Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Substituição do milho por fontes alternativas de energia no concentrado de bezerros leiteiros: desempenho e metabolismo

Carlos Eduardo Oltramari

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

Piracicaba
2013

Carlos Eduardo Oltramari
Zootecnista

Substituição do milho por fontes alternativas de energia no concentrado de bezerros leiteiros: desempenho e metabolismo

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

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

Piracicaba
2013

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

Oltramari, Carlos Eduardo
Substituição do milho por fontes alternativas de energia no concentrado de bezerros leiteiros: desempenho e metabolismo / Carlos Eduardo Oltramari.- - Piracicaba, 2013.
117p: il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2013.

1. Consumo de concentrado 2. Ganho de peso 3. Desenvolvimento ruminal 4.Polpa cítrica 5. Melaço de cana 6. Xarope de glicose I. Título

CDD 636.214
O52s

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

Aos meus pais, Sergio Oltramari e Elza Casagrande Oltramari,
e minhas irmãs, Ana Cristine Oltramari e Mauren Kelli Oltramari,
por terem me ensinado a importância da educação e a necessidade de lutar.

Dedico

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Profa. Dra. Carla Maris Machado Bittar, pela orientação, conselhos e, sobretudo, conhecimentos repassados.

Aos colegas do Grupo de Estudos em Metabolismo Animal, Gustavo Nápoles, Marília de Paula, Jackeline Silva, Marcelo Soares, Mariana Gallo, Flávia Rocha, Lucas Silveira, Diandra Leziér, Maximilliano Pasetti, Camila Cyrino, Giovana Slanzon, Juliana Rodrigues e Márcio Soares.

À Julia Segat por estar sempre ao meu lado.

Aos amigos Daniel Junges, Diego Pequeno, Fábio Pértille e Renato Prioli.

Aos funcionários do Laboratório de Bromatologia, do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP, César, Alan e Tânia.

Ao Sistema Intensivo de Produção de Ovinos e Caprinos da ESALQ/USP, em especial à Professora Ivanete Susin, Renato Gentil e Sr. Marcos.

Aos professores e colegas do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Pastagens da ESALQ/USP.

Aos professores e alunos do curso de Zootecnia UDESC/Chapecó.

Ao pessoal do SEDEMA/Piracicaba.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento do projeto.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudo.

As demais pessoas que contribuíram para a execução deste trabalho.

Obrigado!

SUMÁRIO

RESUMO 9
ABSTRACT 11
1 INTRODUÇÃO 13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 15
2.1 Nutrição de bezerros 15
2.1.2 Exigências nutricionais de bezerros 18
2.1.3 Desenvolvimento ruminal de bezerros 20
2.2 Fontes energéticas utilizadas em concentrados iniciais 22
2.2.1 Milho 22
2.2.2 Polpa cítrica 24
2.2.3 Melaço de cana 26
2.2.4 Xarope de glicose 28
Referências 29
3 DESEMPENHO E METABOLISMO DE BEZERROS RECEBENDO CONCENTRADO INICIAL CONTENDO POLPA CÍTRICA EM SUBSTITUIÇÃO AO MILHO 33
Resumo 33
Abstract 34
3.1 Introdução 35
3.2 Material e métodos 36
3.2.1 Manejo alimentar e amostragens 36
3.2.2 Metodologia analítica 39
3.2.3 Análise estatística 41
3.3 Resultados e discussão 43
3.3.1 Consumo e desempenho 43
3.3.2 Escore fecal 49
3.3.3 Parâmetros ruminais 50
3.3.4 Parâmetros sanguíneos 58
3.3.5 Morfometria do trato digestório 62
3.4 Conclusões 65
Referências 66
4 DESEMPENHO E METABOLISMO DE BEZERROS RECEBENDO CONCENTRADO INICIAL CONTENDO MELAÇO DE CANA OU XAROPE DE GLICOSE EM SUBSTITUIÇÃO AO MILHO 71
Resumo 71
Abstract 72

4.1 Introdução 73
4.2.1 Manejo alimentar e amostragens 74
4.2.2 Metodologia analítica 77
4.2.3 Análise estatística 79
4.3 Resultados e discussão 81
4.3.1 Consumo e desempenho 81
4.3.2 Escore fecal 88
4.3.3 Parâmetros ruminais 89
4.3.4 Parâmetros sanguíneos 100
4.3.5 Morfometria do trato digestório..... 106
4.4 Conclusões 110
Referências 111
5 CONSIDERAÇÕES GERAIS 117

RESUMO

Substituição do milho por fontes alternativas de energia no concentrado de bezerros leiteiros: desempenho e metabolismo

Foram conduzidos dois experimentos com objetivo de avaliar o efeito da substituição do milho moído por diferentes co-produtos da indústria sobre o desempenho e metabolismo de bezerros em aleitamento. No primeiro experimento, 24 bezerros da raça Holandês foram distribuídos em três tratamentos, de acordo com o nível de inclusão de polpa cítrica desidratada (PC): (1) concentrado contendo 64% de milho e 0% de PC (0PC); (2) concentrado contendo 32% de milho e 32% de PC (50PC); e (3) concentrado contendo 0% de milho e 64% de PC (100PC). No segundo experimento, 36 bezerros da raça Holandês foram distribuídos em quatro tratamentos, de acordo com o nível de inclusão de melaço de cana líquido (ME) e xarope de glicose (XG): (1) concentrado contendo 65% de milho, 0% de ME e 0% XG (0ME); (2) concentrado contendo 60% de milho e 5% ME (5ME); (3) concentrado contendo 55% de milho e 10% de ME (10ME); e (4) concentrado contendo 60% de milho e 5% de XG (5XG). Os animais de ambos os experimentos receberam diariamente 4 L de sucedâneo lácteo, além de concentrado e água *ad libitum*. O consumo do concentrado e o escore fecal foram controlados diariamente. Semanalmente os animais foram pesados e tiveram as medidas corporais aferidas. Amostras de sangue foram colhidas semanalmente para determinação de glicose, lactato e β-hidroxibutirato. Amostras de fluído ruminal foram colhidas nas semanas 4, 6 e 8 para determinação de pH, N-amoniacal e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). Na oitava semana de vida os animais foram abatidos para avaliação do desenvolvimento do trato digestório superior (peso e volume dos compartimentos e tamanho, área e número das papilas ruminais). No primeiro experimento não houve diferença entre tratamentos ($P>0,05$) para as variáveis de consumo, desempenho, parâmetros sanguíneos e ruminais, exceto para a concentração de butirato, onde os tratamentos 50PC e 100PC apresentaram maior ($P<0,05$) concentração que 0PC. Este resultado está relacionado ao maior ($P<0,05$) peso do trato digestório superior total, maior proporção do retículo-rúmen e área das papilas ruminais dos tratamentos com inclusão de PC, uma vez que o butirato é o principal AGCC estimulador do desenvolvimento ruminal. Dessa forma, a substituição parcial ou total do milho por PC no concentrado inicial não altera o desempenho de bezerros leiteiros, podendo ainda apresentar efeitos positivos no metabolismo ruminal e desenvolvimento do trato digestório superior. No segundo experimento não houve efeito de tratamento ($P>0,05$) para as variáveis de consumo, desempenho e escore fecal. Porém, observou-se aumento ($P<0,05$) na concentração total de AGCC, acetato e propionato do tratamento 5ME quando comparado à 0ME, sendo que os demais não diferiram de 5ME e 0ME. Essa alteração no metabolismo ruminal não foi acompanhada ($P>0,05$) por mudanças nos parâmetros sanguíneos ou de desenvolvimento do trato digestório superior. Pode-se concluir que a substituição do milho por 5 e 10% de ME ou 5% de XG no concentrado não prejudica o desenvolvimento corporal de bezerros leiteiros, sendo uma alternativa ao uso do milho na composição de dietas sólidas para esta classe animal.

Palavras-chave: Consumo de concentrado; Ganho de peso; Desenvolvimento ruminal; Polpa cítrica; Melaço de cana; Xarope de glicose

ABSTRACT

Replacing corn with alternative energy sources in the starter of dairy calves: performance and metabolism

Two studies were conducted to evaluate the effect of replacing corn grain by co-products, on the performance and changes in the metabolism of dairy calves. In the first study, 24 Holstein calves were divided into three groups, according to level of inclusion of citrus pulp (CP): (1) starter containing 64% corn and 0% CP (0CP), (2) starter containing 32% corn and 32% CP (50CP), and (3) starter containing 0% corn and 64% CP (100CP). In the second study, 36 Holstein calves were allocated four treatments according to level of inclusion of liquid sugar cane molasses (MO) or glucose syrup (GS): (1) starter containing 65% corn, 0% MO and 0% GS (0MO), (2) starter containing 60% corn and 5% MO (5MO), (3) starter containing 55% corn and 10% MO (10MO), and (4) starter containing 60% corn and 5% GS (5GS). The animals of both experiments received 4 L milk replacer daily. Starter and water were provided *ad libitum*. Starter intake and fecal score were monitored daily. Weekly, the animals were weighed and had their body measurements monitored until eight weeks. Blood samples were taken weekly for glucose, lactate and β-hydroxybutyrate analysis. Ruminal fluid samples were collected at weeks 4, 6 and 8 of age to pH, ammonia-N and short chain fatty acids (SCFA) determination. In the eighth week of life animals were slaughtered to evaluate the development of the upper digestive tract (weight and volume of the compartments, as well as size, area and number of ruminal papillae). In the first experiment there were no differences among treatments ($P>0.05$) for starter intake, performance, ruminal and blood parameters, except for the concentration of butyrate, where treatments 50CP and 100CP had higher concentration ($P<0.05$) than 0CP. This result is related to the higher ($P<0.05$) weight of total upper digestive tract, proportion of the reticulum-rumen and rumen papillae area of treatments including CP, since butyrate is the main SCFA stimulating rumen development. Thus, the partial or total replacement of corn by citrus pulp in the starter does not change the performance of calves, and may present positive effects on ruminal metabolism and development of the upper digestive tract. In the second study there was no effect of the starter composition ($P>0.05$) for starter intake, performance or fecal scores. However, there was an increase ($P<0.05$) in the total SCFA, acetate and propionate concentration for treatment 5MO compared to 0MO, whereas the other treatments did not differ from 5MO and 0MO. This change in ruminal metabolism was not accompanied ($P>0.05$) by changes in blood parameters and development of the upper digestive tract. It may be concluded that the substitution of corn for 5 and 10% MO or 5% GS in the starter has no detrimental effect on body development of dairy calves, being an alternative to the use of corn in solid feed composition for these animals.

Keywords: Starter intake; Weight gain; Rumen development; Citrus pulp; Sugar cane molasses; Glucose syrup

1 INTRODUÇÃO

A nutrição representa o maior custo de produção de bovinos leiteiros, sendo que animais em aleitamento apresentam, proporcionalmente, custos ainda mais elevados devido a necessidade de ingestão de leite. Uma das formas de diminuir esse impacto financeiro é através da adoção de técnicas que possibilitem o desaleitamento precoce. Porém, para que não ocorram reduções no desempenho e sanidade dos animais, os mesmos devem estar adaptados à dietas sólidas. Para tanto, é impressindível que o rúmem esteja parcialmente desenvolvido e colonizado, sendo capaz de utilizar alimentos concentrados e volumosos e assim manter um desempenho satisfatório.

Bezerros na fase de transição de pré-ruminantes para ruminantes funcionais, que em geral compreende da terceira à oitava semana de vida, passam por mudanças significativas em seu organismo, especialmente no sistema digestório. Nessa fase, para que o rúmen seja devidamente colonizado e apresente desenvolvimento adequado, os animais devem receber, além da dieta líquida (leite integral ou sucedâneo lácteo), alimentos sólidos, especialmente os concentrados, que apresentem carboidratos altamente degradáveis no rúmen.

O milho (*Zea mays* L.) é largamente utilizado na formulação de concentrados para animais em aleitamento. No entanto, por ser utilizado também nas dietas de monogástricos e na geração de energia, seu valor de mercado tem se mantido em patamares elevados, refletindo em maior custo na fabricação dos concentrados e, consequentemente, maior custo da produção animal.

Uma das alternativas é a utilização de co-produtos da indústria, onde tem-se a polpa cítrica desidratada, o melaço de cana líquido e o xarope de glicose, os quais são compostos basicamente por carboidratos de elevada digestibilidade ruminal, favorecendo assim a ingestão de nutrientes, bem como o desenvolvimento do trato digestório superior. Estas características tornam estes co-produtos potenciais substitutos do milho na formulação de concentrados para bezerros. Porém, pouco se sabe como estas diferentes fontes de carboidratos alteram o desempenho e metabolismo dos bezerros em fase de transição, necessitando ser mais bem descrita.

Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da substituição do milho por polpa cítrica desidratada, melaço de cana líquido ou xarope de glicose no concentrado inicial sobre o desempenho e metabolismo de bezerros em aleitamento.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Nutrição de bezerros

Os bovinos apresentam seu trato digestório imaturo logo após o nascimento, com secreções enzimáticas limitadas e nenhum tipo de fermentação pré ou pós-gástrica (CHURCH, 1988). Além disso, apresentam poucas reservas energéticas e seu sistema imune encontra-se inativo. Sendo assim, o animal depende da ingestão de colostro para atender suas necessidades nutricionais e imunológicas, uma vez que este apresenta composição química diferente do leite integral (Tabela 2.1).

Tabela 2.1 – Composição do leite integral e colostro de primeira, segunda e terceira ordenha de bovinos leiteiros da raça Holandês[1]

Parâmetro	Leite Integral	Colostro (ordenha pós-parto)		
		Primeira	Segunda	Terceira
Gravidade específica	1,032	1,056	1,040	1,035
Sólidos, %	12,9	23,9	17,9	14,1
Lactose, %	5,0	2,7	3,9	4,4
Gordura, %	3,7	6,7	5,4	3,9
Proteína, %	3,1	14,0	8,4	5,1
Imunoglobulinas, %	0,09	6,0	4,2	2,4
Imunoglobulina G, mg/mL	0,6	32,0	25,0	15,0
Matéria mineral, %	0,74	1,11	0,95	0,87

[1] Adaptado de Foley; Otterby (1978)

De acordo com Quigley (1996), para que a colostragem seja efetiva é necessário que os animais consumam colostro logo após o nascimento e, no mínimo, a cada 12 horas até completarem dois dias de vida. Além disso, o colostro deve apresentar alta concentração de imunoglobulinas, baixa contaminação microbiológica e ser fornecido em quantidade adequada, de no mínimo 10% do peso vivo ao dia. Sendo assim, o manejo alimentar inicial correto é indispensável para que os recém-nascidos apresentem elevado desempenho e baixas taxas morbidade e mortalidade.

Após a fase de colostragem inicia-se o fornecimento do leite ou sucedâneo lácteo, que se estende até o desaleitamento do animal, que geralmente é realizado à

oitava semana de vida. O volume da dieta líquida fornecida varia de 2 L/dia a 12 L/dia, em situações onde o animal tem acesso *ad libitum* (DE PASSILLÉ; BORDERAS; RUSHEN; 2011), sendo que o aleitamento convencional (4 L/dia) é largamente adotado no Brasil e no mundo. Este sistema tem por objetivo estimular a ingestão de concentrado, de forma que o animal apresente consumo adequado para o desaleitamento, além de baixo custo da bezerra desaleitada.

Considerando animais submetidos ao aleitamento convencional, com fornecimento de leite integral de composição igual a apresentada na Tabela 2.1, tem-se o consumo de 516 gramas de sólidos por dia. De acordo com o *National Research Council* (NRC, 2001), 330 g serão utilizados para mantença, sendo o restante (186 g) direcionado para deposição de tecidos, possibilitando ganho de peso vivo de 390 g/dia. Sendo assim, para que um animal apresente ganho de peso superior a 390 g/dia, é imprescindível que tenha maior consumo de nutrientes.

Uma das formas de elevar o ganho de peso de bezerros é aumentar o fornecimento de dieta líquida. No entanto, animais em aleitamento intensivo podem apresentar menor consumo de dieta sólida (KRISTENSEN et al., 2007; BORDERAS; DE PASSILLÉ; RUSHEN; 2009), refletindo em menor ou mais tardio desenvolvimento do trato digestório superior, de acordo com o manejo no período próximo ao desaleitamento, além de aumento no custo de produção. Um segundo meio de aumentar a ingestão de nutrientes é através do consumo de alimentos sólidos, os quais são, em geral, mais baratos que os de origem láctea e contribuem para adaptação do animal à fase de ruminante funcional.

Dentre os alimentos sólidos que podem ser fornecidos aos bovinos têm-se os volumosos e os concentrados. O feno é um alimento volumoso amplamente utilizado na nutrição de bezerros. Porém, da mesma forma que outras fontes de volumosos, o feno é menos eficiente que alimentos concentrados em estimular o desenvolvimento das papilas ruminais. Isso se deve ao fato de que a microbiota ruminal de bezerros possui capacidade limitada de degradar fibra (WILLIAMS; FROST, 1992), além de apresentar perfil de fermentação mais acético, o qual não promove o crescimento das papilas ruminais de forma considerável (SANDER et al., 1959). Além disso, os volumosos limitam a ingestão de matéria seca e, consequentemente, diminuem a quantidade de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) produzidos no rúmen, devendo ser fornecidos apenas após o desaleitamento (DAVIS; DRACKLEY, 1998). Por outro lado, o consumo de concentrado deve ser estimulado desde as primeiras

semanas de vida, devendo apresentar carboidratos rapidamente fermentescíveis no rúmen em sua formulação (NRC, 2001), além de teor de fibra em detergente neutro (FDN) que auxilie na manutenção do pH adequado e saúde ruminal.

A fermentação de carboidratos não fibrosos leva à produção acelerada de AGCC, com aumento na geração de propionato e butirato, os quais irão promover o desenvolvimento ruminal e crescimento das papilas, responsáveis pela absorção dos AGCC (SANDER et al., 1959). Os carboidratos representam cerca de 75% do concentrado inicial de bezerros, sendo, portanto, um nutriente oneroso no momento da formulação. O milho é a principal fonte de energia utilizada na formulação de concentrados iniciais para bezerros, sendo o amido seu principal carboidrato (HUNTINGTON, 1997). A fermentação microbiana do amido pode levar a geração de ácidos com poder acidificante relativamente elevado, como o ácido lático (MOMCILOVIC et al., 2000), podendo causar queda no pH ruminal, paraqueratose das papilas ruminais e menor digestibilidade da fração fibrosa da dieta (CHURCH, 1988). Nesse sentido, a substituição do milho por co-produtos que apresentem padrão fermentativo diferente do amido pode melhorar a saúde ruminal e digestibilidade da dieta, além de diminuir os custos de produção.

Porém, essa substituição não deve ser feita de forma aleatória, uma vez que existem variações consideráveis na composição químico-bromatológica entre o milho e alguns dos co-produtos passíveis de serem utilizados (Tabela 2.2). Nesse sentido, pesquisas têm sido realizadas visando conhecer o efeito da substituição de ingredientes tradicionais, especialmente o milho, por co-produtos energéticos sobre o metabolismo e desempenho de bovinos de leite e corte. No entanto, os estudos ainda são limitados quando se compara a substituição do milho por polpa cítrica, melaço de cana ou xarope de glicose na dieta de bezerros em aleitamento.

Tabela 2.2 – Composição químico-bromatológica do milho grão, polpa cítrica, melaço de cana e xarope de glicose

	Milho grão[1]	Polpa cítrica[1]	Melaço de cana[1]	Xarope de glicose[2]
Matéria seca (MS), % matéria natural	88,1	85,8	74,3	82,2
Nutrientes digestíveis totais, % MS	84,9	80,4	79,2	90,9
Energia digestível, Mcal/kg de MS	3,8	3,5	3,4	3,1
Carboidrato não fibroso, % MS	76,1	57,2	80,3	99,9
Proteína bruta (PB), % MS	9,4	6,9	5,8	0
PB – Fração A, % PB	23,9	41,7	74,1	0
PB – Fração B, % PB	72,5	53,3	25,9	0
PB – Fração C, % PB	3,6	5,0	0,0	0
Extrato etéreo, % MS	4,2	4,9	0,2	0
Fibra em detergente neutro, % MS	9,5	24,2	0,4	0
Fibra em detergente ácido, % MS	4,4	22,2	0,2	0
Lignina, % MS	0,9	0,9	0,0	0
Matéria mineral, % MS	1,5	7,2	13,3	0,01
Cálcio, % MS	0,04	1,9	1,0	0,006
Fósforo, % MS	0,3	0,1	0,1	0,003

[1] Adaptado do NRC (2001)
[2] Adaptado do Certificado de Qualidade da Corn Products Brasil®

2.1.2 Exigências nutricionais de bezerros

O NRC (2001) é uma das publicações mais recentes relativa às exigências nutricionais de bovinos leiteiros, incluindo um submodelo que prediz o ganho de peso de bezerros a partir da disponibilidade de proteína e energia metabolizáveis. Este submodelo calcula as exigências nutricionais a partir do peso vivo do animal, da temperatura ambiente (considera apenas necessidades para termogênese) e da interação entre o fornecimento de dietas líquidas e sólidas. Nesse sentido, o NRC (2001) considera que animais recebendo exclusivamente dieta líquida (leite ou sucedâneo lácteo) apresentam menor exigência nutricional (Tabela 2.3) frente àqueles recebendo dieta líquida mais dieta sólida (Tabela 2.4).

Tabela 2.3 – Exigência de energia metabolizável (EM) e proteína digestível (PD) de bezerros alimentados apenas com leite ou sucedâneo lácteo[1]

Peso corporal (kg)	Ganho de peso (g/dia)	Ingestão de MS (g/dia)	EM (Mcal/dia)	PD (g/dia)
30	0	270	1,28	21
	200	360	1,69	68
	400	470	2,22	115
40	0	340	1,59	26
	200	430	2,04	73
	400	550	2,63	120
	600	690	3,28	168
50	0	400	1,88	31
	200	450	2,37	78
	400	630	3,00	125
	600	780	3,70	173

[1] Adaptado do NRC (2001) considerando temperatura ambiente de 25°C

Tabela 2.4 – Exigência de energia metabolizável (EM) e proteína digestível (PD) de bezerros alimentados com leite integral ou sucedâneo lácteo e concentrado inicial[1]

Peso corporal (kg)	Ganho de peso (g/dia)	Ingestão de MS (g/dia)	EM (Mcal/dia)	PD (g/dia)
30	0	320	1,34	23
	200	420	1,77	72
	400	560	2,33	122
40	0	400	1,66	33
	200	510	2,14	90
	400	660	2,76	148
	600	830	3,44	205
50	0	470	1,96	38
	200	600	2,48	96
	400	760	3,15	154
	600	940	3,89	212
60	0	540	2,25	38
	200	670	2,80	88
	400	840	3,51	138
	600	1040	4,31	188

[1] Adaptado do NRC (2001) considerando temperatura ambiente de 25°C

A exigência de energia metabolizável de bezerros ingerindo apenas dieta líquida é fixado em 0,086 Mcal/kg^{0,75} de peso corporal por dia, ou seja, considera-se 86% de eficiência na utilização da energia metabolizável para suprir a exigência de mantença (NRC, 2001). Para bezerros recebendo dieta líquida mais sólida considera-se 75% de eficiência na utilização da energia metabolizável para mantença. Portanto, a eficiência no uso da energia metabolizável proveniente da dieta é proporcional à fração líquida (86% de eficiência) e sólida (75% de eficiência) da dieta.

No entanto, durante o processo produtivo, muitas vezes os bezerros são submetidos a ambientes desafiadores (baixa qualidade das instalações, dietas mal formuladas, etc.), estresse (descorna, vacinação, castração, etc.), distúrbios metabólicos e doenças. Todos esses fatores reduzem a eficiência com que os nutrientes serão utilizados, aumentando a necessidade nutricional. Nesse sentido, o NRC (2001) pode superestimar o ganho de peso dos animais em alguns casos, sendo necessário conhecer claramente o sistema de produção no momento da formulação de dietas para animais em aleitamento.

2.1.3 Desenvolvimento ruminal de bezerros

De maneira geral, considera-se que bezerros passem por três fases de desenvolvimento: (1) fase pré-ruminante (nascimento à terceira semana de vida), onde a dieta líquida (leite ou sucedâneo lácteo) fornece os nutrientes; (2) fase de transição (terceira à oitava semana de vida), onde, além da dieta líquida existe aumento no consumo de dieta sólida (volumosos e/ou concentrados); e (3) fase de ruminante funcional, após o desaleitamento, quando os animais ingerem apenas alimentos sólidos, obtendo seus nutrientes através da fermentação ruminal e digestão pós-ruminal.

O desenvolvimento da capacidade absortiva e de secreção do trato gastrointestinal é essencial para o processo digestivo em bezerros jovens e melhor aproveitamento dos alimentos. Em bezerros recém-nascidos, a atividade das principais carboidrases (amilase, maltase e isomaltase) é extremamente baixa no intestino, diferente da lactase, que apresenta elevada atividade nesses animais (HUBER; JACOBSON; ALLEN, 1961). Dessa forma, durante as primeiras semanas,

os ruminantes têm uma capacidade limitada em digerir alimentos diferentes da lactose.

Toullec; Guilloteau (1989) observaram baixa produção das enzimas amilase pancreática e maltase em bezerros com até três semanas de vida, explicando a capacidade limitada de digestão de dissacarídeos e polissacarídeos durante esta fase da vida. Entretanto, estes autores observaram aumento na atividade destas enzimas com o avanço da idade dos animais, com consequente declínio na produção de lactase durante o mesmo período.

Com o início do consumo de dietas sólidas e consequente desenvolvimento do rúmen, o metabolismo de carboidratos é alterado de forma marcante. Na fase de transição de pré-ruminante para ruminante funcional, os animais absorvem glicose proveniente da dieta líquida e da digestão intestinal de carboidratos que escaparam da fermentação ruminal, especialmente o amido. Além disso, a produção e absorção de AGCC aumentam (HERDT, 1988), dando início à gliconeogênese. Após o desaleitamento do animal, há pouca absorção de glicose no intestino delgado, sendo que a energia é proveniente basicamente do metabolismo dos AGCC (HAMMON; BLUM, 1998).

Embora o desenvolvimento do trato digestório desses animais seja inato, a idade do animal tem pouco efeito no desenvolvimento das papilas ruminais, estruturas responsáveis pela absorção dos produtos finais resultantes da fermentação microbiana, especialmente os AGCC. Muitos trabalhos têm mostrado que o desenvolvimento de papilas é dependente principalmente da presença de alimentos sólidos no rúmen e da consequente produção de AGCC resultantes de fermentação (TAMATE et al., 1962; MURDOCK; WALLENIUS, 1980). Desta forma, o adequado desenvolvimento de papilas é resultado da ação de produtos de fermentação ruminal, além de estímulo físico causado pelo alimento consumido. Dentre os principais AGCC produzidos no rúmen, o ácido butírico é o mais importante em relação ao crescimento em número e tamanho de papilas, seguido pelo ácido propiônico, tendo o ácido acético pouca importância (SANDER, 1959). A maior produção desses ácidos graxos ocorre com a fermentação de alimentos concentrados, com alto teor de proteína e carboidrato.

A manutenção da homeostase das concentrações plasmáticas de glicose é realizada principalmente pelo fígado, através do controle entre utilização e produção de glicose hepática (DURAN-SANDOVAL et al., 2005). Este controle é realizado por

diversas rotas metabólicas, catalisadas por várias enzimas, sendo as mais importantes a piruvato carboxilase e a fosfoenolpiruvato carboxiquinase. Estas enzimas catalisam as primeiras reações da gliconeogênese, e limitam a taxa de rota no fígado (GIRARD et al., 1992). Segundo Haga et al. (2008), a atividade destas enzimas é reduzida com a idade do animal, uma vez que estes se tornam menos dependentes de glicose circulante como fonte de energia. Estes autores também observaram aumentos na concentração plasmática de acetato e β-hidroxidobutirato (BHBA) com o avanço da idade dos animais, mostrando que com a idade os animais começam a absorver quantidades consideráveis de AGCC do rúmen e a utilizá-los para atender suas exigências energéticas.

Estratégias de formulação de dietas para obtenção de maiores concentrações de ácido butírico e propiônico parecem promissoras no sentido de garantir desenvolvimento ruminal precoce, possibilitando desaleitamento sem prejuízos ao desempenho animal. Porém, poucos trabalhos têm sido conduzidos visando avaliar os efeitos da substituição do milho por co-produtos da indústria no concentrado inicial de bezerros sobre o desenvolvimento do trato digestório e metabolismo energético.

2.2 Fontes energéticas utilizadas em concentrados iniciais

2.2.1 Milho

O milho está entre os cereais mais produzidos no mundo, com uma estimativa de produção mundial para a safra 2012/2013 de 854,4 milhões de toneladas (UNITED STATES DEPARTAMENT OF AGRICULTURE - USDA, 2013a). O Brasil é atualmente o terceiro maior produtor mundial de milho, com previsão de aumento de 4,5% da produção na safra 2012/2013, totalizando 76 milhões de toneladas, sendo um novo recorde da produção nacional (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB, 2013). Porém, mesmo com essa elevada produção, o preço do milho tem se mantido elevado devido à larga utilização na fabricação de rações para animais, alimentação humana e geração de energia (UNITED STATES DEPARTAMENT OF AGRICULTURE – USDA, 2013a).

Mesmo com preço elevado, o milho continua sendo a principal fonte energética utilizada na formulação de concentrados para ruminantes (UNITED

STATES DEPARTAMENT OF AGRICULTURE – USDA, 2013a). O nível de inclusão do milho no concentrado inicial de bezerros situa-se próximo a 60% (NUSSIO et al., 2003). Ou seja, animais que consomem 2 kg de concentrado diariamente ingerem 1,2 kg de milho. Bovinos de corte na fase de crescimento recebem quantidades superiores a 8 kg de milho por dia (HUNTINGTON; HARMON; RICHARDS, 2006), enquanto vacas leiteiras com produção acima de 30 kg/dia chegam a receber mais de 9,5 kg/dia de milho (FERRARETTO; CRUMP; SHAVER, 2013).

O grão de milho é morfologicamente dividido em três partes: pericarpo, germem e endosperma (HUNTINGTON, 1997). O germem e o endosperma são envoltos pelo pericarpo. O amido presente no endosperma fica cercado pela matriz proteica, comprometendo sua digestibilidade (HUNTINGTON, 1997). Para aumentar a digestibilidade do milho, lança-se mão de vários métodos de processamento. Dentre esses métodos, a moagem destaca-se por propiciar aumentos na digestibilidade e energia líquida de lactação (NRC, 2001), uma vez que aumenta a área superficial para adesão e digestão microbiana (HUNTINGTON, 1997). De acordo com Ferraretto; Crump; Shaver (2013), o tamanho de partícula médio do milho utilizado em experimentos com vacas em lactação é 1,6 mm, variando de 0,5 a 4,0 mm. Entretanto, tamanho de partículas inferiores a 1,0 mm estão relacionados ao aparecimento de paraqueratose ruminal (GREENWOOD et al., 1997). Os dados apresentados por Porter; Warner; Kertz (2007) sugerem que a paraqueratose ruminal é pode ser reduzida em até 75% quando o tamanho de partícula do concentrado inicial é superior a 1,19 mm de diâmetro.

De acordo com Nocek; Tamminga (1991), o milho é composto por 67% de amido, o qual é formado por dois polímeros de glicose: amilose e amilopectina. Estes compostos são ligados por pontes de hidrogênio, diferenciando-se entre si de acordo com o tamanho da molécula, tipo de estrutura química e, consequentemente, quanto às propriedades químicas.

Os grânulos de amido são pseudo-cristais que apresentam regiões organizadas ou cristalinas, compostas principalmente por amilopectina; e não organizadas ou amorfas, compostas principalmente por amilose. As regiões cristalinas são mais resistentes à infiltração de água, diferentemente das amorfas (NOCEK; TAMMINGA, 1991), as quais sofrem penetração da água e ação das enzimas amilolíticas mais rapidamente. Dessa forma, a proporção de amilose e

amilopectina exerce um importante papel nas propriedades funcionais do amido, como a viscosidade, capacidade de hidratação e na susceptibilidade às amilases.

A estrutura química dos grânulos de amido e sua interface com as moléculas de proteína no grão afetam a taxa e a extensão da fermentação ruminal. Os grânulos de amido do endosperma farináceo são mais fracamente ligados às proteínas, sendo mais fermentáveis do que os grânulos ligados à matriz proteica do endosperma vítreo. Comparações entre milho farináceo (também chamado de milho dentado) e vítreo (também chamado de milho *flint*) mostraram que o milho vítreo apresenta menor taxa de desaparecimento ruminal *in vitro*, *in situ* e *in vivo* (HUNTINGTON; HARMON; RICHARDS, 2006), podendo refletir em menor desempenho animal.

Embora protozoários e fungos também participem da degradação do amido, as bactérias são as maiores responsáveis por esse processo. A degradação inicia-se com a adesão das bactérias à partícula de amido e secreção de endo e exo-enzimas que hidrolisam as ligações α 1-4 da amilose e α 1-4 e α 1-6 da amilopectina (HUNTINGTON, 1997). Entretanto, nem todas as cepas bacterianas apresentam a diversa gama de enzimas digestivas necessárias para digerir completamente uma molécula de amido, sendo, portanto, necessária a integração entre espécies de bactérias para que se tenha maior digestão ruminal deste componente (HUNTINGTON, 1997).

Após o amido ter sido degradado em maltose e glicose, bactérias sacarolíticas fermentarão estes substratos rapidamente, através da via glicolítica para produzir piruvato. Este é o intermediário através do qual todos os carboidratos têm que passar antes de serem convertidos à AGCC. Em dietas ricas em amido, a quantidade de propionato produzido aumenta, sendo este AGCC o principal precursor da glicose em ruminantes, realizada através de um processo conhecido como gliconeogênese.

2.2.2 Polpa cítrica

O Brasil é o maior produtor mundial de suco de laranja, com produção de 19,3 milhões de toneladas na safra 2011/2012 (MINISTÉRIO DA AGRICULURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA, 2012), correspondendo a 23,5% da produção mundial (UNITED STATES DEPARTAMENT OF AGRICULTURE - USDA, 2013b). Após a prensagem do fruto para obtenção do suco concentrado, o material

remanescente (cascas, bagaços e sementes) é submetido à secagem e peletização (BAMPIDIS, ROBINSON, 2006), gerando assim a polpa cítrica desidratada.

Para obtenção da polpa cítrica desidratada é adicionado óxido de cálcio ou hidróxido de cálcio ao material remanescente da prensagem, visando facilitar o processo de secagem (BAMPIDIS; ROBINSON, 2006). Por esse motivo, existe um desbalanço entre cálcio (1,92% da MS) e fósforo (0,12% da MS) (NRC, 2001), o que pode gerar hipocalcemia em vacas no momento do parto ou início da lactação. Porém, não há relatos de problemas desse desbalanço em outras categorias.

A digestibilidade aparente da matéria orgânica da polpa cítrica é de 83,1% (FEGEROS et al., 1995), apresentando aproximadamente 95% dos nutrientes digestíveis totais (NDT) e 92% da energia digestível (ED) presentes no milho (NRC, 2001). O teor de proteína bruta (PB) é inferior ao do milho, apresentando ainda pior perfil de aminoácidos essenciais, especialmente ao que se refere à lisina (2,56 *vs* 2,84% PB) e metionina (1,03 *vs* 2,13% PB) (NRC, 2001). Ainda, por ser um material que sofre secagem em temperaturas elevadas, pode conter teores elevados de nitrogênio ligado à fibra insolúvel em detergente ácido (N-FDA), o que representa maior parte da PB indisponível. De acordo com Fegeros et al. (1995), a digestibilidade da PB da polpa cítrica foi apenas 52,7%.

Os teores de FDN, FDA e lignina presentes na polpa cítrica são 24,2%, 22,2% e 0,9% da MS, respectivamente (NRC, 2001). Ou seja, a FDN é composta basicamente por celulose. Este co-produto apresenta ainda 4,9% de extrato etéreo, 7,2% de matéria mineral e 56,8% de carboidratos não fibrosos (CNF). Dentro dos CNF tem-se, em média, 1,4% de amido, 30,4% de componentes celulares, especialmente sacarose e frutanas, e 25% de pectina (HALL; PELL; CHASE, 1997).

A pectina é um polissacarídeo complexo, que contém cerca de 75% de ácido galacturônico. Na planta, a pectina desempenha função estrutural, encontrando-se principalmente na lamela média dos vegetais. Porém, na nutrição de ruminantes é classificada como carboidrato não fibroso, pois não se liga covalentemente com porções lignificadas da parede celular, apresentando rápida (30 a 50%/hora) (SNIFFEN, 1988) e extensa (90 a 100%) (NOCEK; TAMINGA, 1991) fermentação ruminal.

O principal AGCC gerado pela fermentação da pectina é o ácido acético (DUSKOVÁ; MAROUNEK, 2001). Este AGCC tem menor potencial acidificante quando comparado ao ácido propiônico e lático, produtos da fermentação do amido.

Sendo assim, a pectina apresenta fermentação peculiar, gerando grande quantidade de energia por unidade de tempo, como ocorre com amido e açúcares, porém com fermentação semelhante à da celulose e hemicelulose.

Poucos trabalhos são encontrados na literatura avaliando a utilização de polpa cítrica no concentrado de bezerros em aleitamento (SCHALCH et al., 2001; WILLIAMS et al., 1987). Schalch et al. (2001) avaliaram o efeito da substituição do milho em grão moído por 0, 15, 30 e 45% de polpa cítrica no concentrado de bezerros em aleitamento. Não foram observadas diferenças entre os tratamento para o ganho de peso diário, consumo de matéria seca e conversão alimentar, assim como para os parâmetros de desenvolvimento ruminal como o volume e peso dos compartimentos do trato digestório superior, desenvolvimento papilar, contagem de protozoários, pH ruminal e incidência de diarreias. Os autores concluíram que a polpa cítrica pode substituir o milho em grão moído na dieta de bezerros em aleitamento. No entanto, alterações no metabolismo dos animais não foram avaliadas neste trabalho.

Williams et al. (1987) testaram a substituição da cevada por uma mistura de polpa cítrica e polpa de beterraba no concentrado inicial de bezerros em aleitamento e verificaram que os três níveis de substituição (33, 67 e 100%) aumentaram a ingestão de concentrado, refletindo em maior ganho de peso diário. Suárez et al. (2006a) avaliaram os efeitos de concentrados a base de pectina, amido, ou mistura de pectina/amido e observaram aumento na ingestão de concentrado para bezerros contendo pectina em substituição ao amido, resultando em aumento no ganho de peso e maior relação acetato:propionato. Em trabalho subsequente, avaliando as mesmas dietas, Suárez et al. (2006b) observaram maiores concentrações de β-hidroxibutirato plasmático e maior desenvolvimento muscular do rúmen de bezerros consumindo dieta a base de pectina.

2.2.3 Melaço de cana

O Brasil é o maior produtor mundial de cana de açúcar, com produção esperada de 595 milhões de toneladas na safra 2012/2013, sendo o maior exportador de açúcar do mundo (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB, 2013). Um importante co-produto da indústria açucareira é o melaço de cana, que pode ser utilizado como fonte de energia na alimentação animal. O volume de melaço gerado pela indústria situa-se próximo de 5% do volume de cana

de açúcar processada (PÉREZ, 1995). Assim, espera-se que o mercado nacional de produção animal tenha à disposição aproximadamente 30 milhões de toneladas de melaço de cana. Dessa forma, o melaço de cana torna-se uma importante fonte de energia na formulação de rações.

O melaço tem sido incluído em concentrados iniciais não apenas por ser uma fonte barata de carboidrato prontamente fermentescível, mas por ser um palatabilizante e por auxiliar aglutinação de partículas pequenas nos concentrados, principalmente os farelados. Em geral, a inclusão de melaço no concentrado inicial de bezerros é realizada nas taxas entre 3 e 12%, sendo o mais comum por volta de 8%.

O melaço de cana caracteriza-se por sua viscosidade e coloração escura. Segundo o NRC (2001), é essencialmente constituído por açúcares solúveis (principalmente a sacarose) e minerais (13,3% da MS). Não apresenta quantidades consideráveis de extrato etéreo e FDN e o teor de PB situa-se próximo a 5,8% da MS, com pior perfil de aminoácidos essenciais quando comparado com o milho, destacando-se a leucina (3,6 *vs* 11,2% PB) lisina (2,56 *vs* 2,84% PB) e metionina (0,2 *vs* 2,13% PB). Dessa forma, apresenta aproximadamente 93% dos nutrientes digestíveis totais e 89% da energia digestível presente no milho.

Os açúcares solúveis que compõe o melaço de cana caracterizam-se por apresentar rápida (>400%/hora) e total degradação ruminal, admitindo-se que são instantaneamente fermentados, sendo o propionato o principal AGCC gerado pela sua fermentação (NOZIÈRE et al., 2010).

Lesmeister; Heinrichs (2005) avaliaram a inclusão de 5 e 12% de melaço no concentrado de bezerros em aleitamento. O consumo de matéria seca de concentrado e total (concentrado mais sucedâneo lácteo) foi reduzido com maior inclusão de melaço (12%). No entanto, o ganho de peso e o peso vivo final foram semelhantes para ambos os tratamentos. As concentrações de AGCC foram aumentadas em animais consumindo concentrado inicial contendo 12% de melaço os quais, consequentemente, tiveram um melhor desenvolvimento ruminal. Hill et al. (2008), por sua vez, substituíram o milho por 5% e 10% de melaço de cana ou uma mistura de 5% de melaço de cana + 1,5% de sacarose e verificaram diminuição do ganho de peso diário e maior ocorrência de diarreia nos animais que consumiram 10% de melaço de cana e 5% de melaço de cana + 1,5 de sacarose frente ao tratamento controle (5% de melaço de cana). Os autores relacionaram a queda no

desempenho à produção limitada de sacarase em bezerros recém-nascidos e à maior incidência de diarreia nesses animais.

2.2.4 Xarope de glicose

O xarope de glicose é uma solução aquosa purificada e concentrada de sacarídeos derivados do amido, sendo gerado a partir da hidrólise ácida e/ou enzimática (α-amilase, β-amilase e glucoamilase) de fontes ricas nesse carboidrato, especialmente o milho (HULL, 2010). Antes da conversão à glicose ser iniciada, o amido deve ser separado dos demais componentes da planta para posterior fragmentação, hidratação e ação hidrolítica.

O xarope de glicose apresenta as seguintes características básicas: (1) MS não inferior a 70%; (2) dextrose equivalente (DE) não inferior a 20% da MS; (3) sulfato não superior a 1% da MS. A DE mensura a proporção de açúcares reduzidos presentes em um produto e assim, considera-se que o amido apresenta DE igual 0%, a maltose (dissacarídeo composto por duas unidades de glicose) apresenta DE igual 52% e a dextrose (glicose), produto final da hidrólise do amido, DE igual 100% (HULL, 2010). O xarope de glicose utilizado na nutrição animal apresenta valores que variam de 38 a 40% de DE, sendo o restante composto por maltose e oligossacarídeos que não foram hidrolisados completamente no processo produtivo. Ainda, não há concentrações consideráveis de PB, FDN, extrato etéreo e matéria mineral.

Fisicamente, o xarope de glicose apresenta alta viscosidade, o que dificulta o seu processamento. No entanto, devido as suas características químicas favoráveis, onde a glicose e maltose perfazem grande parte da MS, o xarope de glicose tem sido estudado em diversas áreas, como na medicina humana (MUCKLE, 1973), na dieta líquida de suínos (OLIVER et al., 2002) e bezerros (FLIPSE et al., 1950; VELLU; KENDALL, GARDNER, 1960). Por outro lado, não há na literatura trabalhos que estudaram a substituição do milho por xarope de glicose no concentrado inicial de bezerros. Uma possível explicação para tal pode ser decorrente do preço relativamente elevado do xarope de glicose, uma vez que é largamente utilizado na indústria de alimentação humana, principalmente como adoçante.

Referências

BAMPIDIS, V.A.; ROBINSON, P.H. Citrus by-products as ruminant feeding: A review. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 128, p. 175-217, 2006.

BORDERAS, T.F.; De PASSILLÉ, A.M.; RUSHEN, J. Feeding behavior of calves fed small or large amounts of milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, p. 2843-2852, 2009.

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

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira. Brasília, 2013. 28p.

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

De PASSILÉ, A.M.; BORDERAS, T.F.; RUSHEN, J. Weaning age of calves fed a high milk allowance by automated feeders: effects on feed, water, and energy intake, behavioral signs of hunger, and weight gains. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, p. 1401-1408, 2011.

DURAN-SANDOVAL, D.; CARIOU, B.; PERCEVAULT, F.; HENNUYER, N.; GREFHORST, A.; VAN DIJK, T.H.; GONZALEZ, F.J.; FRUCHART, J.C.; KUIPERS, F.; STAELS, B. The farnesoid X receptor modulates hepatic carbohydrate metabolism during the fasting-refeeding transition. **Journal of Biological Chemistry**, Rockville, v. 280, p. 29971–29979, 2005.

DUSKOVÁ, D.; MAROUNEK, M. Fermentation of pectin and glucose, and activity of pectin-degrading enzymes in the rumen bacterium *Lachnospira multiparus.* **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 33, p. 159-163, 2001.

FEGEROS, K.; ZERVAS, G.; STAMOULI, S.; APOSTOLAKI, E. Nutritive value of dried citrus pulp and its effect on milk yield and milk composition of lactating ewes. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 78, p. 1116-1121, 1995.

FERRARETTO, L.F.; CRUMP, P.M.; SHAVER, R.D. Effect of cereal grain type and corn grain harvesting and processing methods on intake, digestion, and milk production by dairy cows through a meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 96, p. 533-550, 2013.

FLIPSE, R.J.; HUFFMAN, C.F.; WEBSTER, H.D.; DUNCAN, C.W. Carbohydrate utilization in the young calf. I. Nutritive value of glucose, corn syrup and lactose as carbohydrate sources in synthetic milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 33, p. 548-556, 1950.

FOLEY, J.A.; OTTERBY, D.E. Availability, storage, treatment, composition, and feeding value of surplus colostrum: A review. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 61, p. 1033, 1978.

GIRARD, J.; FERRE´, P.; PE´GORIER, J.P.; DUE´E, P.H. Adaptions of glucose and fatty acid metabolism during perinatal period and suckling-weaning transition. **Physiological Reviews**, Bethesda, v.72, p. 507–562, 1992.

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

HAGA, S.; FUJIMOTO, S.; YONEZAWA, T.; YOSHIOKA, K.; SHINGU, H.; KOBAYASHI, Y.; TAKAHASSHI, T.; OTANI, Y.; KATOH, K.; OBARA, Y. Changes in hepatic key enzymes of dairy calves in early weaning production systems. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, p. 3156-3164, 2008.

HALL, M.B; PELL, A.N.; CHASE, L.E. Characteristics of neutral detergent-soluble fiber fermentation by mixed ruminal microbes. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 70, n. 1, p. 23-39, 1997.

HAMMON, H.; BLUM, J.W. Metabolic and endocrine traits of neonatal calves are influenced by feeding colostrum for different durations or only milk replacer. **Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 128, p. 624–632, 1998.

HERDT, T.H. Fatty liver in dairy cows. **Veterinary Clinics of North America:** Food Animal Practice 4: 1988. p. 269-287.

HILL, T.M.; BATERMAN, H.G.; ALDRICH, J.M.; SCHLOTHERBECK, R.L. Effects of feeding different carbohydrates sources and amounts to young calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, p. 3128-3137, 2008.

HUBER, J.T.; JACOBSON, N.I.; ALLEN, R.S. Digestive enzyme activities in the young calf. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 44, p. 1494-1501, 1961.

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

HUNTINGTON, G.B.; HARMON, D.L.; RICHARDS, C.J. Sites, rates, and limits of starch and glucose metabolism in growing cattle. **Journal of Animal Science**. Champaign, v.84 (E. Suppl.) E14–E24, 2006.

HULL, P. **Glucose Syrups:** Technology and Applications. Oxford, UK: Wiley-Blackwell, 2010. 368p.

KRISTENSEN, N.B.; SEHESTED, J.; JENSEN, S.K.; VESTERGAARD, M. Effect of milk allowance on concentrate intake, ruminal environment, and ruminal development in milk-fed Holstein calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, p. 4346-4355, 2007.

LESMEISTER, K.E.; HEINRICHS, A.J Effects of adding extra molasses to a texturized calf starter on rumen development, growth characteristics, and blood parameters in neonatal dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, p. 411–418, 2005.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA. **Plano Agrícola e Pecuário 2012/2013**. Brasília, 2012. 138p.

MOMCILOVIC, D.; HERBEIN, J.H.; WHITTIER, W.D.; POLAN, C.E. Metabolic alterations associated with an attempt to induce laminitis in dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, p. 518-525, 2000.

MUCKLE, D.S. Glucose syrup ingestion and team performance in soccer. **British Journal of Sports Medicine**, Oxford, v. 7, p. 340-343, 1973.

MURDOCK, F.R.; WALLENIUS, R.W. Fiber sources for complete calf starter rations. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.63, p.1869-1878, 1980.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirement in dairy cattle**. 7th ed. Washington : National Academy of Science, 2001. 381p.

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

NOZIÈRE, P.; ORTIGUES-MARTY, I; LONCKE, C.; SAUVANT, D. Carbohydrate quantitative digestion and absorption in ruminants: from feed starch and fiber to nutrients available for tissues. **Animal Journal**, Cambridge, v. 4, p. 1057-1074, 2010.

NUSSIO, C.M.B.; SANTOS, F.A.P.; ZOPOLLATTO, M.; PIRES, A.V.; MORAIS, J.B. Processamento de milho (floculado vs. laminado a vapor) e adição de monensina para bezerras leiteiras, pré e pós-desmama precoce. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, p. 229-239, 2003.

OLIVER, W.T.; MATHEWS, S.A.; PHILLIPS, O.; JONES, E.E.; ODLE, J.; HARRELL, R.J. Efficacy of partially hydrolyzed corn syrup solids as a replacement for lactose in manufactured liquid diets for neonatal pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80, p. 143-153, 2002.

PÉREZ, R. Molasses. In: Tropical Feeds and Feeding Systems. In FAO Electronic Conference, 1., 1995. Disponível em: <http://www.fao.org/ag/aga/AGAP/FRG/ECONF95/HTML/MOLASSES.HTM>. Acesso em 15 mar. 2013.

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

QUIGLEY III, J.D. Feeding prior to weaning. In: CALVES, HEIFERS AND DAIRY PROFITABILITY NATIONAL CONFERENCE, Pennsylvania, 1996. **Proceedings…** Ithaca: Northeast Regional Agricultural Engineering Service Cooperative Extension. 1996. p. 245-255.

SANDER, E.G.; WAIINER, R.G.; HARRISON, H.N.; LOOSLI, J.K. The stimulatory effect of sodium butyrate and sodium propionate on the development of rumen mucosa in the young calf. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 42, p. 600-605, 1959.

SCHALCH, F.J.; SCHALCH, E.; ZANETTI, M.A.; BRISOLA, M.L. Substituição do milho em grão moído pela polpa cítrica na desmama precoce de bezerros leiteiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, p. 280-285, 2001.

SNIFFEN, C.J. Balancing rations for carbohydrates for dairy cattle. In: FEED DEALER SEMINARS, 1988, New York. **Proceedings…** Cornell: Cornell Cooperative Extension, 1988. n. 112, p. 9-19.

SUÁREZ, B.J.; VAN REENEN, C.G.; BELDMAN, G.; VAN DELEN, J.; DIJKSTRA, J.; GERRITS, W.J.J. Effects of supplementing concentrates differing in carbohydrate composition in veal calf diets: I. animal performance and rumen fermentation characteristics. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, p. 4365-4375, 2006a.

_____. Effects of supplementing concentrates differing in carbohydrate composition in veal calf diets: II. Rumen Development. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, p. 4376-4386, 2006b.

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

TOULLEC, R.; GUILLOTEAU, P. Research into the digestive physiology of the milk-fed calf. In: NUTRITION AND DIGESTIVE PHYSIOLOGY IN MONOGASTRIC FARM ANIMALS. Pudoc: Wageningen, 1989. p. 37-55.

USDA. United State Departament of Agriculture. **Grain:** World Markets and Trade. [s.l.], 2013a. 55p.

USDA. United State Departament of Agriculture. **Citrus:** World Markets and Trade. [s.l.], 2013b. 36p.

VELU, J.G.; KENDALL, K.A.; GARDNER, K.E. Utilization of various sugars by the young dairy calf. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 43, p. 546-552, 1960.

WILLIAMS, P.; FALLON, R.J.; INNES, G.M.; GARTHWAITE, P. Effects on food-intake, rumen development and live weight of calves of replacing barley with sugar-beet citrus pulp in a starter diet. **Animal Production**, Penicuik, v. 44, p. 65-73, 1987.

WILLIAMS, P.E.V.; FROST, A.I. Feeding the young ruminants. In: Varley, M.A.; Williams, P.E.V.; Lawrence, T.L.J. Neonatal survival and growth, **Occasional publication**, Edinburgh, UK: British society of animal production, n.15, 1992. p. 109-118,

3 DESEMPENHO E METABOLISMO DE BEZERROS RECEBENDO CONCENTRADO INICIAL CONTENDO POLPA CÍTRICA EM SUBSTITUIÇÃO AO MILHO

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da substituição do milho em grão moído por polpa cítrica desidratada (PC) no concentrado inicial sobre o desempenho e metabolismo de bezerros em aleitamento. Vinte e quatro bezerros da raça Holandês foram alocados em abrigos individuais e distribuídos em três tratamentos, de acordo com a data de nascimento e o peso ao nascer: (1) concentrado inicial contendo 64% de milho e 0% de PC (0PC); (2) concentrado inicial contendo 32% de milho e 32% de PC (50PC); e (3) concentrado inicial contendo 0% de milho e 64% de PC (100PC). Os animais receberam diariamente 4 L de sucedâneo lácteo (20% PB, 16% EE) fornecidos em duas refeições (7h e 18h). Concentrado inicial e água foram fornecidos *ad libitum*. O consumo de concentrado e o escore fecal foram monitorados diariamente até os animais completarem oito semanas. As medidas corporais (altura de cernelha, largura de garupa e perímetro torácico) foram mensuradas semanalmente, antes do aleitamento da manhã. Amostras de sangue foram colhidas semanalmente, 2h após o aleitamento da manhã, para determinação de glicose, β-hidroxibutirato e lactato plasmáticos. Amostras de fluído ruminal foram colhidas na quarta, sexta e oitava semana de vida, 2h após o aleitamento da manhã para determinação de pH, ácidos graxos de cadeia curta e N-amoniacal. Ao completarem oito semanas de vida os animais foram abatidos para avaliação do desenvolvimento do trato digestório superior (peso do retículo-rúmen, omaso e abomaso; volume do retículo-rúmen; altura, largura, área e número das papilas ruminais). A composição do concentrado inicial não afetou ($P>0,05$) o consumo de concentrado, o desempenho (ganho de peso, peso vivo e medidas corporais) e o escore fecal. Porém, observou-se menor concentração de butirato ruminal ($P<0,05$) nos animais recebendo o tratamento 0PC em comparação com aqueles alimentados com concentrados contendo polpa cítrica. Da mesma forma, o tratamento 0PC resultou em menor ($P<0,05$) peso total do trato digestório superior, peso do retículo-rúmen e peso do omaso que 50PC e 100PC. A altura média das papilas ruminais, por sua vez, foi maior ($P<0,05$) no tratamento 50PC que nos demais tratamentos. Já a área das papilas foi maior ($P<0,05$) no tratamento 50PC que no 0PC, sendo que o tratamento 100PC não diferiu dos demais. Por outro lado, o tratamento 0PC apresentou maior proporção abomasal (% do trato digestório superior) que os tratamentos 50 e 100PC. As demais variáveis estudadas não diferiram ($P>0,05$) uma das outras, estando dentro dos padrões estabelecidos pela literatura. Sendo assim, pode-se concluir que a substituição de 50 ou 100% do milho por polpa cítrica no concentrado inicial de bezerros em aleitamento não altera o desempenho e contribui para um maior desenvolvimento do trato digestório superior.

Palavras-chave: Co-produto; Pectina; Butirato; Desenvolvimento ruminal

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of replacing corn grain by citrus pulp (CP) in the starter on performance and metabolism of dairy calves. Twenty-four Holstein calves were allocated in individual shelters and divided into three groups according to the birth date and birth weight: (1) initial concentrate containing 64% corn and 0% CP (0CP); (2) starter containing 32% corn and 32% CP (50PC), and (3) starter containing 0% corn and 64% CP (100CP). The animals were fed 4 L of milk replacer daily (20% crude protein, 16% ether extract) divided in two meals (07 and 18h). Starter and water were provided *ad libitum*. Starter intake and fecal score were monitored daily until the animals were eight weeks old. Body measurements (withers height, hip width and heart girth) were measured weekly before the morning feeding. Blood samples were collected weekly, 2h after the morning feeding, for glucose, β-hydroxybutyrate and lactate analysis. Ruminal fluid samples were collected in the fourth, sixth and eighth week of age, 2 hours after the morning feeding, to determine pH, short chain fatty acids and ammonia-N concentration. When completing eight weeks of life, animals were slaughtered to evaluate the development of the upper digestive tract (rumen-reticulum, omasum and abomasum weight; reticulum-rumen volume; height, width, area and number of rumen papillae). The composition of the starter did not affect ($P>0.05$) starter intake, performance (weight gain, live weight and body measurements) and fecal score. However, there was a lower concentration of ruminal butyrate ($P<0.05$) in animals receiving treatment 0CP compared with those fed starter containing citrus pulp. Likewise, 0CP resulted in lower ($P<0.05$) total weight of the upper digestive tract, weight of the reticulum-rumen and weight omasum than 50CP 100CP. The height of the rumen papillae was greater ($P<0.05$) in the treatment 50CP than other treatments. However, papillae area was higher ($P<0.05$) in the treatment 50CP than 0CP, and 100CP did not differ from the others. On the other hand, 0CP showed higher abomasum proportion (% of upper digestive tract) than 50CP and 100CP. The other variables did not differ ($P>0.05$) from each other and were within the standards established by the literature. Thus, it can be concluded that the replacement of 50 or 100% of corn by citrus pulp in the starter feed of dairy calves did not affect performance and contribute to the further development of the upper digestive tract.

Keywords: By-product; Pectin; Butyrate; Ruminal development

3.1 Introdução

A utilização de co-produtos na nutrição animal visa baratear o custo de produção e diminuir riscos de distúrbios metabólicos, especialmente a acidose ruminal, causada muitas vezes pelo excesso de amido na dieta. Os ruminantes apresentam fermentação microbiana pré-gástrica, que degrada grande parte dos alimentos ingeridos, gerando energia para multiplicação e síntese de proteína microbiana, além de AGCC, que são a principal fonte de energia em ruminantes (NOZIÈRE et al., 2010).

A polpa cítrica é frequentemente incluída nas dietas de ruminantes como uma fonte de energia de alta disponibilidade e normalmente baixo custo, visto que a época sua maior disponibilidade coincide com a entressafra do milho (maio a janeiro), onde este atinge sua cotação máxima. Quando comparada ao milho, a polpa cítrica apresenta, na base seca, altas concentrações de pectina (22 a 44%), fibra em detergente neutro - FDN (19,3%), fibra em detergente ácido - FDA (16,9%) e cálcio (3,5%) (NRC, 2001). Com relação aos nutrientes digestíveis totais (NDT), energia digestível (ED) e proteína bruta (PB), a polpa cítrica apresenta 95, 92 e 73% dos valores do milho, respectivamente (NRC, 2001).

Estudos que avaliam a substituição do milho por polpa cítrica têm sido amplamente desenvolvidos para bovinos de corte e leite. No entanto, há poucos trabalhos avaliando a inclusão deste co-produto no concentrado de animais em aleitamento. Schalch et al. (2001) avaliaram o efeito da substituição do milho em grão moído por 0, 15, 30 e 45% de polpa cítrica no concentrado de bezerros em aleitamento e não encontraram diferenças entre os tratamento para o ganho de peso diário, consumo de matéria seca e conversão alimentar, assim como para os parâmetros de desenvolvimento ruminal. Já Williams et al. (1987) relataram aumento no consumo de concentrado e ganho de peso diário de bezerros em aleitamento recebendo uma mistura de polpa cítrica e polpa de beterraba em substituição à cevada (33, 67 e 100% de substituição).

Não foram encontrados trabalhos com substituição total do milho pela polpa cítrica e seus efeitos no desempenho e metabolismo de bezerros em aleitamento. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar níveis crescentes de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado inicial sobre o desempenho e metabolismo de bezerros leiteiros.

3.2 Material e métodos

3.2.1 Manejo alimentar e amostragens

Foram utilizados vinte e quatro bezerros da raça Holandês em um delineamento experimental do tipo blocos completos casualizados. Os animais foram adquiridos em seis fazendas comerciais da cidade de Castro, PR, Brasil, sendo transportados entre um e sete dias de vida para o bezerreiro experimental da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, da Universidade de São Paulo, em Piracicaba, SP, Brasil, onde o experimento foi conduzido de dezembro de 2011 a março de 2012.

Na fazenda de nascimento, os animais foram separados de suas mães, alojados em abrigos individuais e alimentados com dois litros de colostro, logo após o nascimento e a cada 12 horas, até o segundo dia de vida. Decorrido este período, os animais passaram a receber dieta líquida conforme o manejo adotado em cada propriedade, até serem transportados para o local do experimento, quando passaram a receber 4 L/dia de sucedâneo lácteo (Sprayfo Violeta® 20PB:16EE, Sloten do Brasil Ltda., Santos, SP, Brasil) com 12,5% de sólidos, divididos em duas refeições, às 07 e 17 horas. Os animais tiveram livre acesso à água e ao concentrado inicial durante todo período experimental, que durou oito semanas.

Os animais foram divididos em blocos de acordo com o peso ao nascer e a data de nascimento e distribuídos em um dos seguintes tratamentos, de acordo com o nível de inclusão de polpa cítrica peletizada (PC) em substituição ao milho em grão moído: 0PC (0% de PC e 100% milho), 50PC (50% de PC e 50% milho) e 100PC (100% de PC e 0% milho). O milho em grão e a polpa cítrica desidratada peletizada foram moídos até atingirem tamanho de partícula próximo a 2 mm e misturados aos demais ingredientes concentrados das dietas com auxílio de um misturador horizontal (Lucato®, Limeira, Brasil) com capacidade para 500 kg. O concentrado foi formulado segundo o NRC (2001) para terem os mesmos teores de proteína bruta e cálcio, tendo em vista os altos teores deste mineral na polpa cítrica (Tabela 3.1).

Tabela 3.1 – Ingredientes e composição químico-bromatológica do concentrado inicial

	Tratamentos		
Ingredientes, % matéria seca (MS)	0%PC	50%PC	100%PC
Milho moído	64,0	32,0	0,0
Polpa cítrica	0,0	32,0	64,0
Farelo de soja	26,0	28,0	28,0
Farelo de trigo	6,0	5,5	7,0
Calcário calcítico	3,0	1,5	0,0
Premix mineral/vitamínico[1]	1,0	1,0	1,0
Composição química			
Matéria seca, % matéria natural	89,9	90,5	90,9
Matéria mineral, % MS	5,88	7,3	9,4
Proteína bruta, % MS	20,6	20,7	19,5
Extrato etéreo, % MS	3,4	3,0	2,8
Fibra em detergente neutro (FDN), % MS	13,4	17,7	21,7
Fibra em detergente ácido (FDA), % MS	7,5	11,2	17,3
N-FDN, % N total[2]	13,6	17,2	19,8
N-FDA, % N total[3]	3,35	3,46	4,85
Lignina, % MS	0,66	1,30	1,87
Carboidratos não fibrosos, % MS	56,7	51,3	46,6
Nutrientes digestíveis totais, % MS	82,72	77,20	73,61
Energia metabolizável, Mcal/kg MS[4]	2,94	2,97	2,96
Energia líquida ganho, Mcal/kg MS[4]	1,36	1,37	1,35

[1] Composição do Premix mineral/vitamínico: Ca 16,8%; P 4,2%; S 2,3%; Na 11,6%; Cl 8,0%; Mg 2,4; Co 38,2 ppm; Cu 343 ppm; I 30,2 ppm; Fe 578,2 ppm; Mn 1146,4 ppm; Se 15,5 ppm; Zn 1176,2 ppm; Vit. A 68.760 UI/kg; Vit. E 764 UI/kg; Vit. D 57.300 UI/kg.
[2] Nitrogênio insolúvel em detergente neutro
[3] Nitrogênio insolúvel em detergente ácido
[4] Valor estimado pelo NRC (2001)

O concentrado foi fornecido *ad libitum* todas as manhãs, pesando-se a sobra do dia anterior, de forma a se obter o consumo diário de concentrado. Os animais foram pesados semanalmente, antes do aleitamento da manhã, em balança mecânica (ICS-300, Coimma Ltda., Dracena, SP, Brasil). Logo após as pesagens, foram mensuradas a altura da cernelha e a largura da garupa utilizando-se régua

com escala em centímetros e o perímetro torácico através de fita flexível, também com escala em centímetros.

Diariamente foram realizadas avaliações das fezes de acordo com sua consistência: (1) firme; (2) pastosa; (3) mole; (4) aquosa; (5) fluída. Amostras de sangue foram colhidas semanalmente, sempre duas horas após o aleitamento da manhã, através de punção da jugular, utilizando-se tubos vacuolizados contendo fluoreto de sódio como antiglicolítico e EDTA de potássio como anticoagulante (VACUETTE do Brasil, Campinas, SP, Brasil). As amostras foram acondicionadas em isopor com gelo até seu transporte ao laboratório, onde foram imediatamente centrifugadas a 2.000 x *g*, durante 20 minutos, à temperatura de 4ºC. O plasma foi armazenado em tubetes plásticos e mantido em freezer (-10°C) para posterior determinação de glicose, lactato e β-hidroxibutirato, realizados no Laboratório de Metabolismo Animal do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP.

Amostras de fluido ruminal foram colhidas na quarta, sexta e oitava semana de vida do animal, 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 uma bomba de vácuo (Modelo TE-0581, Tecnal Ltda. Piracicaba, SP, Brasil). As amostras (aproximadamente 30 mL) foram colhidas, descartando-se a amostra inicial de forma a se evitar a contaminação com saliva. Após filtragem em tecido de algodão, foi realizada a determinação de pH, através de pHmetro (Modelo Tec-5, Tecnal Ltda., Piracicaba, SP, Brasil) e armazenamento da amostra em freezer (-10°C) para posterior determinação de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e nitrogênio amoniacal ($N\text{-}NH_3$).

Ao completarem oito semanas os animais foram insensibilizados através de pistola de dardo cativo e em seguida abatidos por meio de sangria, com o corte da jugular. Os animais tiveram sua cavidade abdominal aberta, sendo retirado o retículo-rúmen, omaso e abomaso. Depois da retirada da digesta dos compartimentos, os mesmos foram lavados e, posteriormente, foram tomadas medidas de peso do retículo-rúmen, do omaso, do abomaso e dos quatro compartimentos em conjunto. A capacidade máxima do retículo-rúmen foi medida com auxílio de amarrações na saída deste compartimento, sendo este cheio com água até sua máxima capacidade e o volume medido em proveta. Após estas medidas, foram colhidas amostras do tecido epitelial no saco ventral do rúmen para avaliação de comprimento, largura e número de papilas por cm^2.

3.2.2 Metodologia analítica

Análises químico-bromatológicas

Amostras dos diferentes concentrados foram colhidas periodicamente para determinação da composição químico-bromatológica (Tabela 3.1). As amostras foram moídas a 1 mm em moinho do tipo Wiley para determinação de matéria seca (MS) à 105ºC, matéria mineral (MM) e extrato etéreo (EE) de acordo com Campos; Nussio; Nussio (2002); proteína bruta (PB) através de 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; Lewis (1991); nitrogênio insolúvel em detergente neutro (N-FDN) e nitrogênio insolúvel em detergente ácido (N-FDA) pelo método descrito por Licitra; Hernandez; Van Soest (1996). Os valores de nutrientes digestíveis totais (NDT) foram calculados de acordo com as equações propostas por Weiss (1993) e os teores de carboidratos não fibrosos (CNF) foram estimados através da equação (1):

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

Onde,

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

Determinação de glicose plasmática

As concentrações de glicose foram determinadas utilizando-se o kit enzimático GLICOSE HK LIQUIFORM – Ref.: 85 (LABTEST Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, MG, Brasil) por espectrofotometria de ponto final, utilizando-se o filtro de absorbância de 505 nm em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA – 200 (CELM, Barueri, SP, Brasil). Uma alíquota de 4 µL da amostra foi pipetada em cubetas de reação, acrescida de 400 µL de reagente, fornecido pelo kit. Após período de incubação de 10 minutos, foi realizada a leitura da absorbância para obtenção dos valores de glicose em mg/dL. Para calibração do equipamento, a

solução padrão fornecida pelo kit enzimático, com concentração de 100 mg/dL de glicose, foi analisada a cada rodada.

Determinação de β-hidroxibutirato plasmático

A determinação de β-hidroxibutirato foi realizada utilizando-se kit enzimático RANBUT – Ref.: RB1007 (RANDOX Laboratories – Life Sciences Ltd., Crumlin, UK), utilizando-se filtro de absorbância de 340 nm, em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA-200 (CELM, Barueri, SP, Brasil). Foi utilizada para calibração do equipamento solução padrão fornecida com o kit com concentração de 1,000 mmol/L. Uma alíquota de 12,5 µL de amostra foi pipetada na cubeta de reação, acrescida de 500 µL de reagente enzimático, seguida por leitura no aparelho após 60 segundos para obtenção da absorbância inicial. Após incubação por mais 120 segundos, foi realizada uma nova leitura da amostra. A diferença entre as leituras inicial e final permite a obtenção dos resultados de acordo com os valores observados para o padrão.

Determinação de lactato plasmático

As concentrações de lactato foram determinadas utilizando-se o kit enzimático LACTATO LIQUIFORM – Ref.: 116 (LABTEST Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, MG, Brasil), por espectrofotometria de ponto final, utilizando-se filtro de absorbância de 550 nm em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA – 200 (CELM, Barueri, SP, Brasil). Foi utilizado para calibração do equipamento solução padrão fornecida com o kit com concentração de 40 mg/dL. Uma alíquota de 5 µL de amostra foi pipetada na cubeta de reação, acrescida de 400 µL de reagente enzimático, e incubada por 7 minutos em 25ºC, para posterior leitura.

Determinação de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no fluido ruminal

As amostras de fluido ruminal foram descongeladas e centrifugadas a 15.000 x *g* a 4ºC por 60 minutos. O líquido sobrenadante de cada amostra foi analisado em cromatógrafo líquido-gasoso (Hewlett Packard 5890 Series II GC), equipado com integrador (Hewlett Packard 3396 Series II Integrator) e injetor automático (Hewlett

Packard 6890 Series Integrator), conforme descrito por Campos; Nussio; Nussio (2002).

O padrão interno utilizado foi o ácido 2-metilbutírico sendo acrescentado, em cada tubo para leitura no cromatógrafo, um volume de 100µL do padrão interno, 800 µL da amostra e 200 µL de ácido fórmico. Uma mistura de AGCC com concentração conhecida foi utilizada como padrão externo para a calibração do equipamento.

Determinação de amônia ruminal ($N\text{-}NH_3$)

As amostras de fluido ruminal destinadas para determinação de $N\text{-}NH_3$ foram descongeladas e centrifugadas a 15.000 x *g* a 4ºC durante 60 minutos para obtenção do sobrenadante. As amostras foram analisadas segundo o método de Chaney; Marbach (1962) adaptado para leitura em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA-200 (CELM, Barueri, SP, Brasil) com filtro de absorbância de 540 nm. Para a obtenção da curva de calibração foram utilizadas soluções de 0; 1; 2; 4; 8; 16; 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 37ºC, por 10 minutos. Em seguida, alíquotas foram pipetadas em cubetas para leitura no referido equipamento. Os dados de absorbância da curva de calibração foram utilizados para construção de curva regressão, permitindo a determinação das concentrações de N-amoniacal das amostras.

3.2.3 Análise estatística

O delineamento experimental foi o de blocos casualizados, sendo os animais alocados nos blocos de acordo com a data de nascimento e o peso ao nascer. Os dados de consumo de concentrado, desempenho (ganho de peso diário, peso vivo, altura de cernelha, largura de garupa e perímetro torácico), parâmetros ruminais (pH, N-amoniacal e ácidos graxos de cadeia curta) e parâmetros sanguíneos (glicose, β-hidroxibutirato e lactato) foram analisados como medidas repetidas no tempo (semana) com o auxílio do procedimento MIXED do pacote estatístico SAS (versão 9.3, SAS Institute Inc., Cary, NC), conforme o modelo (1).

$$(1) \qquad Yijk = \mu + Ti + Ij + TIij + Bk + Eijk$$

Onde,

Yijk = variável resposta;

μ = média geral;

Ti = efeito do tratamento (0, 50 ou 100% de polpa cítrica em substituição ao milho);

Ij = efeito de idade dos animais (semana);

TIij = efeito de interação entre tratamento e idade dos animais;

Bk = efeito do bloco;

Eijk = efeito devido ao acaso (resíduo).

As medidas morfométricas do trato digestório superior, assim como as medidas relativas ao desenvolvimento das papilas ruminais foram analisadas através do procedimento GLM do programa estatístico SAS (versão 9.3, SAS Institute Inc., Cary, NC), conforme o modelo (2).

$$(2) \qquad Yik = \mu + Ti + Bk + Eik$$

Onde,

Yik = variável resposta;

μ = média geral;

Ti = efeito do tratamento (0, 50 ou 100% de polpa cítrica em substituição ao milho);

Bk = efeito do bloco;

Eik = efeito devido ao acaso (resíduo).

Para efeito de comparação de médias foi utilizado o teste t de Student, sendo as médias estimadas através do método dos quadrados mínimos, com nível de significância de 5%. Foi considerada tendência os resultados que apresentaram $0,05<P<0,10$.

3.3 Resultados e discussão

3.3.1 Consumo e desempenho

O consumo de concentrado não foi afetado pelos tratamentos (P>0,05), não havendo também interação entre tratamento x idade (Tabela 3.2). Mesmo com coloração escura e odor cítrico, não houve problemas de adaptação e aceitação do concentrado contendo 50 ou 100% de polpa cítrica em substituição milho, sugerindo não haver queda na palatabilidade. Bhattacharrya; Harb (1973) substituíram o milho por 20, 40 ou 60% de polpa cítrica (base seca) na ração de cordeiros e também relataram palatabilidade similar entre os tratamentos.

Tabela 3.2 – Consumo de concentrado, ganho de peso diário e peso vivo de bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0PC), 50% (50PC) ou 100% (100PC) de polpa cítrica em substituição ao milho

	Tratamentos				**P<** [2]		
	0PC	**50PC**	**100PC**	**EPM**[1]	**T**	**I**	**T x I**
Consumo de concentrado, g/dia							
Ao desaleitamento	690,0	971,4	738,0	188,1	0,39	..	..
Média do período total	353,7	467,1	348,0	114,6	0,72	<0,001	0,45
Ganho de peso diário, g/dia							
Média do período total	322,1	412,4	373,4	81,0	0,77	<0,001	0,50
Peso vivo, kg							
Semana 3	41,1	41,1	41,0	1,36	0,97	..	..
Semana 8	53,3	57,0	56,4	3,38	0,51	..	..
Média do período total	46,9	47,6	47,6	2,24	0,97	<0,001	0,60

(1) EPM = erro padrão da média
(2) T = efeito de tratamento; I = efeito da idade dos animais; T x I = efeito da interação tratamento e idade dos animais
Nota: Sinal convencional utilizado:
.. Não se aplica dado numérico.

Outros pesquisadores também relataram similaridade no consumo de concentrado em dietas contendo polpa cítrica em substituição ao milho na dieta de bezerros (SCHALCH et al., 2001), tourinhos (HENRIQUE et al., 2004), ovinos (GILAVERTE et al., 2011) e caprinos (BUENO et al., 2002). Por outro lado, Henrique et al. (1998) demonstraram queda no consumo de matéria seca (7,02 *vs* 4,49 kg/dia) e ganho de peso (1,41 *vs* 0,75 kg/dia) de tourinhos Santa Gertrudis (230 kg de peso

vivo inicial) arraçoados com 67,4% de milho grão inteiro ou 62,7% de polpa cítrica na matéria seca total, respectivamente.

Como pode ser observado na Figura 3.1, o consumo de concentrado aumentou (P<0,001) com o avanço da idade do animal, fator esse importante para que o desaleitamento possa ser realizado de maneira satisfatória. Valores similares foram relatados por Ferreira; Bittar (2010) e Silva; Bittar; Ferreira (2011), testando a utilização de aditivos alimentares na dieta de bezerros em aleitamento. De acordo com Quigley (1996), animais que consumirem 700 g/dia de concentrado inicial durante três dias consecutivos podem ser desaleitados sem haver prejuízos no desempenho. Outro aspecto importante relacionado ao consumo adequado de concentrado ao desaleitamento é a sua alta relação com o potencial de produção de leite futura (HEINRICHS; HEINRICHS, 2011).

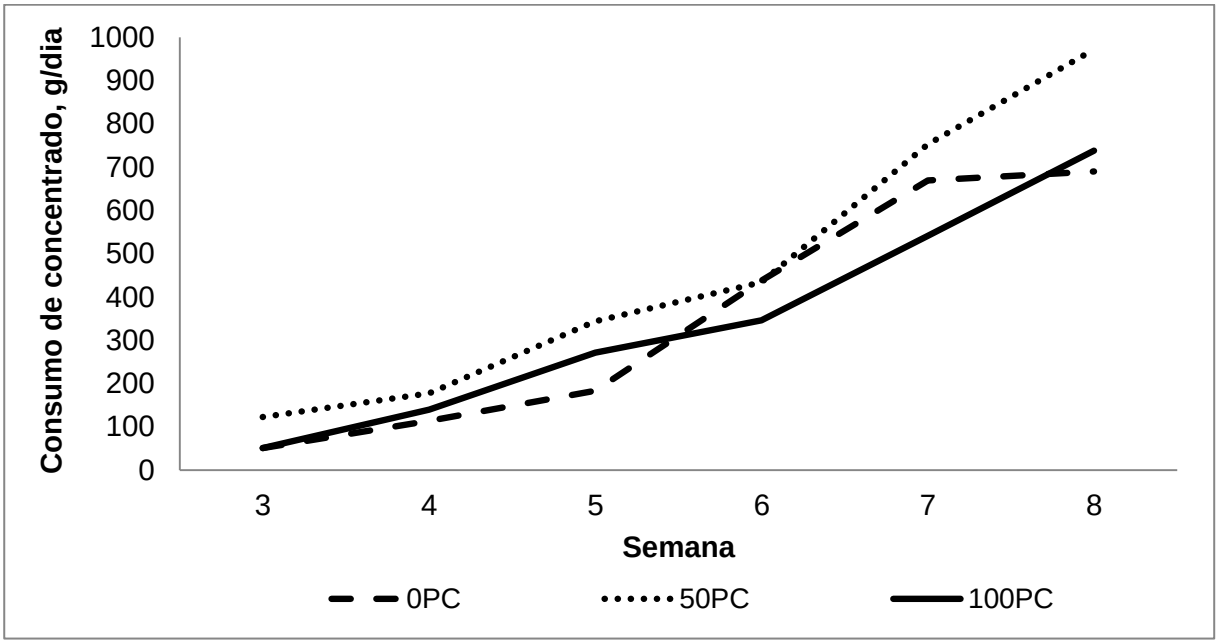

Figura 3.1 – Consumo de concentrado (g/dia), de acordo com a idade, de bezerros recebendo 0% (0PC), 50% (50PC) ou 100% (100PC) de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado inicial

O peso vivo e o ganho de peso diário médio não foram afetados (P>0,05) pela inclusão de polpa cítrica no concentrado inicial (Tabela 3.2), havendo, no entanto, aumento significativo com o avanço da idade (P<0,001) para estas variáveis (Figura 3.2 e Figura 3.3, respectivamente). Esses resultados eram esperados, visto que o consumo de concentrado também apresentou efeito de idade e não diferiu entre tratamentos ao longo do período experimental. Essas variáveis estão de acordo com

o encontrado na literatura com vistas ao desaleitamento precoce (NUSSIO et al., 2003; FERREIRA; BITTAR, 2010; SILVA; BITTAR; FERREIRA, 2011), onde os animais são submetidos ao aleitamento convencional (4 L/dia) de forma a estimular o consumo de concentrado.

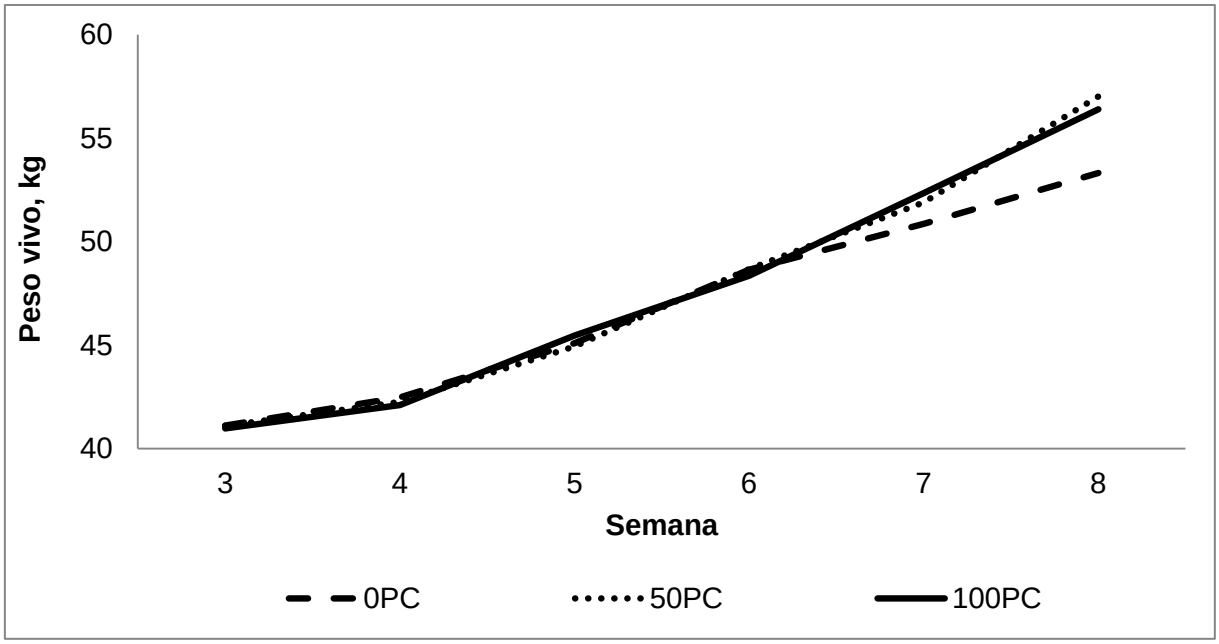

Figura 3.2 – Peso vivo de bezerros recebendo 0% (0PC), 50% (50PC) ou 100% (100PC) de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado inicial

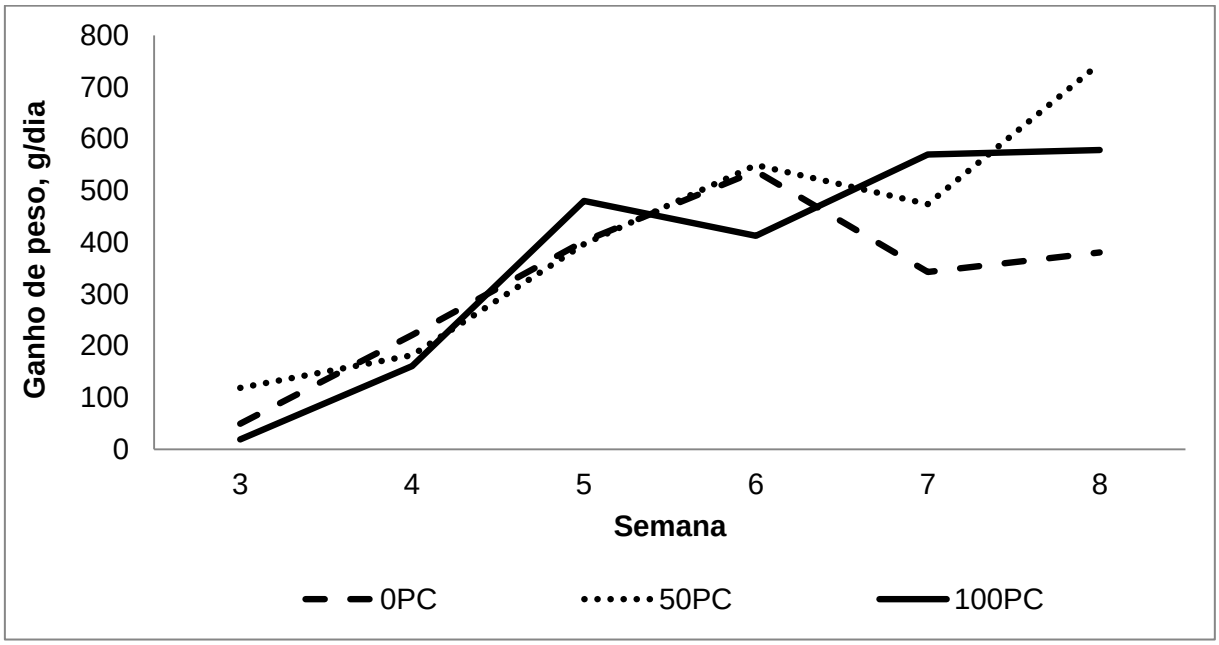

Figura 3.3 – Ganho de peso diário (g/dia) de bezerros recebendo 0% (0PC), 50% (50PC) ou 100% (100PC) de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado inicial

Verificou-se tendência (P<0,06) de maior ganho de peso diário à oitava semana dos animais submetidos ao tratamento 50PC frente aos animais que não receberam polpa cítrica. Como não houve diferença (P>0,05) no consumo de concentrado, acredita-se que tenha havido melhor utilização dos nutrientes pelos animais recebendo 50% de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado inicial. No único trabalho conduzido com o objetivo de estudar o efeito da substituição do milho pela polpa cítrica sobre o desempenho de bezerros em aleitamento, Schalch et al. (2001) relataram semelhança (P>0,05) no consumo de concentrado e feno de *coastcross* (526, 458, 605 e 434 g/dia) e ganho de peso (453, 424, 489 e 437 g/dia) em bezerros recebendo, respectivamente, 0, 15, 30 ou 45% de polpa cítrica no concentrado inicial.

As medidas de crescimento esquelético, representadas pela altura na cernelha, largura da garupa e perímetro torácico não foram afetadas (P>0,05) pela inclusão de níveis crescentes de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado inicial de bezerros (Tabela 3.3). Da mesma forma, não foram observadas diferenças significativas (P>0,05) para interação tratamento x idade. Esses dados corroboram com os observados por Schalch et al. (2001), os quais também não observaram diferenças de altura de cernelha e perímetro torácico em bezerros recebendo níveis crescentes de polpa cítrica em substituição ao milho.

Os animais apresentaram altura inicial próximo ao relatado por Heinrichs; Losinger (1998), que situa-se em torno de 79,4 cm. Porém, todos os animais apresentaram ganho em altura de cernelha menor do que o recomendado para bezerras em aleitamento, que é aproximadamente 1,3 cm por semana (HOFFMAN, 1997).

Tabela 3.3 – Altura na cernelha, perímetro torácico e largura da garupa de bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0PC), 50% (50PC) ou 100% (100PC) de polpa cítrica em substituição ao milho

	Tratamentos			EPM [1]	P< [2]		
	0PC	50PC	100PC		T	I	T x I
Altura na cernelha, cm							
Média do período total	82,77	83,16	82,85	0,67	0,91	<0,001	0,98
Ganho, cm/semana	0,65	0,54	0,59	0,29	0,20	<0,001	0,90
Perímetro torácico, cm							
Média do período total	83,45	84,04	84,06	1,01	0,90	<0,001	0,80
Ganho, cm/semana	1,33	1,48	1,40	0,37	0,29	<0,001	0,70
Largura da garupa, cm							
Média do período total	22,84	22,21	22,40	0,12	0,85	<0,001	0,35
Ganho, cm/semana	0,24	0,38	0,28	0,38	0,24	<0,001	0,58

(1) EPM = erro padrão da média
(2) T = efeito de tratamento; I = efeito da idade dos animais; T x I = efeito da interação tratamento e idade dos animais
Nota: Sinal convencional utilizado:
.. Não se aplica dado numérico.

Conforme descrito na Tabela 3.3 e Figura 3.4, foi observado efeito para idade para todas as medidas corporais (P<0,01). Este resultado era esperado, visto que a ingestão de nutrientes via concentrado inicial aumentou com o passar das semanas, possibilitando o crescimento do animal. Esses resultados estão de acordo com outros autores que avaliaram medidas corporais de crescimento de bezerros que receberam diferentes dietas (SILVA; BITTAR; FERREIRA, 2012; SILVA; BITTAR; FERREIRA, 2011; FERREIRA; BITTAR, 2010; HILL et al., 2008).

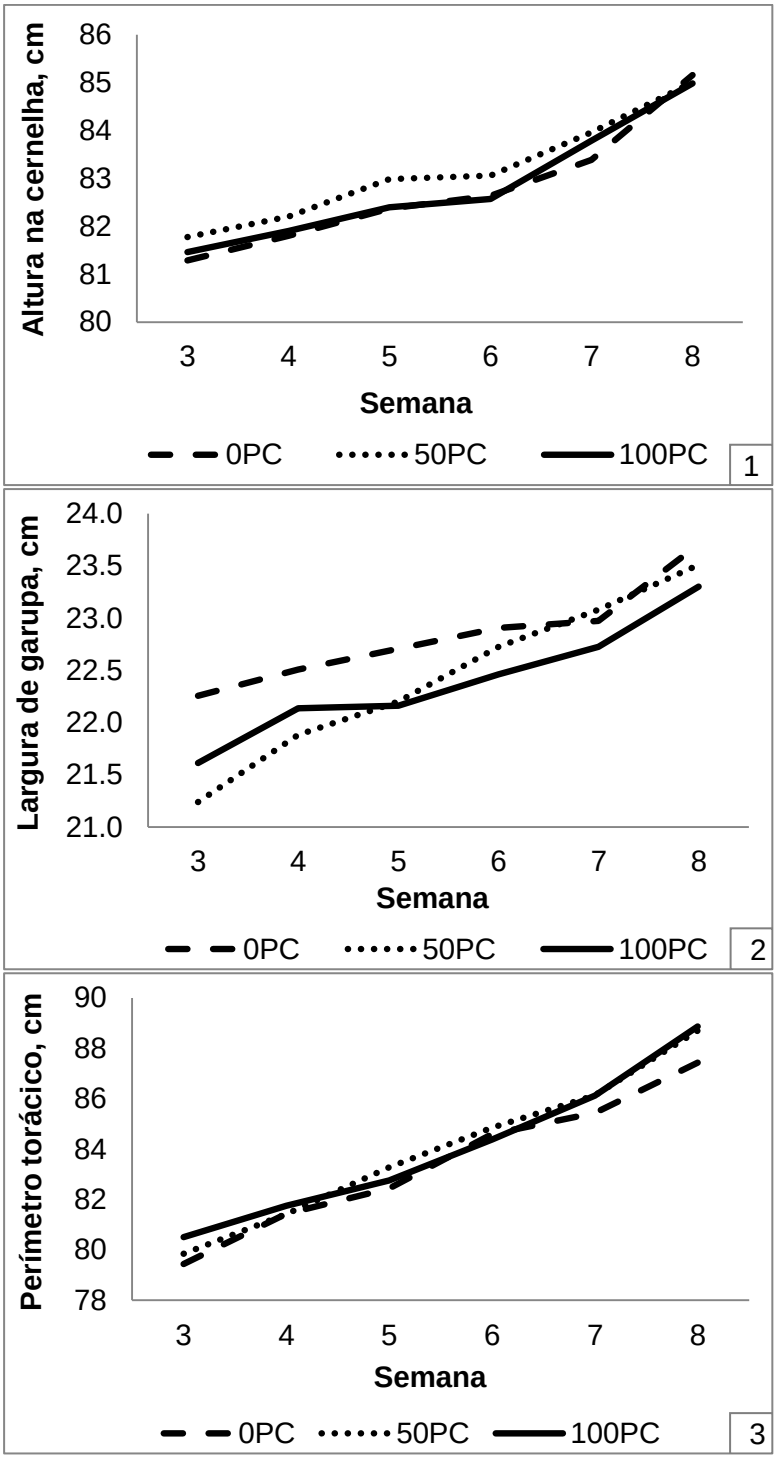

Figura 3.4 – Altura na cernelha (1), largura da garupa (2) e perímetro torácico (3) de bezerros recebendo 0% (0PC), 50% (50PC) ou 100% (100PC) de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado inicial

3.3.2 Escore fecal

A substituição de milho por polpa cítrica no concentrado inicial de bezerros leiteiros não afetou o escore fecal (Figura 3.5), não havendo também efeito de interação tratamento x idade (P>0,05). No entanto, houve diminuição significativa (P<0,001) do escore fecal com o avanço da idade dos animais. Os resultados do presente estudo corroboram com os relatados por Schalch et al. (2001), que não verificaram aumento dos casos de diarreia de bezerros recendo concentrado inicial contendo níveis crescentes (0, 15, 30 ou 45%) de polpa cítrica em substituição ao milho.

Como a inclusão de polpa cítrica no concentrado inicial foi elevada (50 e 100% em substituição ao milho), suspeitava-se que os tratamentos contendo polpa cítrica aumentassem a fluidez das fezes, uma vez que a pectina, carboidrato que compõe este ingrediente, é de natureza hidrofílica, o que poderia aumentar o trânsito intestinal, culminando em fezes mais fluídas. Esta observação era mais esperada em animais mais jovens, os quais ainda não apresentariam desenvolvimento ruminal suficiente para a degradação completa deste ingrediente. Porém, os animais recebendo concentrado contendo polpa cítrica apresentaram escores fecais baixos ao longo de todo período experimental.

De acordo Larson et al. (1977), animais apresentando escore fecal acima de 2 são considerados como acometidos por diarreia. Pode-se observar na Figura 3.5 que todos os tratamentos apresentaram valores acima de 2 na terceira semana de vida, demonstrando maior incidência de diarreia nessa fase. De acordo com a literatura, é comum ocorrer maior frequência de diarreia durante as três primeiras semanas de vida do animal (FRANKLIN et al., 2003; QUIGLEY et al., 1995), assim como observado nesse experimento. Isso ocorre pelo fato do sistema imune dos animais se tornar ativo apenas após a terceira semana de vida.

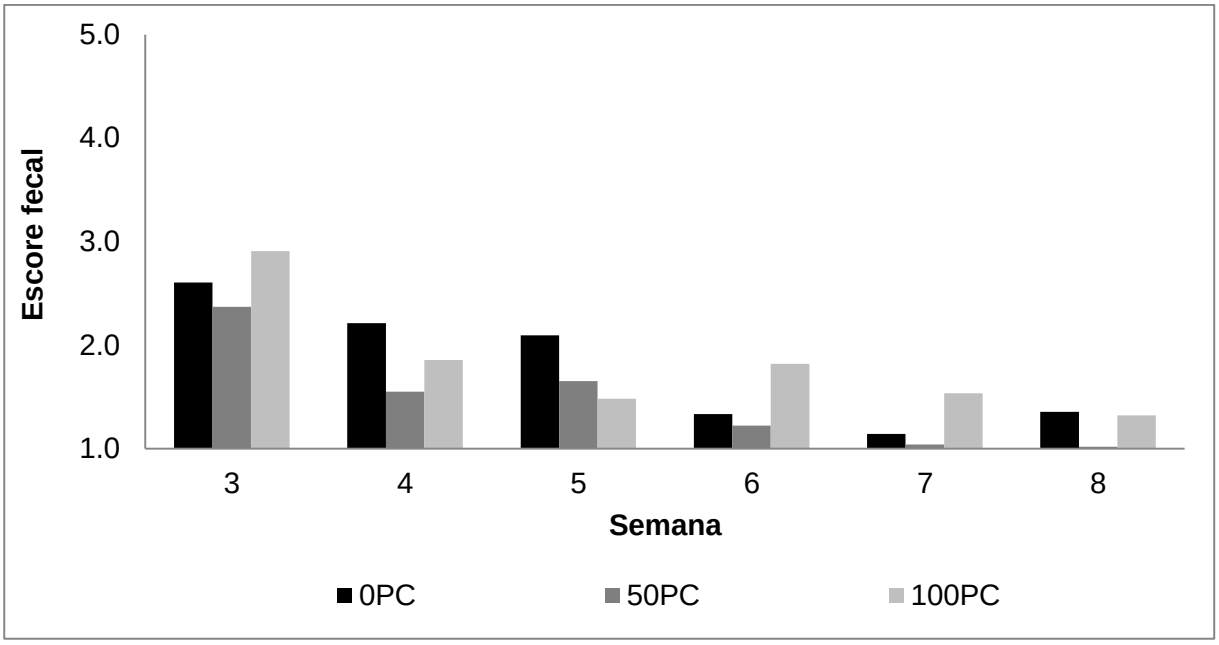

Figura 3.5 – Escore fecal de bezerros recebendo 0% (0PC), 50% (50PC) ou 100% (100PC) de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado inicial

A partir da quarta semana as ocorrências de diarreia diminuíram, sendo que na sexta, sétima e oitava semana o escore fecal de todos os tratamentos manteve-se abaixo de 2. Esses resultados eram esperados, visto que o consumo de concentrado, independente do tratamento, aumentou significativamente (P<0,05) com a idade dos animais. A elevação na ingestão de dieta sólida favorece a prevenção de diarreias, enquanto o consumo de grandes quantidades de leite ou sucedâneo lácteo pode contribuir para maior incidência de escore fecal elevado (BROWN et al., 2005).

3.3.3 Parâmetros ruminais

Como pode ser observado na Figura 3.6 e Tabela 3.4, não houve efeito (P>0,05) de da composição do concentrado inicial, da idade ou da interação destes fatores nos valores de pH do fluído ruminal. Esses resultados estão de acordo com Bampidis; Robinson (2006), os quais realizaram ampla revisão da literatura e concluíram que dietas contendo inclusão de polpa cítrica não causam alteração no pH do fluído ruminal. Esses valores, considerados relativamente baixos para ruminantes adultos, podem ser decorrentes da ingestão elevada de carboidratos de

rápida e extensa fermentação ruminal, promovendo produção acelerada de AGCC e consequente diminuição do pH.

Schalch et al. (2001) também não verificaram efeito da inclusão de polpa cítrica no concentrado de bezerros no pH ruminal, porém os valores encontrados foram superiores aos do presente estudo (6,02, 6,17, 6,12 e 6,15 em bezerros recebendo, respectivamente, 0, 15, 30 e 45% de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado). No entanto, no trabalho destes autores houve inclusão de 18% de feno em todos os concentrados experimentais, o qual apresenta aumento da ruminação e salivação, culminando em aumento do pH ruminal. Gilaverte et al. (2011) também não observaram diferenças no pH ruminal em cordeiros recebendo dieta contendo 100% de polpa cítrica em substituição ao milho (pH 6,19) frente àqueles recebendo a dieta sem inclusão de polpa cítrica (pH 6,14). Porém, 28% da MS da dieta desses animais era composta por bagaço de cana (80,3% de FDN), o que pode ter estimulado a ruminação e salivação, o que contribui para manutenção do pH ruminal.

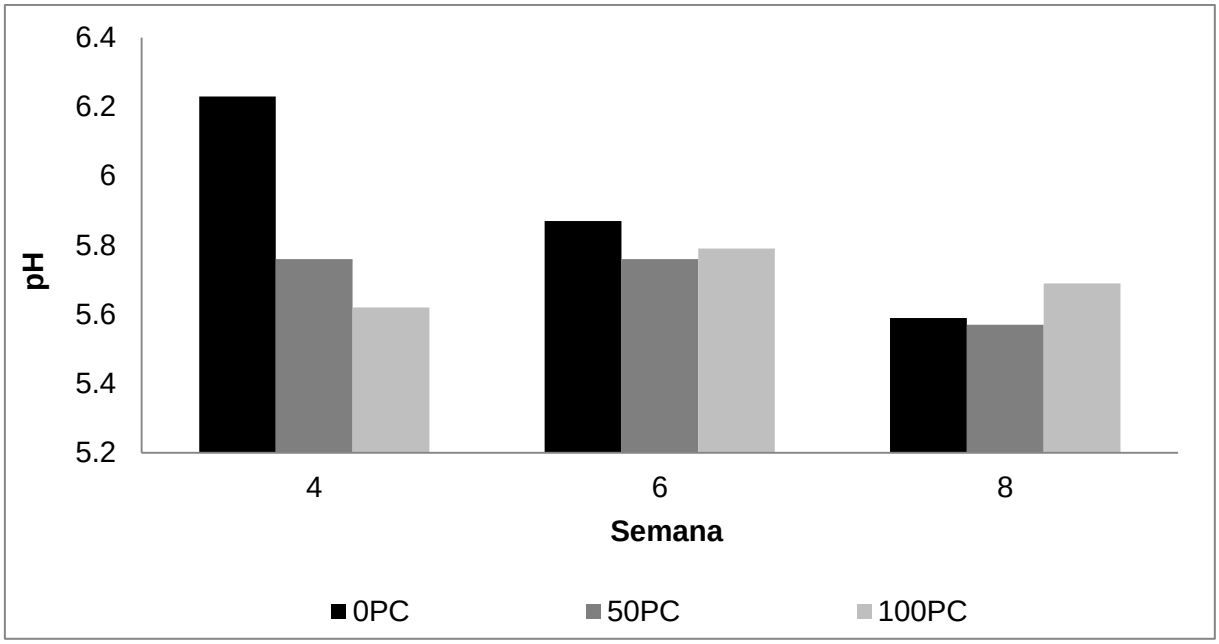

Figura 3.6 – Valores de pH ruminal de bezerros recebendo 0% (0PC), 50% (50PC) ou 100% (100PC) de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado inicial

Na Tabela 3.4 estão apresentadas as concentrações molares médias de AGCC no fluído ruminal nas diferentes semanas de avaliação. A produção de AGCC total não foi afetada pela composição do concentrado inicial (P>0,05), porém as

concentrações observadas na 4ª semana de vida dos animais foram inferiores (P<0,05) às outras semanas de avaliação, sugerindo aumento na capacidade de fermentação ruminal dos animais (Figura 3.7). O efeito de idade na produção total de AGCC acompanhou o aumento no consumo de concentrado (Figura 3.1) e consequente fermentação ruminal, confirmando os dados de Anderson; Khoyloo; Walters (1982) e Quigley et al. (1991) que trabalharam com bezerros em aleitamento recebendo concentrado inicial *ad libitum*.

Os AGCC são a principal fonte de energia em ruminantes funcionais, representando cerca de 70% da energia utilizada por esses animais (BERGMAN, 1990). Aumentos na atividade metabólica do epitélio ruminal e na área absortiva do rúmen de animais em crescimento são atribuídos ao aumento na concentração de AGCC resultantes da maior fermentação da matéria orgânica (LESMEISTER; HEINRICHS, 2004). Dessa forma, a maior produção de AGCC com o avanço da idade funciona como indicador de desenvolvimento ruminal.

Tabela 3.4 – Valores médios de parâmetros de fermentação ruminal de bezerros recebendo 0% (0PC), 50% (50PC) ou 100% (100PC) de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado inicial

	Tratamento			**EPM[1]**	**P<[2]**		
	0PC	**50PC**	**100PC**		**T**	**I**	**T x I**
pH	5,94	5,67	5,70	0,10	0,20	0,31	0,47
AGCC total, µmol/mL	92,34	101,36	93,21	5,71	0,50	0,01	0,65
Acetato, µmol/mL	53,20	60,22	57,98	2,38	0,18	0,01	0,48
Propionato, µmol/mL	28,50	26,42	20,84	3,24	0,25	0,01	0,64
Butirato, µmol/mL	6,33[b]	10,85[a]	9,18[a]	0,74	0,04	0,03	0,32
Isobutirato, µmol/mL	0,49	0,46	0,32	0,09	0,35	0,22	0,61
Isovalerato, µmol/mL	0,94	0,95	0,72	0,17	0,58	0,29	0,88
Valerato, µmol/mL	2,02	3,09	2,60	0,32	0,15	0,01	0,77
Acetato:Propionato	3,20	2,64	3,22	0,38	0,50	0,01	0,17
N-amoniacal, mg/dL	20,20	15,85	12,47	4,66	0,53	0,17	0,11

(1) EPM = erro padrão da média
(2) T = efeito de tratamento; I = efeito da idade dos animais; T x I = efeito da interação tratamento e idade dos animais
a,b Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si (P<0,05)

Valores crescentes no total de AGCC produzidos foram verificados por Beharka; Nagaraja; Morrill (1991) para animais em aleitamento com elevação no consumo de concentrado e Anderson; Nagaraja; Morril (1987) após o desaleitamento. Em pesquisa realizada com 12 ovinos canulados no rúmen, Gilaverte et al. (2011) não encontraram diferenças entre dietas contendo 100% de polpa cítrica em substituição ao milho para produção total de AGCC, concluindo que a polpa cítrica pode substituir totalmente o milho em dietas para ovinos em crescimento sem afetar esta variável.

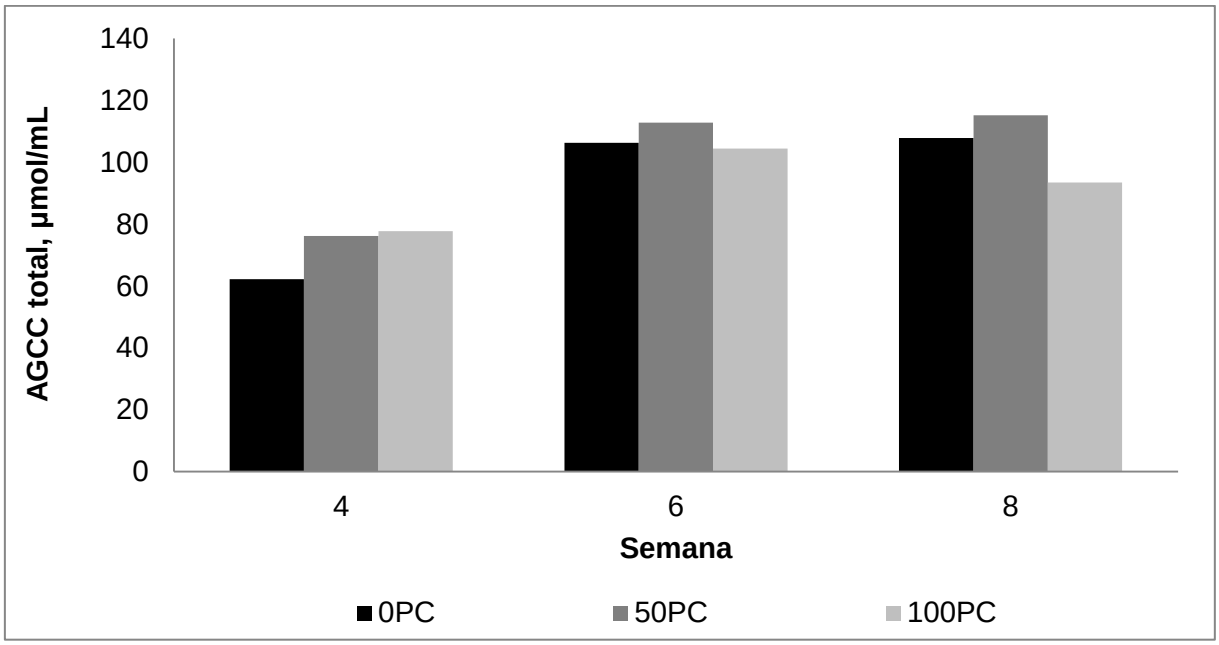

Figura 3.7 – Concentração molar total de ácidos graxos de cadeia curta (µmol/mL) de bezerros recebendo 0% (0PC), 50% (50PC) ou 100% (100PC) de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado inicial

De acordo com Bampidis; Robinson (2006), o principal AGCC gerado pela fermentação da polpa cítrica é o acetato, enquanto o propionato é o principal produto da fermentação do amido. No presente estudo, não houve efeito (P>0,05) da inclusão de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado, assim como da interação da composição e da idade dos animais sobre as concentrações de acetato e propionato (Tabela 3.4). Porém, como pode ser visualizado na Figura 3.8 (1 e 2) houve efeito de idade (P<0,05) para ambas as variáveis. Tal resultado decorre do aumento na ingestão de dieta sólida com a idade dos animais (Figura 3.1) e consequente aumento na fermentação ruminal, gerando principalmente acetato e propionato como produtos finais.

A relação acetato:propionato não foi afetada pela composição do concentrado (P>0,05) (Tabela 3.4), não havendo também interação deste fator com a idade dos animais. No entanto, esta relação foi reduzida com a idade dos animais (P<0,01). Tal resultado sugere que o aumento da concentração de propionato foi mais acentuada que a de acetato. Corroborando com os resultados do presente estudo, Gilaverte et al. (2011) não encontraram diferenças (P>0,05) na relação acetato:propionato no fluído ruminal de ovinos consumindo milho como principal fonte energética do concentrado (relação acetato:propionato = 2,50) e 100% de polpa cítrica em substituição ao milho (relação acetato:propionato = 2,92). Esses mesmos autores não verificaram diferenças (P>0,05) para a concentração de acetato, propionato e butirato.

Animais que consumiram dietas contendo 50 ou 100% de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado inicial apresentaram maior (P<0,05) concentração de butirato quando comparado aos do tratamento sem inclusão de polpa cítrica (Tabela 3.4). A produção de butirato, aliada a alta concentração de propionato, está normalmente associada ao maior crescimento das papilas ruminais (SANDER et al., 1959) e, portanto, preparo fisiológico do animal para absorção de produtos da fermentação (principalmente AGCC) gerados a partir de dietas sólidas, permitindo o desaleitamento sem queda no desempenho. Tal resultado pode ser confirmado pela maior altura e área das papilas ruminais frente ao tratamento controle (Tabela 3.7).

A concentração de butirato aumentou (P<0,05) com o avanço da idade dos animais (Figura 3.8 – 3) devido ao aumento no consumo de alimentos sólidos e consequente início da fermentação ruminal. De acordo com Baldwin et al. (2004), bezerros com poucas semanas de vida oxidam glicose e butirato a taxas semelhantes pelo epitélio ruminal. No entanto, com o avanço da idade, a taxa de oxidação da glicose pelas células do epitélio ruminal decrescem e o butirato produzido na fermentação passa a ser o substrato preferencial a ser oxidado.

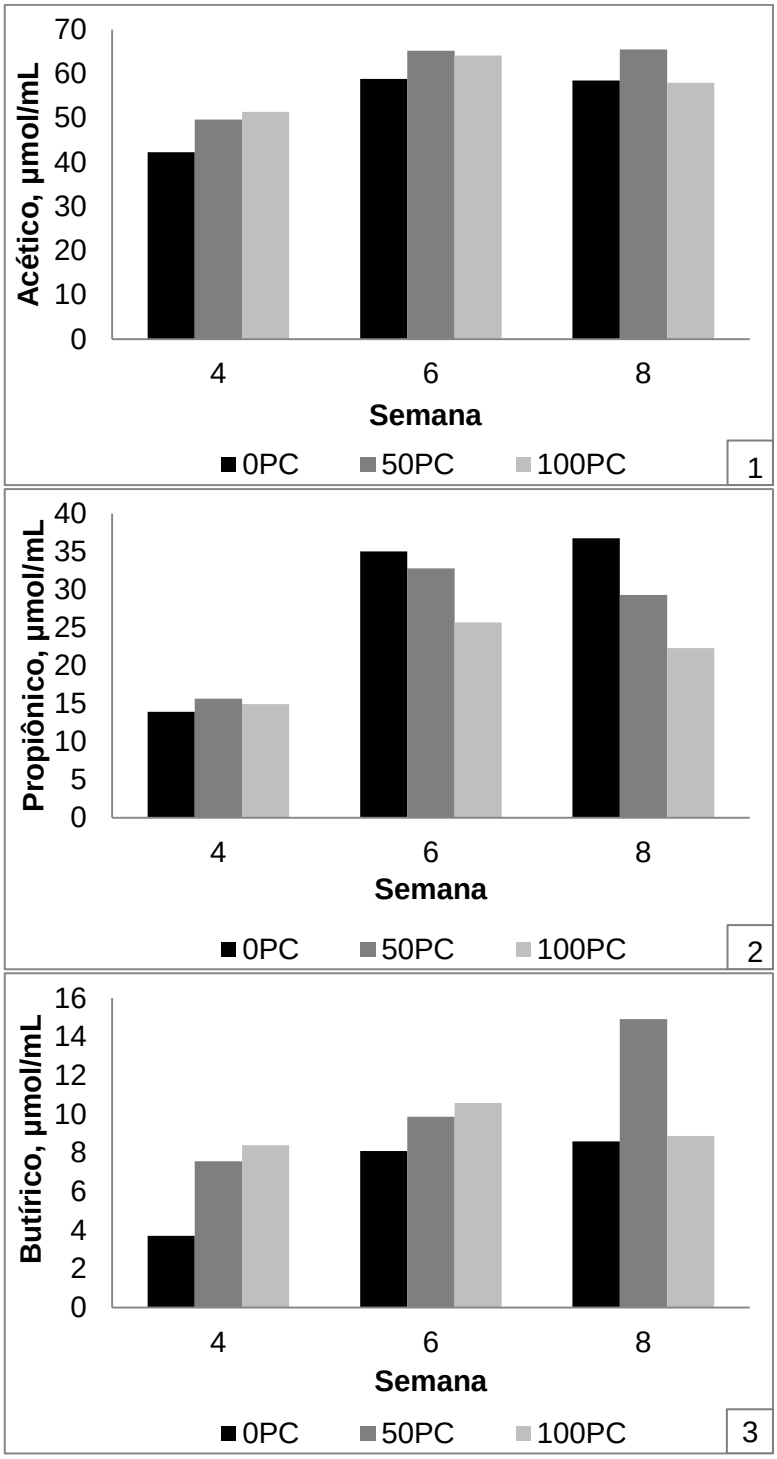

Figura 3.8 – Concentração molar dos ácidos acético (1), propiônico (2) e butírico (3) de bezerros recebendo 0% (0PC), 50% (50PC) ou 100% (100PC) de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado inicial

De acordo com Nozière et al. (2010), os produtos finais da fermentação ruminal são AGCC, NH_3, CO_2, CH_4 e, ocasionalmente, o ácido lático. Segundo os mesmos autores, acetato, propionato e butirato são os AGCC mais gerados, sendo

que valerato, isovalerato e isobutirato são produzidos em quantidades mais baixas. Este perfil de produção de AGCC manteve-se similar nesse experimento, não havendo efeito de tratamento (P>0,05) e interação tratamento x idade para isobutirato, valerato e isovalerato (Figura 3.9). Efeito de idade (P<0,05) foi verificado apenas na concentração de valerato, com concentração crescente entre as semanas de coleta, semelhante ao relatado por Beharka; Nagaraja; Morrill (1991), em animais avaliados na quarta e décima semanas de vida.

A concentração média de N-amoniacal no fluido ruminal não foi afetada pela composição do concentrado (P>0,05), não havendo também efeito da idade dos animais, ou da interação destes fatores (Tabela 3.4). Em todas as coletas realizadas (Figura 3.10), a concentração de N-amoniacal manteve-se acima do mínimo recomendado por Satter; Roffler (1975) e Leng; Nolan (1984), que é de 5 mg/dL, sugerindo que houve N-amoniacal suficiente para adequado crescimento microbiano em todas as dietas fornecidas.

Gilaverte et al. (2011) mostraram diferenças significativas na concentração de N-amoniacal de ovinos canulados no rúmen recebendo milho como principal fonte energética do concentrado (19,3 mg/dL) frente àqueles que receberam substituição total do milho por polpa cítrica no concentrado inicial (13,1 mg/dL). Segundo esses autores, tal resultado pode ser decorrente de uma redução na taxa de degradação da PB em dietas com elevado teor de polpa cítrica. Porcionato et al. (2004), por sua vez, não verificaram diferenças na concentração de N-amoniacal de bovinos recebendo níveis crescentes de polpa cítrica normal ou queimada.

De acordo com Owens; Zinn (1988) e Porcionato et al. (2004), o maior pico de N-amoniacal no rúmen ocorre cerca de duas horas após a ingestão de alimentos em ruminantes funcionais. Nussio et al. (2003) verificaram padrão semelhante ao avaliarem a produção de N-amoniacal em bezerros em aleitamento recebendo concentrado inicial logo após a ingestão da dieta líquida. Porém, vale ressaltar que esta variável tende a apresentar coeficiente de variação relativamente elevados.

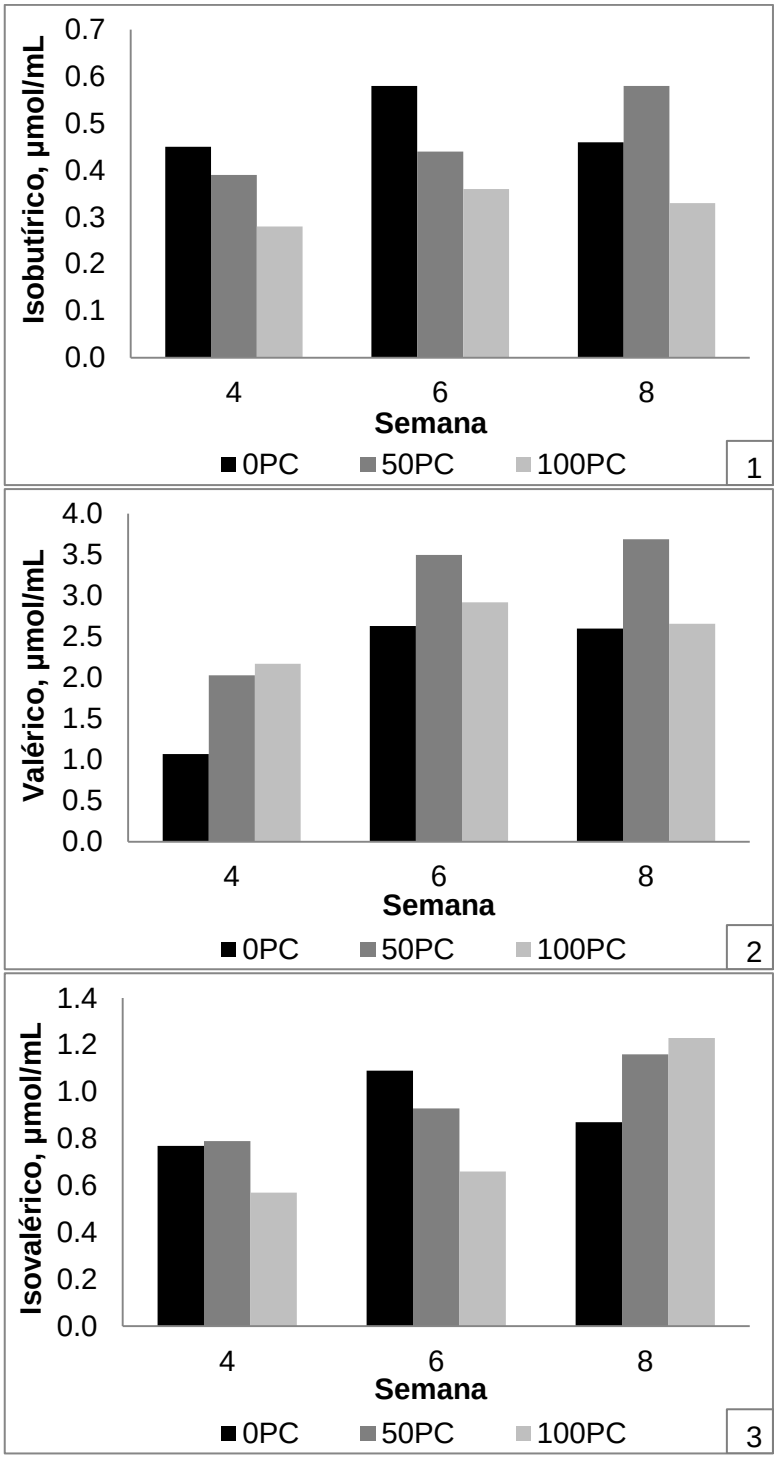

Figura 3.9 – Concentração molar dos ácidos isobutírico (1), valérico (2) e isovalérico (3) de bezerros recebendo 0% (0PC), 50% (50PC) ou 100% (100PC) de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado inicial

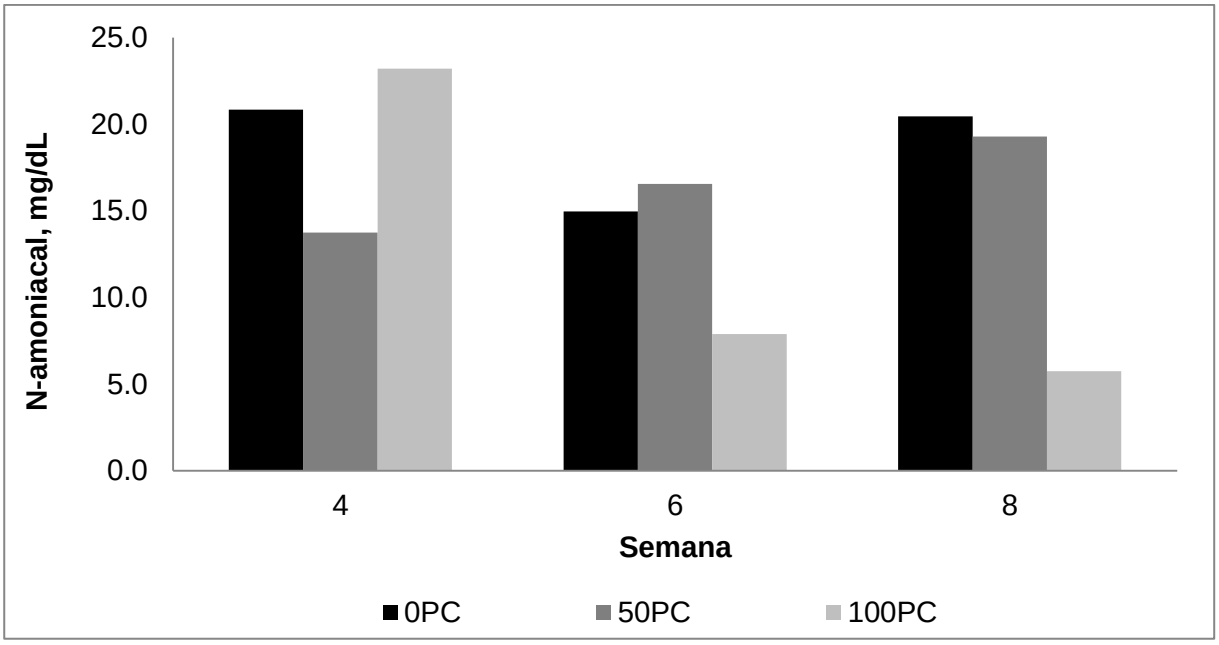

Figura 3.10 – Concentração de N-amoniacal presente no fluído ruminal de bezerros recebendo 0% (0PC), 50% (50PC) ou 100% (100PC) de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado inicial

3.3.4 Parâmetros sanguíneos

Os valores médios de concentração de glicose, β-hidroxibutirato e lactato encontram-se na Tabela 3.5. Não houve efeito (P>0,05) de tratamento e interação entre tratamento x idade para a concentração de glicose plasmática (Tabela 3.5), sendo que os níveis estão dentro do encontrado na literatura, onde animais em aleitamento apresentam concentrações de glicose plasmática próximas de 100 mg/dL (FERREIRA; BITTAR, 2010; QUIGLEY; BERNARD, 1992). Entretanto, houve aumento (P<0,01) na concentração de glicose plasmática com a idade dos animais (Figura 3.11). Dados similares foram relatados por Nápoles (2012), De Paula (2012), Ferreira (2011) e Silva; Bittar; Ferreira (2011), ao testarem diferentes dietas para bezerros da raça Holandês desaleitados à oitava semana de vida.

Tabela 3.5 – Concentrações plasmáticas de glicose, β-hidroxibutirato (βHBA) e lactato em bezerros recebendo 0% (0PC), 50% (50PC) ou 100% (100PC) de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado inicial

	Tratamentos				P<[2]		
	0PC	50PC	100PC	EPM[1]	T	I	T x I
Glicose, mg/dL							
Ao desaleitamento	94,83	99,93	109,63	9,24	0,99	..	..
Média do período	85,95	95,05	92,51	5,98	0,35	0,01	0,25
βHBA, mmol/L							
Ao desaleitamento	0,08	0,15	0,16	0,07	0,81	..	..
Média do período	0,07	0,13	0,11	0,05	0,53	0,03	0,05
Lactato, mg/dL							
Ao desaleitamento	7,69	10,74	11,04	1,27	0,96	..	..
Média do período	8,29	10,57	9,89	0,79	0,17	0,13	0,44

[1] EPM = erro padrão da média
[2] T = efeito de tratamento; I = efeito de idade; T x I = efeito da interação entre tratamento e idade
Nota: Sinal convencional utilizado:
.. não se aplica dado numérico

O aumento da glicose plasmática pode estar relacionado à glicose obtida através da dieta líquida juntamente com a proveniente da gliconeogênese hepática. O aumento na produção de propionato ruminal com o avanço da idade (Figura 3.8) embasa este resultado. Segundo Sauer; Kramer; Cantwell (1989); Theurer et al. (1999), a maior produção de propionato no rúmen pode resultar em maiores níveis de glicose plasmática devido a sua intensa produção através da gliconeogênese hepática. No entanto, esperava-se que os animais ingerindo 100% de milho como fonte energética apresentassem maior glicose plasmática em todo o período experimental, visto que o amido é fermentado a propionato e lactato, enquanto que a polpa cítrica apresenta padrão de fermentação mais acético. Propionato e lactato são importantes compostos gliconeogênicos, diferentemente do acetato, o qual não tem função gliconeogênica (BAMPIDIS; ROBINSON, 2006).

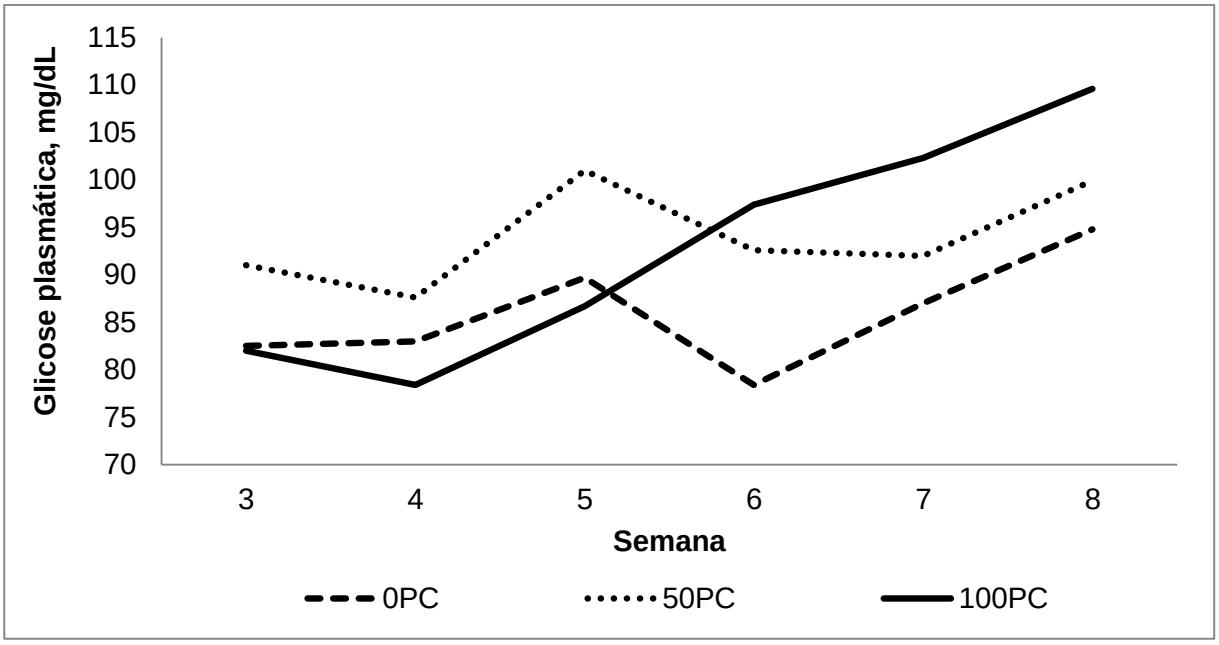

Figura 3.11 – Concentrações plasmáticas de glicose (mg/dL) em bezerros recebendo 0% (0PC), 50% (50PC) ou 100% (100PC) de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado inicial

As concentrações plasmáticas de β-hidroxibutirato (BHBA) estão apresentadas na Figura 3.12. Conforme esperado, os níveis séricos de BHBA aumentaram (P<0,001) com a idade, acompanhando o aumento da concentração ruminal de butirato (Figura 3.8) e o aumento no consumo de concentrado (Figura 3.1).

As concentrações de BHBA tendem a aumentar com o avanço da idade devido ao aumento no consumo de alimentos sólidos e, consequentemente, início do metabolismo ruminal, com maior produção de AGCC pelas bactérias ruminais e maior produção de corpos cetônicos pelo epitélio ruminal em desenvolvimento (QUIGLEY; SMITH; HEITMANN, 1991). Animais na fase de pré-ruminante utilizam glicose e butirato para gerar energia para manutenção e multiplicação das células do epitélio ruminal. Já nas fases de transição e ruminante adultos a taxa de oxidação da glicose pelas células do epitélio ruminal decrescem, e o butirato produzido na fermentação ruminal passa a ser o substrato preferencial a ser oxidado, gerando quantidades maiores de BHBA quando comparado a animais neonatos (BALDWIN; JESSE, 1992). De acordo com Santos (2006), a concentração plasmática de BHBA em ruminantes adultos está em torno de 0,1 a 0,3 mmol/L. No presente estudo apenas o tratamento contendo milho como principal fonte de energia apresentou

valores abaixo de 0,1 mmol/L, indicando que os animais ainda não estavam metabolicamente maduros.

Esperava-se maior concentração média de BHBA em animais consumindo concentrado contendo 50 e 100% de polpa cítrica frente àqueles que não receberam, uma vez que os tratamentos 50PC e 100PC apresentaram maior concentração de butirato ruminal (Figura 3.8) e maior desenvolvimento das papilas ruminais (Tabela 3.7). Entretanto, a interação tratamento x idade (P<0,05) existente nesta variável foi relativa apenas a concentração plasmática de BHBA dentro do mesmo tratamento (50% de polpa cítrica) entre as semanas 3, 4, 5 *vs* a semana 8.

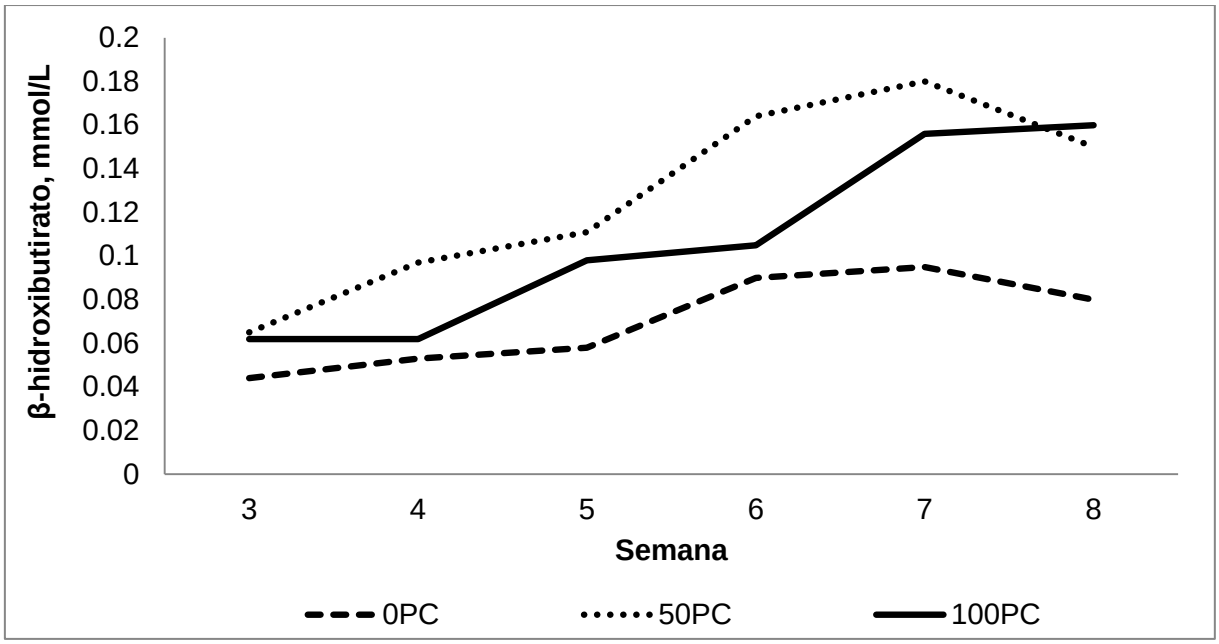

Figura 3.12 – Concentrações plasmáticas de β-hidroxibutirato (mmol/L) em bezerros recebendo 0% (0PC), 50% (50PC) ou 100% (100PC) de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado inicial

A concentração plasmática de lactato foi similar entre os tratamentos (P>0,05) (Tabela 3.5), não havendo também efeito de idade e interação tratamento x idade (P>0,05) (Figura 3.13). Acreditava-se que o tratamento 0PC iria apresentar maior concentração de lactato plasmático, visto que a fermentação do amido, principal carboidrato presente no milho, pode gerar lactato (KOZLOSKI, 2002). Por outro lado, a polpa cítrica apresenta pouca quantidade de amido, sendo a pectina seu principal carboidrato (VAN SOEST; ROBERTSON; LEWIS, 1991). A pectina é degrada rápida e extensivamente no rúmen, mas, diferentemente do amido, gera pouco lactato

(BAMPIDIS; ROBINSON, 2006; DUSKOVÁ; MOROUNEK, 2001), podendo melhorar o ambiente ruminal e aumentar a digestibilidade da dieta.

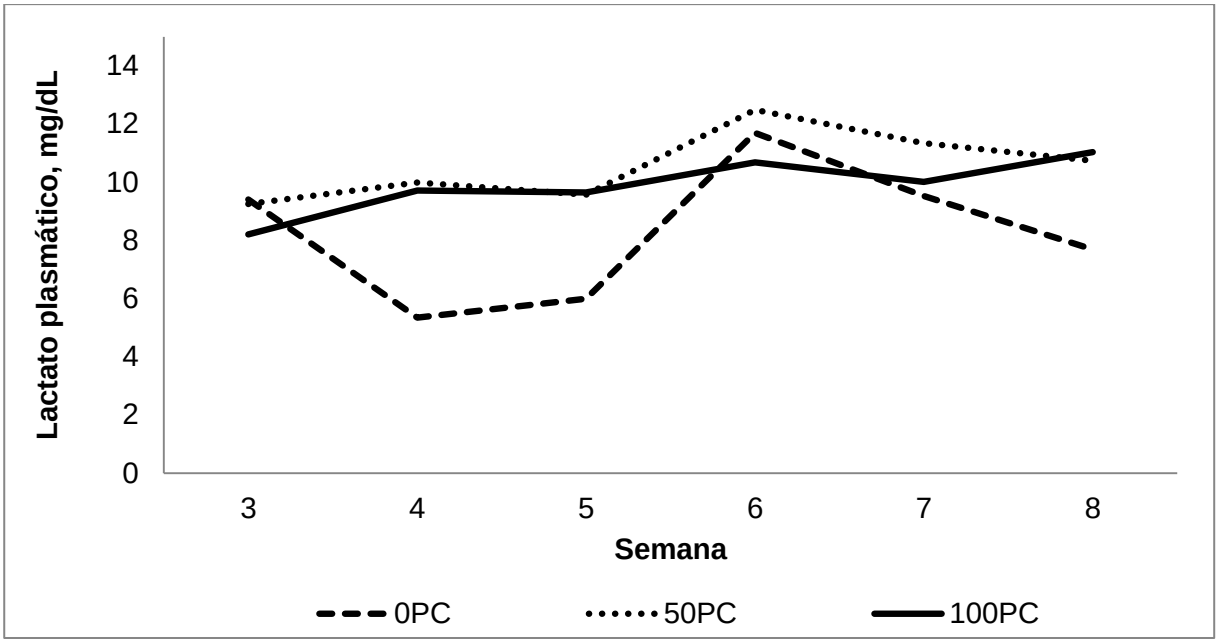

Figura 3.13 – Concentrações plasmáticas de lactato (mmol/L) em bezerros recebendo 0% (0PC), 50% (50PC) ou 100% (100PC) de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado inicial

O lactato presente na circulação periférica pode ainda ser originado através da glicólise endógena e do metabolismo do propionato pela parede ruminal. Segundo Bergman (1990), até 50% do propionato ruminal pode sofrer metabolismo pelo epitélio ruminal e gerar como produtos finais lactato, CO_2, piruvato e, em menor grau, aminoácidos. O lactato pode então migrar para o fígado, onde poderá ser utilizado na gliconeogênese.

3.3.5 Morfometria do trato digestório

Animais que tiveram a inclusão de 50 ou 100% de polpa cítrica no concentrado inicial em substituição ao milho apresentaram maior (P<0,05) peso total do trato digestório superior (rúmen, retículo, omaso e abomaso), peso do retículo-rúmen e peso do omaso (P<0,05) (Tabela 3.6). Estes mesmos tratamentos tenderam a ter maior proporção do retículo-rúmen (porcentagem do trato total) e volume do retículo-rúmen (P<0,10). Resultados semelhantes foram descritos por Suárez et al. (2006), os quais demonstraram que bezerros recebendo concentrado contendo pectina em substituição ao amido apresentaram maior peso do rúmen (1.423 g e

894g, respectivamente). Schalch et al. (2001), por sua vez, não encontraram diferenças significativas quanto ao volume e peso do retículo-rúmen e omaso-abomaso de bezerros recebendo até 45% de polpa cítrica no concentrado e abatidos aos 70 dias de vida.

O maior peso e volume do retículo-rúmen e omaso dos animais recebendo polpa cítrica frente àqueles recebendo milho pode estar relacionado ao maior teor de FDN nas dietas contendo polpa cítrica. O concentrado controle apresentava 13,4% de FDN na matéria seca, enquanto que os concentrados contendo 50 e 100% de polpa cítrica em substituição ao milho apresentavam 17,7 e 21,7%, respectivamente.

Tabela 3.6 – Medidas morfométricas do trato digestório superior de bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0PC), 50% (50PC) ou 100% (100PC) de polpa cítrica em substituição ao milho

	Tratamentos				
	0PC	**50PC**	**100PC**	**EPM[1]**	**P<[2]**
Trato total, g	1.075,0[b]	1.547,9[a]	1.415,6[a]	291,7	0,01
Retículo-rúmen, g	613,21[b]	1.051,29[a]	980,73[a]	213,6	<,001
% Trato total	55,37	68,73	70,33	4,5	0,06
Capacidade, L	9,55	12,96	12,78	2,9	0,07
Omaso, g	176,81[b]	198,50[a]	186,52[a]	60,8	0,03
% Trato total	14,56	13,38	13,41	2,2	0,28
Abomaso, g	285,06	298,15	248,40	30,7	0,05
% Trato total	30,03[a]	17,92[b]	16,27[b]	4,1	0,01

[1] EPM = erro padrão da média
[2] P = efeito de tratamento
[a,b] Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si (P<0,05)

Animais que receberam inclusão de polpa cítrica no concentrado inicial apresentaram menor proporção (P<0,05) do abomaso quando comparados aos pré-estômagos (Tabela 3.6). Esse resultado sugere a inversão na proporção dos compartimentos, conforme o animal se torna ruminante funcional. Quando o animal nasce, o abomaso representa em torno de 70% dos quatro compartimentos do trato digestório superior, enquanto o rúmen perfaz em torno de 25% (HUBER, 1969). No entanto, conforme o animal passa a ingerir alimento sólido e tem o retículo-rúmen colonizado por microrganismos, este passa a compreender em torno de 65% do total

e o abomaso deixa de ser o órgão digestor mais importante, além de representar em torno de 20% do total.

Observou-se maior altura e área das papilas dos animais consumindo concentrado contendo 50% de PC em substituição ao milho (Tabela 3.7). Este fato pode ser explicado pela maior concentração dos ácidos butírico no fluído ruminal desses animais quando comparado ao tratamento contendo milho como principal fonte energética do concentrado. De acordo com Davis; Drackley (1998), o butirato e o propionato são os principais estimuladores do crescimento do tecido ruminal, em parte por serem extensivamente metabolizados pelo epitélio ruminal durante a absorção. Segundo Santos (2006), 30 a 70% do butirato produzido pela fermentação pré-gástrica sofre β-oxidação no epitélio ruminal, com o intuito de gerar energia para o próprio órgão, favorecendo assim o desenvolvimento da musculatura e diferenciação do epitélio. Através da β-oxidação do butirato geram-se corpos cetônicos, especialmente o BHBA. Essa é a principal razão de, em ruminantes adultos, a concentração de corpos cetônicos, principalmente BHBA, ser maior que em monogástricos.

Resultados diferentes foram reportados por Schalch et al. (2001), os quais não encontraram diferenças significativas quanto ao desenvolvimento papilar de bezerros recebendo até 45% de polpa cítrica no concentrado inicial. Castro; Zanetti (1998) relataram altura de papilas de 2,17 e 1,98 mm de bezerros recebendo concentrado a base milho frente àqueles que tiveram inclusão de 35,14% de polpa cítrica, respectivamente, não havendo diferença significativa entre os dados.

Tabela 3.7 – Medidas altura, largura, número e área de papilas amostrados em 1cm^2 da região ventral do rúmen de bezerros que receberam 0% (0PC), 50% (50PC) ou 100% (100PC) de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado inicial

	Tratamentos				
	0PC	**50PC**	**100PC**	**EPM[1]**	**P<[2]**
Número, unidade/cm^2	82,39	71,20	85,08	24,3	0,36
Altura, mm	1,28^b	3,30^a	1,97^b	0,39	0,01
Largura, mm	0,97	1,29	1,10	0,32	0,33
Área, cm^2	1,55^b	3,93^a	2,03^{ab}	1,02	0,03

[1] EPM = erro padrão da média
[2] P = efeito de tratamento
[a,b] Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si (P<0,05)

3.4 Conclusões

A substituição de 50 ou 100% do milho por polpa cítrica no concentrado não alterou o consumo de concentrado, desempenho, escore fecal e parâmetros sanguíneos de bezerros em aleitamento. Porém, observou-se que a inclusão de polpa cítrica aumentou a concentração de butirato ruminal e o desenvolvimento do trato digestório superior, podendo refletir em melhor desempenho na vida futura do animal.

Referências

ANDERSON, M.J.; KHOYLOO, M.; WALTERS, J.L. Effect of feeding whole cottonseed on intake, body weight, and reticulorumen development of young Holstein calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 65, p. 764-772, 1982.

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

BALDWIN, R.L.; JESSE, B.W. Developmental changes in glucose and butyrate metabolism by isolated sheep ruminal cells. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 122, p. 1149-1153, 1992.

BALDWIN, R.L.; MCLEOD VI, K.R.; KLOTZ, J.L,; HEITMANN, R.N. Rumen development, intestinal growth and hepatic metabolism in the pre- and post-weaning ruminant. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, E-suppl. 1, p. E55–E65, 2004.

BAMPIDIS, V.A.; ROBINSON, P.H. Citrus by-products as ruminant feeding: A review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 128, p. 175-217, 2006.

BEHARKA, A.A.; NAGARAJA, T.G.; MORRILL, J.L. Performance and ruminal function development of young calves fed diets with *Aspergillus oryzae* fermentation extract. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, p. 4326-4336, 1991.

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

BHATTACHARRYA, A.N.; HARB, M. Dried citrus pulp as a grain replacement for awasi lambs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 36, p. 1175-1180, 1973.

BROWN, E.G.; VandeHAAR, M.J.; DANIELS, K.M.; LIESMAN, J.S.; CHAPIN, L.T.; KEISLER, D.H.; NIELSEN, M.S.W. Effect of increasing energy and protein intake on body growth and carcass composition of heifer calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, p. 585–594, 2005.

BUENO, M.S.; FERRARI JR, E.; BIANCHINI, D.; LEINZ, F.F.; RODRIGUES, C.F.C. Effect of replacing corn with dehydrated citrus pulp in diets of growing kids. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 46, p. 179–185, 2002.

CAMPOS, F.P.; NUSSIO, C.M.B.; NUSSIO, L.G. **Métodos de análises de alimentos**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 135p.

CASTRO, A.K.M.; ZANETTI, M.A. Estudo da inclusão de fibra na dieta de bezerros da raça holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 27, n. 6, p. 1993-1998, 1998.

CHANEY, A.L.; MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, Washington, v. 8, p. 130-132, 1962.

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

De PAULA, M.R. **Alterações no metabolismo energético e no desempenho de bezerros leiteiros em programas de aleitamento intensivo ou convencional.** 2012. 82p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

DUSKOVÁ, D.; MAROUNEK, M. Fermentation of pectin and glucose, and activity of pectin-degrading enzymes in the rumen bacterium *Lachnospira multiparus.* **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 33, p. 159-163, 2001.

FERREIRA, L.S. **Silagem de colostro: caracterização do perfil de fermentação anaeróbia e desempenho de bezerros leiteiros.** 2011. 163p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

FERREIRA, L.S.; BITTAR, C.M.M. Performance and plasma metabolites of dairy calves fed starter containing sodium butyrate, calcium propionate or sodium monensin. **Animal Journal**, Cambridge, v. 5, p. 239-245, 2010.

FRANKLIN, S.T.; AMARAL-PHILLIPS, D.M.; JACKSON, J.A.; CAMBELL, A.A. Health and performance of Holstein calves that suckled or were hand-fed colostrums and were fed one of three physical forms of starter. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, n. 6, p. 2145-2153, 2003.

GILAVERTE, S.; SUSIN, I; PIRES, A.V.; FERREIRA, E.M.; MENDES, C.Q.; GENTIL, R.S.; BIEHL, M.V.; RODRIGUES, G.H. Digestibilidade da dieta, parâmetros ruminais e desempenho de ovinos Santa Inês alimentados com polpa cítrica peletizada e resíduo úmido de cervejaria. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 40, p. 639-647, 2011.

HEINRICHS, A.J.; HEINRICHS, B.S. A prospective study of calf factors affecting first-lactation and lifetime milk production and age of cows when removed from the herd. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, p. 336-341, 2011.

HEINRICHS, A.J.; LOSINGER, W.C. Growth of Holstein dairy heifers in the United States. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 76, p. 1254-1260, 1998.

HENRIQUE, W.; SAMPAIO, A.A.M.; LEME, P.R.; LANNA, D.P.D.; ALLEONI, G.F.; COUTINHO FILHO, J.L.V. Desempenho e características da carcaça de tourinhos Santa Gertrudes confinados, recebendo dietas com alto concentrado e níveis crescentes de polpa cítrica peletizada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, p. 463-470, 2004.

HILL, T.M.; BATERMAN, H.G.; ALDRICH, J.M.; SCHLOTHERBECK, R.L. Effects of feeding different carbohydrates sources and amounts to young calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.91, p. 3128-3137, 2008.

HOFFMAN, P. Optimum body size of Holstein replacement heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, p. 836-845, 1997.

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

KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. Santa Maria: Editora da Universidade Federal de Santa Maria, 2002. 140p.

LARSON, L.L.; OWEN, F.G.; ALBRIGHT, J.L.; APPLEMAN, R.D.; LAMB, R.C.; MULLER, L.D. Guidelines toward more uniformity in measuring and reporting calf experimental data. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 60, p. 989-991, 1977.

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

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T.M.; VAN SOEST, P.J. Standardization of procedures of nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 57, p. 347-358, 1996.

LENG, R.A.; NOLAN, J.V. Nitrogen metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 67, p. 1072-1089, 1984.

NÁPOLES, G.G.O. **Desempenho e metabolismo de bezerros leiteiros em aleitamento convencional recebendo concentrado inicial contendo glicerol em substituição ao milho.** 2012. 91p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

NOZIÈRE, P.; ORTIGUES-MARTY, I; LONCKE, C.; SAUVANT, D. Carbohydrate quantitative digestion and absorption in ruminants: from feed starch and fiber to nutrients available for tissues. **Animal Journal**, Cambridge, v. 4, p. 1057-1074, 2010.

NUSSIO, C.M.B.; SANTOS, F.A.P.; ZOPOLLATTO, M.; PIRES, A.V.; MORAIS, J.B. Processamento de milho (floculado vs. laminado a vapor) e adição de monensina para bezerras leiteiras, pré e pós-desmama precoce. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, p. 229-239, 2003.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirement in dairy cattle. 7th ed. Washington: National Academy of Science, 2001. 381p.

OWENS, F.N.; ZINN, R. Metabolismo de la proteína en los ruminantes. In: CHURCH, D.C. (Ed.) **El ruminante:** fisiológia digestiva e nutricíon. Zaragoza: Acribia, 1988. p.255-281.

PORCIONATO, M.A.F.; BERCHIELLI, T.T.; FRANCO, G.L.; ANDRADE, P.; SILVEIRA, R.N.; SOARES, W.V.B. Digestibilidade, degradabilidade e concentração amoniacal no rúmen de bovinos alimentados com polpa cítrica peletizada normal ou queimada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, p. 258-266, 2004.

QUIGLEY, J.D. Feeding prior to weaning. In: CALVES, HEIFERS AND DAIRY PROFITABILITY NATIONAL CONFERENCE, Pennsylvania, 1996. Ithaca**. Proceedings…** Northeast Regional Agricultural Engineering Service Cooperative Extension, 1996. p. 245-255.

QUIGLEY, J.D.; MARTIN, K.R.; BEMIS, D.A.; POTGIETER, L.N.D.; REINEMEYER, C.R.; ROHRBACH, B.W.; DOWLEN, H.H.; LAMAR, K.C. Effects of housing and colostrum feeding on serum immunoglobulins, growth, and fecal scores of Jersey calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 78, n. 4, p. 893-901, 1995.

QUIGLEY, J.D.; BERNARD, J.K. Effects of nutrient source and time of feeding on changes in blood metabolites in young calves. **Journal of Animal Science,** Champaign, v. 70, p. 1543-1549, 1992.

QUIGLEY, J.D.; SMITH, Z.P.; HEITMANN, R.N. Changes in plasma volatile fatty acids in response to weaning and feed intake in young calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, p. 258-263, 1991.

QUIGLEY, J.D.; CALDWELL, L.A.; SINKS, G.D.; HEITMANN, R.N. Changes in blood glucose, nonesterified fatty acids, and ketones in response to weaning and feed intake in young calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, p. 250-257, 1991.

SANDER, E.G.; WAIINER, R.G.; HARRISON, H.N.; LOOSLI, J.K. The stimulatory effect of sodium butyrate and sodium propionate on the development of rumen mucosa in the young calf. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 42, p. 600-605, 1959.

SANTOS, J.E.P. Distúrbios metabólicos. In: BERCHILLI, T.T.; PIRES, A.V., OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 583p.

SATTER, L.D.; ROFFLER, R.E. Nitrogen requirement and utilization in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 58, p. 1212-1237, 1975.

SAUER, F.D.; KRAMER, J.K.G.; CANTWELL, W.J. Antiketogenic effects of monensin in early lactation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 72, p. 436-442, 1989.

SCHALCH, F.J.; SCHALCH, E.; ZANETTI, M.A.; BRISOLA, M.L. Substituição do milho em grão moído pela polpa cítrica na desmama precoce de bezerros leiteiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, p. 280-285, 2001.

SILVA, J.T.; BITTAR, C.M.M.; FERREIRA, L.S. Desempenho e desenvolvimento ruminal em resposta ao fornecimento de substâncias húmicas para bezerros leiteiros em sistema de desaleitamento precoce. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 33, p. 395-401, 2011.

SILVA, J.T.; BITTAR, C.M.M.; FERREIRA, L.S. Evaluation of mannan-oligosaccharides offered in milk replacers or calf starters and their effect on performance and rumen development of dairy calves. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 41, p. 746-752, 2012.

SUÁREZ, B.J.; VAN REENEN, C.G.; BELDMAN, G.; VAN DELEN, J.; DIJKSTRA, J.; GERRITS, W.J.J. Effects of supplementing concentrates differing in carbohydrate composition in veal calf diets: I. animal performance and rumen fermentation characteristics. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, p. 4365-4375, 2006.

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

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

WEISS, W.P. Predicting energy values of feeds. In: SYMPOSIUM: PREVAILING CONCEPTS IN ENERGY UTILIZATION BY RUMINANTS. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.76, p.1802-1811, 1993.

WILLIAMS, P.; FALLON, R.J.; INNES, G.M.; GARTHWAITE, P. Effects on food-intake, rumen development and live weight of calves of replacing barley with sugar-beet citrus pulp in a starter diet. **Animal Production**, Penicuik, v. 44, p. 65-73, 1987.

4 DESEMPENHO E METABOLISMO DE BEZERROS RECEBENDO CONCENTRADO INICIAL CONTENDO MELAÇO DE CANA OU XAROPE DE GLICOSE EM SUBSTITUIÇÃO AO MILHO

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da substituição do milho em grão moído por melaço de cana (ME) ou xarope de glicose (XG) no concentrado inicial sobre o desempenho e metabolismo de bezerros em aleitamento. Trinta e seis bezerros da raça Holandês foram alocados em abrigos individuais e distribuídos em quatro tratamentos, de acordo com a data de nascimento e o peso ao nascer: (1) concentrado inicial contendo 65% de milho e sem inclusão de ME e XG (0ME); (2) concentrado inicial contendo 60% de milho e 5% de ME (5ME); (3) concentrado inicial contendo 55% de milho e 10% de ME (10ME); e (4) concentrado inicial contendo 60% de milho e 5% de XG (5XG). Os animais receberam diariamente 4 L de sucedâneo lácteo (20% PB, 16% EE) fornecidos em duas refeições (7h e 18h). O concentrado inicial e a água foram fornecidos *ad libitum*. O consumo do concentrado e o escore fecal foram monitorados diariamente até os animais completarem oito semanas. As medidas corporais (altura de cernelha, largura de garupa e perímetro torácico) foram mensuradas semanalmente, antes do aleitamento da manhã. Amostras de sangue foram colhidas semanalmente, 2h após o aleitamento da manhã, para determinação de glicose, β-hidroxibutirato e lactato plasmáticos. Amostras de fluído ruminal foram colhidas na quarta, sexta e oitava semana de vida, 2h após o aleitamento da manhã, para determinação de pH, ácidos graxos de cadeia curta e N-amoniacal. Ao completarem oito semanas de vida os animais foram abatidos para avaliação do desenvolvimento do trato digestório superior (massa do retículo-rúmen, omaso e abomaso; volume do retículo-rúmen; altura, largura, área e número das papilas ruminais). A composição do concentrado inicial não afetou ($P>0,05$) o consumo de concentrado, desempenho, escore fecal, parâmetros sanguíneos e desenvolvimento ruminal. Porém, o tratamento 5ME apresentou maior ($P<0,05$) concentração total de ácidos graxos de cadeia curta, acetato e propionato que o tratamento 0ME, sendo que os tratamentos 10ME e 5XA não diferiram dos demais ($P>0,05$). Sendo assim, pode-se concluir que a substituição de milho por 5 ou 10% de melaço de cana ou 5% de xarope de glicose no concentrado inicial de bezerros em aleitamento não altera o desempenho e apresenta efeitos positivos na fermentação ruminal.

Palavras-chave: Co-produto; Sacarose; Butirato; Desenvolvimento ruminal

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of replacing corn grain for sugar cane molasses (MO) or glucose syrup (GS) in the starter concentrate on performance and metabolism of dairy calves. Thirty-six Holstein calves were allocated in individual shelters and allotted to four treatments, according to the birth date and birth weight: (1) starter containing 65% corn and without inclusion of MO and GS (0MO); (2) starter containing 60% corn and 5% MO (5MO); (3) starter containing 55% corn and 10% MO (10MO); and (4) starter containing 60% corn and 5% GS (5GS). Animals received 4 L of milk replacer daily (20% crude protein, 16% ether extract), divided in two meals (07 and 18h). Starter and water were provided *ad libitum*. Starter intake and fecal score were monitored daily until the animals were eight weeks old. Body measurements (withers height, hip width and heart girth) were measured weekly before the morning feeding. Blood samples were collected weekly, 2h after the morning feeding, for glucose, β-hydroxybutyrate and lactate analysis. Ruminal fluid samples were collected in the fourth, sixth and eighth week of life, 2 hours after the morning feeding, to determine pH, short chain fatty acids and ammonia-N concentrations. When completing eight weeks of age the animals were slaughtered to evaluate the development of the upper digestive tract (reticulum-rumen, omasum and abomasum weight; reticulum-rumen volume; height, width, area and number of rumen papillae). The composition of the starter did not affect ($P>0.05$) concentrate intake, performance, fecal score, blood parameters and rumen development. However, treatment 5MO showed higher ($P<0.05$) total concentration of short chain fatty acids, acetate and propionate than 0MO, and this treatments did not differ from 10MO and 5GS ($P>0.05$). Thus, it can be concluded that the replacement of corn by 5 or 10% sugar cane molasses or 5% glucose syrup on starter concentrate did not impact performance, however has some positive effects on rumen fermentation.

Keywords: By-product; Saccharose; Butyrate; Ruminal development

4.1 Introdução

O milho é a principal fonte de energia utilizada na formulação de concentrados para bezerros, uma vez que apresenta aproximadamente 67% de amido em sua composição (NOCEK; TAMMINGA, 1991). O amido é um carboidrato não estrutural de rápida e extensa degradação ruminal (HUNTINGTON; HARMON; RICHARDS, 2006), gerando elevada produção de AGCC por unidade de tempo (NOZIÈRE et al., 2010). No entanto, o preço do milho varia durante o ano, chegando a valores elevados na entressafra, onerando os custos de produção.

O melaço de cana é um co-produto da indústria sucro-alcooleira, constituído essencialmente por açúcares de rápida e extensa degradação ruminal (NOZIÈRE et al., 2010), apresentando aproximadamente 93% do NDT presente no milho (NRC, 2001). O xarope de glicose, co-produto da indústria do milho, é composto basicamente por glicose e maltose, apresentando 90,9% de NDT na MS, valor este superior ao do milho, que situa-se próximo a 84,9% (NRC, 2001).

O melaço de cana tem sido incluído em concentrados para bezerros em aleitamento não apenas por ser uma fonte barata de carboidrato prontamente fermentescível, mas por ter ação palatabilizante e por auxiliar na aglutinação de partículas nos concentrados, principalmente os farelados (HILL et al., 2008). Além disso, existem relatos de que o melaço de cana pode aumentar a produção de butirato no rúmen (MARTEL et al., 2011; OWEN; KELLOGG; HOWARD, 1967; KELLOGG; OWEN, 1969a) e, consequentemente, acelerar o desenvolvimento ruminal, uma vez que esse AGCC apresenta participação importante no crescimento das papilas ruminais (SANDER et al., 1959; TAMATE et al., 1962). A transição rápida e eficiente de pré-ruminante (dieta basicamente líquida) para ruminante funcional (dieta unicamente sólida) é de substancial importância econômica para produtores.

Poucos estudos têm sido desenvolvidos visando esclarecer os efeitos da substituição parcial do milho por melaço de cana no concentrado de animais em aleitamento. Por outro lado, não há trabalhos publicados utilizando xarope de glicose no concentrado inicial para esta classe animal. Sendo assim, o objetivo deste experimento foi avaliar diferentes níveis melaço de cana e xarope de glicose em substituição ao milho no concentrado inicial sobre o desempenho e metabolismo de bezerros.

4.2 Material e métodos

4.2.1 Manejo alimentar e amostragens

Os trinta e seis bezerros machos da raça Holandês que compuseram este experimento foram adquiridos em uma fazenda comercial da cidade de Descalvado, SP, Brasil. Após o nascimento, os animais foram separados das mães, alojados em baias individuais e alimentados com 2L de colostro logo após o nascimento e a cada 12 horas até completarem dois dias de vida. Decorrido este período, os animais receberam sucedâneo lácteo até serem transportados ao Bezerreiro Experimental da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ, da Universidade de São Paulo, em Piracicaba, SP, Brasil, com dois a quatro dias de vida.

Após a chegada dos animais, os mesmos foram alimentados diariamente com 4 L de sucedâneo lácteo (Sprayfo Violeta®, 20PB:16EE, Sloten do Brasil Ltda., Santos, SP, Brasil) com 12,5% de sólidos, divididos em duas refeições, às 07 e 17 horas. Os animais tiveram livre acesso à água e ao concentrado inicial durante todo período experimental, que durou oito semanas.

Os animais foram divididos em blocos de acordo com o peso ao nascer e a data de nascimento e distribuídos em um dos seguintes tratamentos, de acordo com o nível de inclusão de melaço de cana líquido (ME) ou xarope de glicose (XG), em substituição ao milho em grão moído: 0ME (0% de ME e 100% milho), 5ME (5% de ME e 95% milho), 10ME (10% de ME e 90% milho) e 5XG (5% de XG e 95% milho). O milho em grão foi moído até atingir tamanho de partícula próximo a 2 mm e misturado aos demais ingredientes com auxílio de um misturador horizontal (Lucato®, Limeira, Brasil) com capacidade para 500 kg. O concentrado foi formulado segundo o NRC (2001) para terem os mesmos teores de proteína bruta e minerais (Tabela 4.1).

Tabela 4.1 – Ingredientes e composição químico-bromatológica do concentrado inicial

	Tratamentos			
Ingredientes, % MS	0%ME	5%ME	10%ME	5%XG
Milho moído	65	60	55	60
Farelo de soja	24	24	23	24
Melaço de cana	0	5	10	0
Xarope de glicose	0	0	0	5
Casca de soja	10	10	11	10
Premix mineral/vitamínico[1]	1	1	1	1
Composição química				
Matéria seca, %	88,0	87,4	87,8	87,9
Matéria mineral, % MS	4,2	4,7	4,7	4,1
Proteína bruta, % MS	19,6	19,9	19,3	19,5
Extrato etéreo, % MS	4,1	4,1	3,4	3,9
Fibra em detergente neutro, % MS	16,4	18,8	18,7	16,9
Fibra em detergente ácido, % MS	9,4	10,8	11,5	10,3
N-FDN, % N total[2]	12,2	8,6	10,1	7,9
N-FDA, % N total[3]	5,6	3,9	2,6	3,6
Lignina, % MS	0,75	0,72	0,94	0,82
Carboidratos não fibrosos, % MS	55,7	52,5	53,9	55,6
Energia metabolizável, Mcal/kg MS[4]	3,00	3,00	2,98	3,00
Energia líquida ganho, Mcal/kg MS[4]	1,93	1,92	1,91	1,92

[1] Composição do Premix mineral/vitamínico: Ca 16,8%; P 4,2%; S 2,3%; Na 11,6%; Cl 8,0%; Mg 2,4; Co 38,2 ppm; Cu 343 ppm; I 30,2 ppm; Fe 578,2 ppm; Mn 1146,4 ppm; Se 15,5 ppm; Zn 1176,2 ppm; Vit. A 68.760 UI/kg; Vit. E 764 UI/kg; Vit. D 57.300 UI/kg.
[2] Nitrogênio insolúvel em detergente neutro
[3] Nitrogênio insolúvel em detergente ácido
[4] Valor estimado pelo NRC (2001)

O concentrado foi fornecido *ad libitum* todas as manhãs, pesando-se a sobra do dia anterior, de forma a se obter o consumo diário de concentrado. Os animais foram pesados semanalmente, antes do aleitamento da manhã, em balança mecânica (ICS-300, Coimma Ltda., Dracena, SP, Brasil). Logo após as pesagens, foram mensuradas a altura da cernelha e a largura da garupa utilizando-se régua

com escala em centímetros e o perímetro torácico através de fita flexível, também com escala em centímetros.

Diariamente foram realizadas avaliações das fezes de acordo com sua consistência: (1) firme; (2) pastosa; (3) mole; (4) aquosa; (5) fluída. Amostras de sangue foram colhidas semanalmente, sempre duas horas após o aleitamento da manhã, através de punção da jugular, utilizando-se tubos vacuolizados contendo fluoreto de sódio como antiglicolítico e EDTA de potássio como anticoagulante (VACUETTE do Brasil, Campinas, SP, Brasil). As amostras foram acondicionadas em isopor com gelo até seu transporte ao laboratório, onde foram imediatamente centrifugadas a 2000 x *g*, durante 20 minutos, à temperatura de 4ºC. O plasma foi armazenado em tubetes plásticos e mantido em freezer (-10°C) para posterior determinação de glicose, β-hidroxibutirato (BHBA) e lactato, realizados no Laboratório de Metabolismo Animal do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP.

Amostras de fluido ruminal foram colhidas na quarta, sexta e oitava semana de vida do animal, 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 uma bomba de vácuo (Modelo TE-0581, Tecnal Ltda., Piracicaba, SP, Brasil). As amostras (aproximadamente 30 mL) foram colhidas, descartando-se a amostra inicial de forma a se evitar a contaminação com saliva. Após filtragem em tecido de algodão, foi realizada a determinação de pH, através de pHmetro (Modelo Tec-5, Tecnal Ltda., Piracicaba, SP, Brasil) e armazenamento da amostra em freezer (-10°C) para posterior determinação de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e nitrogênio amoniacal ($N\text{-}NH_3$).

Ao completarem oito semanas, os animais foram insensibilizados através de pistola de dardo cativo e em seguida abatidos por meio de sangria, com o corte da jugular. Os animais tiveram sua cavidade abdominal aberta, sendo retirado o retículo-rúmen, omaso e abomaso. Depois da retirada da digesta dos compartimentos, os mesmos foram lavados e, posteriormente, foram tomadas medidas de peso do retículo-rúmen, do omaso, do abomaso e dos quatro compartimentos em conjunto. A capacidade máxima do retículo-rúmen foi medida com auxílio de amarrações na saída deste compartimento, sendo este cheio com água até sua máxima capacidade e o volume medido em proveta. Após estas medidas, foram colhidas amostras do tecido epitelial no saco ventral do rúmen para avaliação de comprimento, largura e número de papilas por cm^2.

4.2.2 Metodologia analítica

Análises químico-bromatológicas

Amostras dos diferentes concentrados foram colhidas periodicamente para determinação da composição químico-bromatológica (Tabela 4.1). As amostras foram moídas a 1 mm em moinho do tipo Wiley para determinação de matéria seca (MS) à 105ºC, matéria mineral (MM) e extrato etéreo (EE) de acordo com Campos; Nussio; Nussio (2002); proteína bruta (PB) através de 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); nitrogênio insolúvel em detergente neutro (N-FDN) e nitrogênio insolúvel em detergente ácido (N-FDA) pelo método descrito por Licitra; Hernandez; Van Soest (1996). Os valores de nutrientes digestíveis totais (NDT) foram calculados de acordo com as equações propostas por Weiss (1993) e os teores de carboidratos não fibrosos (CNF) foram estimados através da equação (1):

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

Onde,

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

Determinação de glicose plasmática

As concentrações de glicose foram determinadas utilizando-se o kit enzimático GLICOSE HK LIQUIFORM – Ref.: 85 (LABTEST Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, MG, Brasil) por espectrofotometria de ponto final, utilizando-se o filtro de absorbância de 505 nm em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA – 200 (CELM, Barueri, SP, Brasil). Uma alíquota de 4 µL da amostra foi pipetada em cubetas de reação, acrescida de 400 µL de reagente, fornecido pelo kit. Após período de incubação de 10 minutos, foi realizada a leitura da absorbância para obtenção dos valores de glicose em mg/dL. Para calibração do equipamento, a

solução padrão fornecida pelo kit enzimático, com concentração de 100 mg/dL de glicose, foi analisada a cada rodada.

Determinação de β-hidroxibutirato plasmático

A determinação de β-hidroxibutirato (BHBA) foi realizada utilizando-se kit enzimático RANBUT – Ref.: RB1007 (RANDOX Laboratories – Life Sciences Ltd., Crumlin, UK), utilizando-se filtro de absorbância de 340 nm, em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA-200 (CELM, Barueri, SP, Brasil). Foi utilizada para calibração do equipamento solução padrão fornecida com o kit com concentração de 1,000 mmol/L. Uma alíquota de 12,5 µL de amostra foi pipetada na cubeta de reação, acrescida de 500 µL de reagente enzimático, seguida por leitura no aparelho após 60 segundos para obtenção da absorbância inicial. Após incubação por mais 120 segundos, foi realizada uma nova leitura da amostra. A diferença entre as leituras inicial e final resulta na obtenção dos resultados de acordo com os valores observados para o padrão.

Determinação de lactato plasmático

As concentrações de lactato foram determinadas utilizando-se o kit enzimático LACTATO LIQUIFORM – Ref.: 116 (LABTEST Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, MG, Brasil), por espectrofotometria de ponto final, utilizando-se filtro de absorbância de 550 nm em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA – 200 (CELM, Barueri, SP, Brasil). Foi utilizado para calibração do equipamento solução padrão fornecida com o kit com concentração de 40 mg/dL. Uma alíquota de 5 µL de amostra foi pipetada na cubeta de reação, acrescida de 400 µL de reagente enzimático, e incubada por 7 minutos em 25ºC, para posterior leitura.

Determinação de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no fluido ruminal

As amostras de fluido ruminal foram descongeladas e centrifugadas a 15.000 x *g* a 4ºC por 60 minutos. O líquido sobrenadante de cada amostra foi analisado em cromatógrafo líquido-gasoso (Hewlett Packard 5890 Series II GC), equipado com integrador (Hewlett Packard 3396 Series II Integrator) e injetor automático (Hewlett

Packard 6890 Series Integrator), conforme descrito por Campos; Nussio; Nussio (2002).

O padrão interno utilizado foi o ácido 2-metilbutírico sendo acrescentado, em cada tubo para leitura no cromatógrafo, um volume de 100µL do padrão interno, 800 µL da amostra e 200 µL de ácido fórmico. Uma mistura de AGCC com concentração conhecida foi utilizada como padrão externo para a calibração do equipamento.

Determinação de amônia ruminal ($N\text{-}NH_3$)

As amostras de fluido ruminal destinadas para determinação de $N\text{-}NH_3$ foram descongeladas e centrifugadas a 15.000 x *g* a 4ºC durante 60 minutos para obtenção do sobrenadante. As amostras foram analisadas segundo o método de Chaney; Marbach (1962) adaptado para leitura em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA-200 (CELM, Barueri, SP, Brasil) com filtro de abosrbância de 540 nm. Para a obtenção da curva de calibração foram utilizadas soluções de 0; 1; 2; 4; 8; 16; 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 37ºC, por 10 minutos. Em seguida, alíquotas foram pipetadas em cubetas para leitura no referido equipamento. Os dados de absorbância da curva de calibração foram utilizados para construção de curva regressão, permitindo a determinação das concentrações de N-amoniacal das amostras.

4.2.3 Análise estatística

O delineamento experimental foi o de blocos casualizados, sendo os animais alocados nos blocos de acordo com a data de nascimento e o peso ao nascer. Os dados de consumo de concentrado, desempenho (ganho de peso diário, peso vivo, altura de cernelha, largura de garupa e perímetro torácico), parâmetros ruminais (pH, ácidos graxos de cadeia curta e N-amoniacal) e parâmetros sanguíneos (glicose, β-hidroxibutirato e lactato) foram analisados como medidas repetidas no tempo (semana) com o auxílio do procedimento MIXED do pacote estatístico SAS (version 9.3, SAS Institute Inc., Cary, NC), conforme o modelo (1).

$$(1) \qquad Yijk = \mu + Ti + Ij + TIij + Bk + Eijk$$

Onde,

Yijk = variável resposta;

μ = média geral;

Ti = efeito do tratamento (0, 5 ou 10% melaço de cana ou 5% de xarope de glicose em substituição ao milho);

Ij = efeito de idade dos animais (semana);

TIij = efeito de interação entre tratamento e idade dos animais;

Bk = efeito do bloco;

Eijk = efeito devido ao acaso (resíduo).

As medidas morfométricas do trato digestório superior, assim como as medidas relativas ao desenvolvimento das papilas ruminais foram analisadas através do procedimento GLM do programa estatístico SAS (version 9.3, SAS Institute Inc., Cary, NC), conforme o modelo (2).

$$(2) \qquad Yik = \mu + Ti + Bk + Eik$$

Onde,

Yik = variável resposta;

μ = média geral;

Ti = efeito do tratamento (0, 5 ou 10% melaço de cana ou 5% de xarope de glicose em substituição ao milho);

Bk = efeito do bloco;

Eik = efeito devido ao acaso (resíduo).

Para efeito de comparação de médias foi utilizado o teste t de Student, sendo as médias estimadas através do método dos quadrados mínimos (LSMEANS), com nível de significância de 5%. Foi considerada tendência os resultados que apresentaram $0,05<P<0,10$.

4.3 Resultados e discussão

4.3.1 Consumo e desempenho

Na Tabela 4.2 são apresentados os dados de consumo de concentrado, ganho de peso diário e peso vivo. O consumo de concentrado não foi afetado (P>0,05) pela substituição de milho por melaço ou xarope de glicose, assim como pela idade ou pela interação destes fatores (P>0,05). Todos os tratamentos resultaram em consumo de concentrado superior a 700 g por dia ao desaleitamento, considerado adequado para animais da raça Holandês submetidos ao desaleitamento precoce (QUIGLEY, 1996). Esse nível de consumo de concentrado é preconizado para que o desaleitamento ocorra sem prejuízos ao desempenho animal após o desaleitamento, uma vez que está intimamente ligado à maior ingestão de nutrientes e produção de AGCC, os quais são os principais estimuladores do desenvolvimento do epitélio ruminal.

Como esperado e relatado por vários autores (KERTZ; CHESTER-JONES, 2004; KRISTENSEN et al., 2007; SCHALCH et al., 2001; HILL et al., 2008), observou-se grande variação nos dados de consumo de concentrado, sendo observado valor de erro padrão da média ao desaleitamento e período total de 169,7 e 68,8 g/dia, respectivamente. Tal variação nos dados contribuiu para a não observação de efeito de idade para esta variável.

Esperava-se que as médias de consumo de concentrado dos tratamentos contendo melaço de cana fossem superiores ao consumo de tratamento controle, uma vez que esse ingrediente tem sido utilizado como palatabilizante na dieta de bovinos (HILL et al., 2008). Da mesma forma, acreditava-se que o xarope de glicose também fosse elevar o consumo de concentrado, pois é composto basicamente por glicose e maltose, carboidratos com alto poder adoçante. No entanto, não foram observadas diferenças significativas para o consumo de concentrado.

Resultados semelhantes aos do presente estudo foram relatados por Hill et al. (2008), os quais substituíram o milho por melaço de cana no concentrado inicial de bezerros Holandês desaleitados aos 42 dias e não encontraram diferenças (P>0,05) no consumo de concentrado de bezerros recebendo 5 (454 g/dia) ou 10% (381 g/dia) de melaço de cana em substituição ao milho. Lesmeister; Heinrichs (2005), por sua vez, avaliaram a inclusão de melaço de cana no concentrado de bezerros da primeira a sexta semana de vida e verificaram queda no consumo de concentrado

quando a inclusão passou de 5% (509 g/dia) para 12% (396 g/dia). No entanto, não houve diferença (P>0,05) para o ganho de peso e o peso vivo final para ambos os tratamentos.

Tabela 4.2 – Consumo de concentrado, ganho de peso diário e peso vivo de bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0ME), 5% (5ME) ou 10% (10ME) de melaço de cana ou 5% (5XG) de xarope de glicose em substituição ao milho

	Tratamentos				EPM[1]	P<[2]		
	0ME	5ME	10ME	5XG		T	I	T x I
Consumo de concentrado, g/dia								
Ao desaleitamento	774,5	1155,8	1104,3	951,4	169,7	0,97	..	..
Média do período total	261,8	396,0	443,8	323,9	68,8	0,54	0,16	0,57
Ganho de peso, g/dia								
Ao desaleitamento	738,3	859,9	591,4	553,5	93,8	0,98	..	..
Média do período total	256,7	289,6	298,5	214,4	52,6	0,70	<,001	0,11
Peso vivo, kg								
Inicial	36,9	38,2	38,8	37,5	0,99	0,99	..	..
Final	49,5	52,8	54,5	49,6	2,24	0,99	..	..
Média do período total	39,6	40,8	42,8	40,3	1,21	0,30	<,001	0,21

(1) EPM = erro padrão da média
(2) T = efeito de tratamento; I = efeito da idade dos animais; T x I = efeito da interação tratamento e idade dos animais
Nota: Sinal convencional utilizado:
.. Não se aplica dado numérico.

O consumo médio de concentrado da primeira à quarta semana foi relativamente baixo em todos os tratamentos, variando de 61 g/dia no tratamento 5XG a 125 g/dia no tratamento 10ME. Estes resultados estão de acordo com o reportado por Lesmeister; Heinrichs (2005), que relataram consumo de concentrado de 139 g/dia e 107 g/dia de bezerros recebendo concentrado contendo duas doses de melaço de cana (5 e 12% na matéria seca) e desaleitados à quarta semana. Este padrão de consumo é frequentemente encontrado na literatura, sugerindo que animais desaleitados à quarta semana podem apresentar problemas de desempenho após o desaleitamento. Por outro lado, o consumo de concentrado foi crescente após a quarta semana, independentemente da composição do

concentrado inicial (Figura 4.1). Este resultado está em consonância com outros experimentos que testaram diferentes concentrados para bezerros em sistema de aleitamento convencional com vistas ao desaleitamento precoce (SILVA; BITTAR; FERREIRA, 2012; SILVA; BITTAR, FERREIRA, 2011; FERREIRA; BITTAR, 2010; HILL et al., 2008).

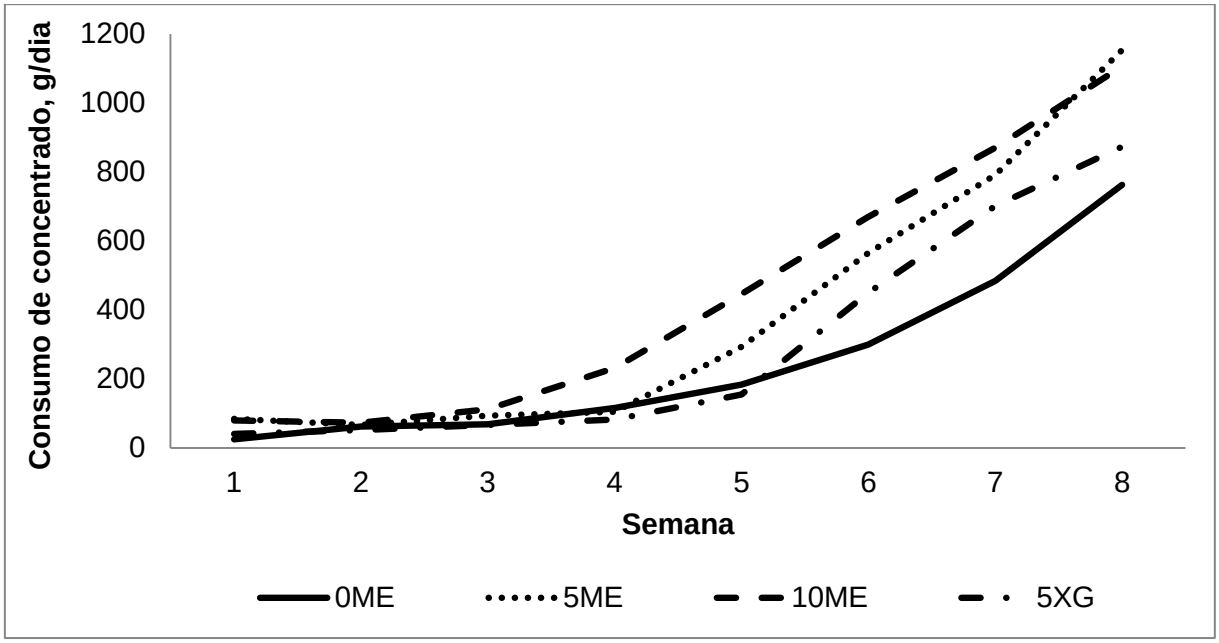

Figura 4.1 – Consumo de concentrado (g/dia) de bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0ME), 5% (5ME) ou 10% (10ME) de melaço de cana ou 5% (5XG) de xarope de glicose em substituição ao milho

Não houve diferenças (P>0,05) entre tratamentos para o ganho de peso diário ao desaleitamento, ganho de peso diário médio e interação tratamento x idade (P>0,05). Entretanto, verificou-se aumento (P<0,01) no ganho de peso diário médio com o passar das semanas (Figura 4.2), indicando efeito de idade. Observou-se perda de peso em todos os tratamentos entre a primeira e segunda semana, o que pode estar associado ao baixo consumo de concentrado nessa fase (Tabela 4.2) e a ocorrência de diarreia (Figura 4.5).

O ganho de peso médio observado está de acordo com o relatado na literatura para animais em aleitamento (KERTZ; CHESTER-JONES, 2004). Lesmeister; Heinrichs (2005) reportaram similaridades no ganho de peso diário de bezerros com seis semanas de vida (desaleitados à quarta semana) recebendo 5 (449 g/dia) ou 12% de melaço (389 g/dia) no concentrado inicial. Por outro lado, Hill et al. (2008) relataram diminuição do ganho de peso diário de bezerros com oito semanas de vida

(desaleitados à sexta semana) recebendo concentrado inicial contendo 10% de melaço em substituição ao milho (571 g/dia) quando comparados aos que receberam 5% (572 g/dia). Da mesma forma, Heinemann; Hanks (1977) verificaram queda no ganho de peso em bovinos adultos recebendo 0,35% do peso vivo em melaço de cana (aproximadamente 1,75 kg de melaço de cana por dia) quando comparados àqueles recendo concentrado a base de milho.

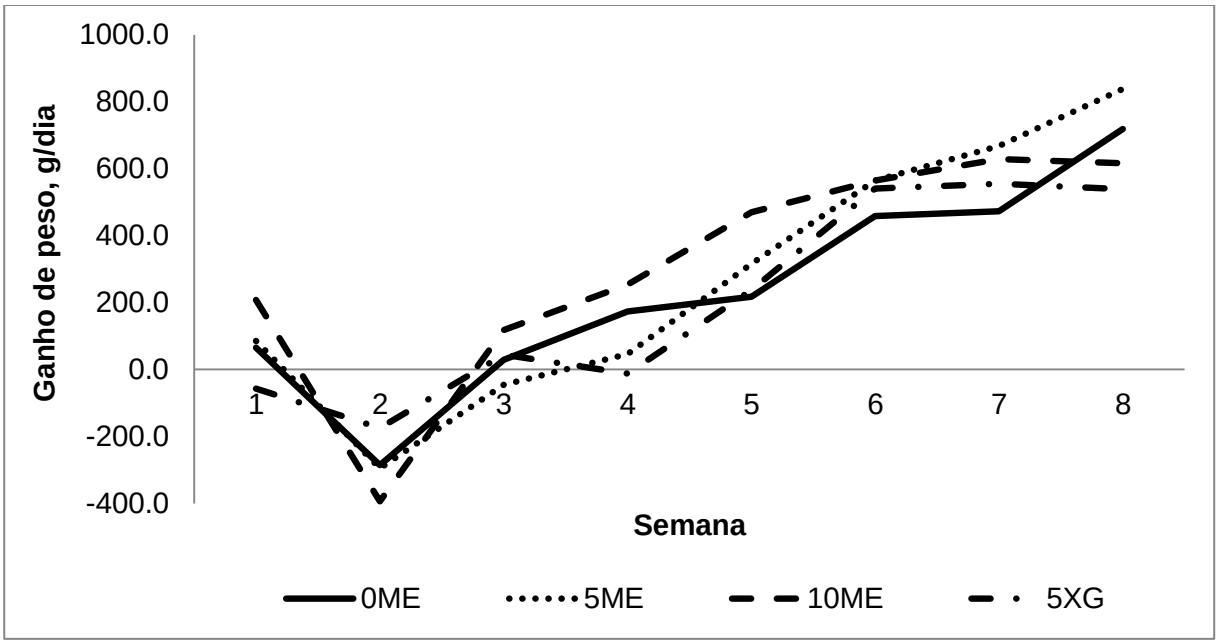

Figura 4.2 – Ganho de peso diário (g/dia) de bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0ME), 5% (5ME) ou 10% (10ME) de melaço de cana ou 5% (5XG) de xarope de glicose em substituição ao milho

A composição do concentrado inicial não afetou (P>0,05) o peso vivo inicial, final ou a média do período total (Tabela 4.2). Entretanto, verificou-se efeito de idade (P<0,01), com o peso vivo aumentando com o decorrer das semanas (Figura 4.3). Esses resultados eram esperados, visto que o consumo de concentrado teve aumento considerável com o passar das semanas e não diferiu entre tratamentos ao longo do período experimental.

Os valores de peso vivo final em todos os tratamentos são similares a outros experimentos realizados no Brasil utilizando bezerros Holandês recebendo concentrado *ad libitum* e submetidos ao desaleitamento precoce (SILVA; BITTAR; FERREIRA, 2011; FERREIRA; BITTAR, 2010; NUSSIO et al., 2003). Da mesma forma, Lesmeister; Heinrichs (2005) relataram valores similares em bezerros da raça Holandês desaleitados à quarta semana, onde os animais que receberam

concentrado contendo 5% de melaço de cana apresentaram 53,3 kg de peso vivo ao desaleitamento, enquanto os que receberam concentrado contendo 12% de melaço de cana apresentaram 51,8 kg.

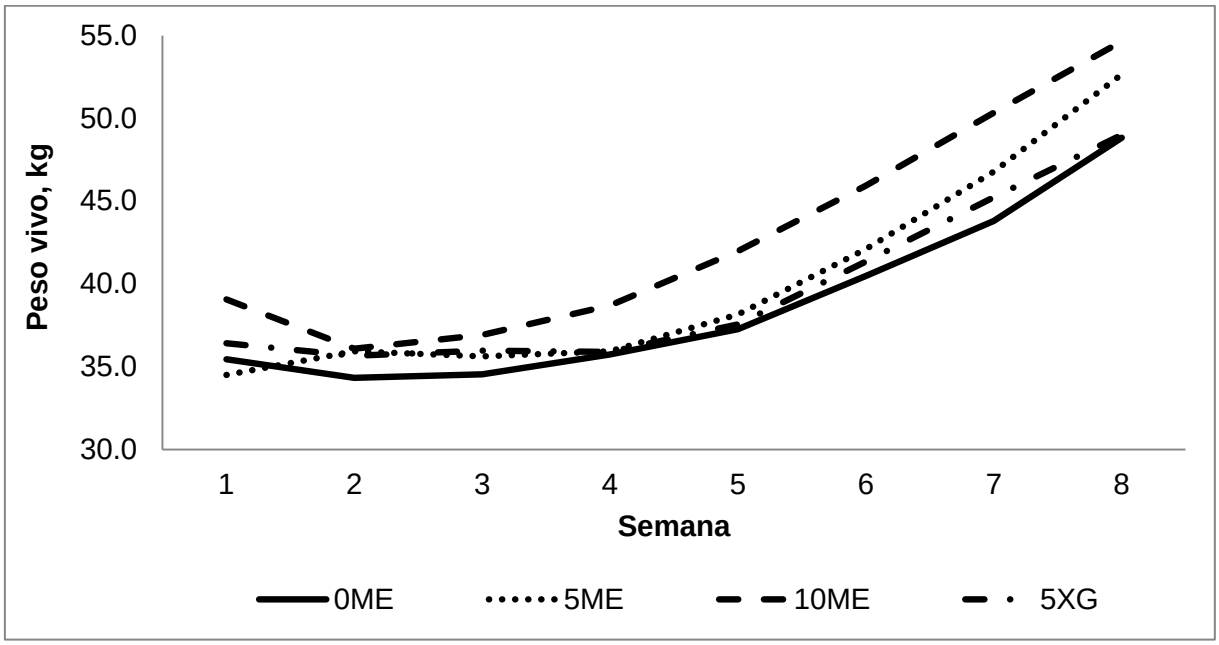

Figura 4.3 – Peso vivo médio de bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0ME), 5% (5ME) ou 10% (10ME) de melaço de cana ou 5% (5XG) de xarope de glicose em substituição ao milho

As mensurações da altura de cernelha, perímetro torácico e largura de garupa (Tabela 4.3) não foram afetadas pela substituição de milho por polpa cítrica ou xarope de glicose, ou pela interação deste fator com idade dos animais (P>0,05). Entretanto foram observados efeitos significativos da idade do animal (P<0,001) para essas medidas corporais (Figura 4.4).

A altura de cernelha inicial dos animais no presente estudo foi menor que o estabelecido como padrão da raça Holandês, que é 79,4 cm (± 3,3 cm) (HEINRICHS; LOSINGER, 1998). Este fato pode explicar o menor ganho de altura de cernelha quando comparado ao sugerido por Hoffman (1997), que situa-se entre 1,3 - 1,4 cm por semana para animais com até 2 meses de idade. Entretanto, outros autores relataram valores semelhantes aos do presente estudo ao avaliarem a altura de cernelha de bezerros recebendo concentrado inicial contendo melaço de cana (HILL et al., 2008) e aditivos alimentares (FERREIRA; BITTAR, 2010). Já Lesmeister; Heinrichs (2005) verificaram maior (P<0,05) altura de cernelha ao fim do experimento (sexta semana de vida) em bezerros Holandês recebendo concentrado

contendo 5% de melaço de cana frente aos animais que receberam adição extra (12% de melaço de cana).

Tabela 4.3 – Altura na cernelha, perímetro torácico e largura da garupa de bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0ME), 5% (5ME) ou 10% (10ME) de melaço de cana ou 5% (5XG) de xarope de glicose em substituição ao milho

	Tratamentos				EPM[1]	P<[2]		
	0ME	5ME	10ME	5XG		T	I	T x I
Altura na cernelha, cm								
Média do período total	77,8	78,1	78,7	79,3	0,70	0,45	<,001	0,13
Ganho, cm/semana	0,74	0,84	0,54	0,75	0,15	0,50	<,001	0,46
Perímetro torácico, cm								
Média do período total	79,8	79,9	80,5	78,5	1,32	0,78	<,001	0,19
Ganho, cm/semana	1,18	1,38	1,56	1,24	0,21	0,58	<,001	0,12
Largura da garupa, cm								
Média do período total	21,1	20,6	21,1	20,2	0,46	0,55	<,001	0,24
Ganho, cm/semana	0,30	0,37	0,37	0,27	0,06	0,51	<,001	0,67

(1) EPM = erro padrão da média
(2) T = efeito de tratamento; I = efeito da idade dos animais; T x I = efeito da interação tratamento e idade dos animais

Os resultados de ganho de perímetro torácico e ganho de largura de garupa são similares aos relatados Silva; Bittar; Ferreira (2011) e Silva; Bittar; Ferreira (2012), os quais avaliaram a inclusão de aditivos alimentares na dieta de bezerros em aleitamento e recebendo concentrado inicial similar ao utilizado no presente estudo. Da mesma forma, Lesmeister; Heinrichs (2005) verificaram resultados semelhantes ao fornecer concentrado contendo 5% e 12% de melaço de cana para bezerros com seis semanas de vida. O monitoramento destas variáveis é importante para que se consiga avaliar o desenvolvimento corporal dos animais, uma vez que são positivamente correlacionadas com o consumo de concentrado e peso vivo dos animais, podendo ser utilizadas como padrão de desenvolvimento em sistemas que não apresentem possibilidade de aferição da ingestão de alimentos e peso vivo dos animais.

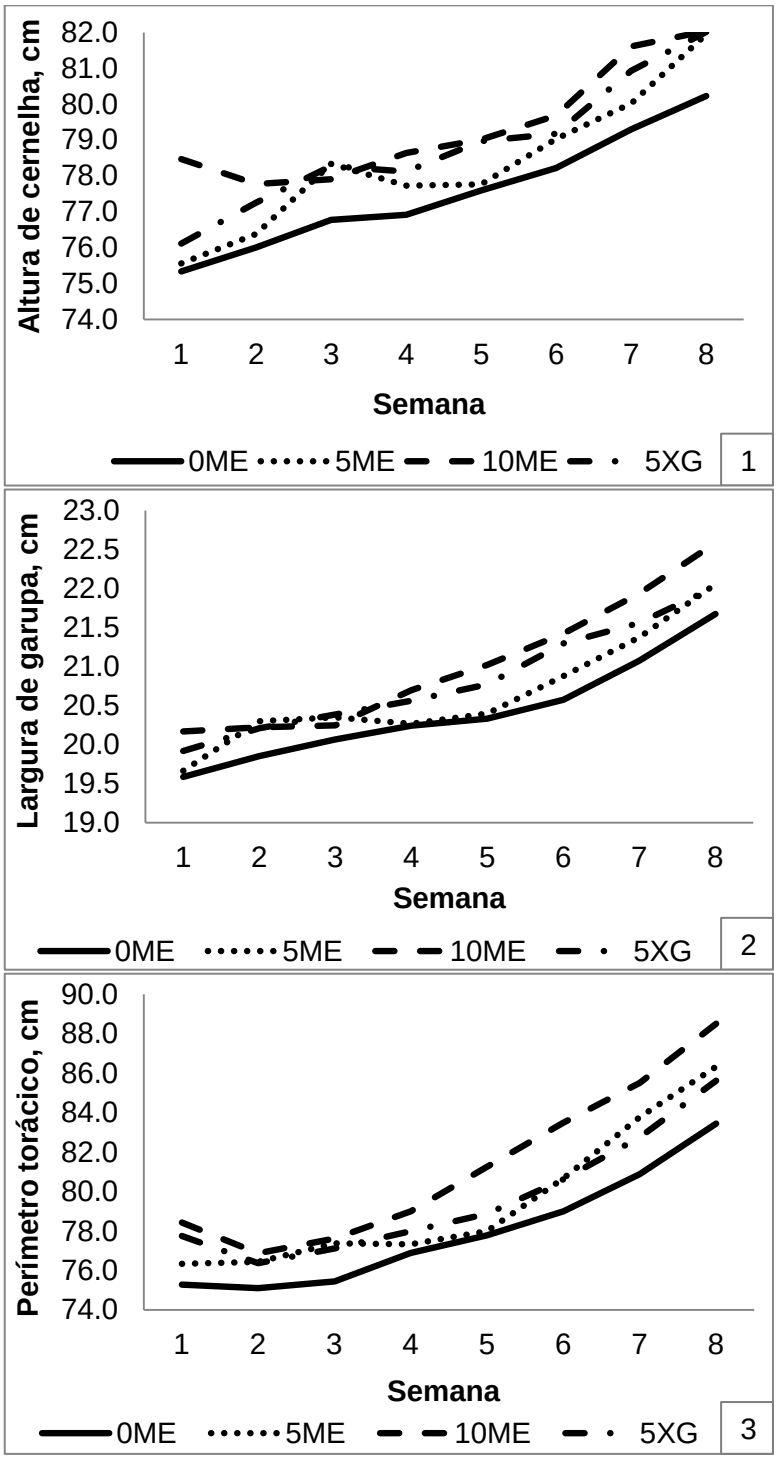

Figura 4.4 – Medidas de altura na cernelha (1), largura da garupa (2) e perímetro torácico (3) de bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0ME), 5% (5ME) ou 10% (10ME) de melaço de cana ou 5% (5XG) de xarope de glicose em substituição ao milho

4.3.2 Escore fecal

O escore fecal não foi afetado (P>0,05) pela composição do concentrado inicial (Figura 4.5). Da mesma forma, não foi observada interação a composição e a idade dos animais (P>0,05). No entanto, verificou-se efeito de idade (P<0,001), com diminuição do escore fecal com o passar das semanas. Acreditava-se que os tratamentos contendo melaço de cana ou xarope de glicose aumentariam a incidência de escore fecal indicativos de diarreia, uma vez que são compostos por carboidratos de rápida e extensa fermentação ruminal, o que pode aumentar a taxa de passagem da digesta, culminando em fezes fluidas. Além disso, não foi verificada atividade da sacarase em bezerros com até 44 dias de idade (HUBER et al., 1961), o que poderia comprometer a utilização de sacarose, com consequente aumento da pressão osmótica no intestino podendo aumentar a ocorrência de diarreia alimentar. No entanto, a substituição do milho por 5 e 10% de melaço de cana ou 5% de xarope de glicose não causou diferenças no escore fecal.

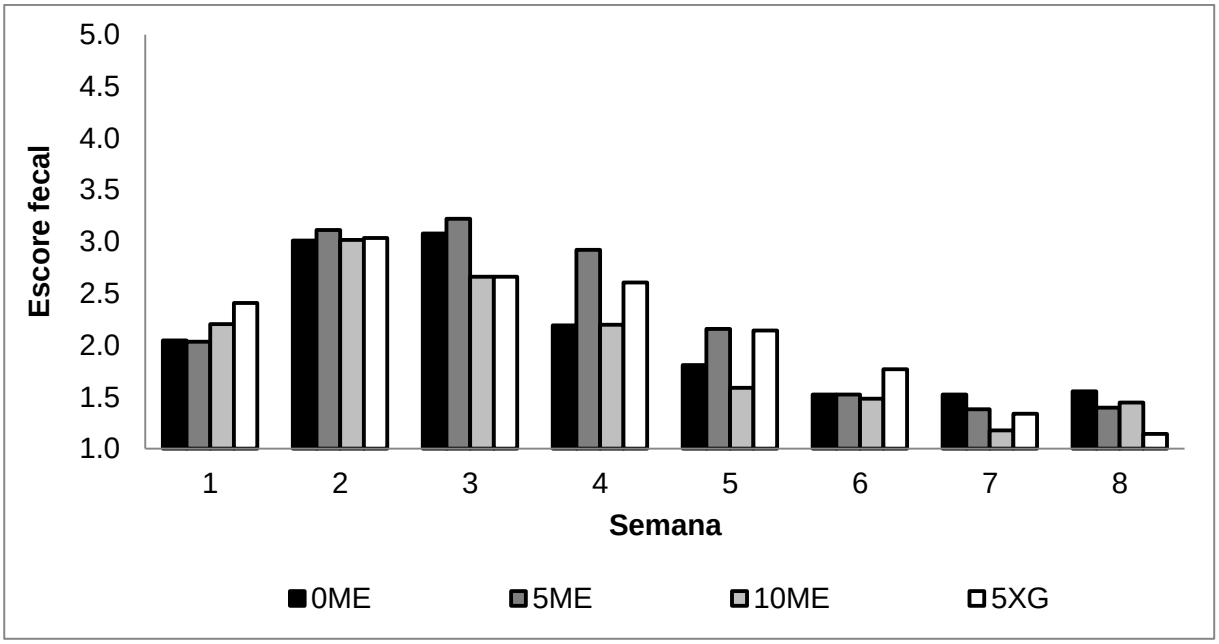

Figura 4.5 – Escore fecal de bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0ME), 5% (5ME) ou 10% (10ME) de melaço de cana ou 5% (5XG) de xarope de glicose em substituição ao milho

Hill et al. (2008) também não verificaram aumento nos casos de diarreia em animais recebendo 10% de melaço no concentrado inicial quando comparados

àqueles que receberam 5%, sendo que o número médio de dias que os animais foram acometidos foi de 4,4 e 3,9, respectivamente. Esses mesmos autores reportaram valores médios de escore fecal da primeira à oitava semana entre 1,7 e 1,6 para os tratamentos citados acima. Lesmeister; Heinrichs (2005), por outro lado, relataram tendência (P<0,15) de aumento na incidência de diarreia em animais recebendo 12% de melaço no concentrado em comparação a animais recebendo 5%. Esses autores demonstraram que os dias médios com diarreia foram de 3,35 e 5,00 para os animais recebendo 5 e 12% de melaço de cana no concentrado inicial, respectivamente.

De acordo com Godden et al. (2003), a diarreia é a principal doença que acomete bezerros durante as três primeiras semanas de vida. No presente estudo verificou-se a mesma tendência, com animais apresentando escore fecal acima de 3 na segunda semana de vida, independentemente da composição do concentrado. Dessa forma, acredita-se que a perda de peso ocorrida na segunda semana de vida (Figura 4.2) esteja ligada a esta variável, uma vez que a diarreia causa transtornos fisiológicos e metabólicos, culminando em perda de líquidos e eletrólitos.

Quando os animais completam três semanas de vida, o sistema imune encontra-se estabelecido, diminuindo a ocorrência de diarreias e aumentando o ganho de peso (DAVIS; DRACKLEY, 1998). No presente estudo, a partir da quarta semana as ocorrências de diarreia diminuíram, sendo que na sexta, sétima e oitava semanas o escore fecal de todos os tratamentos manteve-se abaixo de 2. Acredita-se que a elevação na ingestão de dieta sólida tenha contribuído para redução do escore fecal, uma vez que o consumo de concentrado diminui a incidência de diarreias, enquanto a ingestão de grandes quantidades de leite ou sucedâneo lácteo pode elevar o escore fecal, caracterizando diarreia de origem alimentar (BROWN et al., 2005).

4.3.3 Parâmetros ruminais

Animais recebendo concentrado inicial contendo 5 e 10% de melaço de cana em substituição ao milho tenderam (P<0,10) a apresentar pH ruminal inferior aos demais (Tabela 4.4). Acredita-se que tal resultado seja decorrente da produção acelerada de AGCC nos animais recebendo melaço de cana, uma vez que este

ingrediente apresenta fermentação instantânea no rúmen (OLIVEIRA et al., 2003). Por outro lado, a taxa fermentativa do milho situa-se próximo a 9,4%/hora (BÜRGER et al., 2000). Dessa forma, dietas contendo melaço de cana podem levar a uma produção mais acelerada de AGCC quando comparado ao milho e, consequentemente, diminuição do pH do fluído ruminal. Porém, esperava-se que o tratamento contendo xarope de glicose também apresentasse valores de pH menores do que o tratamento controle, já que glicose e maltose, principais componentes desse ingrediente, apresentam taxa fermentativa superiores ao do milho.

Tabela 4.4 – Valores médios de parâmetros de fermentação ruminal de bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0ME), 5% (5ME) ou 10% (10ME) de melaço de cana ou 5% (5XG) de xarope de glicose em substituição ao milho

	Tratamentos				**EPM[1]**	**P<[2]**		
	0ME	**5ME**	**10ME**	**5XG**		**T**	**I**	**T x I**
pH	5,59	5,14	5,14	5,26	0,13	0,09	0,01	0,01
AGCC total, µmol/mL	104,2[b]	132,3[a]	127,6[ab]	116,8[ab]	7,17	0,04	0,01	0,08
Acetato, µmol/mL	57,63[b]	68,00[a]	63,66[ab]	60,94[ab]	2,51	0,04	0,01	0,17
Propionato, µmol/mL	33,65[b]	48,07[a]	44,69[ab]	38,20[ab]	3,58	0,03	0,01	0,40
Butirato, µmol/mL	7,81	10,66	12,77	11,90	1,38	0,07	0,01	0,06
Isobutirato, µmol/mL	0,53	0,32	0,34	0,35	0,06	0,05	0,16	0,06
Isovalerato, µmol/mL	0,80	0,72	0,80	0,62	0,09	0,59	0,29	0,79
Valerato, µmol/mL	3,73	4,63	5,35	4,77	0,57	0,26	0,01	0,43
Relação C2:C3[3]	2,11	1,60	1,53	1,89	0,18	0,11	0,01	0,53
N-amoniacal, mg/dL	18,03	16,18	19,30	16,36	1,88	0,58	0,01	0,39

(1) EPM = erro padrão da média
(2) T = efeito de tratamento; I = efeito da idade dos animais; T x I = efeito da interação tratamento e idade dos animais
(3) Relação acetato:propionato

Os valores relativamente baixos de pH encontrados no presente estudo podem estar relacionados ao consumo de quantidades consideráveis de concentrado. De acordo com Quigley (1996), o pH ruminal varia em função da taxa em que os AGCC e amônia são produzidos e absorvidos pela parede ruminal ou por outros microrganismos. Como bezerros em aleitamento não apresentam as papilas ruminais totalmente desenvolvidas, a área de absorção é menor e, portanto, pode

existir um acúmulo de AGCC no fluído ruminal, resultando em queda no pH (NRC, 2001). Ainda, um dos principais produtos da fermentação de milho é o lactato, o qual, de acordo com o NRC (2001) se caracteriza por ser um ácido mais forte (Pk_a = 3,86) que o propionato (Pk_a = 4,87), acetato (Pk_a = 4,76) e butirato (Pk_a = 4,82), podendo ter contribuído para a manutenção do pH abaixo de 6,0 em todos os tratamentos.

Houve diminuição (P<0,01) dos valores de pH com o avanço da idade dos animais (Figura 4.6) em todos os tratamentos. Esses resultados eram esperados, já que o consumo de concentrado aumentou significativamente da quarta à oitava semana (Figura 4.1), refletindo maior produção de AGCC (Figura 4.7) e consequente queda no pH ruminal. A não inclusão de fibra longa à dieta dos animais pode ter contribuído para manutenção do pH ruminal próximo a 5,3, já que este tipo de alimento estimula a ruminação, salivação e, consequentemente, o fluxo de tamponantes ao rúmen (NRC, 2001). No entanto, os concentrados fornecidos aos animais apresentavam teores de FDN dentro das recomendações mínimas (Davis; Drackley, 1998)

Nussio et al. (2003) reportaram valores de pH ruminal superior em bezerros recebendo milho floculado ou laminado (6,67 e 6,68, respectivamente). Entretanto, o consumo de concentrado à oitava semana foi inferior (107 e 187 g, respectivamente) aos do presente estudo (Figura 4.1), sendo esta a possível explicação para a variação entre os valores. Por outro lado, Khan et al. (2008), em coleta realizada aos 50 dias de vida de bezerros leiteiros, verificaram maior pH ruminal (P<0,05) dos animais recebendo concentrado a base de milho (5,79) frente àqueles que receberam concentrado inicial contendo cevada (5,46), aveia (5,68) ou trigo (5,62) em substituição ao milho. Segundo os autores, essa diferença no pH ruminal ocorreu devido à menor taxa fermentativa do milho frente aos demais cereais testados, resultando em menor produção de AGCC e elevação no pH ruminal.

A suplementação de bezerros Hereford com blocos multinutricionais contendo 25 e 30% de melaço de cana não alterou o pH ruminal quando comparados aos animais que não foram suplementados (FREITAS et al., 2003). Nesse experimento, o pH ruminal dos animais não suplementados foi 6,7 e nos suplementados 6,5. Este pH relativamente alto duas horas após a suplementação pode estar relacionado ao consumo de feno superior a 1,3 kg por dia em todos os tratamentos, o que pode ter

aumentado a ruminação, salivação e, consequentemente, manutenção dos valores de pH acima de 6,0.

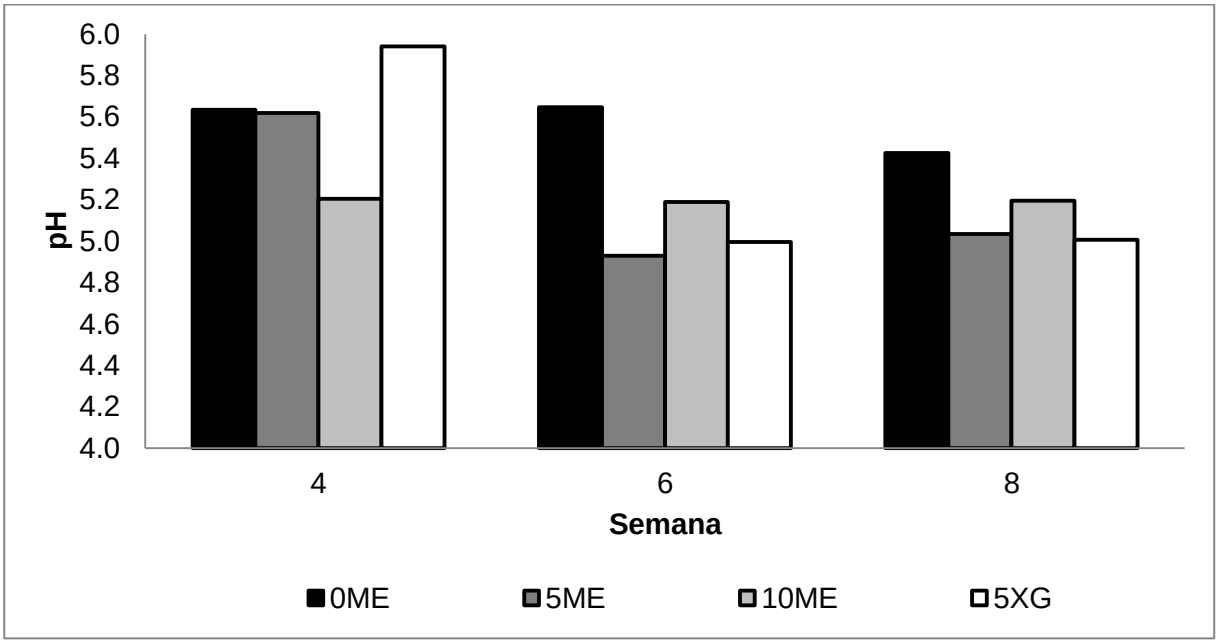

Figura 4.6 – Valores de pH ruminal de bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0ME), 5% (5ME) ou 10% (10ME) de melaço de cana ou 5% (5XG) de xarope de glicose em substituição ao milho

Como pode ser observado na Tabela 4.4, animais alimentados com concentrado contendo 5% de melaço de cana em substituição ao milho apresentaram maior (P<0,05) concentração molar de AGCC total (soma do acetato, propionato, butirato, valerato, isobutirato e isovalerato) que aqueles alimentados com 0ME. Entretanto, devido a maior taxa e extensão fermentativa do melaço de cana e do xarope de glicose quando comparados ao milho, esperava-se que os animais submetidos aos tratamentos 10ME e 5XA também tivessem maior concentração molar de AGCC no fluído ruminal. Lesmeister; Heinrichs (2005) relataram maior concentração plasmática de AGCC total em bezerros recebendo 12% de melaço de cana no concentrado inicial em comparação àqueles que receberam 5%. Segundo esses autores, maior concentração plasmática de AGCC indica maior atividade metabólica do epitélio ruminal (taxa absortiva) ou aumento na produção desses compostos no rúmen decorrentes de uma dieta mais digestível.

Houve aumento (P<0,001) da concentração de AGCC totais presentes no fluído ruminal independentemente da composição do concentrado inicial (Figura 4.7) com o avanço da idade dos animais, acompanhando o aumento no consumo de

concentrado. Aumentos na atividade metabólica do epitélio ruminal e na área absortiva do rúmen de animais em crescimento são atribuídos ao aumento na concentração de AGCC resultantes da maior fermentação da matéria orgânica (LESMEISTER; HEINRICHS, 2004). Dessa forma, a maior produção de AGCC com o avanço da idade funciona como indicador de desenvolvimento ruminal adequado. De acordo com Vazquez-anon et al. (1993) e Zitnan et al. (1998), a concentração de AGCC total no rúmen de animais adultos deve ser de aproximadamente 120 e 150 µmol/mL, respectivamente. Dessa forma, pode-se inferir que todos os tratamentos apresentaram valores próximos ao recomendado pela literatura quando apresentavam oito semanas de vida.

Dados de literatura mostram que o aumento no consumo de alimentos sólidos resulta em aumento na concentração total de AGCC no fluído ruminal (COVERDALE et al., 2004; BEHARKA et al., 1998; GREENWOOD et al., 1997). Tal aumento é indispensável para que haja adaptação do animal à nova fonte de energia, os AGCC. Animais lactentes utilizam basicamente a glicose, lactose e gordura proveniente do leite ou sucedâneo lácteo para gerar energia. Por outro lado, em ruminantes funcionais, a principal fonte de energia passa a ser os AGCC, que representam cerca de 70% da energia gerada no organismo (BERGMAN, 1990).

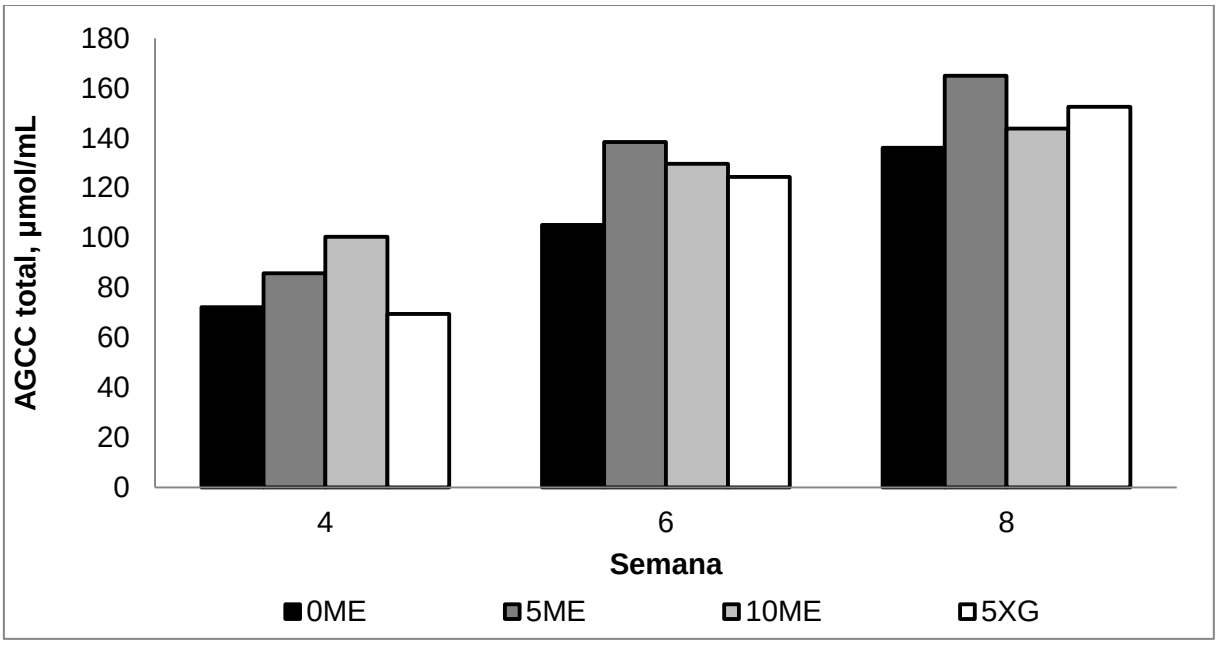

Figura 4.7 – Concentração molar de ácidos graxos de cadeia curta totais (µmol/mL) de bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0ME), 5% (5ME) ou 10% (10ME) de melaço de cana ou 5% (5XG) de xarope de glicose em substituição ao milho

Como pode ser observado na Tabela 4.4, animais alimentados com o concentrado inicial 5ME apresentaram maior concentração ruminal de acetato (P<0,05) que aqueles recebendo o tratamento 0ME (Tabela 4.4). Os dados encontrados nesse estudo são similares aos encontrados por Suárez et al. (2007), que avaliaram bezerros em aleitamento recebendo apenas concentrado como dieta sólida. De acordo com Lesmeister; Heinrichs (2005), a concentração plasmática de acetato aumentou de 0,381 para 0,629 µmol/mL em bezerros recebendo concentrado inicial contendo 5 ou 12% de melaço de cana, sugerindo maior metabolismo do epitélio ruminal ou aumento na produção de AGCC pela fermentação ruminal.

A concentração de acetato no fluido ruminal varia para alimentos concentrados e volumosos, sendo que dietas com alto teor de fibra em geral aumentam sua concentração, enquanto dietas com maior proporção de concentrado tendem a diminuir sua concentração (OWENS; GOETSCH, 1988). Embora todos os tratamentos testados nesse estudo tivessem teor de FDN relativamente baixo (< 19% da MS), a produção de acetato foi superior a relatada por Coverdale et al. (2004), que incluíram 7,5 e 15% de feno de gramínea na dieta de bezerros em aleitamento. Segundo esses autores, a concentração de acetato no fluído ruminal foi de 44,8, 55,1, 47,4 e 43,8 µmol/mL nos animais recebendo milho laminado e aveia inteira; milho e aveia moídos; milho laminado e aveia inteira com adição de 7,5% de feno de gramínea; milho laminado e aveia inteira com adição de 15% de feno de gramínea, respectivamente.

A proporção média de acetato no fluido ruminal foi de 55,3, 51,4, 49,9 e 52,2% para os tratamentos 0ME, 5ME, 10ME e 5XG, respectivamente, sendo similares aos reportados por Kellogg; Owen (1969a). De acordo com esses autores, a proporção de acetato no fluido ruminal foi 52,3, 53,7, 52,0 e 53,9% com a adição de 0, 3, 6 ou 9% de sacarose em substituição ao milho na dieta de vacas em lactação. Martel et al. (2011) demonstraram aumento (P<0,04) na concentração ruminal de acetato (46,9 *vs* 46,3%) quando 4,8% do milho foi substituído por melaço de cana na dieta de vacas lactantes.

O propionato apresentou o mesmo comportamento que o acetato, tendo o tratamento 5ME maior concentração deste AGCC (P<0,05) quando comparados aos submetidos ao tratamento 0ME (Tabela 4.4). Esperava-se que os tratamentos 10ME e 5XA apresentassem maior concentração de propionato ruminal que 0ME, uma vez

que o melaço de cana e o xarope de glicose têm maiores concentrações de açúcares solúveis quando comparados ao milho, gerando maiores quantidades de propionato. Porém, pode ter havido maior produção de ácido lático nesses tratamentos (parâmetro não medido), o que explicaria a redução do pH ruminal com o avanço da idade dos animais (Tabela 4.4).

A proporção média de propionato no fluido ruminal foi de 32,3, 36,33, 35,0 e 32,7% para os tratamentos 0ME, 5ME, 10ME e 5XG, respectivamente. Os dados encontrados neste estudo são superiores aos encontrados por Martel et al. (2011), que avaliaram a concentração ruminal de propionato em vacas sem inclusão de melaço de cana (28,7%) e com 5% de substituição do milho por melaço de cana (27,4%). Essa diferença possivelmente deve-se ao fato dos animais utilizados por Martel et al. (2011) terem recebido 38,1% de volumosos na MS da ração, levando a menor produção de propionato frente aos animais do presente estudo, que receberam apenas concentrado como dieta sólida.

Não houve interação entre a composição do concentrado e a idade dos animais (P>0,05) nas concentrações médias de acetato e propionato ruminal (Tabela 4.4). Porém, observou-se efeito de idade para ambos ácidos graxos, com aumento na concentração com o avanço da idade dos animais (Figura 4.8). Da mesma forma que para a concentração total de AGCC, acredita-se que este resultado seja resposta ao maior consumo de concentrado entre a quarta, sexta e oitava semanas de coleta. Resultados semelhantes são normalmente encontrados na literatura, haja visto que os AGCC são gerados a partir da fermentação da matéria orgânica presente no rúmen. Dessa forma, com o aumento no consumo de alimentos sólidos, há maior disponibilidade de nutrientes para fermentação microbiana, resultando em maior quantidade de AGCC gerados.

A concentração de butirato ruminal nos animais recebendo 10% de melaço de cana em substituição ao milho no concentrado inicial tendeu (P<0,10) a ser maior que nos animais submetidos ao tratamento 0ME (Tabela 4.4). Tal resultado é de grande importância na nutrição de bezerros, uma vez que este AGCC é o principal responsável pelo crescimento das papilas ruminais (SANDER et al., 1959). No entanto, a produção de butirato é pouco afetada pelo tipo de dieta (volumosa *vs* concentrada) e ingredientes normalmente utilizados na formulação de concentrados.

Aumentos na concentração ruminal de butirato com a adição de melaço de cana ou sacarose na dieta de ruminantes são descritas na literatura. Em

experimento *in vitro,* Kellogg; Owen, (1969b) relataram aumento linear na proporção de butirato com a substituição de milho por sacarose, sendo a proporção máxima encontrada (20,5%) obtida com 9% de substituição. Já Kellogg; Owen (1969a) verificaram maior proporção de butirato ruminal (22,5%) com a substituição de 6% do milho por sacarose na dieta de vacas lactantes. Martel et al. (2011) também relataram aumento (P=0,04) na concentração molar de butirato presente no fluido ruminal de vacas que receberam 5% de melaço de cana em substituição ao milho no concentrado. Segundo esses autores, a proporção molar do butirato passou de 16,7% para 17,7% quando os animais adicionou-se o melaço de cana à dieta.

No presente estudo, a proporção molar de butirato presente no fluido ruminal foi de 7,5, 8,0, 10,0 e 10,2% para os tratamentos 0ME, 5ME, 10ME e 5XG, respectivamente. Como pode ser observado, o tratamento 5XG apresentou, numericamente, maior proporção de butirato quando comparados aos demais, evidenciando ser um ingrediente com potencial para produção de butirato. Entretanto, não há trabalhos na literatura que objetivassem estudar o padrão de fermentação do xarope de glicose na dieta de ruminantes.

Como esperado, a concentração de butirato aumentou (P<0,01) com o avanço da idade dos animais, acompanhando a maior ingestão de concentrado e produção total de AGCC (Figura 4.8). Houve ainda tendência (P<0,10) para interação entre a composição do concentrado e a idade dos animais na concentração de butirato ruminal (Tabela 4.4). No entanto, tal tendência foi verificada apenas entre semanas diferentes, não sendo observados resultados significativos entre tratamentos dentro da mesma semana de coleta.

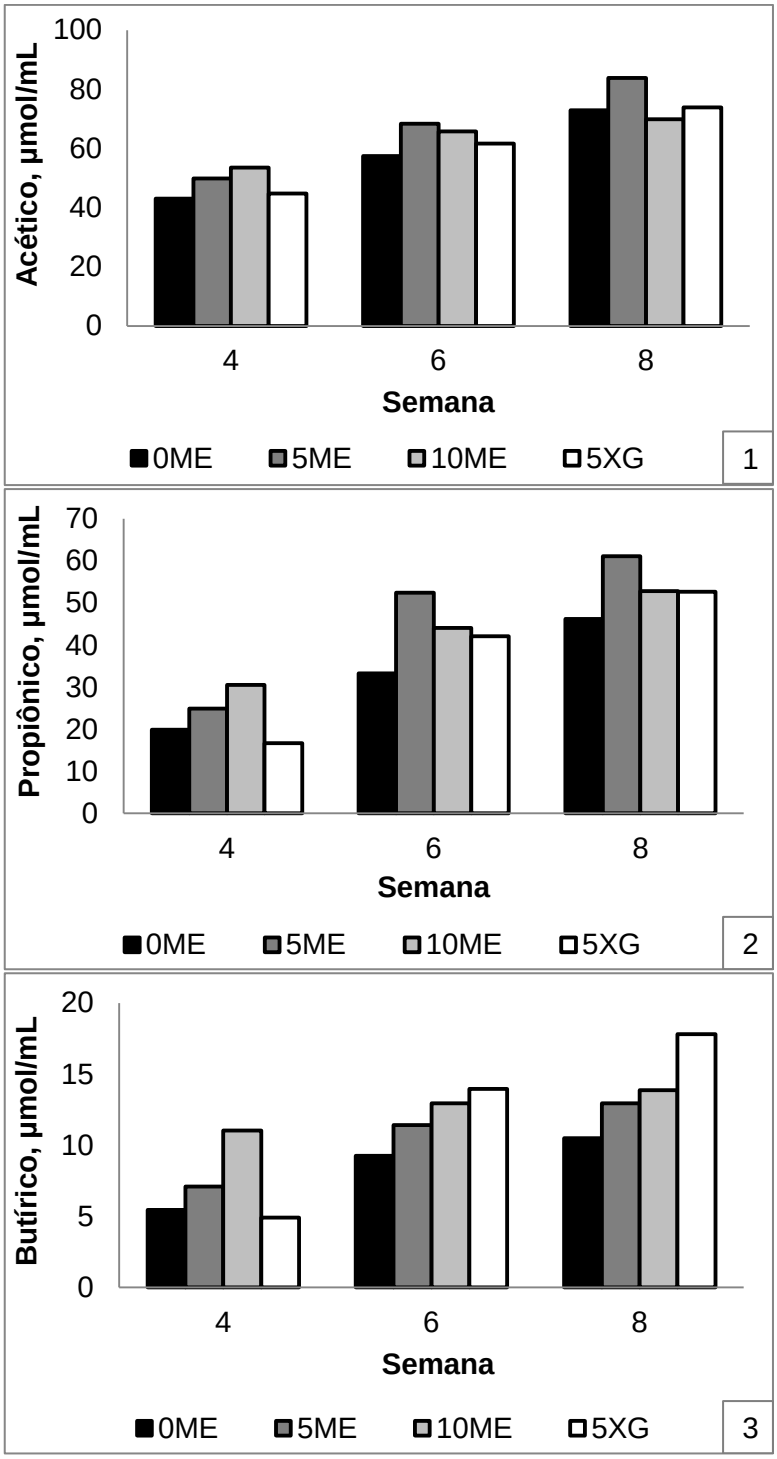

Figura 4.8 – Concentração molar dos ácidos acético (1), propiônico (2) e butírico (3) de bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0ME), 5% (5ME) ou 10% (10ME) de melaço de cana ou 5% (5XG) de xarope de glicose em substituição ao milho

As concentrações de isobutirato, isovalerato e valerato não foram afetadas (P>0,05) pela composição do concentrado inicial (Tabela 4.4). Os resultados estão de acordo com os dados de literatura, onde estes ácidos graxos de cadeia curta tem

pouca participação na concentração total de AGCC no fluido ruminal (MARTEL et al., 2011; BEHARKA et al., 1998).

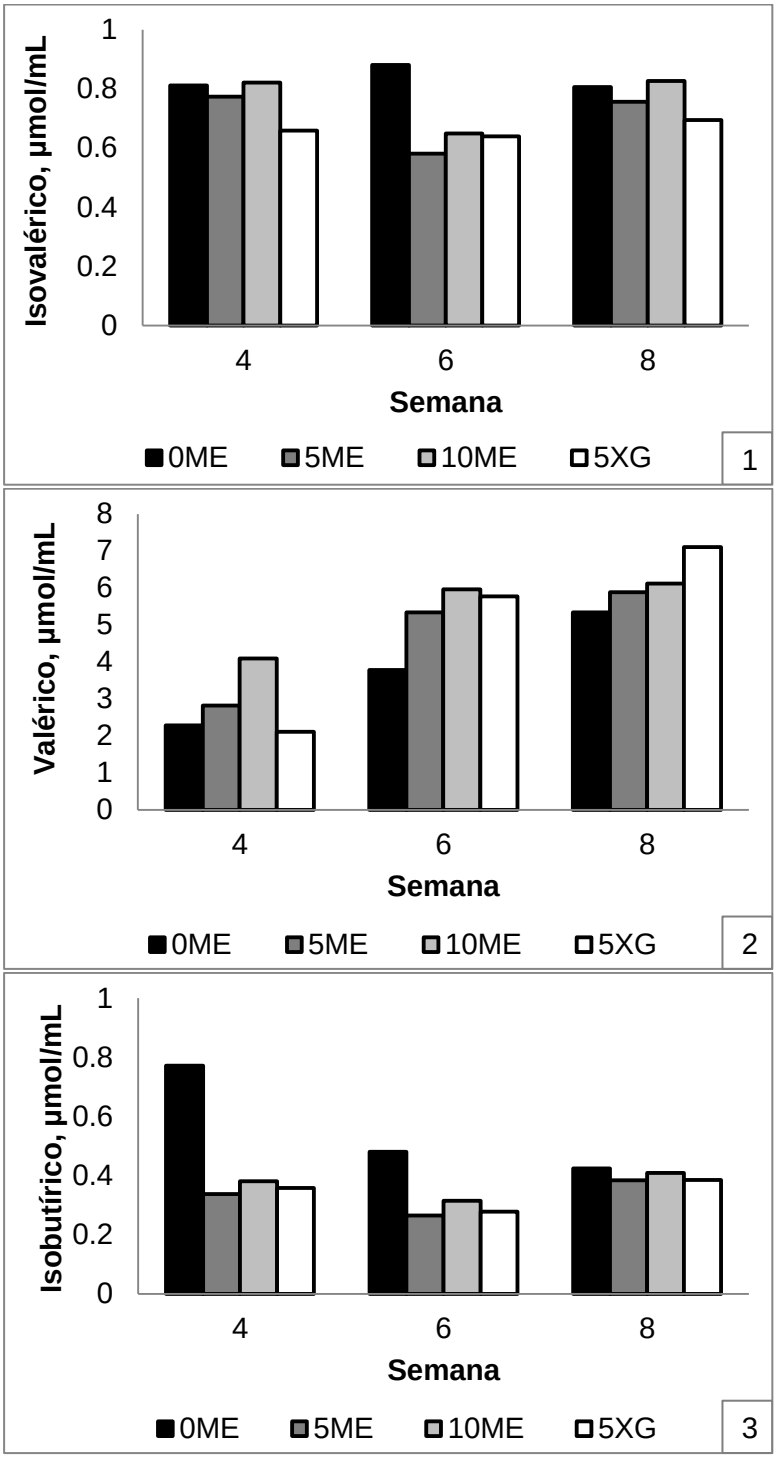

Figura 4.9 – Concentração molar dos ácidos isobutírico (1), valérico (2) e isovalérico (3) de bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0ME), 5% (5ME) ou 10% (10ME) de melaço de cana ou 5% (5XG) de xarope de glicose em substituição ao milho

Não foi observada interação entre a composição do concentrado e a idade dos animais (P>0,05) para a concentração dos ácidos isobutírico, isovalérico e valérico. Da mesma forma, não houve efeito da idade dos animais para as concentrações dos ácidos isobutírico e isovalérico; porém, verificou-se aumento (P<0,05) na concentração de valerato com a idade dos animais (Figura 4.9).

Não houve diferença significativa (P>0,05) sobre a relação acetato:propionato em função da inclusão de melaço de cana ou xarope de glicose no concentrado inicial, assim como efeito de da interação dos fatores composição do concentrado e idade dos animais (P>0,05). No entanto, houve redução da relação acetato:propionato com o avanço da idade dos animais. Tal resultado está relacionado com o aumento mais acentuado na produção de propionato em detrimento ao acetato. Esse resultado era esperado, uma vez que o concentrado inicial fornecido aos animais apresentava alta proporção de carboidratos não fibrosos com perfil de fermentação basicamente propiônico.

A concentração média de N-amoniacal no fluido ruminal não foi afetada (P>0,05) pela composição do concentrado, bem como interação deste fator com a idade dos animais (Tabela 4.4). Por outro lado, houve diminuição (P<0,01) da concentração com o avanço da idade dos animais (Figura 4.10). A concentração de N-amoniacal manteve-se acima de 5 mg/dL em todas as coletas, sugerindo haver nitrogênio suficiente para adequado crescimento microbiano. De acordo com Satter; Roffler (1979) e Leng; Nolan (1984), 5 mg/dL é a concentração mínima necessária para síntese satisfatória de proteína microbiana.

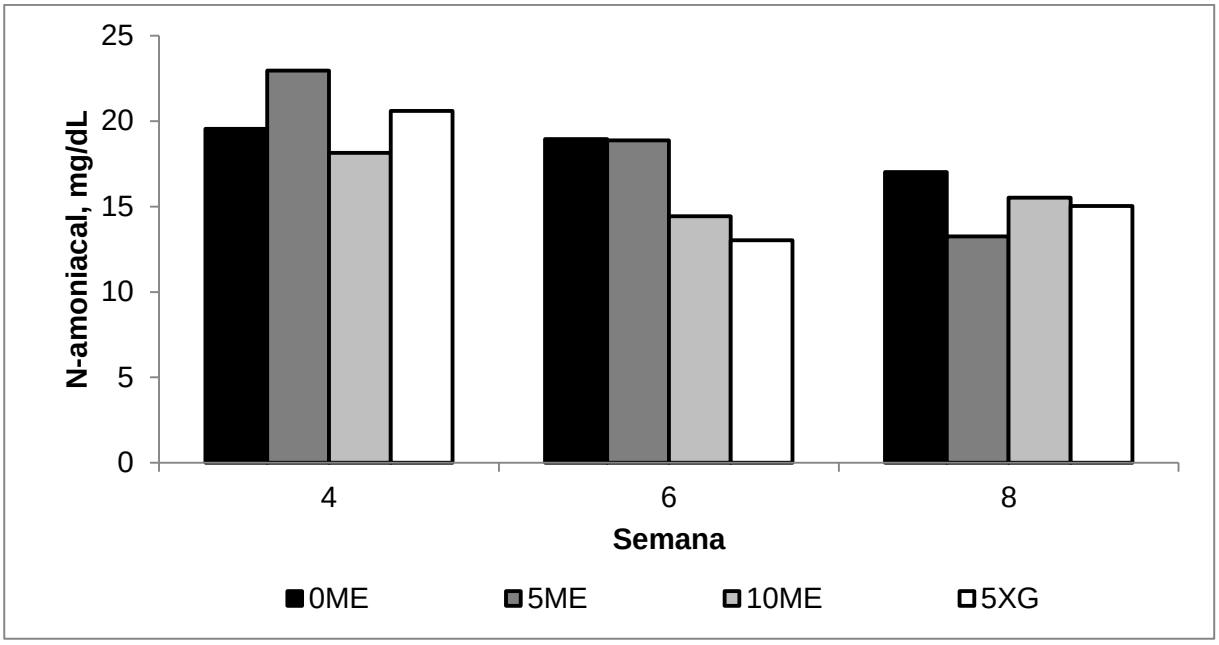

Figura 4.10 – Concentração de nitrogênio amoniacal (N-amoniacal) no fluído ruminal de bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0ME), 5% (5ME) ou 10% (10ME) de melaço de cana ou 5% (5XG) de xarope de glicose em substituição ao milho

4.3.4 Parâmetros sanguíneos

A concentração plasmática de glicose, β-hidroxibutirato e lactato encontram-se na Tabela 4.5. Como pode ser observado, não houve diferença (P>0,05) entre tratamentos para as concentrações de glicose plasmática ao desaleitamento. Da mesma forma, a concentração média de glicose não foi afetada (P>0.05) pela composição do concentrado, pela idade dos animais ou pela interação destes dois fatores (Figura 4.11).

Tabela 4.5 – Concentrações plasmáticas de glicose, β-hidroxibutirato (βHBA) e lactato de bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0ME), 5% (5ME) ou 10% (10ME) de melaço de cana ou 5% (5XG) de xarope de glicose em substituição ao milho

	Tratamentos				EPM[1]	P<[2]		
	0ME	5ME	10ME	5XG		T	I	T x I
Glicose, mg/dL								
Ao desaleitamento	105,8	94,6	100,9	92,6	7,33	1,00	..	..
Média do período	96,5	101,8	95,9	92,3	3,07	0,16	0,48	0,17
βHBA, mmol/L								
Ao desaleitamento	0,10	0,16	0,15	0,12	0,02	0,99	..	..
Média do período	0,14	0,14	0,13	0,13	0,01	0,97	0,86	0,80
Lactato, mg/dL								
Ao desaleitamento	8,2	7,8	12,1	7,4	1,70	0,99	..	..
Média do período	9,1	9,4	9,6	10,0	0,80	0,88	0,66	0,63

(1) EPM = erro padrão da média
(2) T = efeito de tratamento; I = efeito da idade dos animais; T x I = efeito da interação tratamento e idade dos animais
Nota: Sinal convencional utilizado:
.. Não se aplica dado numérico.

A concentração de glicose plasmática observada em bezerros na primeira semana de vida é semelhante à concentração observada em monogástricos, estando em torno de 110 mg/dL (DANIELS et al., 2008). Com o aumento no consumo de alimentos sólidos e consequente produção de AGCC provenientes da fermentação ruminal, os valores de glicose plasmática diminuem, chegando a valores próximos a 70 mg/dL em animais desaleitados (FERREIRA; BITTAR, 2010; QUIGLEY; BERNARD, 1992). A manutenção de valores relativamente altos de glicose plasmática ao desaleitamento e média do período total (Tabela 4.5) verificadas no presente estudo corrobora com os reportados por Quigley; Bernard (1992) e Huber (1969). Acredita-se que esses resultados estejam relacionados ao aumento no consumo de concentrado a partir da quarta semana de vida e consequente elevação na produção de propionato no rúmen (Figura 4.8). Segundo Sauer; Kramer; Cantwell (1989) e Theurer et al. (1999), a maior produção de propionato no rúmen pode resultar em maiores concentrações de glicose plasmática devido a sua intensa produção através da gliconeogênese hepática. Porém, com o

desenvolvimento do rúmen, parte do propionato absorvido é metabolizado diretamente no epitélio ruminal a fim de gerar energia para manutenção e proliferação do tecido. Dessa forma, nem todo o propionato gerado pela fermentação da matéria orgânica e absorvido pelas papilas ruminais chega ao fígado para geração de glicose a partir da gliconeogênese. Esta explicação pode justificar também a falta de efeito encontrada entre os tratamentos 0ME e 5ME, uma vez que os animais que receberam 5% de melaço de cana apresentaram maior quantidade de propionato presente no fluído ruminal (Tabela 4.4).

A fermentação ruminal de carboidratos não estruturais, como o milho, melaço de cana e xarope de glicose, gera concentrações superiores de propionato quando comparado a alimentos de origem volumosa (NRC, 2001). De acordo com Khan et al. (2007) e Ferreira; Bittar (2010), as concentrações de glicose plasmática diminuíram com o aumento do consumo de alimentos sólidos por bezerros da raça Holandês. Por outro lado, outros estudos mostram elevação na concentração plasmática de glicose em bezerros em aleitamento com livre acesso ao concentrado inicial (NÁPOLES, 2012; QUIGLEY; BERNARD, 1992). A literatura é consistente em demonstrar que a concentração plasmática de glicose reduz ocorre após o desaleitamento. Nessa fase, o fornecimento de lactose, a qual era a principal fonte de glicose nos animais lactentes, é interrompido. Com a ingestão exclusiva de alimentos sólidos, geralmente compostos por moléculas complexas e de difícil digestão intestinal, a fermentação ruminal ganha importância, sendo então os AGCC a principal fonte de energia. Nesse sentido, o propionato torna-se o principal precursor da glicose em ruminantes adultos, já que esta é absorvida em baixa quantidade no intestino delgado (BALDWIN et al., 2004).

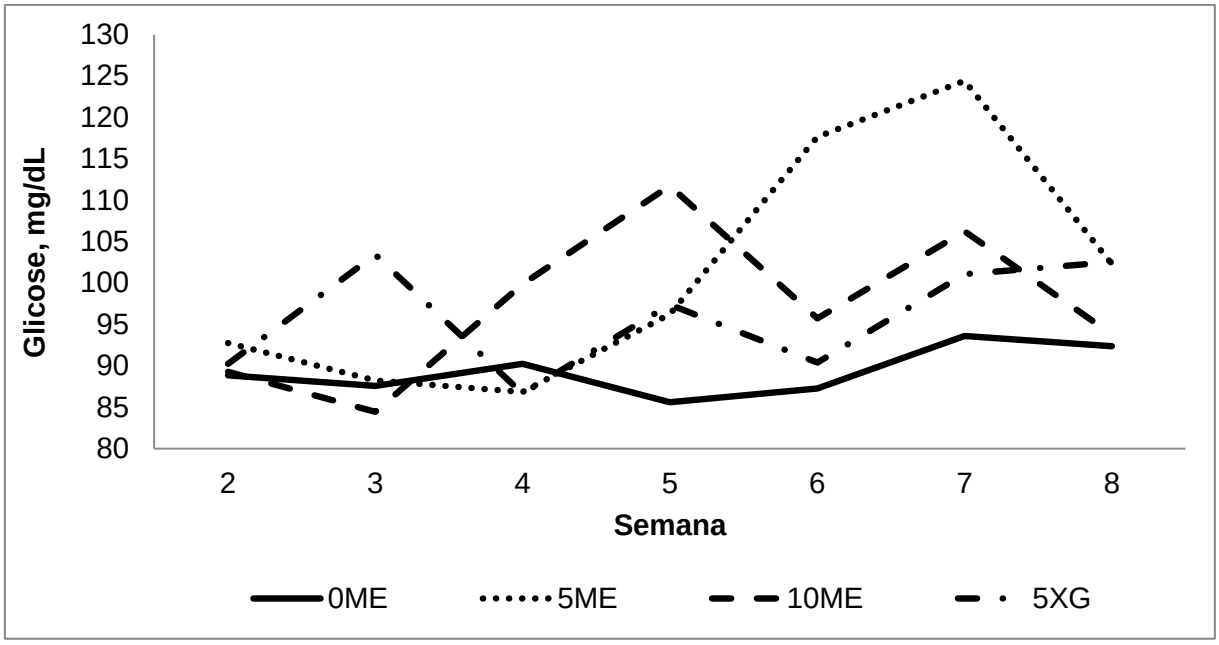

Figura 4.11 – Concentrações plasmáticas de glicose (mg/dL) em bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0ME), 5% (5ME) ou 10% (10ME) de melaço de cana ou 5% (5XG) de xarope de glicose em substituição ao milho

Não houve diferença (P>0,05) entre os diferentes concentrados iniciais em relação as concentrações de β-hidroxibutirato plasmático ao desaleitamento e média do período total (Tabela 4.5). Valores similares são encontrados na literatura com animais da raça Holandês e com idade semelhante aos do presente estudo (SILVA; BITTAR; FERREIRA, 2012; NÁPOLES, 2012; COVERDALE et al., 2004). Da mesma forma, não houve efeito (P>0,05) de idade e interação tratamento x idade (Figura 4.12) para as concentrações plasmáticas de β-hidroxibutirato. Esperava-se aumento na concentração de β-hidroxibutirato com o avanço da idade dos animais, uma vez que houve elevação no consumo de concentrado a partir da quarta semana de vida (Figura 4.8) e consequente aumento na concentração molar de butirato presente no fluido ruminal. A concentração de BHBA tem alta correlação com o consumo de concentrado (QUIGLEY et al., 1991) e tem sido utilizada como um parâmetro de monitoramento de desenvolvimento ruminal.

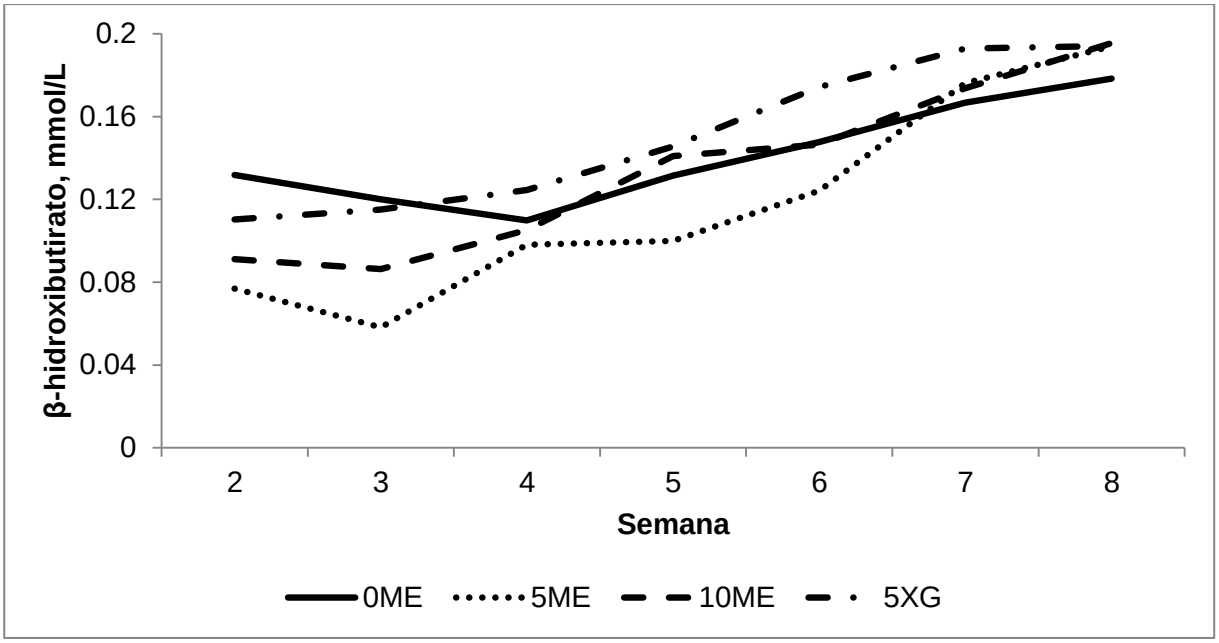

Figura 4.12 – Concentrações plasmáticas de β-hidroxibutirato (mmol/L) em bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0ME), 5% (5ME) ou 10% (10ME) de melaço de cana ou 5% (5XG) de xarope de glicose em substituição ao milho

O β-hidroxibutirato é uma variável importante quando se deseja estimar o metabolismo do epitélio ruminal, pois indica atividade de conversão do butirato ruminal em β-hidroxibutirato à medida que é absorvido pelas papilas ruminais (LANE; BALDWIN; JESSE, 2000). Dados da literatura mostram que 26 a 33% do butirato absorvido pelas papilas ruminais são convertidas em β-hidroxibutirato (WEIGAND; YOUNG; McGILLIARD, 1975), existindo, portanto, uma relação direta entre a concentração molar de butirato no rúmen e a concentração plasmática de β-hidroxibutirato. Dessa forma, esperava-se que os animais submetidos ao tratamento 10ME apresentassem maior concentração plasmática de β-hidroxibutirato, quando comparados aos animais que não receberam adição de melaço de cana e xarope de glicose na formulação do concentrado inicial, uma vez que a concentração molar de butirato do fluido ruminal desses animais apresentou-se superior aos submetidos ao tratamento 0ME.

As concentrações plasmáticas ao desaleitamento e média do período total de lactato não foram afetadas (P>0,05) pela substituição de milho por melaço de cana ou xarope de milho (Tabela 4.5). Também não foi verificado (P>0,05) efeito de idade ou da interação entre a composição do concentrado e a idade dos animais (Figura

4.13). Quigley; Bernard (1992) também não verificaram diferenças na concentração plasmática de lactato em animais recebendo quantidades restritas de leite em comparação frente aqueles recebendo maior quantidade de dieta sólida. Porém, estes pesquisadores observaram diminuição na concentração plasmática de lactato em ambos os tratamentos com o avanço da idade dos animais.

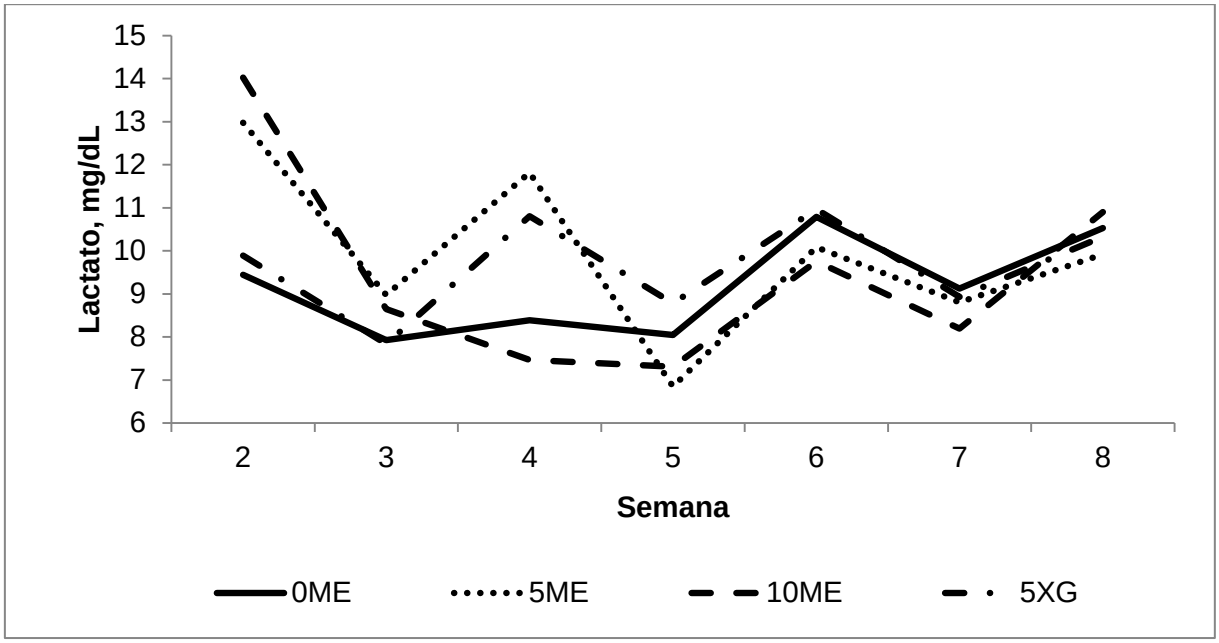

Figura 4.13 – Concentrações plasmáticas de lactato (mgl/dL) em bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0ME), 5% (5ME) ou 10% (10ME) de melaço de cana ou 5% (5XG) de xarope de glicose em substituição ao milho

O lactato presente no fluido ruminal é gerado principalmente a partir da fermentação de carboidratos não fibrosos, especialmente o amido. Como o nível de inclusão dos co-produtos foi relativamente baixo (5 e 10%) e a composição desses co-produtos também era de carboidratos solúveis, não esperava-se diferença entre tratamentos. Os concentrados experimentais apresentaram mais de 50% de CNF em sua composição, podendo ter levado a uma produção elevada de lactato como produto final da fermentação microbiana. Este lactato pode ter sido o responsável pela manutenção do pH próximo a 5,5 (Tabela 4.4) e pela concentração relativamente alta de lactato no plasma sanguíneo (QUIGLEY; BERNARD, 1992). No entanto, o lactato presente na circulação periférica não origina-se apenas da fermentação de CNF, podendo ser gerado também a partir da glicólise endógena e

do metabolismo do propionato pela parede ruminal. Segundo Bergman (1990), até 50% do propionato ruminal pode sofrer metabolismo pelo epitélio ruminal e gerar como produtos finais CO_2, piruvato e, em menor grau, aminoácidos.

Animais recebendo dietas a base de concentrado e com elevado consumo podem produzir quantidades elevadas de lactato no rúmen, sendo que o fígado não é capaz de absorver todo o lactato que chega até ele, resultando em aumento na concentração deste composto na circulação sanguínea (KOZLOSKI, 2002). Dessa forma, pode ocorrer um aumento na disponibilidade de lactato para os tecidos periféricos. No entanto, alguns tecidos dos ruminantes, como o cérebro e a medula renal, dependem de glicose como única fonte de energia, não havendo utilização deste composto para geração de energia.

4.3.5 Morfometria do trato digestório

Os dados relativos à avaliação das medidas morfométricas do trato digestório superior encontram-se apresentados na Tabela 4.6. Houve tendência ($P<0,10$) dos animais alimentados com concentrado contendo 5% de melaço (5ME) apresentarem maior peso do trato digestório superior quando comparados aos que receberam o tratamento 0ME. Esse resultado pode estar ligado a maior concentração molar de propionato e butirato presentes no fluído ruminal (Tabela 4.4). Como não houve aumento no consumo de concentrado, acredita-se que a dieta contendo 5% de melaço em substituição ao milho tenha melhorado a fermentação ruminal, refletindo em maior produção de AGCC e, consequentemente, maior desenvolvimento ruminal. De acordo com Davis; Drackley (1998), os ácidos propiônico e butírico são os estimuladores primários do crescimento do tecido ruminal, em parte por serem extensivamente metabolizados pelo epitélio ruminal durante a absorção. Este metabolismo fornece energia para o crescimento do tecido epitelial e contrações musculares.

Animais que receberam o concentrado 5ME também tenderam ($P<0,10$) a apresentar maior peso do retículo-rúmen que os tratamentos 0ME e 5XA. Por outro lado, o volume do retículo-rúmen não foi alterado pelos tratamentos, bem como a proporção desses compartimentos frente aos demais ($P>0,05$). Os valores observados são superiores aos encontrados por Nussio et al. (2003) e Ferreira et al.

(2009), provavelmente devido ao maior consumo de concentrado dos animais deste estudo.

Segundo Quigley (1996), o retículo-rúmen de um animal de quatro semanas de vida deve corresponder a 60% da massa total dos quatro compartimentos, o omaso 13% e o abomaso 27%. O maior desenvolvimento retículo-ruminal encontrado no presente estudo (Tabela 4.6) decorreu da maior idade dos animais no momento do abate (oito semanas) aliado a maior ingestão de concentrado nesse período (Tabela 4.2). Já a proporção do retículo-rúmen, omaso e abomaso em ruminantes adultos é 75%, 6% e 19%, respectivamente (CHURCH, 1988), sendo alcançada em média à décima semana de vida.

Tendência de maior peso de omaso foi observada para os animais que receberam o tratamento 5ME quando comparados aos que receberam o tratamento 5XA ($P<0,10$). Já a proporção do omaso em relação ao trato total não teve efeito de tratamento ($P>0,05$). O abomaso tendeu ($P<0,10$) a ser mais pesado nos tratamentos 5ME e 5XA quando comparados ao que receberam o tratamento 0ME. A proporção do abomaso frente aos demais compartimentos não foi afetada pela substituição do milho por melaço de cana ou xarope de glicose.

Beharka et al. (1998) não verificaram efeito da forma física da dieta (moída ou não moída) no peso do retículo-rúmen vazio (1.900 g) ou cheio (10.200 g). Esses autores também relataram valores estatisticamente iguais para peso do abomaso vazio ou cheio e diferença significativa para peso do omaso, sugerindo que este maior desenvolvimento omasal seja devido ao aumento do fluxo de partículas grosseiras do retículo-rúmen para o omaso no tratamento que forneceu dieta não moída.

Tabela 4.6 – Medidas morfométricas do trato digestório superior de bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0ME), 5% (5ME) ou 10% (10ME) de melaço de cana ou 5% (5XG) de xarope de glicose em substituição ao milho

	Tratamentos				EPM[1]	P<[2]
	0ME	5ME	10ME	5XG		
Trato total, g	1153,86	1433,03	1306,49	1161,09	106,92	0,25
Retículo/Rúmen, g	764,89	973,36	871,70	752,83	84,33	0,26
Trato total, %	65,77	66,34	65,65	64,23	1,97	0,91
Capacidade, L	8,31	9,39	8,50	7,85	0,88	0,68
Omaso, g	167,17	207,04	184,85	144,93	21,32	0,28
Trato total, %	14,40	14,42	13,59	12,55	1,10	0,65
Abomaso, g	226,75	260,22	250,10	263,35	11,80	0,18
Trato total, %	20,26	19,66	20,79	23,12	1,85	0,62

(1) EPM = erro padrão da média
(2) P = efeito de tratamento

Os dados relativos às medidas de desenvolvimento do epitélio ruminal são apresentados na Tabela 4.7. Houve tendência (P<0,10) dos animais alimentados com o concentrado 0ME apresentarem maior número de papilas que os dos tratamentos 5ME e 10ME. Porém, apenas um número elevado de papilas não representa diretamente maior absorção ruminal. Por outro lado, papilas mais altas e largas terão maior área, refletindo em aumento da superfície de contato do epitélio ruminal com o fluido e, consequentemente, maior capacidade absortiva. De acordo com Furlan; Macari; Faria Filho (2011), as papilas ruminais são recobertas por um epitélio delgado com células superficiais capazes de se dilatarem e retraírem, sendo sua região central composta de um sistema vascular que conduz os AGCC e demais substâncias absorvidas até o sistema porta-hepático.

A largura das papilas ruminais não foi afetada pela composição do concentrado inicial (P>0,10). Por outro lado, animais que receberam concentrado inicial contendo 10% de melaço de cana em substituição ao milho apresentaram papilas ruminais mais altas (P<0,05) que os submetidos ao tratamento 0ME. Observou-se tendência (P<0,10) de maior área papilar dos animais recebendo o tratamento 10ME frente aos recebendo o tratamento 0ME. Outros pesquisadores relataram tendência de maior altura de papilas e largura de bezerros recebendo 12%

de melaço no concentrado quando comparados aos que receberam 5% (LESMEISTER; HEINRICHS, 2005).

A maior altura e área das papilas dos animais que receberam o tratamento 10ME quando comparados aos do tratamento 0ME pode estar relacionada à tendência de maior concentração de butirato no fluído ruminal desses animais quando comparados àqueles submetidos ao tratamento 0ME, uma vez que o butirato é o principal AGCC estimulador do desenvolvimento das papilas ruminais (SANDER et al., 1959). Outros pesquisadores já haviam postulado sobre um possível aumento na produção de butirato em animais consumindo dietas contendo melaço de cana (MARTEL et al., 2011; KELLOGG; OWEN, 1969a).

Tabela 4.7 – Medidas altura, largura, número e área de papilas amostrados em 1cm^2 da região ventral do rúmen de bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0ME), 5% (5ME) ou 10% (10ME) de melaço de cana ou 5% (5XG) de xarope de glicose em substituição ao milho

	Tratamentos				**EPM[1]**	**P<[2]**
	0ME	**5ME**	**10ME**	**5XG**		
N° Papilas/cm^2	94,09	75,16	74,25	87,28	7,17	0,18
Altura, mm	1,69	2,03	3,38	1,76	0,56	0,13
Largura, mm	1,00	1,10	1,36	1,10	1,13	0,62
Área de papilas, mm^2	1,93	2,57	5,25	2,00	1,15	0,21

(1) EPM = erro padrão da média
(2) P = efeito de tratamento

Embora tenha havido tendência de aumento na altura das papilas ruminais no tratamento 10ME em comparação ao 0ME, vale ressaltar que todos os tratamentos apresentaram altura de papilas ruminais abaixo do recomendado por Huber (1969), é de 5 a 7 mm à oitava semana de vida. No entanto, outros pesquisadores (SILVA; BITTAR; FERREIRA, 2011; FERREIRA et al., 2009; NÁPOLES, 2012) relataram valores próximos aos do presente estudo.

4.4 Conclusões

A substituição do milho por 5 ou 10% de melaço de cana ou 5% de xarope de glicose no concentrado inicial não alterou o consumo, desempenho, escore fecal e desenvolvimento do trato digestório superior de bezerros da raça Holandês, sendo, portanto, duas fontes energéticas passíveis de utilização em dietas sólidas de bovinos em aleitamento.

Referências

BALDWIN, R.L.; MCLEOD VI, K.R.; KLOTZ, J.L,; HEITMANN, R.N. Rumen development, intestinal growth and hepatic metabolism in the pre- and post-weaning ruminant. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, E-suppl. 1, p. E55–E65, 2004.

BEHARKA, A.A.; NAGARAJA, T.G.; MORRILL, J.L.; KENNEDY, G.A.; KLEMM, R.D. Effects of form of the diet on anatomical, microbial, and fermentative development of the rumen of neonatal calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, p. 1946-1955, 1998.

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

BROWN, E.G.; VandeHAAR, M.J.; DANIELS, K.M.; LIESMAN, J.S.; CHAPIN, L.T.; KEISLER, D.H.; NIELSEN, M.S.W. Effect of increasing energy and protein intake on body growth and carcass composition of heifer calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, p. 585–594, 2005.

BÜRGER, P.J.; PEREIRA, J.C.; SILVA, J.F.C.; VALADARES FILHO, S.C.; CECON, C.R.; JORDÃO, C.P; BRAZ, S.P. Taxas de passagem e cinética da degradação ruminal em bezerros holandeses alimentados com dietas contendo diferentes níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, p. 225-235, 2000.

CAMPOS, F.P.; NUSSIO, C.M.B.; NUSSIO, L.G. **Métodos de análises de alimentos**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 135p.

CHANEY A.L.; MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, Washington, v. 8, p. 130-132, 1962.

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

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

DANIELS, K.M.; HILL, S.R.; KNOWLTON, K.F.; JAMES, R.E.; McGILLIARD, M.L.; AKERS, R.M. Effects of milk replacer composition on selected blood metabolites and hormones in preweaned holstein heifers. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, p. 2628–2640, 2008.

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

FERREIRA, L.S.; BITTAR, C.M.M. Performance and plasma metabolites of dairy calves fed starter containing sodium butyrate, calcium propionate or sodium monensin. **Animal Journal**, Cambridge, v. 5, p. 239-245, 2010.

FERREIRA, L.S.; BITTAR, C.M.M.; SANTOS, V.P.; MATTOS, W.R.S.; PIRES, A.V. Efeito da adição de butirato de sódio, propionato de cálcio ou monensina sódica no concentrado inicial sobre parâmetros ruminais e de desenvolvimento do rúmen de bezerros leiteiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, p. 2238-2246, 2009.

FREITAS, S.G.; PATIÑO, H.O.; MÜHLBACH, P.R.F.; GONZÁLES, F.H.D. Efeito da suplementação de bezerros com blocos multinutricionais sobre a digestibilidade, o consumo e os parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, p. 1508-1515, 2003.

FURLAN, R.L.; MACARI, M.; FARIA FILHO, D.E. Anatomia e fisiologia do trato gastrintestinal, In. BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes.** Jaboticabal: FUNEP, 2011. 616p.

GODDEN, S.M.; SMITH, S.; FEIRTAG, J.M.; GREEN, L.R.; WELLS, S.J.; FETROW, J.P. Effect of on-farm commercial batch pasteurization of colostrum on colostrum and serum immunoglobulin concentration in dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, p.1503-1502, 2003.

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

HEINEMANN, W.W.; HANKS, E.M. Cane molasses in cattle finishing rations. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 45, p.13-17, 1977.

HEINRICHS, A.J.; LOSINGER, W.C. Growth of Holstein dairy heifers in the United States. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 76, p. 1254-1260, 1998.

HILL, T.M.; BATERMAN, H.G.; ALDRICH, J.M.; SCHLOTHERBECK, R.L. Effects of feeding different carbohydrates sources and amounts to young calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.91, p. 3128-3137, 2008.

HOFFMAN, P. Optimum body size of Holstein replacement heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, p. 836-845, 1997.

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

HUBER, J.T.; JACOBSON, N.I.; ALLEN, R.S. Digestive enzyme activities in the young calf. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 44, p. 1494-1501, 1961.

HUNTINGTON, G.B.; HARMON, D.L.; RICHARDS, C.J. Sites, rates, and limits of starch and glucose metabolism in growing cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.84 (E. Suppl.) E14–E24, 2006.

KHAN, M.A.; LEE, H.J.; LEE W.S.; KIM, H.S.; KI, K.S.; HUR, T.Y.; SUH, G.H.; KNAG, S.J.; CHOI, Y.J. Structural growth, rumen development, metabolic and immune response of Holstein male calves fed milk through step-down and

conventional methods. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 90, p. 3376-3387, 2007.

_____. Starch source evaluation in calf starter: II. Ruminal parameters, rumen development, nutrient digestibilities, and nitrogen utilization in Holstein calves. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 91, p. 1140-1149, 2008.

KELLOGG, D.W.; OWEN, F.G. Relation of ration sucrose level and grain content to lactation performance and rumen fermentation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 62, p. 657–662, 1969a.

_____. Alterations of in vitro rumen fermentation patterns with various levels of sucrose and cellulose. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 52, p. 1458–1460, 1969b.

KERTZ, A.F.; CHESTER-JONES, H. Invited review: guidelines for measuring and reporting calf and heifer experimental data. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, p. 3577-3580, 2004.

KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. Santa Maria: Editora da Universidade Federal de Santa Maria, 2002. 140p.

KRISTENSEN, N.B.; SEHESTED, J.; JENSEN, S.K.; VESTERGAARD, M. Effect of milk allowance on concentrate intake, ruminal environment, and ruminal development in milk-fed Holstein calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, p. 4346-4355, 2007.

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

LENG, R.A.; NOLAN, J.V. Nitrogen metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 67, p. 1072-1089, 1984.

LESMEISTER, K.E.; HEINRICHS, A.J. Effects of adding extra molasses to a texturized calf starter on rumen development, growth characteristics, and blood parameters in neonatal dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, p. 411–418, 2005.

_____. Effects of corn processing on growth characteristics, rumen development, and rumen parameters in neonatal dairy calves. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 87, p. 3439-3450, 2004.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T.M.; VAN SOEST, P.J. Standardization of procedures of nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, Amesterdan, v. 57, p. 347-358, 1996.

MARTEL, C.A.; TITGEMEYER, E.C.; MAMEDOVA, L.K.; BRADFORT, B.J. Dietary molasses increases ruminal pH and enhances ruminal biohydrogenation during milk fat depression. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, p. 3995-4004, 2011.

NÁPOLES, G.G.O. **Desempenho e metabolismo de bezerros leiteiros em aleitamento convencional recebendo concentrado inicial contendo glicerol em substituição ao milho.** 2012. 91p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirement in dairy cattle. 7th ed. Washington: National Academy of Science, 2001. 381p.

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

NOZIÈRE, P.; ORTIGUES-MARTY, I; LONCKE, C.; SAUVANT, D. Carbohydrate quantitative digestion and absorption in ruminants: from feed starch and fiber to nutrients available for tissues. **Animal Journal**, Cambridge, v. 4, p. 1057-1074, 2010.

NUSSIO, C.M.B.; SANTOS, F.A.P.; ZOPOLLATTO, M.; PIRES, A.V.; MORAIS, J.B. Processamento de milho (floculado vs. laminado a vapor) e adição de monensina para bezerras leiteiras, pré e pós-desmama precoce. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, p. 229-239, 2003.

OLIVEIRA, M.V.M.; VARGAS JUNIOR, F.M.; SANCHEZ, L.M.B.; PARIS, W.; FRIZZO, A.; HAYGERT, I.P.; MONTAGNER, D.; WEBER, A.; CERDÓTES, L. Degradabilidade ruminal e digestibilidade intestinal de alimentos por intermédio da técnica *In situ* associada à do saco de nylon móvel. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, p. 2023-2031, 2003.

OWENS, F.N.; GOETSCH, A.L. Ruminal fermentation. In: CHURCH, D.C. (Ed.) **The Ruminant Animal:** digestive physiology and nutrition. Englewood Cliffs: Waveland Press, 1988. p. 145-171.

OWEN, F.G.; KELLOGG, D.W.; HOWARD, W.T. Effect of molasses in normal and high grain rations on utilization of nutrients for lactation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 50, p. 1120–1125, 1967.

QUIGLEY, J.D. Feeding prior to weaning. In: CALVES, HEIFERS AND DAIRY PROFITABILITY NATIONAL CONFERENCE, Pennsylvania, 1996. **Proceedings…** Ithaca: Northeast Regional Agricultural Engineering Service Cooperative Extension, 1996. p. 245-255.

QUIGLEY, J.D.; BERNARD, J.K. Effects of nutrient source and time of feeding on changes in blood metabolites in young calves. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, p. 1543-1549, 1992.

QUGLEY, J.D.; CALDWELL, L.A.; SINKS, D.; HEITMANN, R.N. Changes in blood glucose, nonesterified fatty acids, and ketones in response to weaning and feed intake in young calves. **Journal of Animal Science,** Champaign, v. 74, p. 250-257, 1991.

SANDER, E.G.; WAIINER, R.G.; HARRISON, H.N.; LOOSLI, J.K. The stimulatory effect of sodium butyrate and sodium propionate on the development of rumen mucosa in the young calf. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 42, p. 600-605, 1959.

SAUER, F.D.; KRAMER, J.K.G.; CANTWELL, W.J. Antiketogenic effects of monensin in early lactation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 72, p. 436-442, 1989.

SATTER, L.D.; ROFFLER, R.E. Nitrogen requirement and utilization in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 58, p. 1212-1237, 1979.

SCHALCH, F.J.; SCHALCH, E.; ZANETTI, M.A.; BRISOLA, M.L. Substituição do milho em grão moído pela polpa cítrica na desmama precoce de bezerros leiteiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, p. 280-285, 2001.

SILVA, J.T.; BITTAR, C.M.M.; FERREIRA, L.S. Desempenho e desenvolvimento ruminal em resposta ao fornecimento de substâncias húmicas para bezerros leiteiros em sistema de desaleitamento precoce. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 33, p. 395-401, 2011.

SILVA, J.T.; BITTAR, C.M.M.; FERREIRA, L.S. Evaluation of mannan-oligosaccharides offered in milk replacers or calf starters and their effect on performance and rumen development of dairy calves. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.41, p.746-752, 2012.

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

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

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

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

VAZQUEZ-ANON, M.; HEINRICHS, A.J.; ALDRICH, J.M.; VARGA G.A. Postweaning age effects on rumen fermentation end-products and digesta kinetics in calves weaned at 5 weeks of age. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, p. 2742-2748, 1993.

WEIGAND, E.; YOUNG J.W.; MCGILLIARD, A.D. Volatile fatty acid metabolism by rumen mucosa from cattle fed hay or grain. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 58, p. 1294-1300, 1975.

WEISS, W.P. Predicting energy values of feeds. In: SYMPOSIUM: PREVAILING CONCEPTS IN ENERGY UTILIZATION BY RUMINANTS. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.76, p.1802-1811, 1993.

ZITNAN, R.; VOIGT, J.; SCHONHUSEN, U.; WEGNER, J.; KOKARDOVA, M.; HAGEMEISTER, H.; LEVKUT, M.; KUHLA, S.; SOMMER, A. Influence of dietary concentrate to forage ratio on the development of rumen mucosa in calves. **Archives Animal Nutrition,** Montreux, v. 51, p. 279-291, 1998.

5 CONSIDERAÇÕES GERAIS

O custo de produção do litro de leite, alidado a manutenção do preço pago aos produtores em patamares relativamente elevados, têm aumentado o interesse pelo desaleitamento precoce dos animais. Dessa forma, o fornecimento de concentrados iniciais de alta qualidade deve ser realizado desde os primeiros dias de vida, afim de inicar a fermentação ruminal e, consequentemente, desenvolver o rúmen.

Nos últimos anos tem-se intensificado as pesquisas no tocante a possíveis susbtitutos do milho na formulação de concentrados iniciais. Os resultados desse trabalho mostraram que a substituição do milho por polpa cítrica desidratada, melaço de cana líquido ou xarope de glicose pode ser feita sem alterações no consumo, desempenho e escore fecal de bezerros em aleitamento, sendo, portanto, passíveis de inclusão na dieta sólida desta classe animal.