelo livre acesso ao feno. O desempenho no pós-aleitamento não foi afetado pelas dietas sólidas, no entanto, a suplementação com grão de milho inteiro diminuiu o pH ruminal e o pH fecal. A suplementação com feno de Tifton na dieta, desde os 21 dias de idade, pode estimular uma ingestão precoce da dieta sólida, promovendo melhor desempenho, garantindo a saúde ruminal e intestinal após o desaleitamento de bezerros leiteiros.

Palavras-chave: Papila, pH, vilosidades, fibra.

ABSTRACT

Supplementation with whole flint corn grain or tropical perennial hay in the diet of dairy calves

Tropical hay may result in ruminal health, however, may be decrease energy intake while the whole corn grain may be an alternative fiber source in the diet of young dairy calves. Forty-two Holstein calves were used in a randomized block design, considering sex, birth date and weight at 21 days of age, when the supplementation started. Three solid diets were compared: 1) Control: starter concentrate; 2) Hay: starter concentrate, supplemented with free choice chopped Tifton hay; and 3) Whole corn: starter concentrate supplemented with free choice whole corn grain. The experimental period was 84 days, but calves were equally managed during the first 21 days when they were fed with 6L/d of whole milk and commercial concentrate ad libitum. After that, milk feeding was reduced to 4L/d of whole milk until gradual weaning at 56 days of age. At d56, four animals were randomly chosen per treatment to be slaughtered to collect tissue for histological analysis of the rumen, duodenum and cecum, the other thirty animals were weaned and evaluated for a further 28d when control animals received hay ad libitum. Feed intake was measured daily. Weight gain and metabolic indicators of intermediate metabolism were evaluated weekly. Ruminal fluid was collected at week 6, 8, 10 and 12 of age. Free access to hay promoted an increased in the total DMI and concentrate DMI, consequently, calves supplemented with hay presented higher average daily gain and higher body weight at d56. Free access to whole corn grain promoted an increase in propionate and decreased acetate-to-propionate ratio. Morphometrics parameters were affected by free access to hay. The performance in the postweaning period were unaffected by solid diets, however, supplementation with whole corn grain decreased rumen pH and fecal pH. Tifton hay, since 21 day of life, can stimulate an early solid diet intake, promoting better performance, ensuring ruminal and intestinal health after weaning.

Keywords: Papillae, pH, villus, fiber source.

LISTA DE ABREVIATURAS

MS	Matéria seca
BHBA	β -hidroxibutirato
PB	Proteína bruta
FDN	Fibra insolúvel em detergente neutro
FDA	Fibra insolúvel em detergente ácido
CNF	Carboidrato não-fibroso
GMD	Ganho médio diário
EA	Eficiência Alimentar
AGCC	Ácido graxo de cadeia curta
PC	Peso corporal
ASA	Área de superfície absorviva
CMS	Consumo de matéria seca
DMS	Digestibilidade da matéria seca
DTT	Digestibilidade aparente do trato total

1. INTRODUÇÃO

O melhor desempenho animal na fase inicial permite maior lucratividade para as propriedades leiteiras e empresas de laticínios (Quigley, 2006). Dessa forma, o bom planejamento na criação das bezerras garante crescimento e desenvolvimento em taxa crescente durante todo o período de aleitamento. Além disso, a chave para maximizar os lucros e preparar as bezerras para fase de transição é propiciar, desde o nascimento, excelente nutrição, boas práticas de manejo e higiene (Pineda et al., 2016), evitando o baixo desempenho e as altas taxas de morbidade e mortalidade nas primeiras semanas de vida (Hulbert e Moisés, 2016).

O desenvolvimento físico e metabólico do rúmen é um fator importante para a transição gradual das bezerras para a fase adulta (Khan et al., 2016), o que pode garantir melhor eficiência da utilização dos alimentos sólidos, melhor desempenho e estado geral de saúde dos animais (Drackley, 2008). Essa fase de transição da dieta líquida para dieta sólida condiz com o desenvolvimento das glândulas salivares, início do comportamento de ruminação, alterações fisiológicas intestinais, hepáticas e teciduais do trato gastrointestinal (Baldwin et al., 2004; Khan et al., 2011).

Fatores como a natureza dos ingredientes sólidos oferecidos, a quantidade ingerida, o teor de inclusão de carboidratos e o processamento de grãos (Lesmeister e Heirichs, 2004; Khan et al., 2008) e da forragem (Suárez et al., 2007; Castells et al., 2013), afetam os padrões de fermentação nos pré-estômagos, acelerando o desenvolvimento ruminal, induzindo ao estabelecimento precoce do microbioma (Baldwin et al., 2004). O aumento dos produtos de fermentação ruminal, como os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), desencadeia o desenvolvimento do epitélio ruminal, o que proporciona maior área de troca entre o conteúdo ruminal e a corrente sanguínea. Assim, o rúmen torna-se capaz de fermentar os alimentos sólidos e o epitélio passa a absorver-los e metabolizá-los, disponibilizando-os como fonte de energia para a bezerra.

Muitos concentrados comerciais apresentam a forma física peletizada e são formulados com altos níveis de CNF para promover o desenvolvimento ruminal e o desempenho dos bezerros. É comum encontrar concentrados comerciais com níveis inadequados de fibras, resultando em efeitos negativos, como baixa ingestão de alimentos sólidos e saúde ruminal reduzida (Khan et al., 2016). O milho moído finamente contido no concentrado peletizado é digerido rapidamente no rúmen e mais completamente sobre o trato digestivo total do que o milho moído grosseiramente (Remond et al., 2004). Além disso, os pellets macios se quebram durante o manuseio ou enquanto saem do moinho, levando a uma dieta sólida que pode conter grandes quantidades de partículas finas (Batman et al., 2009). Quando fornecido aos bezerros, dietas sólidas com tamanho reduzido

de partículas reduzem a ingestão do concentrado e podem promover paraqueratose ruminal (Greenwood et al., 1997). Por outro lado, o milho não processado fornece uma taxa de passagem lenta, bem como uma fermentação lenta do amido, o que reduz a produção excessiva de lactato no rúmen (Britton e Stock, 1987).

O grão de milho inteiro do tipo duro (*flint* - *Zea mays ssp. Indentura*), por ser rico em endosperma vítreo, matriz proteica compacta e densa, com amido menos disponível, seria uma alternativa na dieta com objetivo de fornecer estímulo mecânico de mastigação e ruminação, sem reduzir o consumo de energia e facilitar o manejo da dieta sólida. O milho tipo *Flint* é o grão de cereal mais cultivado na América do Sul e o principal grão utilizado nas dietas para ruminantes no Brasil (Correa et al., 2002). A inclusão desse ingrediente em substituição às fontes de forragem reduziria o custo operacional com o volumoso e sua estocagem, facilitando o manejo com a dieta sólida dos bezerros nessa fase inicial. O tamanho médio das partículas e a fibra em detergente neutro fisicamente efetiva (peFDN) indicam possível potencial de uso do grão de milho para promover a mastigação e prevenir a acidose ruminal (Yang e Beauchemin, 2006). Quando os bezerros são alimentados com concentrados de peletizados com baixa fibra, o grão de milho na dieta pode ser uma alternativa para estimular a mastigação e a ruminação sem reduzir a ingestão de energia, facilitando o gerenciamento de uma dieta sólida.

Por outro lado, a inclusão de forragem ou coprodutos que fermentam lentamente, pode contribuir para o aumento e estabilização do pH ruminal, sendo de extrema importância para manutenção da saúde do rúmen e, conseqüentemente, do consumo de dieta sólida. No entanto, trabalhos que forneceram forragem ad libitum com fontes de fibra de ótima qualidade, observaram substituição do consumo de concentrado e até mesmo redução no consumo de nutrientes (Quigley, 1996; Hill et al., 2008). Nesse cenário, são necessários estudos avaliando a utilização de fontes de forragem de qualidade intermediária sobre o desempenho de bezerras na fase inicial de desenvolvimento, como por exemplo, os fenos de gramíneas tropicais. O *cynodon dactylon*, especialmente a cultivar Tifton-85 (*Cynodon spp.*), Mostrou resultados promissores na alimentação de ruminantes adultos devido às suas características de alta produtividade, boa composição nutricional (14,37% de PB, 79,67% de FDN e 58,40 NDT) e aceitação pelos animais (Ribeiro et al., 2001).

Nós hipotetizamos que 1) o fornecimento de feno de gramínea tropical como livre escolha, a partir do período de aleitamento, pode resultar em maior consumo de FDN sem reduzir o desempenho, reduzindo a acidose ruminal em relação ao fornecimento exclusivo de concentrado peletizado; e 2) o fornecimento de grão de milho inteiro como livre escolha, a partir do período de aleitamento, pode resultar em maior ingestão de nutrientes, melhorando o desempenho e o

desenvolvimento ruminal, mas com maior risco à saúde ruminal, em comparação com a alimentação exclusiva de concentrado peletizado ou a combinação do concentrado comercial com feno de gramínea tropical de livre escolha.

Nesse sentido, o objetivo do presente estudo foi avaliar bezerros alimentados com concentrado convencional com ou sem a suplementação de grão de milho inteiro ou feno de gramínea tropical na dieta sólida, no período de aleitamento até o pós-aleitamento, avaliando os efeitos da suplementação a curto e a médio prazo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Sistemas de aleitamento sobre o consumo da dieta sólida

Pesquisas recentes com bezerros leiteiros investigam melhorias de manejo e nutrição a fim de trazer benefícios para produção futura. Dentre as principais pesquisas, os diferentes sistemas de aleitamento tem sido foco de muitos grupos, em que a taxa de crescimento no período de aleitamento e pós-aleitamento dos bezerros podem estar associadas ao desenvolvimento do trato gastrointestinal e a digestibilidade dos nutrientes no período inicial de vida. A quantidade da dieta líquida a ser fornecida varia de acordo com o sistema de aleitamento adotado pelo produtor de leite, sendo as mais comuns: convencional, programado ou intensivo.

O aleitamento intensivo preconiza o fornecimento de dieta líquida em quantidades acima de 20% do peso vivo do bezerro, dividido em 2 refeições por dia. Nesse sentido, a maior ingestão de nutrientes advindos da dieta líquida resulta em maiores ganhos diários e maior eficiência alimentar (Blome et al., 2003). A literatura mostra que o maior ganho de peso durante a fase de aleitamento, obtido mais facilmente com o fornecimento de maiores volumes de dieta líquida, pode aumentar a produção futura de leite (Heinrichs et al., 2003; Soberon et al., 2012). Por essa razão, muitos produtores mudaram o sistema de alimentação restrito (convencionalmente 4 L/d) para sistemas mais intensivos que incluem maiores volumes de dieta líquida (8 a 10L/d). No entanto, neste sistema ocorre menor consumo de concentrado, resultando em menor desenvolvimento ruminal dos animais e, conseqüentemente, menor desempenho pós-aleitamento.

O consumo acima de 750-800g de matéria seca (MS) provenientes do leite ou substitutos do leite, deprimem o consumo de concentrado (Gelsinger et al., 2016). Além disso, causam redução na digestibilidade da matéria seca da dieta sólida, tanto na fase de aleitamento quanto no pós-aleitamento (Quigley, 2018), assim como reduções na digestibilidade do FDN presente na dieta durante a fase de aleitamento (Terré et al., 2006).

A redução da digestibilidade dos alimentos sólidos pelo menor desenvolvimento ruminal é um alerta para o risco de redução no crescimento no desaleitamento. Ou seja, parte das vantagens do crescimento acelerado obtida com o sistema de aleitamento intensivo pode ser perdida, porque os bezerros não estão preparados para manter o crescimento apenas consumindo alimentos sólidos (Bach et al., 2014).

O sistema de aleitamento convencional baseia-se no fornecimento da dieta líquida no volume de 10% do peso vivo do bezerro, normalmente quatro litros, divididos em duas refeições. Esse sistema de aleitamento têm como objetivo estimular o consumo de concentrado e desaleitar os animais quando o rúmen está preparado anatômica e metabolicamente para consumir a dieta de

um ruminante adulto (De Paula et al., 2017). Ademais, a alimentação convencional (4 L/d) pode reduzir os custos de criação, o que é atraente para alguns sistemas de produção de leite (Davis e Drackley, 1998). Todavia, nas primeiras semanas de vida, em que o consumo de concentrado dos bezerros ainda é baixo, o sistema de aleitamento convencional proporciona baixo teor de proteína e energia metabolizável, permitindo baixo ganho de peso segundo as equações do NRC, (2001).

Já o aleitamento programado, baseia-se no fornecimento de quantidades de dieta líquida acima de 10% do peso vivo dos bezerros, principalmente nas primeiras semanas de vida em que o crescimento está mais acelerado, seguido de redução desse volume após a terceira semana de vida (step-down). Esta estratégia alimentar pode estimular o consumo da dieta sólida e proporcionar melhor desempenho na fase de aleitamento e pós-aleitamento (Omidi-Mirzaei et al., 2015).

Logo, quanto mais cedo o animal estiver apto a consumir e metabolizar alimentos sólidos, mais cedo poderá ser desaleitado sem passar por grandes estresses como reduções no consumo e no crescimento. Consequentemente, mais leite será comercializado, gerando lucros para propriedade (Lizieire et al., 2002).

2.2. Papel do concentrado e volumoso no desenvolvimento ruminal

Anatomia e fisiologia

Ao nascer, os ruminantes apresentam o retículo-rúmen pouco desenvolvido e não funcional, representando 30% do total dos quatro compartimentos (rúmen, retículo, omaso e abomaso). Em torno de 3 a 4 semanas de vida, dependendo da dieta sólida do animal, o retículo-rúmen passa a corresponder a 60% do total dos quatro compartimentos, enquanto o abomaso, somente a 27%. Bezerros com mais de 12 semanas de vida apresentam o sistema digestivo próprio de um ruminante, em que o retículo-rúmen representa 85% e o abomaso apenas 7% do total dos quatro compartimentos (Huber, 1969).

O rúmen dos bezerros deve passar por alterações e estar parcialmente desenvolvido para que o desaleitamento ocorra com êxito, e assim, serem capazes de digerir alimentos sólidos e manter as taxas de crescimento. As principais mudanças em termos de desenvolvimento vão ocorrer no retículo-rúmen, o qual será colonizado por diferentes tipos de microrganismos e terá sua musculatura e parede interna desenvolvida.

O desenvolvimento ruminal se deve a uma série de fatores; como a disponibilidade de água e, principalmente, a presença de alimentos sólidos no rúmen, que permitem que haja fermentação por microrganismos, promovendo o aumento da capacidade absorviva do tecido ruminal (Quigley, 1996).

Os alimentos sólidos, quando fornecidos desde os primeiros dias de vida, podem afetar de forma positiva o desenvolvimento ruminal de várias formas: 1) induzindo o estabelecimento precoce de um ecossistema microbiano (Baldwin et al., 2004); 2) aumentando os produtos de fermentação ruminal, isto é, AGCC; e 3) desencadeando o desenvolvimento do epitélio ruminal, através de papilas saudáveis (Khan et al., 2008).

O alimento sólido, seja concentrado, feno ou ambos, proporciona alterações no rúmen-retículo e omaso. O desenvolvimento em termos de volume só pode ser conseguido com a presença de alimentos grosseiros, como os volumosos. O maior tamanho de partícula da forragem fornece estímulo físico para aumentar a motilidade ruminal, a muscularização, o volume e o peso ruminal em bezerros (Tamate et al., 1962; Khan et al., 2011; Kosiorowska et al., 2011).

O consumo de forragem, mesmo sendo de boa qualidade, resulta em menor produção de butirato e propionato, e maior produção de acetato, proporcionando menor estímulo químico para o desenvolvimento papilar (Bull et al., 1965). Por outro lado, a ingestão precoce de forragem irá induzir o início mais precoce dos ciclos de ruminação em bezerros, resultando em maior salivação e tamponamento do trato gastrointestinal (Imani et al., 2017).

Em contrapartida, o consumo de alimentos concentrados, com alto teor de carboidratos não fibrosos (CNF) e proteína, promove a fermentação e a maior produção total de AGCC, sendo indispensável o fornecimento desde os primeiros dias de vida (Anderson et al., 1987). Nas primeiras semanas, considerando que o consumo de matéria seca ainda é baixo, a maior eficiência fermentativa dos concentrados é um ponto favorável para produção de AGCC, e consequente estímulo do epitélio ruminal (Khan et al., 2016).

Dentre os principais AGCC produzidos na fermentação do concentrado, o ácido butírico é o mais importante em estimular a diferenciação celular do epitélio ruminal, seguido pelo ácido propiônico, tendo o ácido acético pouca importância. Os ácidos butírico e propiônico, quando absorvidos pelo epitélio ruminal, podem ser utilizados pelas células epiteliais como fonte de energia e estimulam o crescimento e diferenciação do epitélio, propiciando maior número, altura e largura das papilas, o que resulta em maior taxa de absorção (Baldwin et al., 2004). O ácido propiônico não utilizado será precursor da glicose oriunda de neoglicogênese hepática. O ácido butírico é extensamente metabolizado pelas células epiteliais do rúmen. No entanto, não é ao todo oxidado para geração de energia, uma boa parte desse ácido é convertido a corpos cetônicos na mitocôndria das células epiteliais, principalmente a b-hidroxibutirato (BHBA). As concentrações plasmáticas de BHBA são consideradas uma medida da maturação fisiológica ruminal e aumentam conforme a ingestão de concentrado cresce (Bittar et al., 2009).

Levando em consideração que o animal na fase de aleitamento, não possui o trato gastrointestinal (TGI) completamente desenvolvido, a composição do concentrado deve possuir ingredientes de alta digestibilidade. Davis e Drackley, (1998), sugerem que os concentrados devem apresentar teores de proteína bruta (PB) em torno de 20 a 22%, 80% de nutrientes digestíveis totais (NDT), fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) entre 15 e 25% e fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) entre 6 e 20%. A recomendação de amplas faixas de teores de FDN e FDA, deve assegurar dois papéis fundamentais para os teores de fibra nos concentrados. Os teores mínimos têm como principal objetivo garantir a saúde do epitélio ruminal, através do estímulo físico, ruminação e salivação, tamponando o pH ruminal; enquanto que os teores máximos garantem a inclusão de ingredientes de alta digestibilidade.

À medida que o consumo de alimentos sólidos dos bezerros aumenta, fatores dietéticos como a natureza físico-química do substrato disponível, processamento dos grãos, inclusão de volumoso na dieta, tamanho de partícula, métodos de alimentação e qualidade e nível de proteína afetam a diversidade microbiana do rúmen e consequentemente, os produtos finais da fermentação (Lesmeister e Heinrichs, 2004). O uso de concentrados com inadequado teor de fibra, embora estimule de forma mais acentuada o desenvolvimento, pode resultar em alterações marcantes no pH. Uma vez que o epitélio ruminal está subdesenvolvido, a produção de AGCC pode exceder a capacidade de absorção do epitélio, provocando queda acentuada no pH ruminal (Willians et al., 1987). Além disso, os concentrados podem estimular a produção de ácido lático no rúmen que associado ao fato de terem menor capacidade tampão e menor estímulo a ruminação, levam a redução do pH a níveis que prejudicam o estabelecimento de microrganismos que degradam a fibra (Tabela 1).

Tabela 1. Efeito do concentrado e do volumoso nos parâmetros de desenvolvimento ruminal

Parâmetro	Concentrado	Volumoso
Peso do rúmen	+	++
Volume do rúmen	+	++
Diferenciação/crescimento de papilas	++	+
Cetogênese/Concentração de BHBA	+	+
Motilidade ruminal /taxa de passagem	+	++
Microrganismos ruminais		
Bactérias	Amilolíticas	Celulolíticas
Protozoários	-	+
Ácidos orgânicos (lactato, C2, C3, C4)	++	+
Acetato:propionato	-	+
Butirato (C4)	++	+
Lactato	+	-
pH ruminal	-	+
Capacidade tampão/ruminação	-	+
Saúde ruminal/paraqueratose	-	+

Adaptado de (Khan et al., 2016).

O baixo pH traz implicações para a composição da comunidade microbiana, causando alterações na população indesejada e digestão ineficiente dos alimentos (Penner e Oba, 2009). Em adição, o baixo pH ruminal proporciona alterações, como a diminuição da motilidade ruminal (Krause e Oetzel, 2006) e aumento na queratinização das papilas (hiperqueratose), um processo inflamatório devido ao acúmulo de ácido no rúmen (Bull et al., 1965). Como resposta, as papilas produzem grandes camadas de queratina para proteção, o que resulta em diminuição do fluxo sanguíneo para a mucosa ruminal, prejudicando a absorção dos produtos finais da fermentação e, consequentemente, o desempenho.

Duffield et al. (2004) propuseram valores de pH de 5,5; 5,8; 5,9 para acidose ruminal subaguda (SARA), e valores de pH de 5,0 e 5,2 para acidose ruminal aguda (ARA) quando são realizadas colheitas através de técnicas de ruminocentese, cânula e sonda esofageana, respectivamente. A SARA está associada às reduções no consumo e na digestibilidade da fibra, aumentando a produção de AGCC e a osmolaridade no rúmen, sem aumentar as concentrações de lactato (Schwartzkopf-Genswein et al., 2003).

Poucos trabalhos relatam a ocorrência de acidose subaguda em animais na fase de aleitamento. Tomando por parâmetro o padrão de pH em vacas leiteiras, bezerros que apresentam pH abaixo de 5,5 por longos períodos durante o dia podem ser considerados animais em acidose subaguda (Calsamiglia et al., 2012). Em trabalhos como os de Quigley et al. (1996) e Daneshvar et al. (2015), bezerros alimentados somente com concentrado mantiveram o pH ruminal em níveis abaixo de 5,8 e em algumas horas do dia valores próximos de 5,0, indicando a possibilidade desses animais enfrentarem os desafios causados pelo excesso de ácido no rúmen.

Alguns fatores são apontados como responsáveis para a manutenção dos níveis baixos de pH ruminal, dentre eles estão a alta inclusão de carboidratos prontamente fermentescíveis na ração inicial (Bull et al., 1965; Laarman e Oba, 2012) e a fermentação rápida de grãos de cereais processados. Esses fatores podem resultar em altas proporções de lactato, um ácido mais forte que os AGCC, podendo ocasionar acidose ruminal, e em casos mais severos aumento na concentração de antígenos, como o LPS na digesta, desafiando a integridade do epitélio ruminal e intestinal (Wood et al., 2015). Outro fator a ser considerado é a produção limitada de saliva em animais jovens, resultando em menor quantidade de bicarbonato que chega ao rúmen (Kay, 1960), diminuindo a capacidade de tamponamento do fluido ruminal (Gozho et al., 2006). Desse modo, as grandes variações observadas no consumo de concentrado durante o período de aleitamento podem estar relacionadas a quedas de pH e acidose subclínica.

Trabalhos que avaliaram os efeitos da forma física das dietas e a inclusão de várias fontes de fibra, forrageira ou não forrageira, com intuito de aumentar o pH ruminal e alterar o perfil de fermentação, indicaram que a forma física e distribuição de tamanho de partícula no concentrado são mais importante do que o nível de fibra para estimular a ruminação e trazer melhoria para fermentação ruminal (Suárez et al., 2006a, b; Porter et al., 2007; Hill et al., 2009). Todavia, esses resultados foram questionados por Terré et al. (2013), que relataram que a oferta de forragem, e não apenas o aumento do teor de fibra no concentrado, foi necessário para aumentar o pH ruminal perto do desaleitamento.

A partir dos dados acima pode-se concluir que em alguns casos a inclusão de forragem na dieta já nas primeiras semanas de vida pode ser uma alternativa interessante para os sistemas de criação de bezerras, embora haja inconsistência nos dados.

Estabelecimento da microbiota ruminal

O rúmen de um animal adulto é formado por um complexo ecossistema microbiano anaeróbico, compreendendo várias espécies de bactérias, protozoários e fungos. No entanto, o estabelecimento da microbiota ruminal é um processo longo e dependente de fatores como a idade,

o manejo, a genética e principalmente a dieta. A dieta tem efeito importante no desenvolvimento fisiológico do rúmen e para a capacidade do animal em converter a matéria orgânica consumida em produtos que podem ser utilizados para manutenção e produção (Jami et al., 2013).

Em sistemas de aleitamento natural, os bezerros são criados com suas mães e começam a adquirir e formar a população microbiana anaeróbica por meio do contato com ela, com animais mais velhos ou simplesmente com o ambiente. Contudo, para bezerros criados individualizados, essa aquisição e estabelecimento da microbiota ruminal se torna dependente do tipo da dieta oferecida, instalações e manejo (Fonty et al., 1988; Beharka et al., 1998).

Nas primeiras horas de vida, o rúmen é rapidamente colonizado e na primeira semana de vida é possível encontrar grupos de bactérias anaeróbicas funcionais, incluindo bactérias celulolíticas, bactérias redutoras de sulfato e outras espécies que utilizam hidrogênio, como as metanogênicas (Rey et al., 2015).

Em sistemas de alojamento individual, alguns microrganismos ruminais habitualmente encontrados em ruminantes adultos não se estabelecem por muitas semanas após o nascimento (Anderson et al., 1982; Minato et al., 1992; Franzolin e Dehority, 1996). Nessa situação, o tipo de alimento sólido e a frequência de alimentação são fatores fundamentais que influenciam o microbioma ruminal, sendo, a natureza dos ingredientes (forma física e composição química) e as estratégias de desaleitamento, particularmente fundamentais (Khan et al., 2016).

As dietas com alto teor de carboidratos rapidamente fermentáveis favorece bactérias amilolíticas que resultam em maiores proporções molares de butirado e propionato (Schwartzkopf-Genswein et al., 2003). Por outro lado, o consumo de fibra, que possui carboidratos degradáveis lentamente, favorece bactérias celulolíticas e resulta em maiores proporções molares de acetato no rúmen (Tabela 1).

Além das bactérias, os protozoários e fungos possuem uma participação importante na fermentação ruminal. O baixo pH é ruminal o principal fator responsável pela falha no estabelecimento de ambas populações, protozoários ciliados e fungos, em bezerros (Eadie, 1962). O atraso no estabelecimento desses microrganismos no rúmen pode ser parcialmente atribuído à alta alimentação de grãos, com teor inadequado de fibra, e a um ambiente ruminal ácido (Beharka et al., 1998; Minato et al., 1992; Franzolin and Dehority, 1996).

Uma metanálise realizada por Khan et al. (2016) concluiu que os itens discutidos acima como a natureza dos ingredientes da dieta sólida (volumoso ou concentrado), métodos de desaleitamento e fatores de manejo (individualização ou agrupamento), podem afetar o comportamento ingestivo e a inoculação microbiana do TGI, sendo que em muitas fazendas

comerciais, o desaleitamento (transição da dieta líquida para dieta sólida) ocorre antes mesmo que a colonização microbiana do rúmen esteja completa (Fonty et al., 1983). Nesse sentido, o início do consumo de alimentos sólidos é essencial para promover a colonização do microbioma ruminal através da inoculação, promovendo o desenvolvimento de bezerros jovens.

A presença da microbiota anaeróbia ruminal e a presença de substratos como a matéria orgânica advinda da dieta sólida propiciará um ambiente adequado para o início da fermentação ruminal, e conseqüentemente, maior ingestão de alimento sólido.

Parâmetros histológicos do epitélio ruminal

O estudo da histologia do epitélio ruminal e intestinal, bem como a capacidade de absorção de ambas as partes auxiliam no esclarecimento do desenvolvimento do trato gastrointestinal de bezerros leiteiros em crescimento.

O epitélio ruminal, capaz de absorção, síntese e secreção, é uma parte importante do metabolismo ruminal (Kalanchnyuk et al., 1987). A diferenciação do epitélio ruminal inicia-se durante a vida intrauterina, no entanto, ao nascer a diferenciação papilar ainda não está completa e vai depender dos produtos gerados a partir da fermentação ruminal para garantir o desenvolvimento, metabolismo e atividade de absorção do rúmen (Kauffold et al., 1977).

O epitélio ruminal é do tipo estratificado pavimentoso queratinizado formado por quatro camadas de células distintas: basal, espinhosa, granulosa e córnea ou queratinizada (Lavker et al., 1969). A proliferação desse tipo de epitélio ocorre a partir da camada basal, onde as células entram em divisão mitótica conforme a necessidade de suprimento celular para o epitélio. Estas por sua vez sofrem diferenciação e migram para as demais camadas do epitélio até alcançar a camada córnea e projetar-se para dentro do lúmen ruminal dando origem as papilas (Lavker e Matoltsy, 1970).

As papilas ruminais são projeções da túnica mucosa para o lúmen do órgão e são responsáveis por aumentar a área de superfície de contato, ou seja, a área de troca entre o conteúdo ruminal e a corrente sanguínea. O tamanho e o formato das papilas são dinâmicos e sujeitos às mudanças da dieta (Cunningham, 1992), e são responsáveis pelo aumento da área absorptiva. A maior parte da absorção de AGCC e outros metabólitos ocorre em nível de papilas ruminais (Banks, 1991), sendo que os AGCC servem como estimuladores do desenvolvimento das papilas (Cunningham, 1992). Com isso, pode se explicar o fato de que em áreas de maior absorção, há um maior desenvolvimento de papilas ruminais. Sakata et al. (1980) descreveram que o rúmen se adapta ao aumento da ingestão de rações de alta energia através da hiperplasia das células

epiteliais, e que os AGCC, provenientes da fermentação ruminal, estimulam a mitose do epitélio ruminal.

Dessa forma, a fermentação microbiana de carboidratos estruturais e não-estruturais se tornam essenciais nesse processo de desenvolvimento. A produção AGCC são utilizados pelos ruminantes como fonte de energia para diversos processos metabólicos e a concentração dos mesmos no rúmen, reflete no balanço entre a produção e a remoção destes, em que a saída desses ácidos do rúmen ocorre por passagem da fase fluída para o omaso ou por absorção através da parede ruminal (Resende Júnior et al., 2006).

Além disso, as papilas devem se desenvolver com ausência de lesões que possam diminuir a área de absorção do rúmen. Dietas que estimulam a atividade metabólica do epitélio ruminal, podem contribuir acelerando a maturação deste órgão, o que permite o desaleitamento precoce, sem perdas nas taxas de crescimento (Nussio et al., 2003).

Parâmetros histológicos do intestino delgado e ceco

O intestino delgado é constituído por dobras macro e microscópicas denominadas de vilosidades e microvilosidades, que aumentam a área de absorção do órgão. As vilosidades intestinais por sua vez, são constituídas por células responsáveis pela defesa, digestão, absorção e secreção de hormônios e enzimas.

O tamanho das vilosidades é regulado pela taxa de proliferação e pela morte programada das células epiteliais da mucosa (Blattler et al., 2001; Roffler et al., 2003; Bittrich et al., 2004). Ao atingir a porção apical das vilosidades, as células sofrem morte celular programada e em seguida migram para o lúmen intestinal (Burguess, 1998). Os mecanismos que desencadeiam a morte celular programada não são bem conhecidos, mas sabe-se que fatores de crescimento, hormônios e absorção de IgG podem influenciar esse processo (Castro-Alonso et al., 2008).

A eficiência absorptiva está relacionada ao tamanho das vilosidades, sendo que logo nos primeiros dias de vida ocorrem grandes mudanças nas características histológicas do epitélio intestinal. As vilosidades do duodeno e jejuno, nos primeiros dias de vida dos bezerros torna-se mais baixas e uniformes, indicando uma redução na eficiência absorptiva com o avanço da idade (Pauletti et al., 2007).

Entre as vilosidades ocorrem depressões correspondentes as glândulas intestinais ou criptas de Lieberkuhn. As criptas por apresentarem células-tronco, geram constantemente novas células responsáveis pela reposição da camada epitelial. Da região das criptas as células se formam, e continuamente migram para o topo das vilosidades, podendo ter ações morfológica e

funcionalmente diferentes, como secreção de enzimas digestivas ou produção de hormônios e enzimas de defesa (Godlewski et al., 2005). A profundidade das criptas é diretamente influenciada pela taxa de mitose das células presentes nesta região da mucosa. Sendo assim, a profundidade das criptas pode ser considerada uma medida de proliferação das células intestinais (Bittrich et al., 2003; Godlewski et al., 2005).

Entre as células absortivas no intestino podem ser encontradas as células caliciformes, produtoras de muco, o qual protege e lubrifica o revestimento do intestino (Deplancke e Gaskins, 2001). Estas células estão presentes em maior quantidade na região distal do intestino delgado e em menor quantidade na região proximal (Cheng e Le Blond, 1974). Bessi et al. (2002) ao analisarem o intestino delgado distal de bezerros, verificaram maior número de células caliciformes na base das vilosidades. Os mesmos autores relataram que agressões tanto patogênicas quanto mecânicas aumentam a quantidade de células caliciformes e a produção de muco.

O ceco, segmento anatômico do intestino grosso, rico em células caliciformes que produzem muco assim como no intestino delgado, possui uma população microbiana semelhante à do rúmen, mas menor em número, que fermenta o pouco substrato que chega produzindo AGCC e proteínas microbianas. Consequentemente, dietas com alto escape de amido do rúmen e inadequado nível de fibra, podem gerar acúmulo de AGCC no fluído cecal, ocasionando queda no pH, desencadeando distúrbios metabólicos como acidose cecal, e por consequência fezes fluídas, trazendo prejuízos para o desempenho dos animais.

Na literatura podem ser encontrados trabalhos avaliando o fornecimento de colostro sobre as características histomorfométricas do epitélio intestinal como altura das vilosidades e profundidade das criptas (Buhler et al., 1998; Blattler et al., 2001; Steinhoff-Wagner et al., 2014). Todavia, o efeito da dieta sólida sobre a histologia do epitélio intestinal e do ceco foi pouco relatado até o momento, podendo ser de grande importância o entendimento de seu papel no desenvolvimento e maturação da mucosa intestinal de bezerros leiteiros.

2.3. Implicações do consumo de forragem sobre o desempenho

Acreditava-se que o fornecimento de feno aos bezerros em aleitamento fosse indispensável para o adequado desenvolvimento ruminal. No entanto, o fornecimento deste tipo de material resulta na expansão, crescimento muscular e capacidade de ingestão do rúmen, porém, não auxilia no início do desenvolvimento epitelial (Huber, 1969). Por isso, o uso de forragem como fonte única de alimento sólido foi desencorajado pelas pesquisas, e consequentemente, o fornecimento de forragem na dieta passou a ser recomendada somente após o desaleitamento.

Pesquisa realizada por Castells et al. (2013) demonstrou os benefícios ao utilizar o feno antes do desaleitamento. Um dos pontos positivos apontados seria a ativação das vias gênicas que, por sua vez, participam da produção de energia, na qual o receptor relacionado ao α estrogênio (ESRRA), provavelmente em conjunto com os receptores ativados por proliferadores de peroxissoma (PPAR), pode desempenhar um papel proeminente no metabolismo e na absorção dos AGCC, auxiliando na manutenção do pH ruminal. Além disso, o fator de crescimento- $\beta 1$ (TGFB1) e o ESRRA foram identificados como prováveis reguladores transcricionais do desenvolvimento epitelial do rúmen e do metabolismo energético, respectivamente, e são alvos potenciais para a modulação do desenvolvimento ruminal no bezerro em crescimento. Esses estudos fornecem evidências de que o desenvolvimento metabólico ruminal é impulsionado pela oferta de forragem e concentrados, além da forragem ser importante para promover o desenvolvimento físico do rúmen.

Os mesmos autores relataram aumento da expressão da isoforma1 do transportador de mono-carboxilato (MCT1) em bezerros alimentados com forragem. O MCT1 está envolvido na absorção de lactato, acetato e prótons do epitélio ruminal para a corrente sanguínea (Graham et al., 2007). Castells et al. (2013) explicaram ainda que, pelo transporte aumentado de prótons, o pH intracelular provavelmente aumenta, e o MCT1 poderia melhorar a absorção de AGCC no lúmen para o epitélio por difusão simples de AGCC protonados e AGCC através da troca por bicarbonato (HCO_3).

Além disso, distúrbios como acidose ruminal e paraqueratose do rúmen estão associadas à alta ingestão de grãos em bezerros jovens e podem ser evitadas pela alimentação de forragem (Greenwood et al., 1997; Laarman e Oba, 2012)

Enquanto mudanças mais intensas ocorrem com o trato anterior, mudanças na massa intestinal e no metabolismo também ocorrem em resposta a mudanças na dieta. A inflamação intestinal associada à adaptação dietética em ruminantes é bem documentada e atribuída ao aumento da produção de AGCC, SARA e LPS das bactérias gram-negativas no rúmen (Gozho et al., 2006; Penner et al., 2011). Em conjunto, esses estudos indicam que inclusão de forragem na dieta pode promover o desenvolvimento ruminal e ajudar a manter a saúde intestinal dos bezerros.

Imani et al. (2017), compilaram vários dados em uma meta-análise com base nos trabalhos de inclusão de forragem dos últimos 28 anos, e concluíram que a forragem aumentou o pH em 0,3 no período pré-desaleitamento e em 0,5 no pós-desaleitamento dos bezerros. Esses dados mostram que animais habituados ao consumo de forragem terão menores problemas de acidose no período pós desaleitamento, fase em que se inicia a oferta de forragem em muitos sistemas de produção.

O aumento no pH ruminal com o uso de forragem está associado a vários fatores. Dentre eles se destacam dois pontos: a taxa de fermentação dos alimentos volumosos ser mais lenta, reduzindo a possibilidade de acúmulo de AGCC quando a capacidade absorptiva ainda está em desenvolvimento (Khan et al., 2016); e a ingestão de partículas maiores, que estimula salivação e ruminação, melhorando o tamponamento do ambiente ruminal (Nemati et al., 2016). Como mencionado acima, a abrasão na parede ruminal retira o excesso de queratina e células mortas, melhorando a absorção dos AGCC, o que leva ao aumento ou manutenção da faixa ideal de pH (Mirzaei et al., 2016).

Outro ponto importante a ser considerado, é a diminuição da taxa de passagem gerada pela composição fibrosa do volumoso podendo diminuir o escape de amido proveniente do concentrado que será fermentado no intestino grosso (Beharka et al., 1998; Lane et al., 2002; Bateman et al., 2009). Essa diminuição na fermentação secundária evita estresse no epitélio do intestino, que é causado pelo acúmulo de ácidos e de lipopolissacarídeos de membrana que se desprendem na morte ou crescimento celular de algumas espécies de bactérias (Warner et al., 1956; Kim et al., 2011), diminuindo assim as respostas inflamatórias sistêmicas, fato que melhora a saúde geral dos animais.

Poczynek et al. (2019), avaliaram a utilização de dietas contendo diferentes teores de FDN e a suplementação *ad libitum* de feno na dieta de bezerros e observaram que houve maior tempo de ruminação para os bezerros que receberam a suplementação com feno quando comparado aos animais que receberam concentrado com alto teor de FDN. Esses resultados demonstram que o FDN oriundo de forragem é mais eficiente em estimular o processo de ruminação quando comparado ao FDN do concentrado no período de aleitamento. Além disso, os autores relataram que a elevação no teor de fibra na dieta, tanto no concentrado quanto pela suplementação com feno, não afetou o consumo da dieta total, o ganho e o peso ao desaleitamento.

Apesar da inclusão de fibra no concentrado trazer benefícios, é importante salientar que ao elevar os teores de FDN e FDA no concentrado destes animais ou fornecer o volumoso de forma *ad libitum*, a qualidade desta fibra deve ser considerada de forma que o desempenho não seja reduzido.

Estudos que avaliaram o uso de forragem em rações iniciais produziram resultados inconsistentes. Vários pesquisadores concluíram que a inclusão de forragem à dieta aumenta a ingestão inicial (Kincaid, 1980; Stobo et al., 1996), ao mesmo tempo que outros observaram efeito negativo desta inclusão no consumo de concentrados iniciais (Hibbs et al., 1956; Whitaker et al., 1957; Leibholz, 1975), sugerindo que as baixas taxas de fermentação do material fibroso no rúmen,

aumentam o preenchimento no intestino reduzindo a ingestão do concentrado inicial e assim a densidade energética da dieta consumida.

Imani et al. (2017) revelaram que as mudanças no consumo de concentrado ao fornecer a forragem estão ligadas as fontes de forragem utilizadas e métodos de oferta. Os autores concluíram que a forragem tem o potencial de afetar a ingestão de concentrado e o desempenho, mas os efeitos são dependentes da fonte, nível, método de fornecimento e da forma física da ração inicial.

Pesquisas realizadas utilizando feno de alfafa com diferentes formas físicas (picado ou pelete) e diferentes níveis de inclusão (10% na dieta total ou *ad libitum*), não encontraram benefícios sobre o consumo, eficiência ou ganho. Todavia, a qualidade da forragem utilizada pode ter influenciado de forma negativa o desempenho dos bezerros no período de aleitamento, levando em consideração que os teores de proteína dos fenos testados eram elevados (17 a 20%), e baixo teor de FDN (47%) caracteriza essa forragem como de alta qualidade, levando a um efeito de substituição e diminuição no consumo de concentrado (Castells et al., 2012 e Jahani-Moghadam et al., 2015). Essa diminuição resulta em menores ganhos médios diários (GMD), pela diminuição da digestibilidade da matéria seca (DMS), resultando em menor peso ao desaleitamento (Hill et al., 2008, 2010; Khan et al., 2011).

Por outro lado, trabalhos conduzidos fornecendo fenos de baixa qualidade (elevado teor de FDN), encontram melhora no GMD e no peso corporal no período de aleitamento e aumento no ganho de peso corporal e eficiência alimentar no pós desaleitamento quando comparados com bezerros alimentados com concentrado inicial sem inclusão de feno (Coverdale et al., 2004 e Castells et al., 2012). Esses resultados evidenciam que a composição nutricional da forragem é de extrema importância para o sucesso na inclusão da dieta, já que esses autores relacionaram a presença de forragem com uma melhora no ambiente ruminal, tendo em vista que nesses trabalhos o pH ruminal se manteve maior.

Com base nessas informações, a literatura possui poucos resultados avaliando fenos de gramíneas tropicais. No Brasil, os fenos de gramíneas do gênero *Cynodon* tem predominado nos cultivos comerciais, apresentando bom valor nutricional e uma importante característica correlacionada, cultivares com maior proporção de folhas do que de colmos. Entre as cultivares mais usados está o Tifton, uma forrageira com bom índice de produtividade e que possui características morfológicas propícias para fenação. Em geral, o feno de Tifton apresenta de 9 a 13% de PB e 72 a 80% de FDN na MS (Valadares Filho et al., 2019), o que o torna uma alternativa na alimentação de bezerros jovens por sua qualidade ser considerada de média a baixa, podendo

estimular um ambiente ruminal estável, mantendo o consumo de ração, o desempenho e o crescimento desses animais.

2.4. Grão de milho inteiro na dieta

O milho é o principal ingrediente energético das rações para ruminantes (Maiga et al., 1994, Khan et al., 2008, Hill et al., 2008). A inclusão desse ingredientes em concentrados convencionais para bezerros é em torno de 60% (Nussio et al., 2003).

Devido a limitada digestão do amido do milho, e com o intuito de melhorar a digestibilidade no período de aleitamento, vários métodos de processamento como a floculação a vapor, laminação a vapor, laminação a seco e moagem, vem sendo aplicados. Todavia, a literatura sugere que grãos superprocessado e gelatinização extensa do amido podem desencadear a rápida produção de ácidos, resultando em menor desempenho dos bezerros (Lesmeister e Heinrichs, 2004).

Porter et al. (2007) relataram que fornecer alimentos concentrados contendo partículas adequadas, 80% de partículas > 1,19 mm, com tamanho médio de partícula de aproximadamente 2 mm ou maior, poderia melhorar a saúde ruminal, resultando em maior GMD. No entanto, ainda não está claro se uma dieta com o tamanho médio de partícula ajustados juntamente com adequados teores de FDN e FDA do concentrado, sem fornecer uma fonte de volumoso, seria suficiente para manter a saúde ruminal quando alguns métodos de processamento de grãos são aplicados.

Os concentrados para bezerros são frequentemente formulados como peletes ou texturizados, peletes mais grãos inteiros ou concentrado farelado. Os efeitos de diferentes formas da ração na ingestão, desempenho e desenvolvimento ruminal também foram avaliados em inúmeros estudos. No entanto, os ingredientes e a composição muitas vezes variavam entre os tratamentos, de modo que o efeito da forma era confundido com o conteúdo de ingredientes e nutrientes presente na dieta. Nejad et al. (2012) não encontraram diferenças na digestibilidade aparente do trato total (DTT) de MS, PB, FDA ou FDN quando os bezerros foram alimentados com concentrado peletizado ou texturizado. Dados mais recentes de Pazoki et al. (2017) também não mostraram diferença na DTT entre dietas com composição de ingredientes semelhantes que foram peletizadas ou texturizadas. No entanto, a DTT da MS, e da PB em bezerros alimentados com uma dieta sem forragem foi consistentemente menor quando comparado com apenas o concentrado peletizado ou texturizado.

As diferenças entre os resultados desses estudos podem ser atribuídas a diferentes composições, idade ao desaleitamento e dietas alimentares. Além disso, dietas moídas podem

promover queda no pH ruminal. Nesse sentido, grãos inteiros em alimentos texturizados ou peletizados podem ser mais eficazes à saúde do rúmen e ao desempenho animal em comparação com grãos altamente processados (Terré et al., 2015). A utilização do grão de milho inteiro é uma prática comum em dietas para bovinos de corte confinados (Marques et al., 2016), e pode ser uma alternativa como fonte de fibra na dieta de bezerros leiteiros, adensando a energia da dieta, resultando em maior desempenho.

Na América do Sul predomina o cultivo do milho do tipo duro, *flint* - *Zea mays ssp. Indentura*, (Correa et al., 2002). Os grãos do tipo duro ou Flint possuem o endosperma duro ocupando quase todo o seu volume, com baixa proporção de endosperma farináceo. A proporção de endosperma duro, vítreo, com relação ao endosperma total define o grau de vitreosidade do grão de cereal, sendo a dureza do endosperma determinada pela composição proteica do grão e pelo arranjo compacto entre as moléculas de amido.

Os grânulos de amido dentro das células estão envoltos por uma matriz proteica, cuja densidade varia com a localização da célula no grão. A interação com a proteína pode reduzir a susceptibilidade do amido à hidrólise enzimática, reduzindo a digestibilidade deste carboidrato (Harmon, 2009).

O tipo de proteína que constitui a matriz proteica também influencia a susceptibilidade do amido à ação das enzimas digestivas, as proteínas zeínas presentes no milho Flint são menos digestíveis que as gluteínas (McAllister et al., 2006). Quanto maior a vitreosidade do grão de milho, menor a degradabilidade ruminal do amido. A vitreosidade dos híbridos brasileiros no estágio maduro varia entre 64,2 a 80 % do endosperma, com média de 73,1%, enquanto os híbridos Norte Americanos, a vitreosidade se encontra entre 34,9 a 62,3% do endosperma, com média de 48,2 (Correa et al., 2002). Dessa forma, os valores energéticos dos cultivares de milho duro inteiro, moído, ou quebrado, utilizados na América do Sul, devem ser inferiores aos valores tabulares do NRC, (2001) gerados a partir de estudos com milho dentado na América do Norte.

Em virtude dessa maior vitreosidade é esperado que cultivares de milho duro quando o grão é fornecido inteiro, apresentem respostas positivas em estimular a mastigação e lenta taxa de passagem. Especula-se que a inclusão do grão de milho inteiro na dieta tem papel semelhante ao exercido pela fibra oriunda dos alimentos volumosos, porém em menor escala. Esta afirmativa se apoia ao fato da digestibilidade total do amido, do grão de milho inteiro, ser cerca de 72,7 a 81,8% no rúmen (Peres, 2011), inferiores aos relatados com milho dentado por Owens e Soderlund (2006).

Apesar do grão inteiro não apresentar fibras longas em sua composição, os grãos de cereais são compostos por uma camada externa protetora chamada pericarpo, rica em fibra e de baixa digestibilidade, constituindo uma barreira física à degradação ruminal, o que limita a alta taxa de fermentação ruminal deste ingrediente. Em complemento, o tamanho médio de partícula do milho grão inteiro situa-se em aproximadamente 12 mm, o que aliado à dureza e presença do pericarpo pode gerar efetividade da fibra deste alimento.

Segundo Pordomingo et al. (2002), a utilização de dietas sem volumosos para animais em terminação, baseadas em grãos de cereais inteiros juntamente com uma fonte proteica, não impede a expressão de alto ritmo de desenvolvimento e engorda, podendo atingir desempenho semelhante ou superior a dietas balanceadas com fibra efetiva. As dietas com alta inclusão de milho grão apresentam elevada concentração energética, o que pode auxiliar em casos de substituição do consumo, já que o animal não deixará de consumir energia, mantendo assim o desempenho adequado.

Nesse sentido, o grão de milho inteiro adicionado ao concentrado peletizado seria uma alternativa na dieta de bezerros em crescimento, fornecendo estímulo mecânico de mastigação e ruminação, sem reduzir o consumo de carboidratos não fibrosos (CNF) e facilitando o manejo da dieta sólida.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Animais, instalações e manejo alimentar

O Comitê de Ética em Pesquisa em Animais da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” / Universidade de São Paulo aprovou todos os procedimentos envolvendo animais neste estudo (Protocolo nº 2018.5.587.11.3).

O experimento foi desenvolvido nas instalações do Bezerreiro Experimental “Evilásio de Camargo”, do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP, localizado na cidade de Piracicaba – SP, no período de dezembro de 2017 a agosto de 2018. Foram utilizados 42 bezerros da raça holandesa 33 machos ($39,47 \pm 0,850\text{kg}$) e 9 fêmeas ($35,43 \pm 0,855\text{kg}$), recém nascidos e adequadamente colostrados com 4 L de colostro de alta qualidade ($>60\text{g/L}$ de imunoglobulinas) nas primeiras 6h de vida, o que resultou em proteína sérica de $5,80 \text{ g/dL} \pm 0,24$ às 48h de vida. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, sendo o sexo, peso aos 21 dias (machos $49,44 \pm 1,05\text{kg}$ e fêmeas $47,16 \pm 1,40\text{kg}$) e a data de nascimento utilizados como fator de blocagem. O período experimental foi de 84 dias, sendo 56 dias correspondente ao período de aleitamento e mais 28 dias de avaliação após o desaleitamento.

Os animais foram alojados em abrigos individuais do tipo casinha tropical, por meio de correntes com comprimento médio de dois metros. Os abrigos foram colocados com uma orientação lateral leste-oeste para evitar a incidência de sol nas laterais e assim os animais terem acesso à sombra. Também foram trocados de lugar diariamente para evitar o acúmulo de fezes e manter os bezerros em local limpo e seco. Os animais tiveram acesso *ad libitum* à água e ao concentrado comercial (*Agrocere Multimix – peletizada*; ração para bezerras em fase de aleitamento e crescimento; Tabela 3) a partir do segundo dia de vida. Os animais foram aleitados com 6 litros por dia de leite integral durante os primeiros 21 dias de vida, sendo esse volume reduzido para 4 litros por dia a partir do 22º dia, com intuito de estimular o consumo da dieta sólida. A dieta líquida foi fornecida em baldes individuais, sendo o volume total dividido em duas refeições (7h00 e 18h00).

A partir do 21º dia, quando foi feita a redução do fornecimento de dieta líquida, os animais foram distribuídos nos seguintes tratamentos:

- 1) Controle: fornecimento exclusivo de concentrado convencional;
- 2) Feno: fornecimento de concentrado convencional com a suplementação de feno;
- 3) Milho: fornecimento de concentrado convencional com a suplementação de grão de milho inteiro.

O grão de milho inteiro e o feno foram fornecidas *ad libitum*, em cocho separado do concentrado inicial, de forma que o consumo de ambos pudesse ser mensurado. Os animais foram desaleitados aos 56d, quando o consumo de concentrado inicial foi limitado a no máximo 2 kg/animal/d. A partir do desaleitamento, os animais do grupo Controle foram também suplementados com feno a vontade e acompanhados até os 84 dias de vida.

A dieta sólida foi fornecida pela manhã (7h00) e o consumo voluntário dos alimentos foi registrado diariamente através da pesagem da quantidade oferecida e das sobras do dia anterior. A partir disso, o ajuste no fornecimento da quantidade de alimentos foi realizado diariamente, considerando uma sobra de 10% da matéria seca oferecida em relação à consumida.

Os animais foram pesados ao nascer e, então semanalmente, antes da alimentação da manhã, em balança mecânica (ICS-300, Coimma Ltda, Dracena-SP, Brasil). Logo após as pesagens, nas semanas 0, 2, 4, 8, 10 e 12 foram mensuradas a altura da cernelha e a largura da garupa, utilizando-se régua com escala em centímetros, e o perímetro torácico, com auxílio de fita flexível, também com escala em centímetros.

Diariamente foram realizadas avaliações do escore fecal, de acordo com sua consistência: (1) normais e firme, (2) consistente e pastosa, (3) pastosa e ligeiramente líquida e (4) fezes em grande quantidade aquosa, conforme sugerido por Larson, (1977). Casos de diarreia foram considerados quando o escore fecal foi maior ou igual a 3, sendo aplicado o protocolo de reidratação com base na administração de soro oral (dextrose, sal e bicarbonato), fornecido às 13h através de mamadeira. Antibioticoterapia foi realizada apenas quando o animal apresentou sintomas de depressão, como recusa da dieta líquida, febre ou apatia, sendo realizada conforme indicações de médico veterinário. Todos os casos de diarreia e outros eventos foram registrados.

Semanalmente, o pH fecal foi aferido duas e sete horas após o fornecimento da dieta líquida e sólida, pesando-se 4 gramas de fezes acrescidos de 4mL de água deionizada, em potenciômetro digital (Modelo tec-5, tecnal Ltda, Piracicaba-SP, Brasil), conforme a metodologia descrita por Channon, Rowe e Herd (2004).

Amostras de sangue foram colhidas semanalmente, sempre duas horas após a alimentação da manhã, por punção da jugular, utilizando-se tubos vacuolizados contendo fluoreto de sódio com antiglicolítico (VACUETTE do Brasil, Campinas-SP, Brasil) e EDTA de potássio com anticoagulante (VACUETTE do Brasil, Campinas-SP, Brasil). As amostras foram acondicionadas em isopor com gelo, transportadas imediatamente para o laboratório, onde foram centrifugadas a 2000 x g, durante 20 minutos, à temperatura de 4°C. O plasma e o soro foram armazenados em microtubos de plásticos e mantidos em freezer (-10°C) para posterior análises bioquímicas.

Amostras de fluído ruminal foram colhidas na terceira, sexta, oitava, décima e décima segunda semana de vida do animal, duas horas após o fornecimento das dietas. A coleta foi realizada por via oro esofágica, utilizando-se uma mangueira flexível de 150 cm de comprimento, 1,3 cm de diâmetro interno e 0,2 cm de espessura de parede, a qual era conectada a bomba de vácuo (Modelo TE-0581, Tecnal Ltda, Piracicaba-SP, Brasil). As amostras foram colhidas, descartando-se a amostra inicial, de modo a evitar qualquer tipo de contaminação com saliva. Após a filtragem em tecido de algodão, uma alíquota foi destinada para a aferição do pH por potenciômetro digital (Modelo tec-5, tecnal Ltda, Piracicaba-SP, Brasil), e outra alíquota foi distribuída em tubos plásticos e armazenadas em freezer (-10°C) para posterior determinação de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e nitrogênio amoniacal (N-NH₃).

Metodologia analítica

A composição do leite foi avaliada através de análises mensais realizadas na Clínica do Leite, ESALQ/USP (Tabela 2).

Tabela 2. Composição química da dieta líquida

Ingredientes, %	Leite integral
Teor de gordura	3,96
Teor de proteína	3,30
Teor de lactose	4,44
Teor de sólidos totais	12,70

Amostras do concentrado convencional, do grão de milho inteiro e do feno foram colhidas periodicamente para determinação da composição químico-bromatológica (Tabela 3). As amostras foram moídas a 1 mm em moinho de facas, modelo Willey para determinação de matéria seca (MS) à 150°C, matéria mineral (MM) e extrato etéreo (EE) de acordo com Campos, Nussio e Nussio (2002), proteína bruta (PB) por combustão, conforme método de Dumas, utilizando-se o analisador de nitrogênio LECO, modelo FP-528 (LECO) Corporation, St. Joseph, MI, EUA), fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) e lignina pelo método descrito por Van Soest, Robertson e Lewis (1991). Os teores de carboidratos não fibrosos (CNF) foram estimados pela equação (1):

$$\text{CNF (\%MS)} = 100 - (\text{PB} + \text{EE} + \text{FDN} + \text{MM}) \quad (1)$$

Onde,

PB, EE, FDN e MM são expressos em % da MS

Tabela 3. Ingredientes e composição química das dietas experimentais

Item	Concentrado	Feno	Milho
Ingredientes, % MS			
Milho moído	32,30	-	-
Farelo de soja	29,20	-	-
Farelo de trigo	15,00	-	-
Soja integral extrusada	8,5	-	-
Milho pre-gelatinizado	10,0	-	-
Núcleo Mineral / Vitaminico	5,0	-	-
Composição química da dieta, %			
MS	89,3	82,5	87,0
PB	24,7	12,7	9,3
FDA	5,5	32,5	3,4
FDN	13,9	74,7	12,4
Cinzas	9,7	6,2	1,2
Extrato etéreo	5,2	2,5	5,4
CNF	46,6	3,8	71,8
Distribuição de partículas, %			
19 mm	0,0	60,71	0,0
8 mm	8,86	23,81	81,12
4 mm	81,46	8,33	18,45
1.18 mm	5,06	4,76	0,43
Fundo da peneira	4,64	2,38	0,0
TMP ² , mm	5,48	17,41	10,60
peFDN ³ > 8.0 mm, %	1,17	61,64	10,06

¹Concentrado = concentrado peletizado; Feno = feno de Tifton picado; Milho = Grão de milho inteiro flint;

²Tamanho médio de partícula

³Fibra efetiva em detergente neutro

Os parâmetros metabólicos foram determinados em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA-200 (CELM, Barueri, SP, Brasil), utilizando-se kits comerciais da Labtest Diagnóstica S.A. (Lagoa Santa, MG, Brasil) para determinação de glicose plasmática (Ref. 133-

1/500), proteínas totais (Ref. 99), ureia (Ref. 104) e lactato (Ref. 116). A determinação das concentrações de BHBA foi realizada utilizando-se kit enzimático RANBUT – Ref.: RB1007 (RANDOX Laboratories – Life Sciences Ltd. Crumlin, UK; importado por RANDOX Brasil Ltda., São Paulo, SP, Brasil), utilizando-se também Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA-200 (CELM, Barueri, SP, Brasil).

Para determinação de AGCC foi utilizado 2,0 mL do fluido ruminal, o qual foi centrifugado a 15.000 x g, durante 15 minutos, a 4°C. Posteriormente, 0,8 mL do sobrenadante foi transferido para o tubo cromatográfico com adição de 0,4 mL de solução 3:1 de metafosfórico (25%) com ácido fórmico (98-100%) e 0,2 mL de solução de ácido 2-etil-butírico 100 mM (padrão interno). A quantificação de AGCC foi realizada utilizando-se o cromatógrafo a gás Agilent 7890^a equipado com detector de ionização de chama (7683B) e uma coluna capilar de sílica fundida (J & W19091F-112, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA), com 25 m de comprimento e 320 m de diâmetro interno, contendo 0,20 M de cianopropil polisiloxano. A aquisição de dados foi realizada utilizando o software ChemStation (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA). O tempo total de corrida cromatográfica foi de 16,5 min, dividido em três ciclos de aquecimento, como segue: 80 °C (1 min), 120 °C (20 °C / min por 3 min) e 205 °C (10 °C / min por 2 min). O hidrogênio foi utilizado como gás carreador a uma vazão de 1,0 mL / min, e a temperatura do injetor e do detector foi de 260 °C. O gás nitrogênio foi usado como o gás “make-up” a uma taxa de 30 mL / min. O hidrogênio foi usado como gás de transporte a uma taxa de fluxo de 1,35 mL / min, e a temperatura do injetor e do detector foi 260 °C. Gás de nitrogênio foi usado como o gás “make-up” a uma taxa de 40 mL/min. A opção de divisão na proporção de 20:1 foi usada. A concentração de AGCC (mM) foi calculada com base em uma curva de calibração externa elaborada a partir de padrões (Chem Service, West Chester, PA, EUA) de ácido acético (995 mL / L, CAS 64-19-97); ácido propiônico (990 mL / L, CAS 9,4.79); ácido isobutírico (990 mL / L, CAS 79-31-2) Ácido butírico (987 mL / L, CAS 107-92-6), isovalérico (990 mL / L, CAS 503-74-2) e ido valico (990 mL / L, CAS 109-52-4).

Foi mensurada a concentração de AGCC total (mM/100mM), a concentração de ácido acético, propiônico e butírico (mM/100mM). A variável C2:C3 foi obtida a razão entre ácido acético e ácido propiônico. A variável C2:(C3+C4) obtida através da razão entre ácido acético e a soma de ácido propiônico e butírico (Poczynek et al., 2019)

As amostras de fluido ruminal destinadas para determinação de N-NH₃ foram centrifugadas a 15.000 x g a 4°C durante 60 minutos para obtenção do sobrenadante. As amostras foram analisadas segundo o método de Chaney e Marbach (1962), adaptado para leitura em

Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA-200 (CELM, Barueri, SP, Brasil) com filtro de absorvância de 540 nm. Para a obtenção da curva de calibração foram utilizadas soluções de 0, 1, 2, 4, 8, 16 e 32 mg/dL de N-amoniacal. Uma alíquota de 4 µL foi transferida para um tubo de ensaio, adicionada de 2,5 mL de reagente fenol e 2,0 mL de reagente hipoclorito e incubada em banho-maria a 37°C, por 10 minutos. Em seguida, alíquotas foram pipetadas em cubetas para leitura no referido equipamento. Os dados de absorvância da curva de calibração foram utilizados para construção de curva regressão, permitindo a determinação das concentrações de N-amoniacal das amostras.

Peso dos órgãos e parâmetros morfológicos

Aos 56 dias de vida os animais foram desaleitados e acompanhados por mais 28 dias, sendo que o tratamento Controle (concentrado convencional), também começou a receber feno ad libitum. No momento do desaleitamento, foram escolhidos aleatoriamente 4 blocos, ou seja, 4 animais por tratamento para serem abatidos. Após o abate, os animais foram eviscerados e os compartimentos anteriores (rúmen-retículo, omaso e abomaso) e posteriores (intestino delgado e intestino grosso) foram isolados. Após limpeza e remoção do excesso de tecido conjuntivo circundante, os compartimentos foram abertos, esvaziados, lavados em água corrente e pesados individualmente. O volume máximo do rúmen-retículo foi mensurado preenchendo o mesmo com água e medindo o volume.

Um fragmento de aproximadamente 1-cm² do saco ventral do rúmen, região do recesso de cada animal, foi coletado e preservado em álcool 70% para futura análise histológica (Lillie e Fullmer, 1976). Manualmente, o número de papilas por cm² da parede do rúmen foi mensurado de acordo com Resende Júnior et al., (2006)

Os cortes histológicos foram corados com hematoxilina e eosina, embebidas em parafina e seccionadas de acordo com a metodologia descrita por Odongo et al. (2006). Medidas histológicas como altura, largura, área de superfície das papilas e espessura da camada de queratina foram determinados em 4 papilas por animal usando análise de imagem microscópica.

A altura da papila foi definida como uma linha reta traçada a partir da base do ápice da papila. Para medir a largura e a espessura da queratina, foram esticadas retas em quatro locais distintos da papila e um valor médio foi considerado. A área foi mensurada circulando todas as partes computadas e obtendo uma média.

A área de superfície absorviva (ASA) em cm² foi calculado utilizando a formula: $1 + (\text{Número de papilas por cm}^2 \times \text{área de superfície da papila}) - (\text{Número de papilas por cm}^2 \times 0,002)$, em que 1 representa 1-cm² do fragmento coletado e 0,002 é a estimativa da área basal das papilas

em centímetros quadrados, metodologia adaptada de Resende Júnior et al. (2006). A área das papilas expressa como porcentagem de ASA foi calculada utilizando a formula: (número de papilas por $\text{cm}^2 \times \text{área de superfície da papila}) / \text{ASA} \times 100$, metodologia adaptada de Pereira et al. (2020).

Um fragmento de aproximadamente 10- cm^2 do ponto médio do duodeno e do ceco foram colhidos e armazenados em álcool 70% para análise histológica adaptando-se a metodologia da análise histológica do epitélio ruminal (Lillie e Fullmer, 1976), para determinar a altura das vilosidades, profundidade das criptas e o número de células caliciformes por criptas.

Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o Procedimento MIXED do pacote estatístico SAS (2002). Durante a interpretação e discussão dos resultados foi adotado como efeito significativo o valor de $P \leq 0,05$. Todos os dados foram analisados quanto à normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro-Wilk, homogeneidade das variâncias através do teste de Levene e retirada dos outliers com base no valor do r de Student.

Para as variáveis analisadas como medidas repetidas no tempo (CMS e consumo dos nutrientes, GMD, EA, crescimento corporal, parâmetros de fermentação e parâmetros bioquímicos), empregou-se o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + D_i + b_j + e_{ij} + A_k + (DA)_{jk} + e_{ijk}$$

Onde, μ = média geral; D_i = efeito fixo da dieta; b_j = efeito aleatório de bloco; e_{ij} = erro residual A; A_k = efeito fixo de idade; $(DA)_{jk}$ = efeito fixo da interação dieta x idade; e e_{ijk} = erro residual B.

As matrizes de covariância “compound symmetry, heterogeneous compound symmetry, autoregressive, heterogeneous autoregressive, unstructured, banded, variance components, toeplitz, antidependence e heterogeneous toeplitz” foram testadas e definidas de acordo com o menor valor obtido para “Akaike’s Information Criterion corrected” (AICC).

As variáveis fixas (peso inicial, peso ao desaleitamento, peso final, peso dos compartimentos gástricos e parâmetros histológicos do epitélio ruminal, duodenal e cecal), foram avaliadas utilizando o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ji} = \mu + D_i + b_j + e_{ij}$$

Onde μ = média geral; D_i = efeito fixo da dieta; b_j = efeito aleatório do bloco; e e_{ij} = erro residual. O bloco foi incluído como efeito aleatório.

Para todas as variáveis respostas as médias foram obtidas através do comando LSMEANS. A comparação entre os tratamentos foi realizada pelo teste de Tukey quando houve significância na análise de variância. Na presença de interação entre dieta e idade foi realizado o desdobramento através do procedimento SORT.

4. RESULTADOS

4.1. Consumo e Desempenho

No período de aleitamento, a suplementação de feno aumentou o consumo de MS total ($P=0,01$), assim como promoveu maior consumo de PB ($P=0,01$) e CNF ($P=0,01$; Tabela 4), aumentando progressivamente o consumo com o avanço da idade para todos os tratamentos ($P<0,01$). Houve interação entre tratamento e semana para o consumo de FDN ($P<0,01$), de forma que os animais suplementados com feno apresentaram maior ingestão de fibra a partir da 4ª. semana de vida (Figura 2). O livre acesso ao feno também promoveu aumento no consumo de concentrado ($P=0,01$), e dos nutrientes PB, FDN e CNF provenientes do concentrado ($P=0,01$), não havendo diferenças com animais do grupo controle.

No período de pós-aleitamento, observa-se interação entre tratamento e semana no consumo MS total ($P=0,03$; Tabela 4), com maior consumo por animais suplementados com feno na 9ª. semana ($P=0,03$; Figura 1), quando comparados com a dieta controle, sem diferir da suplementação de grão de milho inteiro. Na 11ª. e 12ª. semanas de vida, a suplementação com grão de milho inteiro promoveu maior consumo de MS total ($P=0,02$).

Com relação ao consumo de nutrientes provenientes da dieta total, no período pós-aleitamento, houve interação entre tratamento e semana no consumo de FDN ($P<0,01$) e de CNF ($P<0,04$). O desdobramento da interação demonstrou que a suplementação de feno promoveu aumento contínuo no consumo de FDN da 9ª. à 12ª. semana de vida quando comparado com o grão de milho inteiro ($P=0,05$; Figura 2). Por outro lado, o consumo de CNF da MS total foi maior para animais suplementados com feno e grão de milho inteiro na 9ª. semana ($P=0,02$); e da 10ª. a 12ª. semana, apenas para os animais que receberam suplementação do grão de milho inteiro ($P<0,01$; Figura 3).

A suplementação de feno ou grão de milho inteiro não alterou o consumo de matéria seca do concentrado e dos nutrientes provenientes do mesmo após o desaleitamento. No entanto, houve aumento progressivo no consumo de PB e FDN com o avanço da idade ($P<0,01$; Tabela 4).

Tabela 4. Consumo de matéria seca dos bezerros suplementados com feno ou grão de milho inteiro na dieta a partir dos 21 dias de vida

Tratamento ¹				Valor de P ³			
Item	Controle	Feno	Milho	EPM ²	Trat	Sem	T×S
Consumo – Aleitamento 21d-56d, g/d							
Dieta sólida Total	386,75 ^b	635,88 ^a	419,72 ^b	50,75	0,01	< 0,01	0,11
PB	95,75 ^b	150,58 ^a	84,88 ^b	12,60	0,01	< 0,01	0,06
FDN	54,74	112,66	56,83	7,45	< 0,01	< 0,01	0,01
CNF	181,59 ^b	278,70 ^a	221,36 ^{ab}	24,30	0,01	< 0,01	0,12
Concentrado	387,02 ^b	595,82 ^a	315,92 ^b	46,53	0,01	< 0,01	0,06
PB	95,68 ^{ab}	145,13 ^a	76,65 ^b	12,50	0,01	< 0,01	0,14
FDN	54,21 ^{ab}	81,70 ^a	43,46 ^b	6,83	0,01	< 0,01	0,09
CNF	180,64 ^{ab}	273,97 ^a	145,49 ^b	22,92	0,02	< 0,01	0,11
Consumo - Pós-aleitamento 56d-84d, g/d							
Dieta sólida Total	1745,28	1871,60	2061,37	124,47	0,47	<0,01	0,03
PB	406,77	435,08	411,35	25,02	0,68	<0,01	0,16
FDN	358,00	396,47	275,18	28,60	0,02	< 0,01	< 0,01
CNF	717,31	778,38	1111,02	60,75	0,01	< 0,01	0,04
Concentrado	1558,62	1650,06	1425,30	88,60	0,37	< 0,01	0,50
PB	380,36	403,01	354,29	21,90	0,29	< 0,01	0,48
FDN	214,18	226,54	199,79	10,63	0,08	< 0,01	0,13
CNF	720,43	772,99	685,04	48,60	0,54	0,29	0,88

¹ Controle: concentrado convencional; Feno: concentrado convencional com suplementação de feno; Milho: concentrado convencional com suplementação de grão de milho inteiro; ²EPM, erro padrão da média; ³Trat: efeito de tratamento; Sem: efeito de semana; T×S: efeito da interação entre tratamento e semana. ^{a,b} letras minúsculas denotam diferença ($P \leq 0,05$) para o teste de Tukey

Figura 1. Evolução do consumo de dieta sólida total ao longo das semanas de vida dos bezerros suplementados ou não com feno ou grão de milho inteiro a partir dos 21 dias de vida. Desaleitamento - 8ª semana. Barras de erro indicam erro padrão da média. ‡ Denota diferença entre o tratamento feno e controle, sem diferir do tratamento milho ($P = 0,03$). * Denota diferença entre o tratamento milho em relação ao feno e ao controle ($P = 0,02$).

Figura 2. Evolução do consumo de FDN ao longo das semanas de vida dos bezerros suplementados ou não com feno ou grão de milho inteiro a partir dos 21 dias de vida. Desaleitamento - 8ª semana. Barras de erro indicam erro padrão da média. * Denota diferença entre o tratamento feno em relação ao milho e ao controle ($P < 0,01$). ‡ Denota diferença entre o tratamento feno e milho, sem diferir do tratamento controle ($P = 0,05$).

Figura 3. Evolução do consumo de CNF ao longo das semanas de vida dos bezerros suplementados ou não com feno ou grão de milho inteiro a partir dos 21 dias de vida. Desaleitamento - 8ª semana. Barras de erro indicam erro padrão da média. * Denota diferença entre o tratamento milho e controle, sem diferir do tratamento feno ($P < 0,05$). ¥ Denota diferença entre o tratamento milho em relação ao feno e ao controle ($P < 0,05$).

No período de aleitamento, a suplementação com feno resultou em maior ganho médio diário ($P < 0,01$; Tabela 5), resultando em maior peso ao desaleitamento ($P < 0,01$; Tabela 5). A EA não foi afetada pelas diferentes dietas. O peso médio dos animais no 21º. dia de vida mostra que os animais iniciaram a suplementação com grão de milho inteiro ou feno partindo do mesmo ponto, com médias de peso semelhantes ($P = 0,50$).

No período pós-aleitamento, as dietas experimentais não alteraram o ganho médio diário, a EA e o peso final aos 84º. dias de vida (Tabela 5).

Tabela 5. Desempenho dos bezerros suplementados com feno ou grão de milho inteiro na dieta a partir dos 21 dias de vida

Item	Tratamento ¹			EPM ²	Valor de P ³		
	Controle	Feno	Milho		Trat	Sem	T×S
Aleitamento 21-56d							
GMD, kg	0,483 ^b	0,647 ^a	0,486 ^b	52,17	< 0,01	< 0,01	0,51
EA	0,526	0,603	0,522	0,36	0,16	0,16	0,55
Peso, kg							
Inicial 21d	47,92	49,21	48,96	0,82	0,50	-	-
Desaleitamento 56d	61,09 ^b	68,92 ^a	62,85 ^b	1,82	0,01	-	-
Pós-aleitamento 56-84d							
GMD, kg/d	0,913	0,850	0,969	76,83	0,44	0,72	0,30
EA	0,460	0,437	0,426	0,04	0,83	0,06	0,20
Peso, kg							
Final 84d	87,37	89,82	91,95	2,85	0,52	-	-

¹ Controle: concentrado convencional; Feno: concentrado convencional com suplementação de feno; Milho: concentrado convencional com suplementação de grão de milho inteiro; ²EPM, erro padrão da média; ³Trat: efeito de tratamento; Sem: efeito de semana; T×S: efeito da interação entre tratamento e semana. ^{a,b} letras minúsculas denotam diferença ($P \leq 0,05$) para o teste de Tukey

Figura 4. Evolução do peso médio ao longo das semanas de vida dos bezerros suplementados ou não com feno ou grão de milho inteiro a partir dos 21 dias de vida. Barras de erro indicam erro padrão da média. Desaleitamento - 8ª semana

4.2. Crescimento corporal

Animais suplementados com feno apresentaram maior altura de cernelha no período de aleitamento ($P = 0,02$; Tabela 6). O perímetro torácico e a largura de garupa não foram afetadas pelas diferentes dietas durante o aleitamento. Já no pós-desaleitamento, as dietas experimentais não afetaram nenhuma das medidas corporais avaliadas. Houve efeito de idade na altura de cernelha durante o período de pós-aleitamento ($P = 0,01$).

Tabela 6. Ganho de medidas corporais por semana em bezerros suplementados com feno ou grão de milho inteiro na dieta a partir de 21 dias de vida

Item	Tratamento ¹			EPM ²	Valor de P ³		
	Controle	Feno	Milho		Trat	Sem	T×S
Aleitamento, cm/sem							
Altura de cernelha	0,16 ^b	0,24 ^a	0,16 ^b	0,02	0,02	0,27	0,58
Largura de garupa	0,05	0,08	0,07	0,01	0,09	0,18	0,15
Perímetro torácico	0,28	0,33	0,27	0,03	0,41	0,21	0,83
Pós-aleitamento, cm/sem							
Altura de cernelha	0,23	0,21	0,25	0,03	0,76	0,01	0,73
Largura de garupa	0,08	0,06	0,08	0,01	0,39	0,58	0,79
Perímetro torácico	0,33	0,36	0,38	0,04	0,69	0,60	0,16

¹ Controle: concentrado convencional; Feno: concentrado convencional com suplementação de feno; Milho: concentrado convencional com suplementação de grão de milho inteiro; ² EPM, erro padrão da média; ³ Trat: efeito de tratamento; Sem: efeito de semana; T×S: efeito da interação entre tratamento e semana. ^{a,b} letras minúsculas denotam diferença ($P \leq 0,05$) para o teste de Tukey

4.3. Parâmetros de fermentação ruminal

A concentração total de AGCC não foi alterada pelas dietas no período de aleitamento. A suplementação de grão de milho inteiro resultou em menor concentração molar de ácido acético ($P < 0,01$), maior concentração de ácido propiônico, quando comparada a suplementação de feno ($P < 0,02$), reduzindo a relação C2:C3 ($P < 0,01$), e consequentemente redução na relação C2:C3+C4 ($P = 0,01$; Tabela 7). A concentração molar de ácido butírico, N-NH₃ e do pH ruminal, não foram afetados pelas dietas ou pelo fator idade durante o período de aleitamento.

Com relação ao período pós-aleitamento, a suplementação de grão de milho inteiro não alterou a concentração total de AGCC, no entanto, diminuiu a concentração de ácido acético ($P = 0,03$; Tabela 7), quando comparado com a suplementação de feno. O ácido propiônico não foi alterado pelas dietas experimentais. Foi observado uma interação entre tratamento e semana para o ácido isobutírico, no entanto, ao desdobrar a interação não foi observado efeito de tratamento.

Houve uma interação entre tratamento e semana para o ácido butírico ($P < 0,01$) com maior concentração molar na 10ª. semana em animais que receberam dieta controle (com suplementação de feno após o desaleitamento), quando comparado com os animais que receberam feno, sem diferir do grão de milho inteiro ($P = 0,03$; Figura 5).

Não houve efeito das diferentes dietas na relação C2:C3. No entanto, a suplementação de grão de milho inteiro diminuiu a relação C2:C3+C4 ($P = 0,01$). A concentração de N-NH₃ não foi alterada pelas dietas. Entretanto, foi observado menor pH ruminal em animais suplementados com grão de milho inteiro, quando comparados com a dieta controle e feno ($P = 0,03$; Tabela 7).

Tabela 7. Parâmetros de fermentação ruminal dos bezerros suplementados com feno ou grão de milho inteiro na dieta a partir dos 21 dias de vida

Item	Tratamentos ¹			EPM ²	Valor de P ³		
	Controle	Feno	Milho		Trat	Sem	T×S
AGCC, mM/100mM							
Aleitamento							
Total, mM	129,21	146,56	128,86	12,29	0,44	0,31	0,82
Acético	48,95 ^{ab}	52,00 ^a	46,37 ^b	1,04	< 0,01	0,15	0,82
Propiônico	36,71 ^{ab}	32,95 ^b	37,06 ^a	1,27	0,02	0,50	0,37
Isobutírico	0,81	0,73	0,70	0,09	0,72	0,28	0,99
Butírico	8,17	7,87	8,89	0,59	0,46	0,12	0,21
C2:C3	1,36 ^{ab}	1,60 ^b	1,28 ^a	0,06	< 0,01	0,37	0,37
C2:C3+C4	1,09 ^{ab}	1,18 ^a	0,98 ^b	0,03	0,01	0,34	0,63
N-NH3	16,64	12,92	17,20	1,80	0,09	0,13	0,88
pH	5,42	5,56	5,48	0,12	0,70	0,49	0,84
Pós-aleitamento							
Total, mM	131,88	93,58	104,29	20,45	0,36	0,84	0,70
Acético	52,39 ^{ab}	55,58 ^a	45,22 ^b	1,45	0,03	0,95	0,45
Propiônico	34,97	33,69	41,49	2,30	0,15	0,42	0,74
Isobutírico	0,447	0,827	0,551	0,12	0,17	0,24	0,05
Butírico	8,12 ^a	5,72 ^b	5,83 ^b	0,55	< 0,01	0,74	0,01
C2:C3	1,51	1,65	1,17	0,11	0,06	0,26	0,60
C2:C3+C4	1,21 ^{ab}	1,37 ^a	0,99 ^b	0,08	0,01	0,92	0,19
N-NH3	20,06	22,26	20,79	4,60	0,89	0,16	0,37
pH	6,10 ^a	6,07 ^a	5,53 ^b	0,16	0,03	< 0,01	0,11

¹ Controle: concentrado convencional; Feno: concentrado convencional com suplementação de feno; Milho: concentrado convencional com suplementação de grão de milho inteiro; ² EPM, erro padrão da média; ³ Trat: efeito de tratamento; Sem: efeito de semana; T×S: efeito da interação entre tratamento e semana. ^{a,b} letras minúsculas denotam diferença ($P \leq 0,05$) para o teste de Tukey

Figura 5. Evolução da concentração do ácido Isobutírico e butírico ao longo das semanas de vida dos bezerros suplementados ou não com feno ou grão de milho inteiro a partir dos 21 dias de vida. Desaleitamento - 8ª semana. Barras de erro indicam erro padrão da média. † Denota diferença entre o tratamento controle e o tratamento feno, sem diferir do tratamento milho ($P = 0,05$).

4.4. Escore e pH fecal

Não houve efeito das diferentes dietas sobre as variáveis escore fecal, e pH fecal mensurado 2h e 7h após o fornecimento da dieta no período de aleitamento (Tabela 8). Foi observado efeito de semana sobre o escore fecal ($P = 0,01$), com aumento no escore das fezes na 2ª. semana e redução na 4ª. semana até a 8ª. semana de vida, mas não foi observado interação entre tratamento e semana (Figura 7).

No período de pós-aleitamento, houve uma interação entre tratamento e semana para variável escore fecal ($P = 0,03$; Tabela 8), de forma que a suplementação com grão de milho inteiro resultou em fezes mais fluídas, quando comparado com o tratamento controle. Em adição, o livre acesso ao grão de milho inteiro resultou no menor pH das fezes nas coletas realizadas às 2h e às 7h após o fornecimento da dieta sólida ($P < 0,05$). Não houve efeito de semana para o pH fecal das 2h e 7h, assim como não foi observado interação entre tratamento e semana para ambos os parâmetros.

Tabela 8. Parâmetros de fecais dos bezerros suplementados com feno ou grão de milho inteiro na dieta a partir dos 21 dias de vida

Item	Tratamentos ¹			EPM ²	Valor de P ³		
	Controle	Feno	Milho		Trat	Sem	Interação
Aleitamento							
Escore Fecal	1,55	1,56	1,44	0,10	0,67	0,01	0,81
pH fecal 2-h	7,13	6,92	7,11	0,09	0,12	0,95	0,50
pH fecal 7-h	6,79	6,87	6,77	0,16	0,88	0,10	0,34
Pós-aleitamento							
Escore Fecal	1,30	1,35	1,42	0,06	0,40	0,01	0,03
pH fecal 2-h	7,01 ^a	6,91 ^a	6,38 ^b	0,10	< 0,01	0,56	0,35
pH fecal 7-h	6,84 ^a	6,78 ^a	6,42 ^b	0,10	0,01	0,17	0,32

¹ Controle: concentrado convencional; Feno: concentrado convencional com suplementação de feno; Milho: concentrado convencional com suplementação de grão de milho inteiro; ²EPM, erro padrão da média; ³Trat: efeito de tratamento; Sem: efeito de semana; T×S: efeito da interação entre tratamento e semana. ^{a,b} letras minúsculas denotam diferença ($P \leq 0,05$) para o teste de Tukey

Figura 6. Evolução do escore fecal ao longo das semanas de vida dos bezerros suplementados ou não com feno ou grão de milho inteiro a partir dos 21 dias de vida. Desaleitamento - 8ª semana. Barras de erro indicam erro padrão da média. **j** Denota diferença entre o tratamento milho e controle, sem diferir do tratamento feno ($P < 0,05$)

4.5. Parâmetros bioquímicos

No período de aleitamento, as diferentes dietas experimentais não afetaram nenhum dos parâmetros bioquímicos (Tabela 9). No entanto, todos foram afetados pela idade dos animais ($P < 0,01$) e apenas as concentrações de BHBA teve efeito da interação entre tratamento e idade ($P = 0,05$). As concentrações plasmáticas de glicose aumentaram nas primeiras semanas com declínio na 7ª. semana de vida até o desaleitamento. A concentração de lactato reduziu com o avanço da idade até o momento do desaleitamento, enquanto a concentração de BHBA se elevou (Figura 8). Na 7ª. semana de vida os bezerros que receberam a suplementação de feno apresentaram maior concentração de BHBA quando comparados com a suplementação de grão de milho inteiro, sem diferir da dieta controle (Figura 8). Houve redução nas concentrações de proteína sérica da 2ª. semana até a 5ª. Já para albumina plasmática houve aumento da concentração até a 6ª. semana, declínio na 7ª. semana e posterior estabilização na 8ª. semana de vida (Figura 8). A concentração de ureia plasmática apresentou aumento da concentração até a 6ª. semana, declínio na 7ª. semana e aumento na 8ª. semana (Figura 8). A concentração de creatinina diminuiu com o avanço da idade até o período de desaleitamento e se manteve até o final do período experimental.

No período pós desaleitamento houve efeito das dietas apenas para as concentrações de lactato ($P < 0,03$) e ureia ($P < 0,01$), com efeito de idade para lactato e proteína total ($P < 0,01$), e sem efeito da interação entre tratamento e idade para todos os parâmetros avaliados (Tabela 9). A suplementação de grão de milho inteiro diminuiu as concentrações de lactato plasmático e de ureia ($P < 0,01$). Além disso, independentemente da dieta, a concentração de lactato aumentou com o avanço da idade (Figura 8). A concentração de proteína sérica total aumentou da 9ª. à 12ª. semana de vida.

Tabela 9. Parâmetros bioquímicos dos bezerros suplementados com feno ou grão de milho inteiro na dieta a partir dos 21 dias de vida

Item	Tratamento ¹			EPM ²	Valor de P ³		
	Controle	Feno	Milho		Trat	Sem	T×S
Aleitamento							
Glicose	114,56	109,27	115,16	3,37	0,47	< 0,01	0,31
Lactato	8,78	8,17	8,27	0,60	0,75	0,01	0,79
BHBA	0,139	0,150	0,141	0,02	0,74	< 0,01	0,05
Proteínas Totais	5,80	6,11	5,83	0,11	0,06	< 0,01	0,08
Albumina	3,15	3,18	3,13	0,04	0,42	0,01	0,87
Ureia	17,69	18,78	18,05	1,00	0,72	0,02	0,66
Creatinina	1,16	1,14	1,16	0,02	0,70	0,02	0,11
Pós-aleitamento							
Glicose	82,13	84,45	85,68	2,10	0,50	0,39	0,99
Lactato	11,26 ^a	11,07 ^a	8,44 ^b	0,72	0,03	0,01	0,95
BHBA	0,405	0,404	0,400	0,03	0,87	0,06	0,41
Proteínas Totais	6,24	6,58	6,19	0,13	0,07	< 0,01	0,30
Albumina	3,32	3,29	3,23	0,04	0,42	0,25	0,85
Ureia	32,35 ^a	32,16 ^a	19,51 ^b	1,80	< 0,01	0,07	0,12
Creatinina	1,04	1,02	1,05	0,03	0,58	0,07	0,37

¹ Controle: concentrado convencional; Feno: concentrado convencional com suplementação de feno; Milho: concentrado convencional com suplementação de grão de milho inteiro; ² EPM, erro padrão da média; ³ Trat: efeito de tratamento; Sem: efeito de semana; T×S: efeito da interação entre tratamento e semana. ^{a,b} letras minúsculas denotam diferença ($P \leq 0,05$) para o teste de Tukey

Figura 7. Evolução do metabolismo energético e proteico ao longo das semanas de vida dos bezerros suplementados ou não com feno ou grão de milho inteiro a partir dos 21 dias de vida. Desaleitamento na 8ª semana. Barras de erro indicam erro padrão da média. † Denota diferença entre o tratamento feno e milho, sem diferir do tratamento controle ($P < 0,05$)

4.6. Peso dos compartimentos e dos órgãos

O peso do trato anterior (% do PC) não foram afetados pela suplementação de grão de milho inteiro ou de feno (Tabela 10). O peso total do trato digestório anterior foi maior em bezerros que receberam a suplementação de feno, quando comparado com os demais tratamentos ($P < 0,01$). O peso do compartimento rúmen-retículo foi maior em bezerros que receberam feno ($P = 0,01$) quando comparado com a suplementação de grão de milho inteiro, sem diferir do tratamento controle. Os outros compartimentos do trato digestório anterior não foram afetados pelas dietas avaliadas.

Em adição, a suplementação de grão de milho inteiro ou feno não afetaram o volume do rúmen em litros, o peso do intestino delgado e o peso do intestino grosso. Assim como o peso dos rins, fígado e baço não foram afetados pelas dietas experimentais (Tabela 10).

Tabela 10. Peso dos compartimentos e dos órgãos dos bezerros suplementados com feno ou grão de milho inteiro na dieta a partir dos 21 dias de vida

Item	Tratamento ¹			EPM ²	Valor de P ³
	Controle	Feno	Milho		
Peso, kg					
Trato anterior, % PC	1,985	2,332	2,162	0,217	0,42
Peso do trato anterior	1,225 ^b	1,632 ^a	1,237 ^b	0,117	0,01
Rúmen-Retículo	0,786 ^{ab}	1,103 ^a	0,646 ^b	0,10	0,03
% do trato anterior	61,75	66,17	61,28	3,47	0,57
Omaso	0,101	0,170	0,290	0,08	0,40
% do trato anterior	11,43	12,70	11,59	0,86	0,54
Abomaso	0,348	0,368	0,281	0,02	0,10
% do trato anterior	26,81	21,11	27,11	3,53	0,43
Volume (L)	9,185	10,603	8,749	0,89	0,43
Trato posterior, kg					
Intestino-Delgado	2,242	2,542	2,068	0,16	0,21
Intestino-Grosso	0,606	0,931	0,725	0,26	0,46
Rim	0,336	0,378	0,338	0,04	0,39
Fígado	1,650	1,896	1,622	0,10	0,19
Baço	0,320	0,443	0,601	0,10	0,27

¹ Controle: concentrado convencional; Feno: concentrado convencional com suplementação de feno; Milho: concentrado convencional com suplementação de grão de milho inteiro; ² EPM, erro padrão da média; ³ Trat: efeito de tratamento; Sem: efeito de semana; TxS: efeito da interação entre tratamento e semana. ^{a,b} letras minúsculas denotam diferença ($P \leq 0,05$) para o teste de Tukey

4.7. Parâmetros morfométricos

A altura, largura, área de superfície e espessura de queratina das papilas do epitélio ruminal, assim como a ASA cm²/cm² não foram afetados pelas diferentes dietas (Tabela 11) A área de papila/ % ASA foi maior em bezerros que receberam a suplementação de feno quando comparados com a suplementação de grão de milho inteiro, sem diferir do tratamento controle ($P = 0,05$). A profundidade das criptas e o número de células caliciformes do duodeno não foram afetados pela suplementação de grão de milho inteiro ou feno. A altura das vilosidades do duodeno foi maior para animais que receberam a suplementação de feno sem diferir da dieta controle ($P = 0,02$). A profundidade das criptas e o número de células caliciformes do ceco não sofreram alterações.

Tabela 11. Parâmetros morfométricos do rúmen, duodeno e ceco dos bezerros suplementados com feno ou grão de milho inteiro na dieta a partir dos 21 dias de vida

Item	Tratamentos ¹			EPM ²	Valor de P ³
	Controle	Feno	Milho		
Rúmen					
Papilas, N°/cm²	199,99	189,74	180,21	21,81	0,78
Altura, mm	0,98	1,20	0,95	0,13	0,35
Largura, mm	0,30	0,38	0,29	0,03	0,09
Área, mm²	0,30	0,45	0,29	0,06	0,17
Espessura de queratina, µm	11,42	12,45	11,76	0,39	0,21
ASA, cm²/cm²	1,80	2,30	1,47	0,20	0,06
Área de papila, % ASA	64,65 ^{ab}	72,80 ^a	54,37 ^b	4,25	0,05
Duodeno					
Altura da vilosidade, µm	1811,25 ^{ab}	2051,16 ^a	1287,07 ^b	195,30	0,02
Profundidade-criptas, µm	83,68	81,99	84,98	13,13	0,99
Nº células caliciformes/ cripta	5,75	6,50	3,50	1,08	0,18
Ceco					
Profundidade-criptas, µm	102,11	108,14	112,45	11,21	0,81
Nº células caliciformes/ cripta	9,00	11,60	8,77	1,37	0,27

¹ Controle: concentrado convencional; Feno: concentrado convencional com suplementação de feno; Milho: concentrado convencional com suplementação de grão de milho inteiro; ²EPM, erro padrão da média; ³Trat: efeito de tratamento; Sem: efeito de semana; T×S: efeito da interação entre tratamento e semana. ^{a,b} letras minúsculas denotam diferença ($P \leq 0,05$) para o teste de Tukey. ASA: área de superfície absorptiva.

5. DISCUSSÃO

Com intuito de atender as exigências nutricionais para manutenção e crescimento de bezerros jovens na fase inicial, o concentrado é fornecido desde os primeiros dias de vida destinando-se a fornecer energia, proteína, minerais e vitaminas (Khan et al., 2016). Os concentrados comerciais para bezerros são comumente encontrados na forma de peletes, triturados ou texturizados, sendo a última forma física composta por uma mistura de grãos grosseiramente laminados ou moídos, grãos inteiros e alguns grânulos. Pesquisas recentes destinaram atenção especial à aceitabilidade dos ingredientes para promover ingestão precoce, sendo o foco em diferentes fontes e níveis de inclusão de carboidratos (Maiga et al., 1994; Khan et al., 2008; Hill et al., 2008a, b), técnicas de processamento (Abdelgadir e Morrill 1995; Nussio et al., 2003; Lesmeister e Heinrichs, 2004; Bateman et al., 2009) e forma física (Franklin et al., 2003; Coverdale et al., 2004; Bach et al., 2007; Bittar et al., 2009), dando pouca importância a inclusão grãos inteiros e fibra efetiva na dieta, e os efeitos durante a fase de aleitamento e pós-aleitamento.

Apesar da inclusão de forragem no período de aleitamento apresentar inconsistência nos dados presentes na literatura (Hill et al., 2008; Khan et al., 2008), grande parte desses resultados é explicada pela forma física do concentrado, teor de fibra no concentrado e método de fornecimento da forragem, que pode alterar a relação forragem:concentrado (F:C) da dieta consumida (Imani et al., 2017). Além disso, a inclusão de forragens foi desoncarajada pelas pesquisas nas últimas duas décadas relatando possíveis efeitos de substituição e preenchimento ruminal que levaria à diminuição no consumo de concentrado e no ganho de peso (Terré et al., 2013; Beiranvand et al., 2013). No entanto, esses efeitos negativos foram observados quando os bezerros foram alimentados com gramíneas de alta qualidade, como a alfafa picada *ad libitum*, que resulta em aumento no consumo de forragem em até 14% do total da MS ingerida (Castells et al., 2012, 2013) ou quando bezerros foram alimentados com feno de gramíneas de baixa digestibilidade como as palhas, que podem reduzir o consumo de nutrientes e o ganho de peso durante o aleitamento (Terré et al., 2015).

No presente estudo, o fornecimento de feno de gramínea tropical para bezerros no período de aleitamento (12,7% PB e 74,7% FDN), aumentou o consumo de MS total e o consumo de concentrado, assim como relatado por Castells et al. (2012) e EbnAli et al. (2016). Os fenos oriundos de gramíneas de clima tropical, como as gramíneas do gênero *Cynodon* (Coastcross, Tifton, Florakirk, entre outras), possuem bom valor nutritivo (11 a 14% PB), caules finos e alta proporção de folhas, com boa aceitação pelos ruminantes, mostrando-se alternativa viável em estimular e manter estável o consumo da dieta sólida de bezerros jovens. Castells et al. (2012)

sugerem a inclusão de 5% de feno de gramínea na dieta sólida de bezerros, quando o concentrado oferecido apresentar elevado teor de amido. Poczynek et al. (2019) forneceram feno de coast-cross *ad libitum* para bezerros na fase de aleitamento, gramínea tropical com valor nutritivo semelhantes ao feno de Tifton utilizado no presente estudo (11,8 PB e 69,6 FDN), e relataram a relação F:C de 4:96, valores próximos aos dados encontrado no presente estudo de 7:93.

O concentrado comercial utilizado continha 13,8% de FDN, valor abaixo da faixa recomendada por Davis e Drackley (1998), que sugerem que os concentrados para bezerros tenham entre 16 a 25% de FDN. Com objetivo de aumentar o nível de CNF nas dietas para favorecer o desenvolvimento ruminal e desempenho dos bezerros, é comum encontrar concentrados comerciais com níveis inadequados em fibra levando a efeitos negativos como baixos níveis de pH e distúrbios metabólicos. Nessas situações a suplementação de feno pode auxiliar na manutenção de teores seguros de fibra em uma dieta para bezerros jovens, trazendo benefícios como a estabilidade no consumo de concentrado e mantendo as taxas de ganho no período de aleitamento.

Além disso, o fornecimento de forragem no período de aleitamento pode trazer benefícios adicionais. Poczynek et al. (2019) relataram que a oferta de feno pode ser uma ferramenta para reduzir os efeitos negativos no comportamento de bezerros em aleitamento convencional, como a mamada não nutritiva e sinais de fome, atribuindo a diminuição desses comportamentos ao maior tempo dedicado a ingestão de alimentos e a ruminação.

O aumento no consumo de concentrado proporcionado pelo livre acesso ao feno, aumentou a ingestão de nutrientes como PB e CNF, que são essenciais para manutenção e crescimento durante a fase inicial. Quigley et al. (2019) relataram que a ingestão acumulativa de CNF do concentrado foi altamente correlacionada com alterações na digestibilidade aparente do trato total e que o valor de 15 kg são necessários para maturação do trato digestório. O consumo de CNF acumulativo durante o período de aleitamento (0 a 56 dias) foi superior para animais suplementados com feno a partir dos 21d ($10,95 \pm 1,120$ kg) quando comparado com animais controle ($7,80 \pm 0,655$ kg) ou suplementados com grão de milho inteiro ($8,55 \pm 0,869$ kg). Embora todos os grupos tenham apresentado consumo acumulativo abaixo do sugerido por Quigley et al. (2019), animais suplementados com feno foram os que apresentaram valor mais próximo, sugerindo estarem mais aptos ao desaleitamento quando comparados aos demais tratamentos.

Imani et al. (2017) em uma meta análise, avaliaram trabalhos publicados no período de 1998 até 2017 que incluíram forragem na dieta de bezerros leiteiros, demonstrando que a oferta de forragem aumenta o consumo de matéria seca em 0,2 kg por dia no desaleitamento. Este resultado pode ser atribuído a estabilidade no consumo nessa fase de transição (Daneshvar et al., 2015). Os

dados do presente estudo apoiam os dados acima, em que a inclusão de feno na dieta, a partir do 21ºd de vida, aumentou o consumo da dieta total no início do desaleitamento ($1080,00\text{kg} \pm 78,21$), quando comparado com animais que receberam restritamente o concentrado convencional ($564,00\text{kg} \pm 82,44$), e os animais que receberam suplementação com grão de milho inteiro ($746,00\text{kg} \pm 77,29$), evitando assim as quedas no crescimento na fase de transição (Figura 4).

A suplementação do grão de milho inteiro aumentou o consumo de MS total na 11ª e 12ª semana de vida (Figura 1), mostrando que o grão de milho não promove limitação no consumo como a forragem que possui fibras longas. Castells et al. (2012) e Terré et al. (2013) observaram aumento na ingestão de MS total no período pós-aleitamento quando a oferta de forragem iniciou-se nas primeiras semanas de vida. No entanto, é amplamente reconhecido que o tamanho de partícula juntamente com o teor de FDN na dieta atuam como limitante para o consumo devido ao efeito de enchimento ruminal e intestinal e alterações geradas na taxa de passagem (Mertens, 1997).

Estudos recentes que aumentaram o teor de FDN do concentrado ou incluíram uma fonte de forragem de boa qualidade na dieta, não observaram diferença na EA dos bezerros (Terré et al., 2013 e Maktabi et al., 2016). Embora a fibra possua menor densidade energética, ao ofertar uma forragem de boa qualidade para bezerros na fase de aleitamento, o estímulo no consumo de concentrado com o avanço da idade pode resultar em maior ganho de peso, sem afetar a EA, assim como observado no presente estudo.

Levando em consideração que o volume da dieta líquida foi igual para todos os tratamentos, 6L/d com decréscimo para 4L/d aos 21d de vida, e a EA não sofreu alteração, o aumento no ganho de peso se deve ao aumento no consumo de concentrado proporcionado pelo livre acesso ao feno, permitindo que os animais desaleitassem mais pesados (Figura 4). Mojahedi et al. (2018), observaram aumento no GMD para animais suplementados com feno quando este foi associado ao milho floculado, sugerindo que dietas que possuem maior disponibilidade de amido ou grãos extensamente processados, se faz necessário a inclusão de fibra efetiva. Da mesma forma, no presente estudo o concentrado comercial peletizado continha 46,6%CNF e 13,8%FDN, e a suplementação de feno resultou em aumento no GMD.

Gelsinger et al. (2016), relatou os efeitos da dieta e do consumo das bezerras no período de aleitamento e correlacionou com a produção de leite na primeira lactação e concluiu que embora a resposta à lactação possa variar, o fornecimento de nutrientes adequados a partir da dieta líquida e sólida e a manutenção do GMD acima de 0,5kg/d podem melhorar o desempenho na primeira lactação, quando combinados com manejo adequado. No presente estudo o GMD acima de 0,5kg/d

foi observado apenas para os animais que tiveram a suplementação de feno, resultando em maior peso ao desaleitamento, o que demonstra estabilidade no desempenho durante o período de transição da dieta líquida para dieta sólida.

O ganho médio e a EA após o desaleitamento, assim como o peso final aos 84 dias de vida, não sofreram alterações. Esse resultado pode ser explicado pelo baixo teor de proteína e alto teor de CNF presente no grão de milho inteiro. Dessa forma, o livre acesso ao milho pode não ter atendido as exigências de energia e proteína necessárias, permitindo ganho de peso semelhante ao de animais que tiveram livre acesso ao volumoso, que possui baixa densidade energética.

A altura de cernelha foi afetada positivamente pela suplementação de feno, demonstrando que os animais que ganharam mais peso também cresceram mais durante a fase de aleitamento. Medidas corporais aliadas ao ganho de peso permitem avaliar melhor o desenvolvimento dos animais (Heinrichs et al., 2004). Animais que ganham peso, mas não apresentam alterações no tamanho corporal podem apresentar composição do ganho indesejada, como deposição de tecido adiposo ao invés tecido muscular. As demais medidas corporais não foram afetadas no período de aleitamento e no pós-aleitamento, mostrando que os animais apresentaram crescimento e composição no ganho semelhante.

Apesar das dietas terem alterado o perfil fermentativo do rúmen de bezerros na fase de aleitamento e pós-aleitamento, as concentrações totais de AGCC não foram afetadas, embora tenham aumentado com avanço da idade. Este aumento nas concentrações de AGCC total se deve ao aumento na capacidade de fermentação de alimentos observado com o avanço da idade, e consequentemente desenvolvimento ruminal (Nussio et al., 2003).

O aumento nas concentrações de ácido propiônico diminuem a relação C2:C3 (Theurer et al., 1986; McGuffey et al., 2001), dados que corroboram com o presente estudo no qual a dieta controle e o livre acesso ao grão de milho inteiro aumentaram as concentrações de ácido propiônico e proporcionaram menor relação C2:C3, e consequentemente menor relação C2:C3+C4 no período de aleitamento, indicando maior concentração dos ácidos propiônico e butírico, responsáveis pelos estímulos do desenvolvimento ruminal, em relação ao número, altura e largura das papilas (Khan et al., 2016; Poczynek et al., 2019).

Por outro lado, a suplementação de feno no período de aleitamento e pós-aleitamento, aumentou a produção do ácido acético. Esse aumento nas proporções molares de ácido acético tem sido geralmente relatado em dietas com oferta de feno para bezerros, devido a alteração na microbiota ruminal (Mirzaei et al., 2016; Nemati et al., 2016). Apesar da concentração de ácido propiônico não ter sido alterado pelas dietas experimentais, a suplementação com grão de milho inteiro diminuiu relação C2:C3+C4, indicando que o maior aporte de energia na dieta

disponibilizou mais substratos para produção dos ácidos que estimulam o desenvolvimento ruminal.

Os animais alimentados somente com concentrado como dieta sólida, e que tiveram livre acesso ao feno após o desaleitamento, apresentaram maiores concentrações de butirato na 10ª semana de vida. As concentrações de butirato no rúmen são menores durante o período de aleitamento e aumentam conforme o consumo de concentrado aumenta (Kosiorowska et al., 2011). Após o desaleitamento, o consumo de concentrado dos animais que receberam a dieta controle aumentou se igualando aos demais tratamentos na 10ª semana de vida. Este fato sugere que a maior disponibilidade de substrato no rúmen, contribuiu para o aumento nas concentrações de butirato no líquido ruminal.

Durante o período de aleitamento (6ª e 8ª semana de vida), o pH ruminal dos animais ficou em torno de $5,5 \pm 0,12$, independente da dieta. Em bovinos adultos esse valor é considerado indicativo de acidose ruminal aguda e pode levar a distúrbios metabólicos (Plaizier et al., 2012). No entanto, não foram observados sinais de desordem metabólica nos bezerros do presente estudo, sugerindo que os bezerros nessa fase toleram níveis de pH mais baixos quando comparados a animais adultos. Em contrapartida, o baixo pH pode explicar o menor consumo de concentrado e de matéria seca total para animais sem suplementação de fibra efetiva durante o período de aleitamento. É provável que para reduzir a produção de ácidos, os animais tenham reduzido o consumo.

Após o desaleitamento, quando os animais já estão com o rúmen mais desenvolvido, o pH ruminal foi superior para animais suplementados com feno, sugerindo que o grão de milho inteiro não auxilia no tamponamento ruminal como esperado. Além disso, Castells et al. (2013) relataram aumento da expressão da isoforma1 do transportador de mono-carboxilato (MCT1) em bezerros alimentados com forragem. O MCT1 está envolvido na absorção de lactato, acetato e prótons do epitélio ruminal para a corrente sanguínea (Graham et al., 2007). Castells et al. (2013) explicaram ainda que, devido à exportação aumentada de prótons, o pH intracelular provavelmente aumenta, e o MCT1 poderia melhorar a absorção de AGCC no lúmen para o epitélio por difusão simples de AGCC protonados e AGCC através da troca por bicarbonato (HCO_3).

O fornecimento de feno ou materiais fibrosos como subprodutos, pode trazer benefícios no aumento e estabilização do pH ruminal. Esses ingredientes tem fibra que estimula ruminação e salivação (McBurney et al., 1983), tamponando o trato total, fator fundamental para o desenvolvimento normal do rúmen e a saúde geral do bezerro (Khan et al., 2011; Castells et al., 2012, 2013). O pH ruminal pode ser influenciado pela taxa de produção e absorção dos AGCC,

que por sua vez são alterados pela taxa de passagem do conteúdo ruminal (Williams et al., 1987). Dessa forma, o livre acesso ao feno pode ter auxiliado na capacidade de tamponamento ruminal, no período em que o consumo da dieta sólida aumentou abruptamente, assim como as concentrações de AGCC, aumentando a ruminação e salivação, que são extremamente importantes para promover ambiente ruminal adequado. Os resultados deste estudo corroboram com os observados por Mojahedi et al. (2018), que relataram aumento no pH ruminal quando uma fonte de fibra foi fornecida, independentemente do método de processamento do milho (floculado ou triturado), promovendo ambiente ruminal mais estável.

Grãos integrais adicionados em alimentos texturizados podem ser mais eficazes no apoio à saúde do rúmen e ao desempenho animal em comparação com grãos altamente processados. Todavia, não foram encontrados efeitos positivos do livre acesso ao grão de milho inteiro durante a fase de aleitamento no consumo da dieta total, assim como no pH ruminal após-aleitamento. Terré et al. (2015) avaliaram a adição de grão de milho inteiro adicionados na ração texturizada e observaram que o pH ruminal foi semelhante ao observado em animais suplementados com palha. Em contrapartida, em situações onde o grão de milho inteiro é fornecido junto com concentrados que fermentam rapidamente, seu aproveitamento é integralmente dependente da ruptura de sua estrutura física através de mastigação. Animais jovens tendem a mastigar de forma mais efetiva os alimentos ingeridos, podendo aproveitar melhor o amido presente no grão de milho quando comparados com animais mais velhos (Berchielli et al., 2006). Além disso, Beauchemin et al. (1994) observaram uma quantidade limitada de grãos inteiros no rúmen, sugerindo que a deglutição e ruminação permitem ruptura dos grãos, o que melhora a degradação microbiana no rúmen de ruminantes adultos

No presente estudo não houve diferença nas concentrações de N-NH₃ em função da dieta sólida, assim como não houve diminuição da concentração com o avanço da idade. Dietas com grãos altamente processados e maior disponibilidade de amido e CNF, aumentam a disponibilidade de esqueletos carbônicos e ATP para serem incorporados ao nitrogênio e assim participar da síntese de proteína microbiana, o que reduz as concentrações de nitrogênio amoniacal no rúmen (Meschiatti et al. 2018).

Com relação ao escore fecal, não foi observada alteração na fluidez das fezes no período de aleitamento. O aumento na fluidez das fezes pode ser decorrente da ocorrência de diarreias patogênicas ou de distúrbios alimentares. Dentre fatores alimentares que podem provocar aumento na fluidez das fezes estão o alto volume de dieta líquida, uso de dieta líquida com alto teor de FDN, no caso de substitutos de leite contendo produtos de origem vegetal, ou dietas sólidas com teor de

fibra inadequados ou alto teor de amido. No entanto, a fluidez das fezes diminuiu com o avanço da idade, devido ao aumento no consumo de dieta sólida.

No período pós-aleitamento o grão de milho inteiro proporcionou fezes mais fluídas na última semana de estudo (Figura 7). Uma possível explicação para este resultado seria que o livre acesso ao grão de milho inteiro proporcionou aumento no consumo de CNF, quando comparados com os tratamentos contendo a suplementação de feno. O aumento no consumo de grão de milho inteiro pode ter proporcionado maior escape de milho do rúmen, aumentando a fermentação no intestino delgado e posteriormente no intestino grosso, podendo ocasionar uma acidose cecal. Esta suposição pode ser reforçada pelo menor pH fecal observado para animais suplementados com milho grão inteiro (Tabela 7).

Wheeler e Nolter (1977) mediram o pH no trato digestivo de ruminantes alimentados com rações com alto nível de grãos e concluíram que o pH fecal é uma medida confiável para o pH intestinal. Assim, apenas os animais com livre acesso ao feno possuíam pH fecal dentro das faixas adequadas para atividade da amilase pancreática de 6,9 (Russel et al., 1981). É possível que o baixo pH ruminal influencie negativamente a acidez da digesta que deixa o abomaso, o que sobrecarrega a capacidade de tamponamento do intestino delgado (Wheeler e Noller, 1977), diminuindo a atividade da amilase pancreática e a digestibilidade do amido.

O aumento no consumo de grão de milho inteiro durante o período de pós-aleitamento, proporcionou maior consumo de CNF, aumentando consequentemente, o substrato disponível no rúmen e no intestino para fermentação. Esse aumento de substrato disponível aumenta a quantidade de produtos finais, como AGCC, proveniente da fermentação microbiana, diminuindo o pH no intestino, podendo prejudicar o desenvolvimento do epitélio com o avanço da idade.

Os valores de glicose plasmática encontrados no presente estudo estão de acordo com a literatura para bezerros alimentados com de leite integral e idade semelhante (Mojahedi et al., 2018). Para os bezerros em fase de aleitamento, devido ao fechamento da goteira esofágica e à falta de AGCC no rúmen, a principal fonte de substrato energético no sangue é a glicose proveniente da lactose absorvida no intestino delgado. A glicose plasmática deve passar pelo fígado assim como os ácidos graxos, dessa forma, assume-se que a glicose é o substrato de energia primária em bezerros neonatais (White e Leng, 1980). Não houve diferença entre as dietas sólidas para a concentração de glicose plasmática durante o aleitamento e pós-desaleitamento (Tabela 8). Todavia, houve efeito de idade durante a fase de aleitamento, com redução nas concentrações de glicose a partir da 7ª. Semana (Figura 8). Quigley et al. (1991), observaram declínio nas

concentrações de glicose com o avanço da idade, independente do regime alimentar sugerindo desenvolvimento ruminal.

De acordo com Khan et al. (2008), o declínio nas concentrações de glicose está atrelado ao maior consumo de dieta sólida, que estimula a fermentação e atividade ruminal, proporcionando maior concentração de AGCC, que por sua vez começam a substituir gradualmente a glicose, se tornando a principal fonte de energia (Baldwin et al., 2004). Por outro lado, apesar das concentrações de BHBA não diferirem em função da dieta sólida durante a fase de aleitamento, na 7ª. semana a concentração de BHBA foi maior para animais suplementados com feno em comparação com milho, provavelmente em função do maior consumo de concentrado. A concentração plasmática de BHBA aumentou com o avanço da idade dos bezerros, independente da dieta sólida, o que está fortemente relacionado com a disponibilidade de concentrado para bezerros (Quigley et al., 1991) e atrelado ao desenvolvimento ruminal (Nemati et al., 2015).

A concentração de lactato na corrente sanguínea pode se originar da fermentação e metabolismo do propionato na parede ruminal (Khan et al., 2007). Durante a fase de aleitamento, a concentração de lactato diminuiu com o avanço da idade, o que pode estar associado ao estabelecimento da função hepática nas primeiras semanas de vida, sendo o lactato convertido em glicose via gliconeogênese. Em contrapartida, após o desaleitamento o consumo de concentrado aumenta em função da retirada da dieta líquida, aumentando também o desafio pelo maior consumo de CNF. No presente estudo, ao contrário do esperado, a suplementação de grão de milho inteiro diminuiu a concentração de lactato no pós-desaleitamento. Pode-se especular que o resultado se deva a população microbiana mais adaptada para degradação de CNF após o desaleitamento. No entanto, não houve aumento nas concentrações de ácido propiônico e o pH ruminal foi menor em animais suplementados com milho grão.

As concentrações de proteínas totais e albumina não foram alteradas devido as diferentes dietas sólidas. Todavia, observou-se declínio na concentração de proteínas totais a partir da 2ª semana até 4ª semana de vida, seguido de um aumento na concentração com o avanço da idade. Este declínio é comum e ocorre em função da redução de anticorpos colostrais até a 5ª semana de vida (Hulbert e Moisés, 2016). Posteriormente, as concentrações de proteína começam a aumentar em função do consumo da dieta sólida.

As diferentes dietas não alteraram a concentração de ureia plasmática no período de aleitamento, no entanto, a suplementação de grão de milho inteiro diminuiu sua no período de pós-aleitamento. A concentração de ureia plasmática pode refletir o ambiente ruminal e os níveis de nitrogênio amoniacal, sendo positivamente relacionado ao consumo de concentrado (Eicher-Pruett et al., 1992). A suplementação de milho provavelmente aumentou a disponibilidade de

esqueletos carbônicos para as bactérias, aumentando a utilização para síntese de proteína microbiana.

Antagônico a ureia, a creatinina não é afetada pela dieta ou outros fatores que possam afetar o metabolismo hepático. Os níveis séricos de creatinina comumente servem para avaliar a atividade renal, baseada na habilidade do glomérulo em filtrar a creatinina (Meyer e Harvey, 2004). Todavia, independente da dieta, todos os animais apresentaram concentrações de creatinina dentro da faixa adequada para animais em aleitamento e pós-desaleitamento (Hardorn et al., 1997; Rauprich et al., 2000).

O tamanho de partícula proveniente de volumoso fornece estímulos físicos para aumentar a motilidade ruminal, a muscularização e o volume ruminal em bezerros (Khan et al., 2017). Bezerros que receberam feno suplementar apresentaram maior peso do rúmen-retículo e dos compartimentos anteriores (rúmen-retículo, omaso e abomaso) na oitava semana. Em contrapartida, quando analisado o peso dos compartimentos em função do peso corporal dos bezerros (% do PC), não houve efeito das dietas experimentais para as variáveis analisadas, assim como para o volume ruminal. Esses resultados indicam que os animais que receberam a suplementação com feno desaleitaram com os compartimentos mais pesados devido ao seu peso corporal ser maior quando comparado aos animais que receberam a suplementação de milho e concentrado sem suplementação, e não devido ao aumento na musculatura do rúmen em maior estágio de desenvolvimento com relatado por Tamate et al. (1962); Khan et al. (2011) e Kosiorowska et al. (2011).

O desenvolvimento metabólico do rúmen é desencadeado pela fermentação anaeróbica, sendo os AGCC os estímulos químicos necessários para a proliferação epitelial (Flatt et al., Sander et al., 1959). A diferenciação e o crescimento das células epiteliais escamosas promovem o crescimento em comprimento e largura das papilas ruminais, aumentando também a espessura da parede ruminal interna (Baldwin et al., 2004). Animais que tiveram livre acesso ao feno no período de aleitamento, apresentaram maior área de papila, quando avaliada como % da área absorptiva, em comparação aos animais suplementados com grão de milho inteiro, sem diferença com animais que receberam exclusivamente o concentrado. Esse resultado pode ser explicado pela maior concentração de BHBA plasmático encontrado na 7ª semana de vida em bezerros suplementados com feno, quando comparado com os animais que receberam grão de milho inteiro

O aumento no fluxo sanguíneo através da parede ruminal (Sander et al., 1959), juntamente com efeito direto do butirado e propionato (Galfi et al., 1991) são propostos como principais fatores para desencadear a diferenciação das papilas. Acredita-se que o butirato seja o principal

AGCC à estimular o desenvolvimento do epitélio ruminal (Flatt et al., Sander et al., 1959; Baldwin et al., 2004). Desta forma, a suplementação de feno que estimulou o maior consumo de concentrado, pode ter resultado em mais substrato para fermentação, se tornando mais eficiente em promover o desenvolvimento ruminal. Além disso, o fornecimento de forragem além de contribuir para o desenvolvimento do rúmen, aumenta a capacidade física e estimula a motilidade, podendo também reduzir a formação de placas causadas por anomalias como acidose ruminal, ingestão diminuída e paraqueratose, associadas à alta ingestão de grãos e ao o acúmulo de ácidos no rúmen (Greenwood et al., 1997; Laarman e Oba, 2011; Khan et al., 2016).

O desenvolvimento duodenal e do ceco, não sofreu alterações em função das diferentes dietas. Kehoe et al. (2018), avaliaram a substituição parcial e total de silagem de milho na dieta de bezerros leiteiros e relataram diminuição na profundidade das criptas do jejuno, com a substituição total de concentrado por silagem de milho. Esse resultado pode ser explicado pelo baixo teor de proteína bruta presente na silagem de milho quando comparado com o concentrado, 7,5% e 24,9 respectivamente.

O desenvolvimento do intestino delgado, comprimento das vilosidade e profundidade das criptas, é dependente do aporte de nutrientes que chega ao intestino, dessa forma, quanto menor o teor de proteína na dieta, menor o desenvolvimento do epitélio intestinal (Peng et al., 2016). Durante o período experimental os animais que receberam suplementação com feno mantiveram o consumo de concentrado, sem efeito de substituição que pudesse causar impactos negativos no desenvolvimento do trato gastrointestinal.

Acreditava-se que a suplementação com grão de milho inteiro do tipo *Flint*, por ser rico em endosperma vítreo, matriz proteica compacta e densa, com amido menos disponível, pudesse diminuir a fermentação secundária no intestino delgado e no ceco, diminuindo o estresse no epitélio do intestino causado pelo acúmulo de ácidos e de lipopolissacarídeos de membrana, como relatado por (Warner et al., 1956; Kim et al., 2011). Todavia, o grão de milho inteiro diminuiu a altura das vilosidades no duodeno, indicando que a menor ingestão de nutrientes prejudicou o desenvolvimento da porção inicial do intestino. O número de vilosidades, bem como o de microvilos, em cada segmento do intestino delgado, conferem a eles características próprias, sendo que na presença de nutrientes a capacidade digestiva e absorativa do segmento é diretamente proporcional ao número de vilosidades e ao tamanho dos vilos disponível para absorção (Macari, 1999).

Steinhoff-Wagner et al. (2014) encontraram valores superiores ao presente estudo para profundidade das criptas do duodeno de bezerros com 4 dias de vida. A ingestão de colostro em bezerros aumenta o tamanho das vilosidades e reduz a profundidade das criptas, como sugerido

anteriormente, provavelmente devido não apenas ao fornecimento de nutrientes, minerais e vitaminas, mas também devido à efeitos de fatores promotores de crescimento (Blattler et al., 2001).

Desse modo, o estudo morfológico apresenta valores novos para bezerros com 56 dias de vida, indicando maturação do epitélio absortivo sem lesões.

6. CONCLUSÃO

O fornecimento de feno de grama tropical picado como livre escolha na dieta associado ao concentrado com FDN marginal pode aumentar o consumo de concentrado no período de aleitamento e a ingestão de sólidos totais, além de melhorar o desenvolvimento ruminal e intestinal no desaleitamento, resultando em maior desempenho e crescimento durante o período de transição. Por outro lado, o fornecimento de grão de milho inteiro como livre escolha na dieta não aumentou a ingestão de nutrientes e o desempenho, no período de pré e pós-aleitamento como esperado, provavelmente devido ao seu efeito negativo na fermentação ruminal e às consequências no desenvolvimento ruminal e intestinal. Em dietas com grãos de milho superprocessados e FDN marginal, são necessárias fibras mais efetivas provenientes de forragem para manter a ingestão de alimentos e o desempenho, além de ajudar positivamente no desenvolvimento do trato digestório.

REFERÊNCIAS

- Abdelgadir, I. E. O., and J. L. Morrill. 1995. Effect of processing sorghum grain on dairy calf performance. *J. Dairy Sci.* 78:2040–2046.
- Anderson, K. L., Nagaraja, T. G., Morrill, J. L., Avery, T. B., Galitzer, S. J., Boyer, J. E. 1987. Ruminal microbial development in conventionally or early-weaned calves. *J. Anim. Sci.* 64:1215–1226.
- Anderson, M. J., Khoyloo, M., Walters, J. L. 1982. Effect of feeding whole cottonseed on intake, body weight and reticulo-rumen development of young Holstein calves. *J. Dairy Sci.* 65:764–772.
- Bach, A. 2014. Effective forage and starter feeding strategies for preweaned calves. *Adv. Dairy Technol.* 26:153–163.
- Bach, A., A. Gimenez, J. L. Juaristi, and J. Ahedo. 2007. Effects of physical form of a starter for dairy replacement calves on feed intake and performance. *J. Dairy Sci.* 90:3028–3033.
- Baldwin VI, .R.L., McLeod, K.R., Klotz, J.L., Heitmann, R.N. 2004. Rumen development, intestinal growth and hepatic metabolism in the pre- and Postweaning ruminant. *J. Dairy. Sci.* 87:55–65.
- Banks, W. *Histologia Veterinária Aplicada*.1991. São Paulo: Editora Manole.
- Bateman, H. G., Hill, T. M., Aldrich, J. M., Schlotterbeck, R. L. 2009. Effects of corn processing, particle size, and diet form on performance of calves in bedded pens. *J. Dairy Sci.* 92:782–789.
- Beauchemin, K.A., McAllister, T.A., Dong, Y., Farr, B.I., Cheg, K.J. 1994. Effects of mastication on digestion of whole cereal grains by cattle. *J. Animal. Sci.*72:236–246.
- Beharka, A. A., Nagaraja, T. G., Morrill, J. L., Kennedy, G. A., Klemm, R. D. 1998. Effects of form of the diet on anatomical, microbial, and fermentative development of the rumen of neonatal calves. *J. Dairy Sci.* 81:1946–1955.
- Beiranvand, H., Ghorbani, G. R., Khorvash, M., & Kazemi-Bonchenari, M. 2013. Forage and sugar in dairy calves' starter diet and their interaction on performance, weaning age and rumen fermentation. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 98: 439–445.
- Berchielli, T. T. A. V. P., Oliveira, S. G. 2006. *Nutrição de ruminantes*. 2. ed. Jaboticabal: Funep.
- Bergman, E. N. 1990. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiol. Rev.* 70:567–590.
- Bessi, R., Pauletti, P., Dantas, D.R., Machado, N. R. 2002. Absorção de anticorpos de colostro de bezerros. I. Estudo no intestino delgado proximal. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 31:2314–2324.
- Bittar, C. M. M., Ferreira, L.S., Santos, F. A. P., Zopollatto, M.2009. Desempenho e desenvolvimento do trato digestório superior de bezerros leiteiros alimentados com concentrado de diferentes formas físicas. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 38:1561–1567.
- Bittrich, S., Philipona, C., Hammon, H.M., Romé, V., Guilloteau, P., Blum, J.W. 2004. Preterm as compared with full term neonatal calves are characterized by morphological and functional immature of the small intestine. *J. Dairy. Sci.* 87:1786–1795.
- Blattler, U., Hammon, H.M., Morel, C., Philipona, C., Rauprich, A., Romé, V., Luron, I.L.H., Guilloteau, P., Blum, J.W. 2001. Feeding colostrum its composition and feeding duration variably

modify proliferation and morphology of the intestine and digestive enzyme activities of neonatal calves. *American Society for nutritional Sci.* 131:1256-1263.

Blome, R. M., Drackley, J. K., McKeith, F. K., Hutjens, M. F., McCoy, G. C. 2003. Growth, nutrient utilization, and body composition of dairy calves fed milk replacers containing different amounts of protein. *J. Anim. Sci.* 81:1641–1655.

Buhler, C., Hammon, H., Rossi, G.L., Blum, J.W. 1998. Small intestinal morphology in eight day old calves fed colostrum for different durations or only milk replacer and treated with long-R3-insulin like growth factor I and growth hormone. *J. Anim. Sci.* 76:758-765.

Bull, L. S., Bush, L. J., Friend, J. D., Harris Jr, B., Jones, E. W. 1965. Incidence of ruminal paraqueratosis in calves fed different rations and its relation to volatile fatty acid absorption. *J. Dairy Sci.* 48:1459–1466.

Burguess, A.W.1998. Growth mechanisms in normal and transformed intestinal cells. *Philosophical transactions of the royal society B. Biological. Sci.* 353:903-909.

Calsamiglia, S., Blanch, M., Ferret, A., Moya, D. 2012. Is subacute ruminal acidosis a pH related problem? Causes and tools its control. *Animal Feed Science and Technology.* 172:42-50.

Carter, R. R., Grovum, W. L. 1990. A review of the physiological significance of hypertonic body fluids on feed intake and ruminal function: Salivation, motility and microbes. *J. Anim. Sci.* 68:2811–2832.

Castells, L., Bach, A., Aris, A., Terré, M. 2013. Effects of forage provision to young calves on rumen fermentation and development of the gastrointestinal tract. *J. Dairy. Sci.* 96:5226-5236.

Castells, L.I., Bach, A., Araujo, G., Montoro, C., Terré, M. 2012. Effect of diferente forage sources on performance and feeding behavior of Hostein calves. *J. Dairy. Sci.* 95:286-293.

Castro-Alonso, N., Castro, N., Capote, J., Morales-Delanuez, A., Moreno-Indias, I., Sanchez-Maciass, D., Herraiez, P., Arguello, A.2008. Short communication: Apoptosis regulates passive immune transfer in newborn dairy calves. *J. Dairy. SCI.* 91:2086-2088.

Cheng, H., Le Blond, C.P. 1974. Origin, differentiation and renewal of the four main epithelial cell types in mouse small intestine. V. Unitarian theory of the origin of the four epithelial cell types. *American. J. Anatomy.* 141:537.

Correa, C.E.S., Shaver, R.D., Pereira, M.N., Lauer, J.G., Kohn, K. 2002. Relationship between corn vitreousness and ruminal in situ starch degradability. *J. Dairy. Sci.* 85: 3008-3012.

Coverdale, J. A., H. D. Tyler, J. D. Quigley III, and J. A. Brumm. 2004. Effect of various levels of forage and form of diet on rumen development and growth in calves. *J. Dairy Sci.* 87:2554–2562.

Cunningham, J.G. *Tratado de Fisiologia Veterinária.*1992. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A.

Daneshvar, D., Khorvash, M., Ghasemi, E., Mahdavi, A.H., Moshiri, B., Mirzaei, M., Pezeshki, A., Ghaffari, M.H. 2015. The effect of restricted milk feeding through conventional or step-down methods with or without forage provision in starter feed on performance to Holstein bull calves. *J. Anim. Sci.* 93:3979-3989.

Davis, C. L., and J. K. Drackley. 1998. *The Development, Nutrition, and Management of the Young Calf.* Iowa State University Press, Ames.

- De Paula, M.R., Oltramari, C.E., Silva, J.T., Gallo, M.P.C., Mourão, G.B., Bittar, M.M. 2017. Intensive liquid feeding of dairy calves with a médium crude protein milk replacer: Effects on performance, rumen, and blood parameters. *J. dairy. Sci.* 100: 4448-4456.
- Deplancke, B., Gaskins, E.R. 2001. Microbial modulation of innate defense: goblet cells and the intestinal mucus layer. *American. J. Clinical Nutrition.* 73:1131-1141.
- Dong, G., S. Liu, Y. Wu, C. Lei, J. Zhou, and S. Zhang. 2011. Diet-induced bacterial immunogens in the gastrointestinal tract of dairy cows: impacts on immunity and metabolism. *Acta Vet. Scand.* 53:48-54.
- Drackley, J.K. Calf nutrition from birth to breeding. 2008. *Vet. Clin. North Am. Food Anim.Pract.* 24:55-86.
- Duffield, T., Plaizier, J.C., Fairfield, A. 2004. Comparison of techniques for measurement of rumen pH in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87:59- 66.
- Eadie, J. M. 1962. Interrelationships between certain rumen ciliate protozoa. *J. Gen. Microbiol.* 29:579–588.
- EbnAli, A., Khorvash, M., Ghorbani, G.R., Nargeskhani, A., Malekhhahi, M., Mirzaei, M., Pezeshki, A., Ghaffari, M.H. 2016. Effects of forage offering method on performance, rumen fermentation, nutrient digestibility, blood metabolites, and nutritional behavior in Holstein dairy calves. *J. Anim. Physiology and Anim. Nutrition* 100:820–827.
- Eicher-Pruiett, S.D., Morril, J.L., Nagaraja, T.G., Higgins, J.J., Andreson, N.V., Reddy, P.G. 1992. Responde of young dairy calves with lasalocid delivery varied in fedd sources. *J. Dairy. Sci.* 75:857-862.
- Flatt, W. P., R. G. Warner, and J. K. Loosli. 1958. Influence of purified materials on the development of the ruminant stomach. *J. Dairy. Sci.* 41:1593–1600.
- Fonty, G., Gouet, P., Jouany, J. P., Senaud, J. 1983. Ecological factors determining establishment of cellulolytic bacteria and protozoa in the rumens of meroxenics lambs. *J. Gen. Microbiol.* 129:213–223.
- Fonty, G., Gouet, P., Ratefiarivelo, H., Jouany, J. P. 1988. Establishment of *Bacteroides succinogenes* and measurement of the main digestive parameters in the rumen of gnotoxenic lambs. *Can. J. Microbiol.* 34:938–946.
- Franklin, S. T., D. M. Amaral-Philips, J. A. Jackson, and A. A. Campbell. 2003. Health and performance of Holstein calves that suckled or were hand-fed colostrum and were fed one of three physical forms of starter. *J. Dairy Sci.* 86:2145–2153.
- Franzolin, R., and Dehority, B. A. 1996. Effect of prolonged high concentrate feeding on ruminal protozoa concentrations. *J. Anim. Sci.* 74:2803–2809.
- Galfi, P., S. Neogrady, and T. Sakata. 1991. Effects of volatile fatty acids on the epithelial cell proliferation of the digestive tract and its hormonal mediation. Pages 49–59 in *Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants: Proceedings of the Seventh International Symposium on Ruminant Physiology*. T. Tsuda, Y. Sasaki, and R. Kawashima, ed. Academic Press Inc., San Diego, CA.
- Gelsinger, S.L., Heinrichs, A.J., Jones, C.m. 2016. A meta-analysis of the effects of preweaned calf nutrition and growth on first-lactation performance 1. *J. Dairy. Scie.* 99:6206-6214.

- Godlewski, M.M., Slupecka, M., Wolinski, J., Skrzypek, T., Skrzypek, H., Motyl, T., Zabielski, R. 2005. Into the unknown – The death pathways in the neonatal gut epithelium. *J. Physiology and Pharmacology*. 56:724.
- Gozho, G.N., Krause, D.O., Plaizier, J.C. 2006. Rumen lipopolysaccharide and inflammation during grain adaptation and subacute ruminal acidosis in steers. *J. Dairy. Sci.* 89:4404-4413.
- Graham, C., Gatherar, I., Haslam, I., Glanville, M., Simmons, N.L. 2007. Expression and localization of monocarboxylate transporters and sodium/ proton exchanger in bovine rumen epithelium. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 292:997-1007.
- Greenwood, R. H., J. L. Morril, E. C. Titgemeyer, and G. A. Kennedy. 1997. A new method of measuring diet abrasion and its effect on the development of the forestomach. *J. Dairy Sci.* 80:2534–2541.
- Greenwood, R. H., J. L. Morril, E. C. Titgemeyer, and G. A. Kennedy. 1997. A new method of measuring diet abrasion and its effect on the development of the forestomach. *J. Dairy Sci.* 80:2534–2541.
- Hardon, U., Hammon, H., Bruckmaier, R., Blum, J.W. 1977. Delaying colostrum intake by one day has important effects on metabolic traits and on gastrointestinal and metabolic hormones in neonatal calves. *J. Nutr.* 127:2011-2023.
- Harmon, D. 2009. Understanding Starch Utilization in the Small Intestine of Cattle. *J. Anim. Sci.* 22:915-922.
- Heinrichs, A.J., Jone, C.M., Heinrichs, B.S. 2003. Effects of mannan oligosaccharide or antibiotics in neonatal diets on health and growth of dairy calves. *J. Dairy. Sci.* 86:4064-4069.
- Hibbs, J. W., Conrad, H. R., Pounden, W. D., Frank, N. 1956. A high roughage system for raising calves based on early development of rumen function. VI. Influence of hay to grain ratio on calf performance, rumen development, and certain blood changes. *J. Dairy Sci.* 39:171–179.
- Hill, T.M., Bat Bateman, H.G., Aldrich, J.M., Schlotterbeck, R.L. 2009. Roughage for diets fed to weaned dairy calves. *Prof. Anim. Sci.* 25: 283-288.
- Hill, T.M., Bateman, H.G., Aldrich, J.M., Schlotterbeck, R.L. 2008a. Effects of the amount of chopped hay or cottonseed hulls in a textured calf starter on young calf performance. *J. Dairy. Sci.* 91:2684-2693.
- Hill, T.M., Bateman, H.G., Aldrich, J.M., Schlotterbeck, R.L. 2008b. Effect of feeding different carbohydrate sources and amounts to young calves. *J. Dairy. Sci.* 91:3128-3137.
- Hill, T.M., Bateman, H.G., Quigley, J.D., Aldrich, J.M., Schlotterbeck, R.L., Heinrichs, A.J. 2013. Review: New information on the protein requirements and diet formulation for dairy calves and heifers since the Dairy NRC. *Prof. Anim. Sci.* 29:199-207.
- Huber, J.T. 1969. Development of the digestive and metabolic apparatus of the calf. *J. Dairy. Sci.* 52:1303-1315.
- Hulbert, L. E., and Moisés, S. J. 2016. Stress, immunity, and the management of calves. *J. Dairy Sci.* 99:3199–3216.
- Imani, M., Mirzaei, M., Baghbanzadeh-Nobari, B., Ghaffaris, M.H. 2017. Effects of forage provision to dairy calves on growth performance and rumen fermentation: A meta-analysis and meta-regression. *J.Dairy.Sci.* 100:1136-1150.

- Jahani-Moghadam, M., Mahjoubi, E., Hossein Yazdi, M., Cardoso, F.C., Drackley, J.K. 2015. Effects of alfalfa hay and its physical form (chopped versus pelleted) on performance of Holstein calves. *J. Dairy, Sci.* 98:4055-4061.
- Jami, E., Israel, A., Kotser, A., Mizrahi, I. 2013. Exploring the bovine rumen bacterial community from birth to adulthood. *ISME J.* 7:1069–1079.
- Kalanchnyuk, G.I., Savka, O.G., Leskovich, B.M., Bara, M., Kmet, V., Varady, J., Marounek, M., Kopečný, J., Šimunek, I. 1987. Metabolism of young cattle at prolonged feeding of non-traditional feedstuffs. IV. Int. Symp. Physiology of Ruminant Nutrition. 43-56.
- Kauffold, P., Piatkowski, B., Voigt, J. 1977. Untersuchungen über den Einfluß von Ernährungsfaktoren auf die Pansenschleimhaut. Die Wirkung von Pflanzenprotein und Harnstoff auf Schleimhautstrukturen und -funktionen. *Arch. Anim. Nutr.* 27, 379-391.
- Kay, R.N.B. 1960. The rate of flow and composition of various salivary secretions in sheep and calves. *J. Physiol.* 150: 515-537.
- Kehoe, S.L., Dill-McFarland, K.A., Breaker, D.J., Sue, G. 2018. Effects of corn silage inclusion in preweaning calf diets. *J. Dairy Sci.* 102:4131-4137.
- Khan, M. A., D. M. Weary, and M. A. G. von Keyserlingk. 2011b. Hay intake improves performance and rumen development of calves fed higher quantities of milk. *J. Dairy Sci.* 94:3547–3553.
- Khan, M. A., H. J. Lee, W. S. Lee, H. S. Kim, S. B. Kim, S. B. Park, K. S. Baek, J. K. Ha, and Y. J. Choi. 2008. Starch source evaluation in calf starter: II. Ruminal parameters, rumen development, nutrient digestibilities, and nitrogen utilization in Holstein calves. *J. Dairy Sci.* 91:1140–1149.
- Khan, M. A., Weary, D. M., von Keyserlingk, M. A. G. 2011a. Invited review: Effects of milk ration on solid feed intake, weaning, and performance in dairy heifers. *J. Dairy. Sci.* 94:1071–1081.
- Khan, M.A., Bach, A., Weary, D.M., von Keyserlingk, M.A.G. 2016. Invited review: Transitioning from milk to solid feed in dairy heifers. *J. Dairy. Sci.* 99:885-902.
- Kim, M.H., Yang, J.Y., Upadhyaya, S.D., Lee, H.J., Yun, C.H., Há, J.K. 2011. The stress of weaning influences serum levels of acute-phase proteins, iron-binding proteins, inflammatory cytokines, cortisol, and leukocyte subsets in Holstein calves. *J. Vet. Sci.* 12:151-157.
- Kincaid, R. L. 1980. Alternative methods of feeding alfalfa to calves. *J. Dairy Sci.* 63:91–94.
- Kosiorowska, A., Puggaard, L., Hedemann, M. S., Sehested, J., Jensen, S. K., Kristensen, N. B., Kuropka, P., Marycz, K., Vestergaard, M. 2011. Gastrointestinal development of dairy calves fed low- or high-starch concentrate at two milk allowances. *Animal.* 5:211–219.
- Krause, K.M., Oetzel, G.R. 2006. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 126:215-236.
- Laarman, A. H., and M. Oba. 2011. Short communication: Effect of calf starter on rumen pH of Holstein dairy calves at weaning. *J. Dairy Sci.* 94:5661–5664.
- Laarman, A.H., Ruiz-Sanchez, A.L., Sugino, T., Guan, L.L., Oba, M. 2012. Effects of feeding a calf starter on molecular adaptations in the ruminal epithelium and liver of Holstein dairy calves. *J. Dairy. Sci.* 95:2585-2594.
- Lane, M.A., Baldwin, R.V., Jesse, B.W., 2002. Developmental changes in ketogenic enzyme gene expression during sheep rumen development. *J. Anim. Sci.* 80: 1538-1544.

- Larson, L.L., Owen, F.G., Albright, J.L., Appleman, R.D., Lamb, R.C., Muller, L.D., 1977. Guidelines toward more uniformity in measuring and reporting calf experimental data. *J. Dairy Sci.* 60:989–991.
- Lavker, R. M., Maltoltsy, A. G. 1970. The fate of cell organelles and differentiation products in ruminal epithelium. *J. Cell Biology*, 44:501.
- Lavker, R., Chalupa, W., Dickey, J. F. 1969. An electron microscopic investigation of rumen mucosa. *Journal of ultrastructure research*, 28:1.
- Leibholz, J. 1975. Ground roughage in the diet of the early-weaned calf. *Anim. Prod.* 20:93–100.
- Lesmeister, K.E., Tozer, P.R., Heinrichs, A.J. 2004. Development and analysis of a rumen tissue sampling procedure. *J. Dairy. Sci.* 87:1336-1344.
- Li, R. W., Connor, E. E., Li, C., Baldwin VI, R. L., Sparks, M. E. 2012. Characterization of the rumen microbiota of pre-ruminant calves using metagenomic tools. *Environ. Microbial.* 14:129–139.
- Lizieire, R.S., Cunha, D.N.F.V., Martuscello, J.Z., Campos, O.F. 2002. Fornecimento de volumoso para bezerros pré-ruminantes. *Ciência Rural.* 32:835-840.
- Lydorf, S.J. 1988. Growth and development of the ruminant digestive system. In: Churc, D.C. *The ruminant animal: digestive physiology and nutrition*. Englewood Cliffs: Waveland Press. 8359-6782.
- Macari, M. (1999). *Fisiologia do Sistema Digestivo das Aves (I)*. Aves e Ovos, 08: 2-20.
- Maiga, H. A., D. J. Schingoethe, F. C. Ludens, W. L. Tucker, and D. P. Casper. 1994. Response of calves to diets that varied in amounts of ruminally degradable carbohydrate and protein. *J. Dairy Sci.* 77:278–283.
- Maktabi, H., E. Ghasemi, and M. Khorvash. 2016. Effects of substituting grain with forage or nonforage fiber source on growth performance, rumen fermentation, and chewing activity of dairy calves. *Anim. Feed Sci. Technol.* 221:70–78.
- Malmuthuge, N., Griebel, J. P., Guan, L. L. 2014. Taxonomic identification of commensal bacteria associated with the mucosa and digesta throughout the gastrointestinal tract of pre-weaned calves. *Appl. Environ. Microbiol.* 80:2021-2028.
- Marques, R.S., Chagas, L.J., Owens, F.N., Santos, F.A.P. 2016. Effects of various roughage levels with whole Flint corn grain on performance on finishing cattle. *J. Anim. Sci.* 94: 339-348.
- McAllister, T. A., Gibb, D. J., Beauchemin, K. A., Wang, Y. Starch type, structure and ruminal digestion. In *Cattle Grain Processing Symposium*. Nov. 15_17, Oklahoma State University, Tulsa. 2006.
- McBurney, M.I., Van Soest, P.J., Chase, L.E. 1983. Cation exchange capacity and buffering capacity of neutral detergent fibers. *J. Sci. Food Agric.* 34:910-916.
- McGuffey, R.K., Richardson, L.F., Wilkinson, J.I.D. 2001. Ionophores for dairy cattle: Current status and future outlook. *J. Dairy. Sci.* 84:194-203.
- Mertens, D. R. 1997. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80:1463–1481.
- Meschiatti, M.A.P., Gouvêa, V.N., Pellarin, L.A., Batalha, C.D.A., Biehl, M.V., Acedo, T.S., Dórea, J.R.R., Tamassia, L.F.M., Owens, F.n., Santos, F.A.P. 2019. Feeding the combination of essential oils and exogenous α -amilase increases performance and carcass production of finishing beef cattle. *J. Anim. Sci.* 97:456-471.

- Meyer, D. J., Harvey, J. W. 2004. Veterinary laboratory medicine: interpretation & diagnosis. 2.ed. Philadelphia: Saunders. 351.
- Minato, H., Otsuka, M., Shirasaka, S., Itabashi, H., Mitsumori, M. 1992. Colonization of microorganisms in the rumen of young calves. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 38:447–456.
- Mirzaei, M., Khorvash, M., Ghorbani, G.R., Kazemi-Bonchenari, M., Riasi, A., Soltani, B., Moshiri, B., Ghaffari, M.H. 2016. Interactions between the physical form of starter (mashed versus textured) and corn silage provision on performance rumen fermentation, and structural growth of Holstein calves. *J. Anim. Sci.* 94:678–686.
- Modesto, E.C., Mancio, A.B., Menin, E., Cecon, P.R., Detmann, E. 2002. Desempenho produtivo de bezerros desmamados precocemente alimentados com diferentes dietas líquidas com utilização de promotor de crescimento. *R. Bras. Zootec.* 31:429–435.
- Mojahedi, S., Khorvash, M., Ghorbani, G.R., Ghasemi, E., Mirzaei, M., Hashemzadeh-Cigari, F. 2018. Performance, nutritional behavior, and metabolic responses of calves supplemented with forage depend on starch fermentability. *J. Dairy, Sci.* 101:7061:7072.
- Montoro, C., and A. Bach. 2012. Voluntary selection of starter feed ingredients offered separately to nursing calves. *Livest. Sci.* 149:62–69.
- Murdock, F.R., Wallenius, R.W. 1980. Fiber sources for complete calf starter rations. *J. Dairy. Sci.* 63:1869-1881.
- National Research Council – NRC. Nutrient requirements of dairy cattle. 7 ed. National academic. 2001. P.381.
- Nejad, J.G., Torbatinejad, N., Naserian, A.A., Kumar, S., Kim, J.D. 2012. Effects of processing of starter diets on performance, nutrient digestibility, rumen biochemical parameters and body measurements of brown swiss dairy calves. 25:980-987.
- Nemati, M., Amanlou, H., Khorvash, M., Mirzaei, M., Moshiri, B., Ghaffari, M.H. 2016. Effect of different alfalfa hay levels on growth performance, rumen fermentation, and structural growth of Holstein dairy calves. *J. Dairy. Sci.* 94:1141–1148.
- Nemati, M., H. Amanlou, M. Khorvash, B. Moshiri, M. Mirzaei, M. A. Khan, and M. H. Ghaffari. 2015. Rumen fermentation, blood metabolites, and growth performance of calves during transition from liquid to solid feed: Effects of dietary level and particle size of alfalfa hay. *J. Dairy Sci.* 98:7131–7141.
- Nussio, C.M.B., Santos, F.A.P., Zopollatto, M., Pires, A.V., Pires, J.B.M. 2003. Processamento de milho (floculado vs. laminado a vapor) e adição de monensina para bezerras leiteiras, pré e pós-desmama precoce. *R. Bras. Zootec.* 32:229-239.
- Nussio, C.M.B., Santos, F.A.P., Zopollatto, M., Pires, A.V., Moraes, J.B., Fernandes, J.J.R. 2003. Parâmetros de fermentação e medidas morfométricas dos compartimentos ruminais de bezerros leiteiros suplementados com milho processado (Floculado vs. Laminado a vapor) e monensina. *R. Brasileira. Zoot.* 32:1021–1031.
- Omidi-Mirzaei, H., Khorvash, M., Ghorbani, G.R., Moshiri, B., Mirzaei, M., Pezeshki, A., Ghaffari, M. H. 2015. Effects of the step-up/step-down and step down milk feeding procedures on the performance, structural growth, and blood metabolites of Holstein dairy calves.
- Owens, F.N., Soderlund, S. 2007. Ruminant and postruminal starch digestion by cattle. Pioneer Hi-bred, a Dupont Business Conference, Johnston, 2007.

- Pauletti, P., Bagaldo, A.R., Kindlen, L., Machado Neto, R. 2007. Insulin-like growth factor-I, passive immunity transfer and stereological characteristics of small intestine of newborn calves. *J. Anim. Sci.* 78:631:638.
- Pazoki, A., Ghorbani, G.R., Kargar, S., Sadeghi-Sefidmazgi, A., Drackley, J.K. 2017. Growth performance, nutrient digestibility, ruminal fermentation, and rumen development of calves during transition from liquid to solid feed: Effects of physical form of starter feed and forage provision. *Anim. Feed. Sci. and Tech.* 234:173-185.
- Peng, X., Hu, L., Liu, Y., Yan, C., Fang, Z.F., Lin, Y., Xu, S.Y., Li, J., Wu, C.M., Chen, M.W., Sun, H., Wu, D., Che, L.Q. 2016. Effects of low-protein diets supplemented with indispensable amino acids on growth performance, intestinal morphology and immunological parameters in 13 to 35 kg pigs. *Animal* 10:1812–1820.
- Penner, G.B., Oba, M. 2009. Increasing dietary sugar concentration may improve dry matter intake, ruminal fermentation, and productivity of dairy cows in the postpartum phase of the transition period. *J. Dairy. Sci.* 92:3341-3353.
- Penner, G.B., Steele, M.A., Aschenbach, J.R., McBride, B.W. 2011. Molecular adaptation of ruminal epithelia to highly fermentable diets. *J. Anim. Sci.* 89:1108-1119.
- Pereira, M. C. S., J. V. T. Dellaqua, O. A. Sousa, P. F. Santi, L. D. Felizari, B. Q. Reis, A. C. J. Pinto, G. P. Bertoldi, A. M. Silvestre, D. H. M. Watanabe, D. D. Estevam, M. D. 622 B. Arrigoni, D. D. Millen. 2020. Feedlot performance, feeding behavior, carcass and rumen morphometrics characteristics of Nelore cattle submitted to strategic diets prior the adaptation period. *Livestock Science.* 234:103985.
- Peres, M.S. 2011. Processamento de grãos de milho do tipo Flint ou duro e adequação protéica em rações para bovinos em terminação – desempenho animal e digestibilidade do amido. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- Pineda, A., Ballou, M. A., Campbell, J. M., Cardoso, F. C., Drackley, J. K. 2016. Evaluation of serum protein-based arrival formula and serum protein supplement (Gammulin) on growth, morbidity, and mortality of stressed (transport and cold) male dairy calves. *J. Dairy Sci.* 99:9027–9039.
- Plaizier, J. C., E. Khafipour, S. Li, G.N. Gozho, D.O. Krause. 2012. Subacute ruminal acidosis (SARA), endotoxins and health consequences. *Anim. Feed Sci. Technol.* 172:9–21.
- Plaizier, J. C.; Krause, D. O.; Gozho, G. N. 2009. Subacute ruminal acidosis in dairy cows: The physiological causes, incidence and consequences. *Vet. Journal.* 176:21-31.
- Poczyneck, M., Toledo, A.F., Silva, A.P., Silva, M.D., Oliveira, G.B., Coelho, M.G., Virginio Jr, G.F., Polizel, D.M., Costa, J.H.C., Bittar, C.M.M. 2019. Partial corn replacement by soybean hull, or hay supplementation: Effects of increased NDF in diet on performance, metabolism and behavior of pre-weaned calves. *Livestock Sci.* 231:103858.
- Pordomingo, A.J., Juan, N.A. y Azcarate, P. 2002. Grano de maíz húmedo conservado con urea en dietas de engorde a corral. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 22:101-113.
- Porter, J. C., Warner, R. G., Kertz, A. F. 2007. Effect of fiber level and physical form of starter on growth and development of dairy calves fed no forage. *Prof. Anim. Sci.* 23:395–400.
- Quigley, J. 2013. Calf Note 176 – Acidose ruminal ubaguda e a saúde do bezerro. Disponível: <https://www.calfnotes.com/pdf/CN176p.pdf>. Acesso 12/02/2020.

- Quigley, J. D., Wolfe, T. A., Elsasser, T. H. 2006. Effects of additional milk replacer feeding on calf health, growth, and selected blood metabolites in calves. *J. Dairy Sci.* 89:207–216.
- Quigley, J.D. 1996. Effects of lasalocid in milk replacer and calf starter on growth, intake, and fecal oocyst shedding in calves challenged with *Eimeria*. *J. Dairy. Sci.* 79:154-166.
- Quigley, J.D. 2019. *Symposium review*: Re-evaluation of National Research Council energy estimates in calf starters. *J. Dairy. Sci.* 102:3674-3683.
- Quigley, J.D., Smith, Z.P., Heitmann, R.N. 1991. Changes in plasma volatile fatty acids in response to weaning and feed intake in young calves. *J. Dairy. Sci.* 74:258-270.
- Rauprich, A.B.E., Hammon, H.M., Blum, J.W. 2000. Influence of feeding different amounts of first colostrum on metabolic, endocrine, and health status and on growth performance in neonatal calves. *J. Anim. Sci.* 78:896-908.
- Resende Júnior, J. C.; Alonso, L. S.; Pereira, M. N. 2006. Effect of the feeding pattern on rumen wall morphology of cows and sheep. *Journal of Animal Science*, 43:526-536.
- Rey, M., Enjalbert, F., Combes, S., Cauquil, L., Bouchez, O., Monteils, V. 2015. Establishment of ruminal bacterial community in dairy calves from birth to weaning is sequential. *J. Applied. Microb.* 116:245-257.
- Roffler, B., Fah, A., Sauter, S.N., Hammon, H.M., Gallmann, P., Brem, G., Blum, J.W. 2003. Intestinal morphology, epithelial cell proliferation and absorptive capacity in neonatal calves fed milk-born insulin-like growth factor-I or a colostrum extract. *J. Dairy. Sci.* 86:1797-1806.
- Rooney, L.W., Pflugfelder, R.L. 1986. Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn. *J. Anim. Sci.* 63:1607-1623.
- Russell, J. R., A. W. Young, and N. A. Jorgensen. 1981. Effect of dietary corn starch intake on pancreatic amylase and intestinal maltase and pH in cattle. *J. Anim. Sci.* 52:1177–1182.
- Sakata, T.; Hikosaka, K.; Shiomura, Y.; Tamate, H. 1980. Stimulatory effect of insulin on ruminal epithelium cell mitosis in adult sheep. *British Journal of Nutrition*, v. 44, n. 3, p. 325-331.
- Sander, E. G., H. N. Warner, H. N. Harrison, and J. K. Loosli. 1959. The stimulatory effect of sodium butyrate and sodium propionate on the development of rumen mucosa in the young calf. *J. Dairy. Sci.* 42:1600–1605.
- Schwartzkopf-Genswein, K. S., Beauchemin, K. A., Gibb, D. J., Crews Jr, D. H., Hickman, D. D., Streeter, M., McAllister, T. A. 2003. Effect of bunk management on feeding behavior, ruminal acidosis and performance of feedlot cattle: A review. *J. Anim. Sci.* 81:149–158.
- Soberon, F., Raffrenato, E., Everett, R. W., Van Amburgh, M.E. 2012. Prewaning milk replacer intake and effects on long-term productivity of dairy calves. *J. Dairy Sci.* 95:783–793.
- Steinhoff-Wagner, J., Zitnan, R., Schönhusen, U., Pfannkuche, H., Hudakova, M., Metges, C.C., Hammon, H.M. 2014. Diet effects on glucose absorption in the small intestine of neonatal calves: Importance of intestinal mucosal growth, lactase activity and glucose transporters. *J. Dairy. Sci.* 97:6358-6369.
- Stobo, I. J. F., Roy, J. H. B., Gaston, H. J. 1966. Rumen development in the calf. 1. The effect of diets containing different proportions of concentrates to hay on rumen development. *Br. J. Nutr.* 20:171–188.
- Suaréz, B. J., Van Reenen, C. G., Gerrits, W. J. J., Stockhofe, N., van Vuuren, A. M., Dijkstra, J. 2006b. Effects of supplementing concentrates differing in carbohydrate composition in veal calf diets: II. Rumen development. *J. Dairy Sci.* 89:4376–4386.

- Suárez, B.J., Van Reenen, C.G., Beldman, G., van Delen, J., Dijkstra, J., Gerrits, W.J.J. 2006a. Effectes of supplementing concentrates differing in carbohydrate composition in veal calf diets: I. Animal performance and rumen fermentation characteristics. *J. Dairy. Sci.* 89:4365-4375.
- Suárez, B.J., Van Reenen, C.G., Stockhofe, N., Dijkstra, J., Gerrits, W.j.j. 2007. Effect of roughage source and roughage to concentrate ratio on animal performance and rumen development in veal calves. *J. Dairy. Sci.* 90:2390-2403.
- Tamate, H., McGilliard, A. D., Jacobson, N. L., Getty, R. 1962. Effect of various dietaries on the anatomical development of the stomach in the calf. *J. Dairy Sci.* 45:408-420.
- Terré, M., Castells, Khan, M.A., Bach, A. 2015. Interaction between the physical form of the starter feed and straw provision on growth performance of Holstein calves. *J. Dairy. Sci.* 98:1101-1109.
- Terré, M., Devant, M., Bach, A. 2007. Effect of level of milk replacer fed to Holstein calves on performance during the preweaning period and starter digestibility at weaning. *Livestock Sci.* 110:82-88.
- Terré, M., Pedrals, E., Dalmau, A., Bach, A. 2013. What do preweaned and weaned calves need in the diet: A high fiber content or a forage source. *J. Dairy Sci.* 96:5217-5225.
- Theurer, C. B. 1986. Grain processing effects on starch utilization by ruminants. *J. Animal. Sci.* 63:1694-1662.
- Valadares Filho, S.B., Lopes, S.A., Machado, P.A.S., Chizzotti, M.L., Amaral, H.F., Magalhães, K.A., Rocha Junior, V.R., Capelle, E.R. 2019. CQBAL 3.0. Tabelas Brasileiras de Composição de Alimentos para Bovinos. Disponível em www.ufv.br/cqbal.
- Van Soest, P.J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. Ithaca: Cornell University Press. 476.
- Warner, R.G., Flatt, W.P., Loosli, J.K. 1956. Dietary factors influencing the development of the ruminant stomach. *J. Agricultural and Food Chemistry.* 4:788-792.
- Weigand, E., Young, J.W., McGilliard, A.D. 1972. Extent of butyrate metabolism by the rumino-reticulum epithelium and the relationship to absorptive rate. *J. Dairy. Sci.* 55:589-597.
- Wheeler, W. E., and C. H. Noller. 1977. Gastrointestinal tract pH and starch in feces of ruminants. *J. Anim. Sci.* 44:131-135.
- Whitaker, R.T., Miller, W.J., Carmon, J.L., Dalton, H.L. 1957. Influence of level and source of crude fiber in calf starters on weight and feed consumption. *J. Dairy. Sci.* 40:887-892.
- Williams, P.E.V., Fallon, R.J., Innes, G.M., Garthwaite, P. 1987. Effect on food intake, rumen development and live weight of calves of replacing barley with sugar beet-citrus pulp in a starter diet. *Anim. Prod.* 44:65-73.
- Wood, K.M., Palmer, S.I., Steele, M.A., Metcalf, J.A., Penner, G.B. 2015. The influence of age and weaning on permeability of the gastrointestinal tract in Holstein bull calves. *J. Dairy. Sci.* 98:7226-7237.
- Yanez-Ruiz, D. R., B. Macias, E. Pinloche, and C. J. Newbold. 2010. The persistence of bacterial and methanogenic archaeal communities residing in the rumen of young lambs. *FEMS Microbiol. Ecol.* 72:272-278.
- Žitnan, R., Voigt, J., Schonhusen, U., Wegner, J., Kokardova, M., Hagemeister, H., Levkut, M., Kuhla, S., Sommer, A. 1998. Influence of dietary concentrate to forage ratio on the development of rumen mucosa in calves. *Arch. Tierernahr.* 51:279-291.

ANEXOS

Histologia do rúmen

Figura 8. A altura de papila foi definida como sendo uma linha reta traçada da base ao ápice da papila. Para a mensuração da largura, traçaram-se retas em quatro lugares distintos da papila, para que a média fosse considerada. Já a área, foi medida circulando todas as partes computadas para se obter a média (objetiva 10 x). A espessura de queratina foi medida da mesma forma que a largura (objetiva 20 x).

Histologia do duodeno

Figura 9. A altura das vilosidades do duodeno foi definida como sendo uma linha reta traçada da base ao ápice da vilosidade. A profundidade das criptas foi definida da mesma forma (objetiva 10 x). As células caliciformes foram contadas dentro das criptas para que a média fosse considerada (objetiva 20 x).

Histologia do ceco

Figura 10. A profundidade das criptas do ceco foi definida como sendo uma linha reta dentro de cada cripta (objetiva 10 x). As células caliciformes foram contadas dentro das criptas para que a média fosse considerada (objetiva 20 x).