

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIA E TECNOLÓGICAS  
CAMPUS DE DRACENA**

**ADAPTAÇÃO A DIETAS DE ALTA ENERGIA PARA BOVINOS  
NELORE SUBMETIDOS PREVIAMENTE A RESTRIÇÃO  
NUTRICIONAL OU CONSUMO DE CONCENTRADOS E  
EFEITOS NAS CARACTERÍSTICAS RUMINAIS**

**Ana Carolina Janssen Pinto**

Zootecnista

2017

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIA E TECNOLÓGICAS  
CAMPUS DE DRACENA**

**ADAPTAÇÃO A DIETAS DE ALTA ENERGIA PARA BOVINOS  
NELORE SUBMETIDOS PREVIAMENTE A RESTRIÇÃO  
NUTRICIONAL OU CONSUMO DE CONCENTRADOS E  
EFEITOS NAS CARACTERÍSTICAS RUMINAIS**

**Ana Carolina Janssen Pinto**

Orientador: **Prof. Dr. Danilo Domingues Millen**

Co-orientadores: **Prof. Dr. Paulo Henrique Mazza  
Rodrigues**

**Dr. Gustavo Durante Cruz**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas (FCAT)- Unesp campus Dracena como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia Animal

FICHA CATALOGRÁFICA  
Desenvolvida pela Seção Técnica de Biblioteca e Documentação  
Campus de Dracena

P659a

Pinto, Ana Carolina Janssen.

Adaptação a dietas de alta energia para bovinos Nelore submetidos previamente a restrição nutricional ou consumo de concentrados e efeitos nas características ruminais / Ana Carolina Janssen Pinto. -- Dracena: [s.n.], 2017.

59 f. : il.


Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena. Área do conhecimento: Produção Animal, 2017.

Orientador: Danilo Domingues Millen

Co-orientadores: Paulo Henrique Mazza Rodrigues, Gustavo Durante Cruz

Inclui bibliografia.

1. Acidose. 2. Confinamento. 3. Metabolismo. 4. Nelore. 5. Rúmen. I. Título.



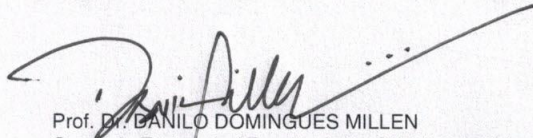
Bibliotecário Fábio Sampaio Rosas  
CRB 8/6665

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: ADAPTAÇÃO A DIETAS DE ALTA ENERGIA PARA BOVINOS NELORE SUBMETIDOS PREVIAMENTE A RESTRIÇÃO NUTRICIONAL OU CONSUMO DE CONCENTRADO E EFEITOS NAS CARACTERÍSTICAS RUMINAIS

**AUTORA: ANA CAROLINA JANSSEN PINTO**  
**ORIENTADOR: DANILO DOMINGUES MILLEN**  
**COORIENTADOR: GUSTAVO DURANTE CRUZ**  
**COORIENTADOR: PAULO HENRIQUE MAZZA RODRIGUES**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA E TECNOLOGIA ANIMAL, área: PRODUÇÃO ANIMAL pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. DANILO DOMINGUES MILLEN  
Curso de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena



Profa. Dra. CLAUDIA MARIA BERTAN MEMBRIVE  
Curso de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena



Prof. Dr. SERGIO RAPOSO DE MEDEIROS  
Campo Grande - MS / Embrapa Gado de Corte

Dracena, 20 de dezembro de 2017

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

Ana Carolina Janssen Pinto, nascida na cidade de São Paulo- SP, no dia 10 de fevereiro de 1985. cursou o ensino fundamental e médio no Colégio Visconde de Porto Seguro Unidade I, na cidade de São Paulo concluindo-os em 2003. Em agosto de 2011, iniciou sua graduação em Zootecnia, pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Dracena, concluída em janeiro de 2016. Em março de 2016, iniciou o curso de Mestrado em Ciência e Tecnologia Animal no programa interunidades dos campi de Ilha Solteira e Dracena da Unesp. Em dezembro de 2017 submeteu sua dissertação para sua defesa e obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia Animal.

## EPÍGRAFE

" É preciso que suporte duas ou três larvas se quiser conhecer as borboletas "

Saint-Exupéry

" Vitorioso não é aquele que vence os outros, mas o que vence a si mesmo,  
dominando seus vícios e superando seus defeitos"

Carlos Torres Pastorino

## **DEDICATÓRIA**

Ao meu herói José Neudson (in memoriam) que mesmo não presenciando esse mundo carnal, sempre me guiou, iluminou e almejou meus passos. Nunca mediu esforços para nada e sempre foi e será a pessoa que me ensinou o que é amar a profissão.

À minha imaculada mãe Karen e aos meus padrinhos, Wileina e Peter por sempre acreditarem em mim, pela educação que me deram, por nunca medirem esforços para meus saltos, por me ajudarem emocionalmente e principalmente por estenderem a mão sempre em que o mundo parecia desabar.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus pelo dom da vida e por sempre me dar saúde a cada dia que eu me levanto nessa vida terrena.

Aos meus pais, Karen e Neudson (im), que sempre me ensinaram a caminhar com meus próprios pés, que sempre me disseram que eu era capaz e que sempre me ensinaram: “ Carol, se a vida te der um limão, faça uma bela limonada e beba sorrindo”. Obrigada por fazerem a minha vida ser mais leve e feliz. Vocês são meu alicerce.

Aos meus padrinhos Wileina e Peter que são meus pais sem medirem esforços nenhum e que fazem a limonada da vida junto comigo. A vida nos prega peças, e sem dúvida nenhuma vocês são as melhores personagens da minha nova/velha peça. Se hoje estou aqui, devo tudo isso a vocês.

Aos meus irmãos, Xandi, Luca e cunhados Tássia e Jefferson, obrigada por cada conselho e cada puxão de orelha. Obrigada por me mostrar que juntos chegamos sempre em algum lugar melhor. À minha família que sempre compreendeu a minha ausência física nas reuniões familiares.

À Bia, que não sabe direito o que é vida, mas fez renascer uma em mim. Obrigada pelo amor incondicional.

Ao meu namorado Gustavo, primeiramente por ser meu companheiro nessa jornada da vida e nunca desistir do nosso amor, mesmo com as adversidades. Segundo por ter sido minha dupla nesse experimento e me ensinando aos “trancos e barrancos” que mesmo trabalhando junto a gente ainda se ama.

Ao meu amigo e orientador Danilo Millen, que me guiou por caminhos até então desconhecidos por mim, e que floresceram e iluminaram minha trajetória profissional e pessoal. Além disso, agradeço pela confiança, incentivo, amizade e oportunidade que sempre me deu. Agradeço a imensa paciência que SEMPRE teve comigo durante a condução desse experimento e por toda minha história acadêmica. Obrigada por sempre exigir o meu melhor.

Aos meus co-orientadores Prof. Dr. Paulo Henrique Mazza Rodrigues e Dr. Gustavo Cruz pelo auxílio durante o desenvolvimento do experimento e pela confiança em mim depositada.

À equipe “Até quando durar...” (Mari, Tonho, Hebe, Kstiga, Seringueira, Jersey, Broxa e Picachu) que foram meus pés, mãos e cabeça na condução desse experimento. Obrigada por cada coleta, cada sorriso de bom dia, cada stress, cada risada e cada ajuda

de qualquer forma. Sem vocês teria sido muito mais difícil e dura a condução desse experimento. Mariana obrigada por pensar por mim quando eu estava exausta e você também, obrigada por estender a mão quando eu precisei e por amar os fistulados como eu amo. Kstiga obrigada por arrancar de todos as melhores risadas mesmo na semana de coleta quando todos estavam acabados.

Ao Flávio Perna Júnior, Roberta Carvalho e Lígia Mesquita que me ajudaram nas análises realizadas em Pirassununga e nas minhas incansáveis dúvidas durante esses 2 anos. Obrigada por cada mensagem e telefonema respondido.

À equipe Millen et al.; Murillo, André, Daniel, Daniela, Gustavo, Mariana, Beatriz, Sophia, Laís, Evandro, Luana, Beatriz (Picachu), Lucas, Ana Laura, Osvaldo, Pedro, Alice e Ariane. Obrigada pelo apoio sempre, pelas ajudas em cada coleta, e por todos esses anos de convivência. Sei que nossa jornada está só começando, mas vamos juntos que chegaremos lá.

Aos meus zootecnistas em que me espelho; e se um dia for um pouquinho do que vocês são, estarei mais que realizada: Daniel Watanabe, Murillo Stefano, Murilo Chuba, Diego Piovezan, Cassiele Aparecida, Daniel Vicari e André Nagatani.

A todos auxiliares de campo da Unesp Dracena- FCAT (Adriano, João Paulo, Fábio, Zé Nilton) que ajudaram e permitiram que esse experimento pudesse ser executado.

À banca examinadora do meu exame de qualificação, Profa. Dra. Claudia Maria Bertan Membrive e ao Prof. Dr. Ricardo Fonseca pela enorme contribuição na dissertação, permitindo a melhora desse trabalho

À Dr. Tara Felix, pela oportunidade de estágio, amizade e enorme aprendizado em tão pouco tempo. Agradeço especialmente ao Pedro e a Flávia pela amizade construída em tão pouco tempo e por todos ensinamentos e discussões sobre pesquisa e nutrição. Obrigada também a minha família de State College: Nate, Kati, Cristian, Audino, Diego, Pedro e a Flávia.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela bolsa de mestrado (processo nº 2016/04262-8) e pela bolsa BEPE (processo nº 2017/08952-1) que foram fundamentais para todo o desenvolvimento do meu mestrado e crescimento pessoal.

À todos que não foram aqui citados e que de alguma forma contribuíram para a realização dessa pesquisa.

## Certificado da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Câmpus de Dracena



# Certificado

Certificamos que a Proposta intitulada "Adaptação a Dietas de Alta Energia para Bovinos Nelore Canulados Submetidos Previamente a Restrição Nutricional ou Consumo de Ingredientes Concentrados Sobre a Fermentação Ruminal e o Perfil de Microorganismos Ruminais (Adaptation to High Energy Diets os Cannulated Nellore Cattle Previously Submitted to Either Nutritional Restriction or Intake of Concentrate Feedstuffs on Rumen Fermentation Patters and Microorganisms Profile)", registrada com o nº 20/2016 – CEUA, sob a responsabilidade do(a) Prof(a). Dr(a). Danilo Domingues Millen - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA da Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas da UNESP - Câmpus de Dracena, em reunião de 15/06/2016.

Dracena, 15 de junho de 2016.

**Profa. Dra. Sirlei Aparecida Maestá**  
Vice-Presidente da Comissão de Ética em Uso de Animais

## ADAPTAÇÃO A DIETAS DE ALTA ENERGIA PARA BOVINOS NELORE SUBMETIDOS PREVIAMENTE A RESTRIÇÃO NUTRICIONAL OU CONSUMO DE CONCENTRADOS E EFEITOS NAS CARACTERÍSTICAS RUMINAIS

**RESUMO** - O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da restrição alimentar prévia ou exposição anterior a ingredientes concentrados sobre o tempo para adaptação à dietas de alto concentrado, sob os parâmetros da fermentação ruminal e o perfil de microrganismos ruminais de bovinos Nelore canulados confinados. Foram utilizados 6 bovinos da raça Nelore, castrados, com peso vivo inicial aproximado de  $236 \pm 23$  kg, 15 meses de idade e canulados no rúmen, os quais foram divididos em dois quadrados latinos 3 x 3. Os tratamentos diferiram somente sobre o tipo de alimentação estabelecida previamente ao período de adaptação: Controle (forragem ad libitum + suplemento mineral); Restrição (forragem restrita a 1,4% do peso vivo + suplemento mineral) e Concentrado (forragem ad libitum + 0,5% do peso vivo de ingredientes concentrados e suplemento mineral). A duração deste estudo foi de 119 dias, sendo compostos por 3 períodos experimentais (33 dias cada período) e dois intervalos de washout (10 dias) entre os períodos 1 e 2, e 2 e 3. Os períodos foram divididos em: 14 dias de pré-adaptação, 6 dias de adaptação 1 (72% de concentrado), 6 dias de adaptação 2 (79% de concentrado) e 7 dias de dieta de terminação (86% de concentrado). O pH ruminal foi monitorado por meio da utilização de data loggers a cada 10 minutos. Foram avaliados a concentração de ácidos graxos de cadeia curta e amônia ruminal; a quantificação relativa das bactérias celulolíticas e utilizadoras de lactato por meio da técnica de PCR e a contabilidade total e diferencial de protozoários (0,4,8 e 12 horas após o trato). Os animais restritos, na fase de adaptação, tiveram maior concentração de AGCC ( $P < 0,01$ ), maior duração de pH abaixo de 6,2 ( $P < 0,01$ ) e menor pH máximo nos dias 15 e 16 ( $P \leq 0,10$ ) em relação ao tratamento controle. Na fase de terminação, esses animais tiveram menor CMS ( $P = 0,02$ ), maior pH médio e menor área de pH abaixo de 6,2 ( $P \leq 0,10$ ) em relação ao tratamento controle. Os animais expostos previamente ao concentrado, na fase de adaptação, tiveram menor concentração de butirato e  $\text{NH}_3$  ruminal ( $P \leq 0,10$ ) em relação ao tratamento controle. Apresentaram também menor quantidade relativa de *Fibrobacter succinogenes* ( $P = 0,10$ ) e maior CMS ( $P < 0,01$ ) em relação ao controle. Já na fase de terminação o CMS não teve diferença significativa em relação ao tratamento controle. Os animais que passaram por restrição alimentar ou por exposição de concentrado na fase de pré-adaptação apresentam características ruminais semelhantes durante a fase a terminação aos animais em forragem ad libitum.

**Palavras-chave:** acidose, confinamento, metabolismo, Nelore, rúmen

# ADAPTATION TO HIGH-ENERGY DIETS OF NELLORE CATTLE PREVIOUSLY SUBMITTED TO EITHER NUTRITIONAL RESTRICTION OR INTAKE OF CONCENTRATE FEEDSTUFFS AND THE EFFECTS ON RUMEN CHARACTERISTICS

**ABSTRACT** - The objective of this study was to evaluate the effect of diet restriction or prior exposure to concentrate ingredients prior to the adaptation period to high concentrate diet on parameters ruminal fermentation patterns and ruminal microorganisms profile of cannulated Nelore cattle. Six Nelore steers was used, with initial body weight about 350 kg, 20 months and cannulated in the rumen, which will be divided into two Latin squares 3 x 3. The treatments differed only with respect to the type of diets prior to the adaptation period: Control (forage ad libitum + mineral supplement); Restriction (forage restricted to 1.4% of body weight + mineral supplement) and concentrate (forage ad libitum + 0.5% of the body weight of concentrated ingredients + mineral supplement). The study was last 119 days, in which animals was submitted to three experimental periods (33 days each one) and two washout intervals (10 days) between the periods 1 and 2, 2 and 3; each period was divided as follows: 14 days of pre-adaptation, 6 days of adaptation 1 (72% concentrate), 6 days of adaptation 2 (79% concentrate) and 7 days of finishing diet (88% concentrate). The rumen pH and temperature was be monitored through the use of data loggers it was evaluated the rumen production of short chain fatty acids and ammonia concentration; the relative quantification of cellulolytic, amylolytic and lactate bacteria utilizing PCR and total and differential quantification of protozoa. Thus, the hypothesis is to test if Nelore cattle exposed to feed restriction or consumption of concentrate ingredients prior to the adaptation period present same rumen fermentation patters and microorganism profile when compared to animals of control treatment in the finish diet. Restricted animals, in the adaptation phase, had a higher concentration of SCFA ( $P < 0.01$ ), a higher duration of pH below 6.2 ( $P < 0.01$ ) and lower maximum pH on days 15 and 16 ( $P \leq 0.10$ ) in relation to the control treatment. In the finish diet, these animals had lower DMI ( $P = 0.02$ ), higher mean pH and lower pH area below 6.2 ( $P \leq 0.10$ ) in relation to the control treatment. The animals previously exposed to the concentrate in the adaptation diet had a lower concentration of butyrate and ruminal  $\text{NH}_3$  ( $P \leq 0.10$ ) in relation to the control treatment. They also presented lower amount of *Fibrobacter succinogenes* ( $P = 0.10$ ) and higher DMI ( $P < 0.01$ ) in relation to the control. In the termination diet the DMI did not affect in relation to the control treatment. Cattle previously submitted to either nutritional restriction or intake of concentrate have similar ruminal characteristics during the finishing diet of the animals in control treatment.

**KEYWORDS:** acidosis, feedlot, metabolism, Nelore, rumen

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Diagrama das fases do período experimental .....	25
<b>Figura 2:</b> Diagrama dos dias e atividades de um período experimental. (AGCC: ácido graxo de cadeia curta; PCR: Polymerase Chain Reaction (reação em cadeia da polímerase) .....	29
<b>Figura 3.</b> Interação entre tratamentos e horas após o trato sobre a concentração de acetato ruminal (mol/100mol) no dia 5 da fase de pré-adaptação de bovinos Nelore canulados adaptados a dietas de alta energia, submetidos previamente a restrição nutricional ou consumo de ingredientes concentrados. (EPM = 2,87). .....	35
<b>Figura 4.</b> Interação entre tratamentos e horas após o trato sobre a concentração da relação de acetato/ propionato ruminal (mol/100mol) no dia 5 da fase de pré-adaptação de bovinos Nelore canulados adaptados a dietas de alta energia, submetidos previamente a restrição nutricional ou consumo de ingredientes concentrados. (EPM = 0,15). <sup>a,b,c</sup> Médias com letras diferentes, diferem entre si (P = 0,03). A barra de erros representa o EPM. ....	48
<b>Figura 5.</b> Interação entre tratamentos e horas após o trato sobre a concentração de amônia ruminal (mM) no dia 6 da fase de pré-adaptação de bovinos Nelore canulados adaptados a dietas de alta energia, submetidos previamente a restrição nutricional ou consumo de ingredientes concentrados. (EPM = 2,72). <sup>a,b,c</sup> Médias com letras diferentes, diferem entre si (P = 0,01). A barra de erros representa o EPM. ....	49
<b>Figura 6.</b> Interação entre tratamentos e horas após o trato sobre a concentração de butirato ruminal (mol/100mol) no dia 7 da fase de pré-adaptação de bovinos Nelore canulados adaptados a dietas de alta energia, submetidos previamente a restrição nutricional ou consumo de ingredientes concentrados. (EPM = 0,31). <sup>a,b,c,d,e,f</sup> Médias com letras diferentes, diferem entre si (P = 0,03). A barra de erros representa o EPM. ....	50
<b>Figura 7.</b> Interação entre tratamentos e horas após o trato sobre a concentração de amônia ruminal (mM) no dia 16 da fase de adaptação de bovinos Nelore canulados adaptados a dietas de alta energia, submetidos previamente a restrição nutricional ou consumo de ingredientes concentrados. (EPM = 1,30). <sup>a,b,c,d,e</sup> Médias com letras diferentes, diferem entre si (P < 0,01). A barra de erros representa o EPM. ....	51

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Composição e conteúdo nutricional das dietas experimentais que foram fornecidas aos animais durante a fase de pré-adaptação. ....	26
<b>Tabela 2.</b> Composição e conteúdo nutricional das dietas experimentais que foram fornecidas aos animais durante a fase de alimentação com alta energia. ....	27
<b>Tabela 3.</b> Microrganismos que serão avaliados nesse projeto .....	31
<b>Tabela 4.</b> Consumo de MS (kg e %PV) de bovinos Nelore canulados no rúmen submetidos previamente a restrição nutricional ou consumo de ingredientes concentrados: fases de pré-adaptação, adaptação e terminação. ....	33
<b>Tabela 5.</b> Avaliação dos produtos da fermentação de bovinos Nelore canulados no rúmen submetidos previamente a restrição nutricional ou consumo de ingredientes concentrados: fase de pré-adaptação. ....	34
<b>Tabela 6.</b> Mensuração de pH de bovinos Nelore canulados no rúmen submetidos previamente a restrição nutricional ou consumo de ingredientes concentrados: fase de pré-adaptação.....	37
<b>Tabela 7.</b> Avaliação dos produtos da fermentação de bovinos Nelore canulados no rúmen submetidos previamente a restrição nutricional ou consumo de ingredientes concentrados: fase de adaptação.....	39
<b>Tabela 8.</b> Mensuração de pH de bovinos Nelore canulados no rúmen submetidos previamente a restrição nutricional ou consumo de ingredientes concentrados: fase de adaptação.....	41
<b>Tabela 9.</b> Mensuração de pH de bovinos Nelore canulados no rúmen submetidos previamente a restrição nutricional ou consumo de ingredientes concentrados: fase de terminação.....	43
<b>Tabela 10.</b> Contagem total e diferencial de protozoários (10 <sup>3</sup> /ml) de bovinos Nelore canulados no rúmen submetidos previamente a restrição nutricional ou consumo de ingredientes concentrados: fase de pré-adaptação, adaptação e terminação. ....	45
<b>Tabela 11.</b> Contagem total e diferencial de protozoários (%) de bovinos Nelore canulados no rúmen submetidos previamente a restrição nutricional ou consumo de ingredientes concentrados: fase de pré-adaptação, adaptação e terminação. ....	46
<b>Tabela 12.</b> Quantificação de microrganismos ruminais de bovinos Nelore canulados no rúmen submetidos previamente a restrição nutricional ou consumo de ingredientes concentrados: fase de pré-adaptação, adaptação e terminação. ....	53

**Tabela 13.** Avaliação dos produtos da fermentação de bovinos Nelore canulados no rúmen submetidos previamente a restrição nutricional ou consumo de ingredientes concentrados: fase de terminação. ....55

## SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais .....	16
1.1 Introdução .....	16
1.2 Revisão Bibliográfica .....	18
1.2.1 Adaptação a dietas de confinamento e seus protocolos .....	18
1.2.2 Uso de dietas com alto teor de concentrado e o ambiente ruminal .....	19
Referências Bibliográficas.....	21
CAPÍTULO 2.....	23
2.1 Introdução .....	23
2.2 Material e Métodos .....	24
2.2.1 Local do experimento .....	24
2.2.2 Animais .....	24
2.2.3 Tratamentos e Delineamento Experimental .....	24
2.2.4 Manejo, arraçoamento e cuidado com os animais .....	27
2.2.5 Período Experimental .....	28
2.2.6 Mensuração contínua de pH .....	29
2.2.7 Avaliação dos produtos da fermentação ruminal .....	29
2.2.8 Quantificação de microrganismos ruminais.....	30
2.2.9 Contagem diferencial e total de protozoários.....	31
2.3 Análise de Dados .....	32
2.4 Resultados e Discussão.....	33
2.4.1 Efeitos da restrição nutricional.....	33
2.4.2 Efeitos do consumo de concentrado.....	47
2.5 Conclusão .....	56
Referências Bibliográficas.....	56

## **CAPÍTULO 1 – Considerações gerais**

### **1.1 Introdução**

A indústria de bovinos de corte no Brasil é caracterizada por animais alimentados predominantemente em regime de pastagem, porém, como estratégia para manter o constante fornecimento de carne para os mercados interno e externo, a utilização de confinamentos no país vem aumentando, principalmente na época da seca do ano, em que a disponibilidade e qualidade das pastagens é reduzida. Em 2008, o Brasil confinava aproximadamente 3 milhões cabeças e no ano de 2014 confinou 4.490.774 cabeças bovinas (ANUALPEC, 2015), o que representa um aumento de aproximadamente 50% em cabeças confinadas em 6 anos.

O confinamento viabiliza o abate de bovinos mais jovens, com melhor acabamento de carcaça e aumenta o número de bovinos terminados em decorrência da maior velocidade do ganho de peso, sobretudo, traz melhorias na qualidade da carcaça e da carne, e intensifica o uso da terra (RESTLE; VAZ, 2003). Desse modo, para atingir tais parâmetros é imprescindível o uso de rações com elevados teores de energia ou carboidratos não fibrosos, principalmente o amido, uma vez que na fase de terminação o animal apresenta elevada exigência em nutrientes, principalmente quando se almeja um ganho de peso diário alto (SANTOS et al., 2004).

Desse modo, observa-se um aumento na inclusão de grãos das dietas de terminação. Pinto e Millen (2016) ao realizarem um levantamento sobre a evolução dos confinamentos no Brasil em 2015, reportaram que 33,3% dos entrevistados utilizam mais de 66% de grãos nas dietas de terminação, evidenciando aumento quando comparado aos 24,3% encontrado por Oliveira e Millen (2014) e aos 6,5% observado por Millen et al. (2009). Além disso, os autores também reportaram que nenhum nutricionista participante do último levantamento recomendou níveis de inclusão de grãos menores que 36%; já nos outros dois levantamentos anteriores, 19,4% (MILLEN et al., 2009) e 6,1% (OLIVEIRA; MILLEN, 2014) dos entrevistados incluíam de 20 a 35% de grãos nas dietas de terminação.

Segundo Bevans et al., (2005), a adaptação de bovinos confinados advindos da dieta de alta forragem para a dieta de alto concentrado, causam mudanças marcantes no ambiente ruminal. Desta forma, torna-se necessário determinar um tempo para que uma população microbiana estável se estabeleça. Sendo assim, busca-se uma melhor estratégia para prevenir transições abruptas de dietas com base em forragens para dietas

com altos teores de concentrado, pois esse período de transição é considerado crítico, mesmo este representando menos de 20%, aproximadamente, do tempo total de alimentação para a maioria dos bovinos confinados (BROWN; MILLEN, 2009).

Há na literatura diversos estudos em que os autores determinam o período de adaptação mais adequado às dietas com altos teores de concentrado para bovinos Nelore (PARRA et al., 2011; BARDUCCI et al., 2012; ESTEVAM et al., 2015; PERDIGÃO et al., 2017). Com base nos resultados desses estudos conduzidos, constatou-se que o período de adaptação mais adequado para bovinos Nelore no Brasil é de 14 dias, independentemente do tipo de protocolo de adaptação adotado, ou do tipo de processamento do milho (silagem de grãos úmidos ou finamente moídos). Brown et al., (2006) concluíram que adaptar bovinos com aumentos graduais de concentrado de 55 a 90% na matéria seca, em período inferior ou igual a 14 dias, geralmente resulta em desempenho reduzido durante a adaptação ou ao longo de todo o período de terminação. Pinto e Millen (2016), em levantamento realizado com nutricionistas brasileiros no ano de 2015, relataram que assim como em levantamentos anteriores (VASCONCELOS; GALYEAN, 2007; MILLEN et al., 2009; OLIVEIRA; MILLEN, 2014), o método de adaptação preferido por 57,8% dos nutricionistas entrevistados foi o programa de escadas (*step up*).

Vale ressaltar que os confinamentos brasileiros não recebem sempre o mesmo “tipo” de animal do sistema de recria. Em levantamento realizado por Pinto e Millen (dados não publicados) no ano de 2015 sobre os confinamentos brasileiros, 27,3% dos nutricionistas entrevistados dizem não realizar programas de recebimento; ou seja, esses animais chegam e já entram direto na dieta de adaptação, não havendo tempo para suprimir efeito de “dietas” anteriores. Existem basicamente três tipos de animais que chegam no confinamento: advindo de um sistema de pastagem com um bom manejo, tendo pasto suficiente e suplemento mineral, advindos de um sistema de pastejo deficiente, podendo ser restritos nutricionalmente e os animais advindo de um sistema de pastagem com um bom manejo que recebem uma quantia de suplemento concentrado.

Nos quatro estudos citados acima (PARRA et al., 2011; BARDUCCI et al., 2012; ESTEVAM et al., 2015; PERDIGÃO et al., 2017), os animais passaram por um período de recebimento de dez dias, onde consumiram dieta a base de forragem *ad libitum*, portanto, esses animais estavam nas mesmas condições alimentares quando os estudos ocorreram. Então faz-se necessário um estudo que avalie o período de adaptação para os três “tipos” de animais que chegam aos confinamentos, pois não se sabe ao certo como os animais restritos ou os que receberam concentrado se adaptam no mesmo período

que os animais que recebiam uma forragem de alta qualidade antes da entrada no confinamento.

## **1.2 Revisão Bibliográfica**

### **1.2.1 Adaptação a dietas de confinamento e seus protocolos**

Estudos sobre os protocolos utilizados no período de adaptação para bovinos Nelore são recentes no Brasil (PARRA et al., 2011; BARDUCCI et al., 2012; ESTEVAM et al., 2015; PERDIGÃO et al., 2017). Até então, grande parte dos nutricionistas brasileiros utilizavam protocolos de adaptação de forma prática ou com base em informações geradas por outros países, como os Estados Unidos. Porém muitas vezes a realidade desses países não condiz com a realidade brasileira, por exemplo os Estados Unidos tem como período médio de confinamento 201 dias, sendo em média 24 dias de período de adaptação (SAMUELSON et al., 2016). Millen et al. (2009) e Oliveira e Millen (2014), em levantamentos realizados com nutricionistas brasileiros relataram que a duração média do período de adaptação adotados pelos nutricionistas foram de 17,1 e 18,6 dias, e, que o período médio que bovinos permanecem no confinamento são de 83,4 e 87,7 dias. Assim como os dias em confinamento são diferentes, as raças dos animais utilizados também são diferentes. Nos Estados Unidos a raça predominantes pertencem a subespécie *Bos taurus taurus*, já no Brasil pertencem à *Bos taurus indicus*. Segundo Pacheco et al. (2012) os bovinos da raça Nelore são mais susceptíveis a problemas metabólicos, como a acidose, do que bovinos com algum tipo de genótipo *Bos taurus* em sua composição.

Surgiu, então, a necessidade de se estudar o período de adaptação no Brasil. Brown et al. (2006) relataram que bovinos de corte não podem ser adaptados em menos de 14 dias à dietas com altos teores de concentrado sem que o desempenho seja prejudicado. Sabendo que o tempo de confinamento dos animais brasileiros é menor que o americano, propõem-se períodos de adaptação mais curtos. Dessa forma, Parra et al. (2011) estudaram os efeitos de protocolos de adaptação de 14 e 21 dias sobre as papilas ruminais de bovinos Nelore em confinamento e relataram que animais submetidos ao protocolo de 21 dias, apresentaram epitélio ruminal com maior superfície de absorção em relação aos que foram expostos ao protocolo mais curto. Porém Millen et al. (2011) relataram que não houve diferenças em termos de desempenho e índice de rumenites entre bovinos adaptados por 14 ou 21 dias após 84 dias de confinamento e que animais adaptados por 14 dias apresentaram maiores peso de carcaça quente e rendimento de

carcaça, o que mostra que é mais vantajoso adaptar bovinos Nelore por período de 14 dias.

Já Barducci et al. (2012) não encontraram diferenças em termos de desempenho e características de carcaça entre bovinos Nelore adaptados em 9 ou 14 dias após 84 dias de alimentação; porém animais adaptados por 9 dias apresentaram menor superfície absorptiva no epitélio ruminal ao final da adaptação. Da mesma forma, Rigueiro et al. (2013) reportou que a digestibilidade do amido e do **NDT** (Nutrientes digestíveis total) no trato gastrointestinal só se estabilizaram a partir do 15º dia de alimentação. Desta forma, adaptar bovinos Nelore em menos de 14 dias pode ser possível, desde que o manejo alimentar seja excelente, já que nem o epitélio ruminal estará totalmente desenvolvido, e nem a digestibilidade dos nutrientes estará estabilizada.

O método preferido de adaptação utilizado pelos nutricionistas brasileiros é o de escadas (step-up) (MILLEN et al., 2009; OLIVEIRA; MILLEN, 2014; PINTO; MILLEN, 2016). O protocolo de escadas consiste do fornecimento de níveis crescentes de ingredientes concentrados até que seja atingido o nível desejado de concentrado na ração de terminação.

### **1.2.2 Uso de dietas com alto teor de concentrado e o ambiente ruminal**

O sucesso dos ruminantes pode ser largamente explicado pela habilidade destes em digerir materiais fibrosos. O fato destes animais hospedarem microrganismos que produzem enzimas que degradam fibra confere a eles uma vantagem competitiva em relação aos outros animais na natureza (RUSSEL; RICHLIK, 2001). Todavia, altos níveis de produtividade não podem ser sustentados por dietas baseadas apenas em forragens. Frequentemente grãos e carboidratos não estruturais são empregados nas dietas de bovinos. Como consequência desta ação há um aumento no aporte de energia para os mesmos, o qual determina uma melhoria no desempenho produtivo do animal.

O ambiente ruminal é um complexo ecossistema composto por bactérias, protozoários, fungos e arqueas. Dentre esses microrganismos presentes no rúmen, as bactérias são os mais investigados, cujo o efeito sobre o desempenho animal é significativo (FERNANDO et al., 2010). Esses microrganismos são altamente sensíveis a alteração na dieta, em que quantidades de espécies bacterianas individuais podem alterar em resposta à alimentação (LI et al., 2009).

Em ruminantes, a fermentação ruminal se dá pela atividade física e microbiológica no rúmen, que transforma os componentes dietéticos em proteína microbiana, ácidos

graxos de cadeia curta, vitaminas do complexo B e vitamina K, bem como também em metano, dióxido de carbono, amônia e nitrato (OWENS; GOETSCH, 1993). A introdução de carboidratos rapidamente fermentáveis resulta em uma maior redução de bactéria fibrolítica e um rápido crescimento de bactérias amilolíticas (TAJIMA et al., 2001).

Esse aumento de carboidratos fermentáveis no rúmen estimula o crescimento microbiano, o que pode resultar em maior fermentação ruminal. Com uma maior fermentação ruminal, há um aumento na produção de **AGCC** (ácidos graxos de cadeia curta), que se não absorvidos pelas paredes ruminais pode abaixar o pH do rúmen, que influencia também na sobrevivência das bactérias no ambiente. Além das bactérias, os protozoários também são sensíveis ao pH. Todo protozoário é rapidamente morto com a variação muito elevada de pH ruminal (HUNGATE, 1992).

Uma grande proporção de carboidratos rapidamente fermentáveis presentes nas rações está diretamente relacionada com a incidência de acidose e provoca várias mudanças ruminais como: aumento da disponibilidade de glicose livre, estímulo no crescimento de diversas bactérias, aumento na produção de AGCC (principalmente o ácido lático), redução do pH e da motilidade do rúmen e aumento da susceptibilidade a rumenites e hiperqueratose (DIRKSEN, 1989; NOCEK et al., 1984; OWENS et al., 1998).

Segundo o levantamento com nutricionistas de gado confinado no Brasil, realizado por Millen et al. (2009), 36% dos nutricionistas entrevistados citam a acidose ruminal ou problemas ligados com à acidose (laminites e timpanismo) como segundo maior problema relacionado à saúde de bovinos confinados no país. Oliveira e Millen (2014), alegam que 34,4% dos nutricionistas entrevistados possuem a acidose como segundo maior problema ligado à saúde de bovinos confinados.

Portanto, a manutenção de um ambiente ruminal menos ácido e compatível com a manutenção de processos digestivos fisiologicamente eficientes em ruminantes consumindo dietas de alta fermentabilidade é diretamente dependente da capacidade de absorção da parede do rúmen. Além disso, como o tempo de adaptação dos bovinos brasileiros é menor, o desafio encontrado é maior, com riscos de consequências desconhecidas cientificamente e com maior impacto sobre o metabolismo animal.

Deste modo, estudos que investiguem a fermentação ruminal e a produção e absorção de AGCC de bovinos que foram ou não alimentados previamente com concentrado, ou ainda passaram por algum período de restrição, antes da chegada ao confinamento, seriam de grande importância para o melhor entendimento entre a acidose e o período de adaptação, para que ocorra melhor planejamento a fim de ser obter melhor desempenho dos animais.

## Referências Bibliográficas

ANUALPEC 2015: Anuário da pecuária brasileira. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2015.

BARDUCCI, R. S. **Protocolos e durações de adaptação às dietas com alta inclusão de concentrados para bovinos Nelore confinados**. 2013. 100 f. Tese (Doutorado) - Curso de Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2013.

BEVANS, D. W.; BEAUCHEMIN, K.A; SCHWARTZKOPF-GENSWEIN, K.S.; McKINNON, J. J.; McALLISTER, T. A... Effect of rapid or gradual grain adaptation on subacute acidosis and feed intake by feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v. 83, p. 1116-1132, 2005.

BROWN, M. S.; PONCE, C. H.; PULIKANI, R. Adaptação de bovinos de corte a dietas de alto concentrado: Desempenho e metabolismo ruminal. **Journal of Animal Science**, v. 84, p. 25-33, 2006.

BROWN, M. S.; MILLEN, D. D. Protocolos para adaptar bovinos confinados a dietas de alto concentrado. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE NUTRIÇÃO DE RUMINANTES: recentes avanços na nutrição de bovinos confinados, 2., 2009, Botucatu.: **Anais...** Botucatu: UNESP, Faculdade de Ciências Agronômicas, 2009. p. 2-22

DIRKSEN, G. Rumen function and disorders related to production disease. In: INT. CONF. DIS. FARM ANIM., , 7., 1989, Ithaca. **Proceedings...** Ithaca: [s.n.], 1989. Pag. 350.

ESTEVAM, D. D. **Períodos de adaptação de bovinos Nelore confinados a dietas de alto teor de concentrado**. 2016. 89 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2016.

FERNANDO, C.S.; PURVIS, H. T.; NAJAR, F. Z.; SUKHARNIKO, L. O.; KREHBIEL, R.; NAGARAJA, T. G.; ROE, B. A.; DeSILVA, U.. Rumen microbial population dynamics during adaptativo to a high-grain diet. **Applied and Environmental Microbiology**, Oklahoma. v. 76, n. 22 p. 7482-7490, 2010.

LI, M.; PENNER, G.B; HERNANDEZ-SANABRIA, E.; OBA, M.; GUAN, L.L.. Effects of sampling location and time, and host animal on assessment of bacterial diversity and fermentation parameters in the bovine rumen. **Journal of applied Microbiology**, v. 107, p. 1924-1934, 2009.

MILLEN, D. D.; PACHECO, R. D. L.; ARRIGONI, M. D. B.; GALYEAN, M. L.; VASCONCELOS, J. T.. A snapshot of management practices and nutritional recommendations used by feedlot nutritionists in Brazil. **Journal of Animal Science**, v. 87, p. 3427-3439, 2009.

MILLEN, D. D.; PARRA, F.S.; RONCHESEL, J. R.; ARRIGONI, M. D. B.; MARTINS, C. L.; BARDUCCI, R. S.; SARTI, L. M. N.; OACHECO, R. D. L.; VIEIRA JÚNIOR, L. C.; FRANZOI, M. C. S.; ESPIGOLAN, R.; SILVA, J. M. P.; VAL, M. F.; LUIZ, F. P.; CHACON FILHO, E. A.. Effects of restricted versus conventional dietary adaption over periods of 14 and 21 days on feedlot performance and carcass characteristics of Nelore cattle. **Journal of Animal Science**, v. 89, E-suppl. 1, p. 611-612, 2011.

- NOCEK, J. E.; HEALD, C. W.; POLAN, C. E. Influence of ration of physical form and nitrogen availability on ruminal morphology of growing bull calves. **Journal of Dairy Science**, v.67, p. 334-343, 1984.
- OLIVEIRA, C. A.; MILLEN, D. D. Survey of the nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists in Brazil. **Animal Feed Science and Technology**, v. 197, p. 64-75, 2014.
- OWENS, F. N.; SECRIST, D. S.; HILL, W. J.; GILL, D. R... Acidosis in cattle: A review. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 275-286, 1998.
- PACHECO, R. D. L.; MILLEN, D. D.; DiLORENZO, N.; MARTINS, C. L.; MARINO, C. T.; FOSSA, M. V.; BEIER, S. L.; DiCOSTANZO, A.; RODRIGUES, P. H. M.; ARRIGONI, M. D. B.. Effects of feeding a multivalent polyclonal antibody preparation on feedlot performance, carcass characteristics, rumenitis, and blood gas profile in *Bos indicus* biotype yearling bulls. **Journal of Animal Science**, v. 90, p. 1898-1909. 2012.
- PARRA, F. S. **Protocolos de adaptação à dietas com alta inclusão de concentrados para bovinos nelore confinados**. 2011. 77 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2011.
- PERDIGÃO, A.; MILLEN, D. D.; BRICHI, A. L. C.; VICARI, D. V. F.; FRANZÓI, M. C. S.; MARTINS, C. L.; ESTEVAM, D. D.; CESAR, M. T.; ARRIGONI, M. D. B.. Effects of restricted vc. Step up dietary adaptation for 6 or 9 days on feedlot performance, feeding behaviour, ruminal and blood variables of Nelore cattle. **J. Anim Physiol Nutr.** 1-11. 2017
- PINTO, A. C. J.; MILLEN, D. D. Situação atual da engorda de bovinos em confinamento e modelos nutricionais em uso. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 10., 2016, Viçosa. **Anais...** .v.1. Viçosa/MG: UFV, 2016. p. 103-120.
- RIGUEIRO, A. L. N. **Protocolos para o uso combinado de monensina sódica e virginiamicina em dietas de bovinos Nelore confinados**. 2016. 74 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Dracena, 2016.
- RUSSEL, J. B.; RYCHLIK, J. L. Factors that alter rumen microbial ecology. **Science**, v. 292, p. 1119-1122, 2001.
- SAMUELSON, K. L.; HUBBERT, M.E.; GALYEAN, M. L.; LÖEST, C. A.. Nutritional recommendations of feedlot consulting nutritionists: the 2015 New Mexico State and Texas Tech University survey. **Journal of Animal Science**, v. 94, p. 2648-2663, 2016.
- TAJIMA, K.; AMINOV, R. I.; NAGAMINE, T.; MATSUI, H.; NAKAMURA, M.; BENNO, Y.. Diet-dependent shifts in the bacterial population of the rumen revealed with real-time PCR. **Appl Environ Microbiol.** v 67, p. 2766–2774. 2001
- VASCONCELOS, J. T.; GALYEAN, M. L. Nutritional recommendations of feedlot consulting nutritionists: The 2007 Texas Tech University survey. **Journal of Animal Science**, v. 85, p. 2772-2781, 2007.

## CAPÍTULO 2

### 2.1 Introdução

Embora o sistema de criação de gado de corte no Brasil seja predominantemente extensivo, o uso de confinamentos na terminação de bovinos, apesar de recente no Brasil, cresceu consideravelmente nos últimos dez anos, de forma a acompanhar a crescente demanda mundial por carne (OLIVEIRA e MILLEN, 2014). Porém, essa passagem do animal do sistema de pastagem para confinamento requer muita atenção, pois um descuido neste momento pode gerar problemas nos animais diminuindo seu desempenho.

Portanto, o período de adaptação dos bovinos é o período mais crítico de um confinamento, pois representa uma fase de transição tanto dos microrganismos quanto do epitélio ruminal. Durante essa fase, há uma mudança no tipo de microbiota ruminal e um desenvolvimento para maior absorção de AGCC do epitélio ruminal.

Pinto e Millen (2016), em um levantamento realizado com nutricionistas de confinamentos brasileiros, relataram que o número médio de dias utilizados pelos entrevistados para o alcançar o fornecimento da dieta de terminação, quando utilizada a adaptação em escadas, foi de 16,2. Além disso, 27,3% dos nutricionistas entrevistados dizem não realizar programas de recebimento; ou seja, esses animais chegam e já entram direto na dieta de adaptação, não havendo tempo para suprimir efeito de “dietas” anteriores (Pinto e Millen- dados não publicados). Desse modo, podemos encontrar três tipos de animais que chegam nos confinamentos: o que são advindos de uma boa pastagem com suplemento mineral (manutenção), os que são advindos de uma pastagem sem uma boa manutenção podendo ter restrição quantitativa ou qualitativa e os animais que tem uma boa pastagem e ainda recebem um suplemento de concentrado.

Em estudos realizados no Brasil sobre protocolos de adaptação PARRA et al., 2011; BARDUCCI et al., 2012; ESTEVAM et al., 2015 e PERDIGÃO et al., 2017 recomendam que em 14 dias os animais Nelore estão aptos a receber a dieta de terminação. Porém, nos quatro estudos citados acima, os animais passaram por um período de recebimento de dez dias, onde consumiram dieta a base de forragem *ad libitum*, para simular que os animais são advindos de uma boa pastagem com suplemento mineral. Porém, percebe-se que essa não é uma realidade concreta no país.

Esses três “tipos” de animais que chegam nos confinamentos são adaptados da mesma forma, uma vez que não há protocolos específicos de adaptação para eles. Então

estudos que envolvam os efeitos do estado nutricional de bovinos no momento da chegada ao confinamento; sejam estes alimentados para a manutenção das necessidades fisiológicas, em restrição nutricional qualitativa ou quantitativa de alimentos, ou ainda expostos previamente a ingredientes concentrados; são de suma importância para a pecuária brasileira. Sendo assim, o objetivou-se avaliar o efeito da nutrição prévia ao confinamento (restrita ou irrestrita e com inclusão de concentrados) na adaptação às dietas de alto teor de concentrado em animais Nelore.

## **2.2 Material e Métodos**

### **2.2.1 Local do experimento**

O estudo foi conduzido na Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas (FCAT) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Dracena, no confinamento experimental de bovinos de corte.

As análises de concentração de AGCC e PCR real time foram realizadas na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo- campus Pirassununga. A mensuração da concentração de AGCC foi realizada no laboratório de no laboratório de Nutrição de Ruminantes (fistulados). As análises de PCR foram realizadas no laboratório de Genética Funcional.

### **2.2.2 Animais**

Foram utilizados 6 animais da raça Nelore, castrados, com peso vivo inicial aproximado de  $236 \pm 23$  kg, 15 meses de idade, e canulados no rúmen. O experimento foi realizado de acordo com as normas da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Campus de Dracena, sob o protocolo 20/2016.

### **2.2.3 Tratamentos e Delineamento Experimental**

Os animais foram divididos aleatoriamente em dois quadrados latinos 3 x 3 (contemporâneos) de acordo com o tipo de dieta fornecida no período de pré-adaptação (Tabela 1)

Tabela 1: Quadrados latinos 3x3 do presente estudo, sendo que os números representam os animais.

	Restrição	Controle	Concentrado
Período 1	1 e 6	2 e 3	4 e 5
Período 2	4 e 5	1 e 6	2 e 3
Período 3	2 e 3	4 e 5	1 e 6

Os animais foram submetidos à três fases de alimentação denominadas como pré-adaptação, adaptação e terminação (Figura1). O período de pré-adaptação durou 14 dias, o de adaptação (1 e 2) durou 12 dias em que cada dieta foi fornecida por seis dias cada uma. A fase de terminação durou 7 dias. Os animais foram pesados nos dias 1 e 33 de cada período. Sendo assim, o estudo teve duração de 119 dias: 14 dias de pré-adaptação e 19 dias de alimentação com alta energia (adaptação e terminação) em cada período, com intervalo de 10 dias (*washout*) entre os períodos 1 e 2, e 2 e 3.



**Figura 1:** Diagrama das fases do período experimental

Durante a fase de pré-adaptação os animais receberam um dos tratamentos. Os tratamentos foram: Controle (forragem ad libitum + suplemento mineral); Restrição (forragem restrita a 1,4% do peso vivo + suplemento mineral) e Concentrado (forragem ad libitum + 0,5% do peso vivo de ingredientes concentrados) (Tabela 2).

**Tabela 2:** Ingredientes e composição nutricional das dietas experimentais que foram fornecidas aos animais durante a fase de pré-adaptação.

	Tratamentos		
	Controle	Restrição	Concentrado
<b>Ingredientes (% MS)</b>			
Feno de <i>Tifton 85</i>	97,38	97,38	79,44
Milho moído fino	-	-	16,67
Farelo de algodão	-	-	1,56
Ureia	0,75	0,75	0,67
Sal mineral <sup>1</sup>	1,88	1,88	1,67
<b>Composição Nutricional</b>			
Matéria Seca (MS)	88,00	88,00	88,00
Nutrientes Digestíveis Totais (%MS)	46,00	46,00	53,00
Proteína Bruta (%MS)	12,40	12,40	12,50
Fibra em Detergente Neutro (%MS)	73,50	73,50	62,90
PeNDF <sup>2</sup> (%MS)	70,00	70,00	58,00
Ca (%MS)	0,58	0,58	0,53
P (%MS)	0,24	0,24	0,27

<sup>1</sup>Ca:98,0g/kg; P:45,0g/kg; S:40g/kg; Mg:44g/kg; K:65,5g/kg; Na:114,5g/kg; Co:48,5mg/kg; Cu:516mg/kg; I:30mg/kg; Mn:760mg/kg; Se:9,0mg/kg; Zn:2516,5mg/kg; monensina sódica:2000,0mg/kg e F:450,0mg/kg; <sup>2</sup>Fibra em detergente neutro fisicamente efetiva.

Após o término da fase de pré-adaptação, todos os animais receberam as mesmas dietas, tanto na fase de adaptação, quanto na de terminação (Tabela 2). Para a adaptação foram utilizadas 2 dietas, a adaptação 1 em que os animais receberam uma dieta com 72% de concentrado e a adaptação 2 uma dieta com 79% de concentrado. Na terminação foi fornecido uma dieta com 86% de concentrado.

**Tabela 3:** Ingredientes e composição nutricional das dietas experimentais fornecidas aos animais durante a fase de adaptação 1, adaptação 2 e terminação.

Dietas	Adaptação 1	Adaptação 2	Terminação
<b>Nível de Concentrado (%)</b>	72	79	86
<b>Ingredientes (% MS)</b>			
Bagaço <i>in natura</i>	14,00	10,50	7,00
Feno de <i>Tifton 85</i>	14,00	10,50	7,00
Grãos de milho quebrados	51,00	60,50	73,50
Farelo de Algodão	18,70	15,70	9,00
Ureia	0,80	1,00	1,20
Calcário	0,50	0,60	0,80
Suplemento Mineral <sup>1</sup>	1,00	1,20	1,50
<b>Conteúdo Nutricional</b>			
Matéria Seca (MS)	73,00	76,00	80,00
Nutrientes Digestíveis Totais (%MS)	69,00	72,00	75,00
Proteína Bruta (%MS)	15,00	15,00	14,10
Fibra em Detergente Neutro (%MS)	36,80	31,30	24,70
PeNDF <sup>2</sup> (%MS)	27,00	23,00	19,00
Ca (%MS)	0,61	0,65	0,72
P (%MS)	0,46	0,46	0,42

<sup>1</sup>Ca:98,0g/kg; P:45,0g/kg; S:40g/kg; Mg:44g/kg; K:65,5g/kg; Na:114,5g/kg; Co:48,5mg/kg; Cu:516mg/kg; I:30mg/kg; Mn:760mg/kg; Se:9,0mg/kg; Zn:2516,5mg/kg; monensina sódica:2000,0mg/kg e F:450,0mg/kg; <sup>2</sup>Fibra em detergente neutro fisicamente efetiva.

#### 2.2.4 Manejo, arraçamento e cuidado com os animais

Os seis bovinos Nelore canulados no rúmen foram submetidos ao mesmo fornecimento de dietas, tipo de alojamento e manejo. O programa de recebimento dos animais ocorreu da seguinte forma: os animais foram pesados, tratados com anti-helmínticos, e vacinados contra doenças virais e bacterianas (rota e coronavírus, tétano, botulismo e sete tipos de *Clostridium* spp; “Cattlemaster, Pfizer Animal Health, New York, NY”). O arraçamento foi realizado diariamente no período da manhã (08:00).

As baias eram parcialmente concretadas, com boa facilidade na circulação do ar e 1 animal por baia (72 m<sup>2</sup> e 6 m linear de cocho por animal), sempre com água à vontade disponível em bebedouro automático.

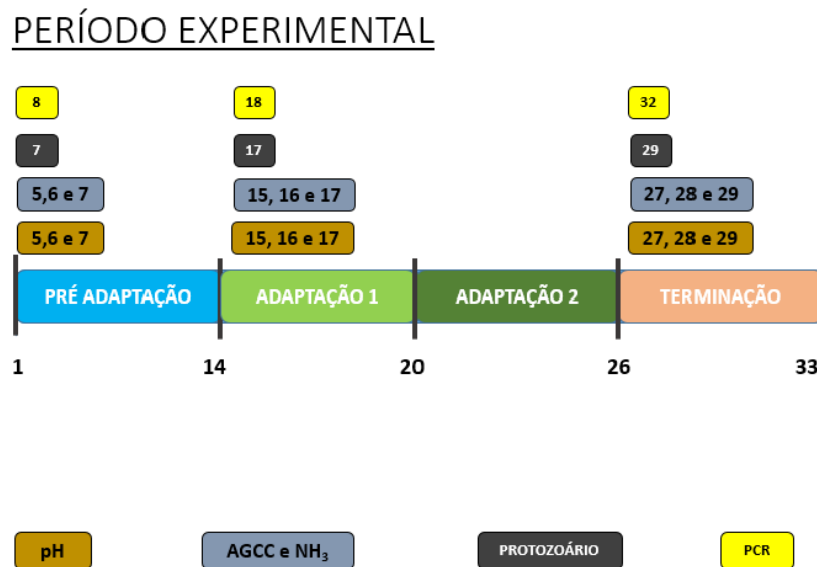
O protocolo de adaptação utilizado foi em escada (step up), ou seja, foi fornecido duas dietas de adaptação, as quais continham 72% (Adaptação 1) e 79% (Adaptação 2) de concentrado. A dieta de terminação era composta por 86% de ingredientes concentrados (Tabela 2). Tanto nas dietas de adaptação quanto na de terminação foi adicionado água na batida para que as dietas mantivessem, em média, a mesma matéria seca (72% a 75%).

As rações experimentais foram formuladas segundo o LRNS (Large Ruminant Nutrition System; FOX et al. 2004), nível 2, cujos níveis estão apresentados nas Tabelas 1 e 2. As rações da fase de alimentação de alta energia foram fornecidas *ad libitum* e submetidas a ajustes de quantidade diariamente, com base na quantidade de sobra nos cochos, a qual foi mantida em 5% da quantidade oferecida. Já as rações da fase de pré-adaptação foram fornecidas de acordo com os tratamentos descritos anteriormente.

A ingestão de matéria seca (**IMS**) foi medida para cada baia por meio da pesagem do alimento fornecido diariamente, e consequente pesagem da sobra (5% de sobra) antes do trato da manhã seguinte, 24 horas após o fornecimento. A determinação da matéria seca da ração total foi efetuada todos os dias, para então se obter a IMS diária, a qual será expressa em quilos e em porcentagem do peso vivo.

### **2.2.5 Período Experimental**

Segue um esquema dos dias de coleta para cada uma das variáveis que foram analisadas no presente experimento. As variáveis analisadas serão descritas a seguir.



**Figura 2:** Diagrama dos dias e atividades de um período experimental. (AGCC: ácido graxo de cadeia curta; PCR: Polymerase Chain Reaction (reação em cadeia da polimerase))

### 2.2.6 Mensuração contínua de pH

A mensuração de pH foi realizada através de um data logger (bolus) segundo metodologia de Penner et al (2006). Dois pesos de 900 g foram acoplados ao bolus manter a “probe” no saco ventral do rúmen A conexão da “probe” ao computador permite a programação da mesma para diferentes intervalos de mensuração, bem como o descarregamento dos dados mensurados diretamente em uma planilha formato Excel (Microsoft Office 2013). Com este sistema de monitoração, o pH ruminal foi mensurado nos dias 5, 6 e 7 (fase pré-adaptação); 15, 16 e 17 (alimentação com alta energia, dieta de adaptação 1); 27, 28 e 29 (fase de alimentação com alta energia, dieta de terminação) de cada um dos três períodos experimentais. Esta mensuração permitiu o cálculo das variáveis: pH médio (média de 24 horas), pH mínimo (pH mínimo durante 24 horas), pH máximo (pH máximo durante 24 horas), tempo em que o pH permaneceu abaixo de 5,8; 6,0 e 6,2 em minutos, área de pH abaixo 5,8; 6,0 e 6,2 segundo Bevans et al. (2005). Antes e após a colocação das “probes” nos animais, as mesmas foram calibradas em soluções de pH 7,0 e 4,0.

### 2.2.7 Avaliação dos produtos da fermentação ruminal

As amostras de líquido ruminal foram colhidas via cânula, por intermédio de bomba de vácuo, às 0, 4, 8, e 12 horas após a refeição matinal nos dias 5, 6 e 7 (fase de pré-

adaptação), 15, 16 e 17 (fase de alimentação com alta energia, dieta de adaptação 1) e 27, 28 e 29 (fase de alimentação com alta energia, dieta de terminação) de cada um dos três períodos experimentais. Em cada horário, foram coletados aproximadamente 500 mL de conteúdo ruminal, em diferentes pontos do rúmen. A amostra referente a 0 hora foi realizada logo antes do fornecimento da alimentação (8:00 horas). Logo após a coleta do líquido ruminal, as amostras foram preparadas para a posterior determinação da concentração total e proporção molar dos AGCC e nitrogênio amoniacal ( $\text{N-NH}_3$ ). Para a determinação dos AGCC, uma fração de aproximadamente 100 mL de conteúdo ruminal foi centrifugada a 3500 rpm por 15 minutos; 2 mL do sobrenadante foi colocado em tubo de ensaio arrolhado, sendo acondicionado com 0,4 mL de ácido fórmico e mantido em congelador (-20 °C) até o momento da análise, a qual foi realizada por meio de cromatografia gasosa, segundo método descrito por Erwin et al. (1961). Para esta avaliação foi utilizado um cromatógrafo a gás (Finnigan, modelo 9001) equipado com coluna Megabore da Ohio Valley, modelo OV-351 de 1 Micron, possuindo 30 m de comprimento e 0,53 mm de diâmetro. Para determinação da concentração de nitrogênio amoniacal, frações de 2 mL de líquido ruminal foram colocadas em tubos de ensaio contendo 1 mL de solução de ácido sulfúrico 1N e armazenadas sob refrigeração até a realização das análises por colorimetria, segundo método descrito por Kulasek (1972) adaptado segundo Foldager (1977).

### 2.2.8 Quantificação de microrganismos ruminais

Foram quantificados por PCR em tempo real a população de um microrganismo que degrada celulose (*Fibrobacter succinogenes*), um microrganismo que produz lactato (*Streptococcus bovis*) e um microrganismo utilizador de lactado (*Megasphaera elsdenii*) nos dias nos dias 8 (fase de pré-adaptação), 18 (fase de alimentação com alta energia, dieta de adaptação 1) e 30 (fase de alimentação com alta energia, dieta de terminação) de cada período experimental. Os primers forward e reverse utilizado para detectar cada bactéria estão descritos na tabela 4. As amostras do conteúdo ruminal (composta por uma porção de fração sólida e uma porção de fração líquida) foram coletadas durante o esvaziamento ruminal que ocorreu nos dias 8, 18 e 30 de cada período (foram coletadas sempre 4h após o fornecimento da alimentação matinal). As amostras retiradas foram processadas imediatamente após as coletas, para limpeza e extração do material coletado e armazenadas adequadamente em freezer -20°C, para posteriores procedimentos de quantificação de bactérias. Foi feita uma quantificação relativa destas

bactérias em relação ao total de bactérias presentes na amostra de conteúdo ruminal. O DNA total foi extraído das amostras de conteúdo ruminal (foi utilizado o kit QIAamp DNA Stool para purificação e extração de DNA). Uma amostra representativa (10 g) foi homogeneizada, centrifugada a 6.500 x g por 30 minutos, e o DNA total foi extraído do precipitado de conteúdo ruminal de acordo com Yu e Morrison (2004). O DNA extraído foi utilizado como molde em reação de PCR em tempo real utilizando-se oligonucleotídeos iniciadores (primers) específicos para as bactérias ruminais desejadas, juntamente com oligonucleotídeo universal para eubactérias (Tabela 3).

**Tabela 4:** *Microorganismos que serão avaliados nesse projeto*

Espécie de bactéria	Primer Forwad (5'→3')	Primer Reverse (5'→3')	Anelamento/ tamanho produto
<i>Fibrobacter succinogenes</i>	GGTATGGGATGAGCTTGC	GCCTGCCCCTGAACTATC	62°C/445 pb
<i>Streptococcus bovis</i>	CTAATACCGCATAACAGCAT	AGAAACTTCCTATCTCTAGG	57°C/869 pb
<i>Megasphaera elsdenii</i>	GACCGAAACTGCGATGCTAGA	CGCCTCAGCGTCAGTTGTC	55°C/129 pb

O PCR em tempo real foi feito no equipamento StepOne™ e tecnologia SYBR™ Green (Applied Biosystems), seguindo as condições de amplificação descritas por Tajima et al. (2001). Controles negativos sem DNA foram incluídos em cada ensaio para avaliação da especificidade geral.

### 2.2.9 Contagem diferencial e total de protozoários

Para a contagem diferencial dos protozoários ciliados do rúmen, o conteúdo ruminal foi coletado manualmente, por varredura do assoalho deste órgão, e 10 mL deste material foram armazenados em frasco contendo 20 mL de formaldeído 50% (v/v). As coletas foram realizadas nos 7°, 17° e 29° dia de cada período experimental nos tempos 0, 4, 8, e 12 horas após alimentação matinal. Em 1 mL da mistura diluída com formol a 50% foram adicionadas 2 gotas de verde brilhante a 2%, deixando repousar por 4 horas. Em seguida, foram adicionadas 9 mL de glicerol a 30% e homogeneizada, tornando a alíquota diluída 30 vezes. Com o auxílio de uma pipeta, a câmara de contagem foi

preenchida com a amostra diluída, que, acoplada ao microscópio, 100 campos óticos foram contados através do retículo, com aumento de 100X. As contagens diferenciais dos protozoários foram determinadas utilizando-se um retículo de 0,5 mm X 0,5 mm de área, com subdivisões de 25 quadrículos, acoplado na ocular de um microscópio (Olympus modelo CH2) e com câmara de contagem de “Sedgwick Rafter” com medidas internas de 50 mm X 20 mm X 1 mm (capacidade 1 mL), conforme Dehority (1993).

### 2.3 Análise de Dados

Foram realizados testes de normalidade dos resíduos e de heterogeneidade de variâncias antes de se proceder a análise de variância, e quando necessário, os dados foram transformados pelo Box-Cox do SAS. Os dados deste estudo foram analisados pelo PROC MIXED do SAS (2003), sendo o teste de Tukey utilizado para comparação entre médias quando necessário, considerando o nível de 10% de significância.

Para as variáveis, o modelo estatístico utilizado foi:

$$Y_{ijkl} = \mu + TRT_i + QUAD_j + PER_k + QUAD*PER_{jk} + TRT*QUAD_{ij} + e_{ijkl}$$

- $Y_{ijklm}$  = observação relativa à  $l^{ésima}$  unidade experimental do  $i^{ésimo}$  TRT com a  $j^{ésima}$  QUAD e do  $k^{ésimo}$  PER
- $\mu$  = média geral;
- $TRT_i$  = efeito do  $i^{ésimo}$  TRT, sendo 1: Controle, 2: Restrição e 3: Concentrado;
- $QUAD_j$  = efeito da  $j^{ésima}$  QUAD, sendo 1: quadrado 1 e 2: quadrado 2;
- $PER_k$  = efeito da  $k^{ésima}$  PER, sendo 1: período 1, 2: período 2 e 3: período 3;
- $QUAD*PER_{jk}$  = efeito da interação entre o  $j^{ésimo}$  QUAD e o  $k^{ésimo}$  PER;
- $TRT*QUAD_{ij}$  = efeito da interação entre o  $i^{ésimo}$  TRT e o  $j^{ésimo}$  QUAD;
- $e_{ijkl}$  = erro experimental ligado a observação  $Y_{ijkl}$ .

Quando as medidas foram mensuradas de forma repetida no tempo (HORA) foram incluídos no modelo as variáveis descritas acima, mais as devidas interações destas com HORA.

## 2.4 Resultados e Discussão

### 2.4.1 Efeitos da restrição nutricional

#### 2.4.1.1 Fase de pré-adaptação

Os resultados de IMS estão apresentados na Tabela 4. Na fase de pré-adaptação, os animais que passaram por restrição alimentar tiveram o menor CMS (kg e %PV) quando comparado aos outros tratamentos ( $P < 0,01$ ), uma vez que esses animais foram restritos ao consumo de 1,4% do PV.

**Tabela 5.** Consumo de MS (kg e %PV) de bovinos Nelore canulados no rúmen submetidos previamente a restrição nutricional ou consumo de ingredientes concentrados: fases de pré-adaptação, adaptação e terminação.

Fase	Tratamentos			EPM <sup>3</sup>	Valor de P
	Controle	Restrição	Concentrado		
<i>Pré-adaptação</i>					
CMS <sup>1</sup> , KG	5,15 <sup>b</sup>	3,87 <sup>c</sup>	5,51 <sup>a</sup>	0,31	<b>&lt;0,01</b>
CMS, %PV <sup>2</sup>	1,94 <sup>b</sup>	1,43 <sup>c</sup>	2,09 <sup>a</sup>	0,07	<b>&lt;0,01</b>
<i>Adaptação</i>					
CMS, KG	7,41 <sup>b</sup>	7,20 <sup>b</sup>	7,91 <sup>a</sup>	0,55	<b>&lt;0,01</b>
CMS, %PV	2,71 <sup>b</sup>	2,62 <sup>b</sup>	2,95 <sup>a</sup>	0,05	<b>&lt;0,01</b>
<i>Terminação</i>					
CMS, KG	9,32 <sup>a</sup>	8,82 <sup>b</sup>	9,17 <sup>a</sup>	0,86	<b>0,02</b>
CMS, %PV	3,18 <sup>a</sup>	2,99 <sup>b</sup>	3,13 <sup>a</sup>	0,09	<b>0,01</b>

<sup>1</sup>Consumo de matéria seca; <sup>2</sup>Peso vivo; <sup>3</sup>Erro Padrão Médio.

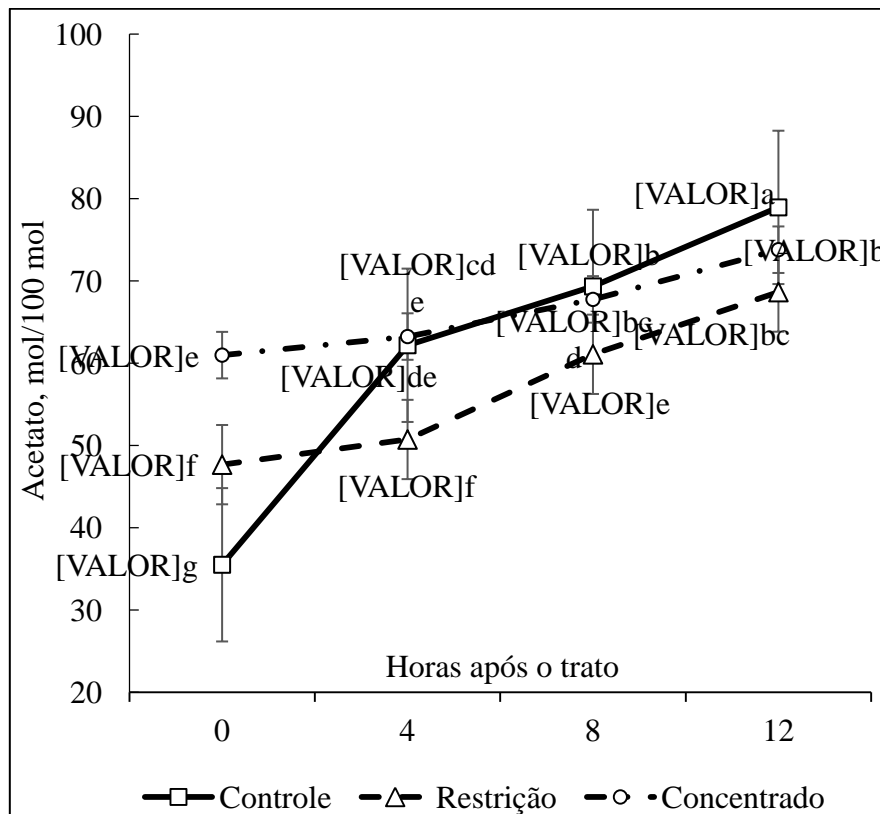
Os animais que passaram pela restrição alimentar nessa fase apresentaram menor concentração total de AGCC (Tabela 5) devido a menor IMS. Com uma menor IMS, esses animais tiveram menos substrato para ser fermentado no rúmen, o que consequentemente levou a uma menor fermentação e uma menor quantidade de produtos da fermentação ruminal. Desse modo, no dia 5, três variáveis apresentaram diferença significativa ( $P < 0,10$ ) para efeito de tratamento e tempo: concentração total de AGCC ( $P < 0,01$ ), concentração de propionato ( $P < 0,01$ ), concentração de butirato ( $P < 0,01$ ). Galyean et al. (1981) e Hutcheson e Cole (1985) verificaram que houve uma redução na concentração total de AGCC por causa da redução de substrato fermentável quando seus animais passaram por restrição alimentar, assim como ocorrido no presente estudo.

**Tabela 6.** Avaliação dos produtos da fermentação de bovinos Nelore canulados no rúmen submetidos previamente a restrição nutricional ou consumo de ingredientes concentrados: fase de pré-adaptação.

Item	Tratamentos			Tempo após o trato				EPM <sup>1</sup>	Valor de P		
	Controle	Restrição	Concentrado	0 h	4 h	8 h	12 h		TRT <sup>2</sup>	Tempo	TRT*Tempo
<u>Dia 5</u>											
Total de AGCC, mM	90,81 <sup>a</sup>	75,68 <sup>b</sup>	90,01 <sup>a</sup>	76,16	77,98	88,68	99,19	3,36	<b>&lt;0,01</b>	<b>&lt;0,01 (L)</b>	0,12
Acetato, mol/100 mol	68,99	57,04	66,45	58,06	58,72	66,06	73,80	2,87	<0,01	<0,01	<b>0,01</b>
Propionato, mol/100 mol	15,06 <sup>a</sup>	13,05 <sup>b</sup>	15,73 <sup>a</sup>	12,85	13,26	15,21	17,14	0,87	<b>&lt;0,01</b>	<b>&lt;0,01 (L)</b>	0,21
Butirato, mol/100 mol	6,76 <sup>b</sup>	5,59 <sup>c</sup>	7,83 <sup>a</sup>	5,26	6,00	7,41	8,25	0,46	<b>&lt;0,01</b>	<b>&lt;0,01 (L)</b>	0,18
Acetato:Propionato	4,62	4,44	4,27	4,55	4,47	4,38	4,36	0,15	0,05	0,02	<b>0,03</b>
Amônia, mM	4,73 <sup>b</sup>	5,51 <sup>ab</sup>	6,01 <sup>a</sup>	6,62	12,07	1,61	1,37	2,17	<b>0,09</b>	<b>0,02 (Q)</b>	0,40
<u>Dia 6</u>											
Total de AGCC, mM	84,03	81,12	84,23	78,53	73,17	86,65	94,16	2,44	0,45	<b>0,01 (L)</b>	0,78
Acetato, mol/100 mol	63,80	61,19	61,98	59,85	54,81	64,67	69,98	2,01	0,56	<b>&lt;0,01 (Q)</b>	0,45
Propionato, mol/100 mol	13,83	13,78	14,56	13,08	12,41	14,60	16,13	0,57	0,36	<b>&lt;0,01 (C)</b>	0,95
Butirato, mol/100 mol	6,40 <sup>b</sup>	6,16 <sup>b</sup>	7,69 <sup>a</sup>	5,60	5,95	7,38	8,05	0,27	<b>&lt;0,01</b>	<b>&lt;0,01 (L)</b>	0,27
Acetato:Propionato	4,66 <sup>a</sup>	4,47 <sup>ab</sup>	4,30 <sup>b</sup>	4,60	4,45	4,47	4,38	0,10	<b>0,02</b>	<b>0,03 (L)</b>	0,37
Amônia, mM	4,30	4,52	5,66	4,44	9,45	2,71	2,72	0,68	0,02	<0,01	<b>0,01</b>
<u>Dia 7</u>											
Total de AGCC, mM	88,90	88,58	88,69	85,32	82,12	88,19	99,26	3,26	1,00	<b>&lt;0,01 (L)</b>	0,26
Acetato, mol/100 mol	66,93	66,20	64,71	64,74	60,73	64,98	73,33	2,26	0,65	<b>&lt;0,01 (Q)</b>	0,32
Propionato, mol/100 mol	14,96	15,74	15,64	14,42	14,49	15,49	17,38	1,00	0,77	<b>&lt;0,01 (L)</b>	0,15
Butirato, mol/100 mol	7,02	6,65	8,33	6,16	6,90	7,73	8,55	0,31	<0,01	<0,01	<b>0,03</b>
Acetato:Propionato	4,52	4,24	4,21	4,53	4,23	4,25	4,27	0,12	0,08	<0,01	<b>0,06</b>
Amônia, mM	3,84	5,34	5,75	4,26	8,74	2,95	3,97	0,69	0,02	<0,01	<b>0,03</b>

<sup>1</sup>Erro Padrão Médio; <sup>2</sup>Tratamento, (L): efeito linear, (Q): efeito quadrático e (C): efeito cúbico.

Concomitantemente com a menor concentração total de AGCC, os animais restritos apresentaram uma menor concentração de propionato e butirato. Além disso, houve uma interação para a concentração de acetato também no dia 5, em que os animais restritos tiveram menor concentração 4, 8 e 12 horas após o trato quando comparado ao tratamento controle (Figura 2).



**Figura 3.** Interação entre tratamentos e horas após o trato sobre a concentração de acetato ruminal (mol/100mol) no dia 5 da fase de pré-adaptação de bovinos Nelore canulados adaptados a dietas de alta energia, submetidos previamente a restrição nutricional ou consumo de ingredientes concentrados. (EPM = 2,87).

a,b,c,d,e,f,g Médias com letras diferentes, diferem entre si ( $P = 0,01$ ). A barra de erros representa o EPM.

Os animais que foram submetidos à restrição tiveram pH mínimo maior que os demais tratamentos ( $P < 0,04$ ) (Tabela 6) durante os três dias de avaliação. Além disso, os animais que passaram por restrição alimentar tiveram no dia 7 pH médio e pH máximo

maior que os demais tratamentos ( $P \leq 0,10$ ). Quando avaliada a duração de pH abaixo de 6,2, os animais restritos apresentaram menor duração que os demais tratamentos. Sendo assim, como dito anteriormente, a menor fermentação no rúmen dos animais restritos (pela menor IMS) pode ter colaborado para que esses animais apresentassem faixas de pH maiores que os animais que foram submetidos ao tratamento controle, uma vez que uma menor concentração total de AGCC no rúmen desses animais pode ter ajudado a manter o pH mais elevado que os demais tratamentos. Murphy, Loerch e Dehority (1994) observaram que animais restritos com dietas totalmente concentradas não tiveram efeito no pH durante o dia, diferentemente do presente estudo, o que pode ser devido a diferença de dieta, uma vez que a dieta utilizada era de concentrado o tempo inteiro e a do presente estudo era a base de feno, ou com 0,5% de concentrado para o tratamento que recebia concentrado.

**Tabela 7.** Mensuração de pH de bovinos Nelore canulados no rúmen submetidos previamente a restrição nutricional ou consumo de ingredientes concentrados: fase de pré-adaptação.

Dias	Tratamentos			EPM <sup>1</sup>	Valor de P
	Controle	Restrição	Concentrado		TRT <sup>2</sup>
<u>Dia 5</u>					
pH ruminal					
Média	6,54	6,61	6,48	0,05	0,18
Mínimo	6,09 <sup>b</sup>	6,28 <sup>a</sup>	6,06 <sup>b</sup>	0,09	<b>0,04</b>
Máximo	6,82	6,93	6,81	0,05	0,20
4h após o trato	6,65	6,71	6,60	0,07	0,44
Área abaixo da curva, pH x h					
6,2	0,13 <sup>b</sup>	0,007 <sup>b</sup>	0,33 <sup>a</sup>	0,09	<b>0,03</b>
5,6	n.d. <sup>3</sup>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
5,2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Duração de pH abaixo de, h/d					
6,2	1,25 <sup>b</sup>	0,14 <sup>c</sup>	3,06 <sup>a</sup>	0,55	<b>&lt;0,01</b>
5,6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
5,2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<u>Dia 6</u>					
pH ruminal					
Média	6,53	6,58	6,47	0,06	0,26
Mínimo	6,08 <sup>b</sup>	6,30 <sup>a</sup>	5,97 <sup>b</sup>	0,10	<b>0,04</b>
Máximo	6,86	6,86	6,84	0,04	0,73
4h após o trato	6,74 <sup>a</sup>	6,75 <sup>a</sup>	6,62 <sup>b</sup>	0,04	<b>0,04</b>
Área abaixo da curva, pH x h					
6,2	0,16 <sup>b</sup>	0,02 <sup>b</sup>	0,92 <sup>a</sup>	0,32	<b>0,05</b>
5,6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
5,2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Duração de pH abaixo de, h/d					
6,2	1,14 <sup>b</sup>	0,36 <sup>b</sup>	4,67 <sup>a</sup>	1,46	<b>0,04</b>
5,6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
5,2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<u>Dia 7</u>					
pH ruminal					
Média	6,45 <sup>b</sup>	6,59 <sup>a</sup>	6,33 <sup>b</sup>	0,05	<b>0,01</b>
Mínimo	5,98 <sup>b</sup>	6,26 <sup>a</sup>	5,80 <sup>b</sup>	0,08	<b>&lt;0,01</b>
Máximo	6,77 <sup>b</sup>	6,86 <sup>a</sup>	6,73 <sup>b</sup>	0,05	<b>&lt;0,01</b>
4h após o trato	6,63 <sup>a</sup>	6,69 <sup>a</sup>	6,50 <sup>b</sup>	0,07	<b>&lt;0,01</b>
Área abaixo da curva, pH x h					
6,2	0,39 <sup>b</sup>	0,05 <sup>b</sup>	2,26 <sup>a</sup>	0,58	<b>0,03</b>
5,6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
5,2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Duração de pH abaixo de, h/d					
6,2	3,47 <sup>a</sup>	0,69 <sup>b</sup>	6,78 <sup>a</sup>	1,55	<b>0,06</b>
5,6	0,00	0,00	0,67	0,35	0,32
5,2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

<sup>1</sup>Erro Padrão Médio; <sup>2</sup>Tratamento; <sup>3</sup>Não disponível.

### **2.4.1.2 Fase de adaptação**

Os animais que passaram por restrição alimentar na fase de pré-adaptação tiveram CMS semelhante aos animais do tratamento controle ( $P < 0,01$ ) (Tabela 4). Mesmo com IMS semelhante, os animais que passaram por restrição na fase anterior tiveram no dia 17 uma maior concentração total de AGCC e propionato ( $P \leq 0,10$ ) (Tabela7).

**Tabela 8.** Avaliação dos produtos da fermentação de bovinos Nelore canulados no rúmen submetidos previamente a restrição nutricional ou consumo de ingredientes concentrados: fase de adaptação.

Item	Tratamentos			Tempo após o trato				EPM <sup>1</sup>	Valor de P		
	Controle	Restrição	Concentrado	0 h	4 h	8 h	12 h		TRT <sup>2</sup>	Tempo	TRT*Tempo
<u>Dia 15</u>											
Total de AGCC, mM	97,54	99,46	101,23	94,89	97,39	98,79	106,57	4,02	0,50	<0,01	<b>0,03</b>
Acetato, mol/100 mol	64,76 <sup>b</sup>	66,13 <sup>ab</sup>	68,60 <sup>a</sup>	64,70	65,37	66,07	69,86	2,00	<b>0,06</b>	<b>0,04 (L)</b>	0,25
Propionato, mol/100 mol	23,01	23,69	23,24	21,43	22,56	23,07	26,20	1,65	0,96	<0,01	<b>0,03</b>
Butirato, mol/100 mol	9,76	9,65	9,39	8,76	9,46	9,65	10,52	0,73	0,48	<b>0,03 (L)</b>	0,98
Acetato:Propionato	2,89	2,83	3,02	3,07	2,94	2,91	2,74	0,17	0,71	<b>0,03 (L)</b>	0,12
Amônia, mM	19,93	19,11	18,50	12,66	23,40	18,80	21,86	0,92	0,27	<b>&lt;0,01 (Q)</b>	0,86
<u>Dia 16</u>											
Total de AGCC, mM	100,71	105,69	106,70	91,81	101,59	106,81	117,27	5,54	0,40	<b>0,02 (L)</b>	0,86
Acetato, mol/100 mol	66,71	70,19	70,51	61,56	67,84	70,49	76,67	3,53	0,33	<b>0,02 (L)</b>	0,97
Propionato, mol/100 mol	22,36	24,70	26,27	20,42	22,96	25,53	28,87	1,33	0,17	<0,01	<b>0,04</b>
Butirato, mol/100 mol	11,64 <sup>a</sup>	10,80 <sup>ab</sup>	9,92 <sup>b</sup>	9,84	10,80	10,79	11,72	0,96	0,10	<b>0,04 (L)</b>	0,87
Acetato:Propionato	3,01	2,91	2,78	3,07	3,00	2,81	2,72	0,10	0,26	<b>0,03 (L)</b>	0,14
Amônia, mM	22,92	23,25	18,33	12,36	25,60	21,92	26,13	1,30	0,03	<0,01	<b>&lt;0,01</b>
<u>Dia 17</u>											
Total de AGCC, mM	100,81 <sup>b</sup>	106,13 <sup>a</sup>	107,56 <sup>a</sup>	97,45	99,61	107,63	114,63	4,35	<b>0,10</b>	<b>0,02 (L)</b>	0,63
Acetato, mol/100 mol	66,80	70,01	70,28	65,27	66,19	70,50	74,15	2,24	0,34	<b>&lt;0,01 (L)</b>	0,65
Propionato, mol/100 mol	21,98 <sup>b</sup>	25,35 <sup>a</sup>	26,90 <sup>a</sup>	21,89	22,68	26,05	28,37	1,29	<b>&lt;0,01</b>	<b>&lt;0,01 (L)</b>	0,50
Butirato, mol/100 mol	12,04	10,91	10,38	10,29	10,75	11,09	12,30	0,89	0,22	<b>0,07 (L)</b>	0,44
Acetato:Propionato	3,09 <sup>a</sup>	2,80 <sup>ab</sup>	2,66 <sup>b</sup>	3,03	2,95	2,76	2,66	0,11	<b>0,03</b>	<b>0,02 (L)</b>	0,30
Amônia, mM	21,08	21,39	18,61	12,90	23,19	21,22	24,14	2,04	0,52	<b>&lt;0,01 (L)</b>	0,13

<sup>1</sup>Erro Padrão Médio; <sup>2</sup>Tratamento, (L): efeito linear, (Q): efeito quadrático.

Essa maior concentração de AGCC nos animais restritos na fase de pré-adaptação pode ser devido ao aumento do CMS comparado a fase anterior, em que esses animais foram restritos a dieta. Com o aumento da entrada de substrato no rúmen, há também um aumento na fermentação microbiana e na produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), sendo importante que a taxa de absorção desses ácidos seja alta, para que o acúmulo excessivo de AGCC no fluido ruminal não desencadeie quadros de acidose (BARKER ET AL., 1995). Sendo assim, ao terem acesso *ad libitum* a dieta de adaptação, os animais ingeriram uma quantidade de energia e substratos fermentáveis maior do que estavam habituados a comer, proporcionando uma maior fermentação ruminal. Quando se altera a alimentação dos animais de uma dieta com alta proporção de forragem para outra com altos teores de grãos ou ingredientes concentrados, o rúmen fica sujeito a alterações profundas na população microbiana e nos produtos de sua fermentação (Brown et al., 2006). Diversos estudos têm reportado aumento no CMS em animais submetidos a restrição alimentar no período de realimentação (WERTZ-LUTZ et al., 2006; KEOGH et al., 2015a; KEOGH et al., 2015b).

Com isso, pode ser que o rúmen desses animais poderia não estar adaptado a absorver os AGCC produzidos no rúmen. Pode ser que as papilas ruminais ainda não estavam desenvolvidas o suficiente para absorver os AGCC uma vez que segundo Etschmann et al., (2009) o intervalo de tempo de adaptação para o epitélio ruminal

No dia 17, os animais restritos tiveram maior duração de pH abaixo de 6,2 em relação animais controle ( $P \leq 0,10$ ) (Tabela 9). Essa queda de pH pode estar relacionada ao fato de que foi adicionado mais carboidrato fermentável no rúmen, e, esses animais já tinham em seu rúmen uma população de bactéria capaz de fermentar esses substratos; porém, provavelmente seu epitélio ruminal ainda não estava adaptado (capacidade de absorção) a absorver maior quantidade de AGCC. Conseqüentemente ocorre uma redução do pH ruminal.

**Tabela 9.** Mensuração de pH de bovinos Nelore canulados no rúmen submetidos previamente a restrição nutricional ou consumo de ingredientes concentrados: fase de adaptação.

Item	Tratamentos			EPM <sup>1</sup>	Valor de P
	Controle	Restrição	Concentrado		TRT <sup>2</sup>
<u>Dia 15</u>					
pH ruminal					
Média	6,15	6,05	6,03	0,06	0,18
Mínimo	5,54	5,58	5,50	0,10	0,74
Máximo	6,64 <sup>a</sup>	6,55 <sup>b</sup>	6,62 <sup>a</sup>	0,05	<b>0,01</b>
4h após o trato	6,36	6,25	6,13	0,09	0,19
Área abaixo da curva, pH x h					
6,2	3,37	5,11	5,49	1,39	0,26
5,6	0,09	0,83	0,48	0,37	0,21
5,2	n.d. <sup>1</sup>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Duração de pH abaixo de, h/d					
6,2	13,31	13,67	15,94	1,39	0,24
5,6	2,69	4,19	2,31	1,87	0,23
5,2	n.d.	n.d.	0,11	0,06	0,32
<u>Dia 16</u>					
pH ruminal					
Média	6,07	5,96	6,09	0,06	0,17
Mínimo	5,49	5,36	5,46	0,08	0,23
Máximo	6,61 <sup>a</sup>	6,48 <sup>b</sup>	6,63 <sup>a</sup>	0,07	<b>&lt;0,01</b>
4h após o trato	6,20	6,14	6,14	0,08	0,83
Área abaixo da curva, pH x h					
6,2	4,67	6,92	4,49	1,11	0,19
5,6	0,27	0,84	0,13	0,30	0,30
5,2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Duração de pH abaixo de, h/d					
6,2	15,75	17,50	15,08	1,60	0,45
5,6	2,69	3,44	1,06	1,60	0,37
5,2	0,00	0,53	0,00	0,28	0,32
<u>Dia 17</u>					
pH ruminal					
Média	5,99	5,80	6,08	0,10	0,12
Mínimo	5,41	5,25	5,50	0,09	0,16
Máximo	6,58	6,40	6,66	0,09	0,21
4h após o trato	6,27	6,07	6,14	0,09	0,25
Área abaixo da curva, pH x h					
6,2	6,03	10,14	5,23	2,07	0,18
5,6	0,37	2,54	0,53	1,03	0,29
5,2	0,001	0,55	0,0004	0,28	0,31
Duração de pH abaixo de, h/d					
6,2	16,89 <sup>ab</sup>	18,72 <sup>a</sup>	13,61 <sup>b</sup>	2,01	<b>0,06</b>
5,6	6,08	7,44	3,89	2,88	0,54
5,2	0,06	3,17	0,03	0,94	0,50

<sup>1</sup>Erro Padrão Médio; <sup>2</sup>Tratamento; <sup>3</sup>Não disponível.

### **2.4.1.3 Fase de terminação**

O CMS dos animais que sofreram restrição nutricional foi menor na fase de terminação ( $P < 0,01$ ) (Tabela 4), o que poderia representar indício de que os animais não se adaptaram adequadamente, pois Almeida et al. (2010) descreveram que as dietas de adaptação são tipicamente fornecidas nos primeiros dias de confinamento (7 a 10), sendo que o critério mais importante para a troca da dieta de adaptação pela dieta efetiva é o aumento do consumo alimentar. Porém, os dados de pH (Tabela 9) mostram que esse grupo teve menor área abaixo de 6,2, maior pH médio e menor temperatura ( $P \leq 0,10$ ) (trabalho complementar, Bertoldi, 2017- dados não publicados) quando comparado aos animais do grupo controle.

**Tabela 10.** Mensuração de pH de bovinos Nelore canulados no rúmen submetidos previamente a restrição nutricional ou consumo de ingredientes concentrados: fase de terminação.

Dias	Tratamentos			EPM <sup>1</sup>	Valor de P
	Controle	Restrição	Concentrado		TRT <sup>2</sup>
<u>Dia 27</u>					
pH ruminal					
Média	5,86	5,86	5,86	0,13	1,00
Mínimo	5,21	5,33	5,26	0,13	0,42
Máximo	6,59	6,43	6,47	0,07	0,26
4h após o trato	6,15	5,99	5,81	0,12	0,15
Área abaixo da curva, pH x h					
6,2	9,41	9,19	9,24	2,67	0,99
5,6	2,41	1,59	1,68	1,04	0,23
5,2	0,41 <sup>a</sup>	0,07 <sup>b</sup>	0,14 <sup>b</sup>	0,18	<b>0,04</b>
Duração de pH abaixo de, h/d					
6,2	17,31	18,50	17,39	2,47	0,86
5,6	6,81	6,61	7,25	2,07	0,95
5,2	3,00 <sup>a</sup>	1,36 <sup>b</sup>	1,14 <sup>b</sup>	1,31	<b>0,03</b>
<u>Dia 28</u>					
pH ruminal					
Média	5,77	5,90	5,75	0,12	0,17
Mínimo	5,16	5,25	5,25	0,12	0,55
Máximo	6,51	6,54	6,32	0,11	0,16
4h após o trato	5,84 <sup>b</sup>	6,03 <sup>a</sup>	5,89 <sup>b</sup>	0,14	<b>0,03</b>
Área abaixo da curva, pH x h					
6,2	11,12	8,02	11,27	2,57	0,15
5,6	2,24	1,17	2,06	0,86	0,24
5,2	0,24	0,10	0,08	0,12	0,41
Duração de pH abaixo de, h/d					
6,2	20,22	18,64	20,11	2,06	0,52
5,6	8,42	4,94	10,17	2,90	0,14
5,2	2,08	0,94	0,58	0,95	0,26
<u>Dia 29</u>					
pH ruminal					
Média	5,76 <sup>b</sup>	5,94 <sup>a</sup>	5,83 <sup>ab</sup>	0,09	<b>0,08</b>
Mínimo	5,12	5,31	5,20	0,12	0,29
Máximo	6,69	6,59	6,47	0,11	0,17
4h após o trato	5,89	6,06	5,88	0,13	0,27
Área abaixo da curva, pH x h					
6,2	11,02 <sup>a</sup>	7,14 <sup>b</sup>	9,47 <sup>ab</sup>	2,20	<b>0,08</b>
5,6	2,12	0,78	1,68	0,70	0,20
5,2	0,33	0,017	0,17	0,15	0,17
Duração de pH abaixo de, h/d					
6,2	20,83	18,39	19,17	1,67	0,13
5,6	7,97	4,14	7,42	2,10	0,13
5,2	1,92	0,25	0,92	0,83	0,22

<sup>1</sup>Erro Padrão Médio; <sup>2</sup>Tratamento.

Esse pH mais alto pode ter proporcionado um ambiente melhor para o desenvolvimento dos protozoários, uma vez que são bastante sensíveis a acidez (PURSER E MOIR, 1959). Isso pode ser observado na Tabela 10 e 11, em que os animais que sofreram restrição antes da entrada no confinamento tiveram uma maior relação dos protozoários *Diplodinium* e *Dasytrichia* ( $P \leq 0,10$ ) que os animais do tratamento controle.

**Tabela 11.** Contagem total e diferencial de protozoários ( $10^3$  /ml) de bovinos Nelore canulados no rúmen submetidos previamente a restrição nutricional ou consumo de ingredientes concentrados: fase de pré-adaptação, adaptação e terminação.

Protozoários x $10^3$ /ml	Tratamentos			Tempo após o trato					Valor de P		
	Controle	Restrição	Concentrado	0 h	4 h	8 h	12 h	EPM	TRT	Tempo	TRT*Tempo
<u>Pré-adaptação (Dia 7)</u>											
<i>Entodinium</i>	57,50 <sup>b</sup>	44,1 <sup>b</sup>	99,35 <sup>a</sup>	65,80	63,20	68,53	70,73	9,92	<b>&lt;0,01</b>	0,70	0,16
<i>Diplodinium</i>	19,40	29,35	21,00	27,33	23,73	21,53	20,40	4,60	0,46	<b>0,03 (L)</b>	0,65
<i>Isotricha</i>	8,15	6,35	6,05	6,87	7,53	7,00	6,00	2,66	0,36	0,68	<b>0,03</b>
<i>Dasytricha</i>	4,55	3,35	2,65	2,07	4,60	4,00	3,40	0,74	0,29	<b>0,01 (Q)</b>	0,36
Protozoários totais	90,25 <sup>b</sup>	83,7 <sup>b</sup>	129,8 <sup>a</sup>	102,87	99,33	102,10	100,8	12,62	<b>&lt;0,01</b>	0,97	0,48
<u>Adaptação (Dia 17)</u>											
<i>Entodinium</i>	153,95	165,20	148,80	157,80	150,00	160,13	155,47	19,91	0,45	0,61	0,72
<i>Diplodinium</i>	18,65	18,95	13,85	19,33	18,00	18,53	12,73	5,71	0,69	<b>0,09 (L)</b>	0,25
<i>Isotricha</i>	6,85	3,15	1,60	2,89	5,60	4,07	2,93	2,21	0,16	0,10	<b>0,03</b>
<i>Dasytricha</i>	1,65 <sup>a</sup>	2,15 <sup>a</sup>	1,00 <sup>b</sup>	0,47	2,47	2,13	1,33	0,47	<b>&lt;0,01</b>	<b>&lt;0,01 (Q)</b>	0,85
Protozoários totais	181,65	189,85	165,1	181,4	176,13	185,27	172,67	16,14	0,16	0,46	0,72
<u>Terminação (Dia 29)</u>											
<i>Entodinium</i>	193,60	196,05	207,25	217,93	184,33	203,27	190,33	15,53	0,78	<b>0,02 (L)</b>	0,24
<i>Diplodinium</i>	13,15 <sup>b</sup>	27,5 <sup>a</sup>	26,5 <sup>a</sup>	26,13	21,33	20,87	21,27	9,85	<b>&lt;0,01</b>	0,44	0,40
<i>Isotricha</i>	1,85	0,75	1,55	0,80	2,33	1,33	1,07	0,96	0,28	<b>0,04 (Q)</b>	0,15
<i>Dasytricha</i>	0,005 <sup>a</sup>	0,85 <sup>b</sup>	1,15 <sup>b</sup>	0,13	1,20	0,87	0,53	0,21	<b>0,01</b>	<b>&lt;0,01 (Q)</b>	0,13
Protozoários totais	209,55	226,15	236,95	246,00	209,93	226,87	214,07	18,12	0,38	<b>&lt;0,01 (L)</b>	0,23

**Tabela 12.** Contagem total e diferencial de protozoários (%) de bovinos Nelore canulados no rúmen submetidos previamente a restrição nutricional ou consumo de ingredientes concentrados: fase de pré-adaptação, adaptação e terminação.

Protozoários, %	Tratamentos			Tempo após o trato				Valor de P			
	Controle	Restrição	Concentrado	0 h	4 h	8 h	12 h	EPM	TRT	Tempo	TRT*Tempo
<u>Pré-adaptação (Dia 7)</u>											
<i>Entodinium</i>	63,06	55,37	73,93	62,92	62,05	65,03	66,22	4,85	0,18	0,57	0,14
<i>Diplodinium</i>	22,31	32,80	18,40	27,50	25,49	22,17	22,85	4,13	0,25	0,27	0,55
<i>Isotricha</i>	9,33	7,08	5,00	6,52	7,45	7,87	6,71	2,33	0,27	0,75	0,20
<i>Dasytricha</i>	4,92 <sup>a</sup>	4,14 <sup>a</sup>	2,10 <sup>b</sup>	2,29	4,80	3,79	4,00	0,77	<b>0,02</b>	<b>0,05 (Q)</b>	0,54
<u>Adaptação (Dia 17)</u>											
<i>Entodinium</i>	82,85	86,93	89,20	86,10	84,86	85,37	88,97	5,46	0,36	0,25	<b>0,04</b>
<i>Diplodinium</i>	11,96	9,98	8,89	11,55	10,44	10,94	8,18	4,61	0,70	0,21	<b>0,03</b>
<i>Isotricha</i>	3,97	1,69	1,10	1,60	3,25	2,32	1,85	1,32	0,11	0,06	<b>0,04</b>
<i>Dasytricha</i>	0,89 <sup>ab</sup>	1,20 <sup>a</sup>	0,64 <sup>b</sup>	0,23	1,42	1,15	0,87	0,29	<b>0,02</b>	<b>&lt;0,01 (Q)</b>	0,98
<u>Terminação (Dia 29)</u>											
<i>Entodinium</i>	92,35 <sup>a</sup>	87,90 <sup>b</sup>	86,99 <sup>b</sup>	88,73	88,16	89,82	89,62	3,53	<b>&lt;0,01</b>	0,66	0,15
<i>Diplodinium</i>	6,48 <sup>b</sup>	10,95 <sup>a</sup>	11,49 <sup>a</sup>	10,52	9,75	8,94	9,35	3,43	<b>&lt;0,01</b>	0,70	0,25
<i>Isotricha</i>	0,75	0,32	0,80	0,32	1,12	0,62	0,44	0,41	0,17	<b>0,02 (Q)</b>	0,26
<i>Dasytricha</i>	0,03 <sup>b</sup>	0,42 <sup>a</sup>	0,85 <sup>a</sup>	0,05	0,63	0,40	0,23	0,10	<b>0,02</b>	<b>&lt;0,01 (Q)</b>	0,12

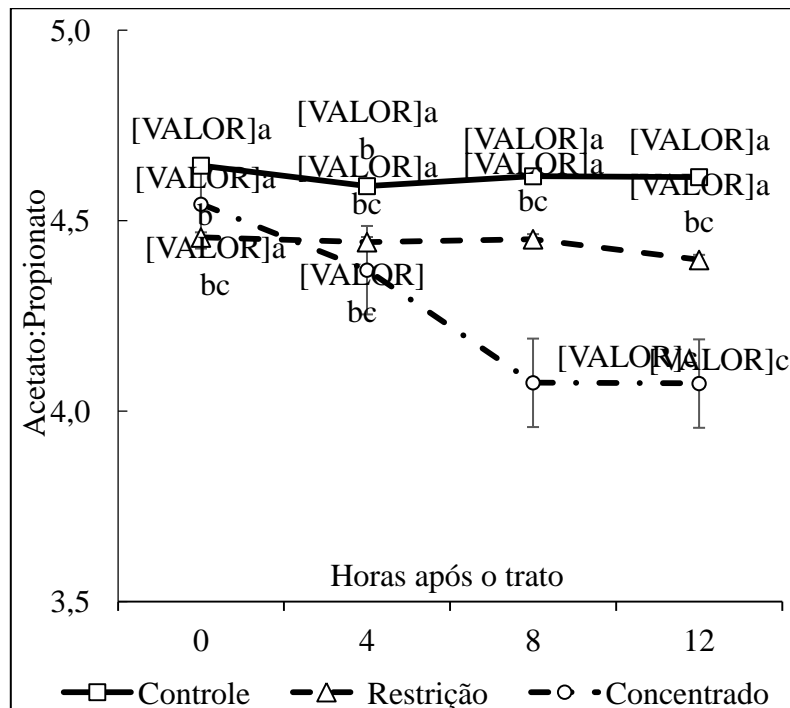
Na fase de adaptação, os animais restritos durante a fase de pré-adaptação, sofreram mais do que os animais do grupo controle. Isso pode ser observado principalmente pelos dados de pH ruminal em que observa-se valores menores de pH. Porém na fase de terminação apresentaram semelhança aos animais submetidos ao tratamento controle uma vez que a maioria das variáveis avaliadas não tiveram diferença estatística para tratamento, podendo evidenciar que eles, mesmo sendo restritos, antes da entrada no confinamento possuem características semelhantes aos animais do tratamento controle, como a concentração de AGCC e os valores de pH.

## **2.4.2 Efeitos do consumo de concentrado**

### **2.4.2.1 Fase de pré-adaptação**

Os animais do grupo concentrado apresentaram maior CMS (Tabela 4) que os demais tratamentos. Esse maior CMS acabou por ter mais substrato para fermentação ruminal já que esses animais tiveram durante os dias 5 e 7 as maiores temperaturas ruminais (trabalho complementar- Bertoldi, 2017-dados não publicados). Além disso, tiveram uma maior duração e maior área de pH abaixo de 6,2 ( $P \leq 0,10$ ) (Tabela 6), podendo ser efeito dessa maior fermentação ruminal.

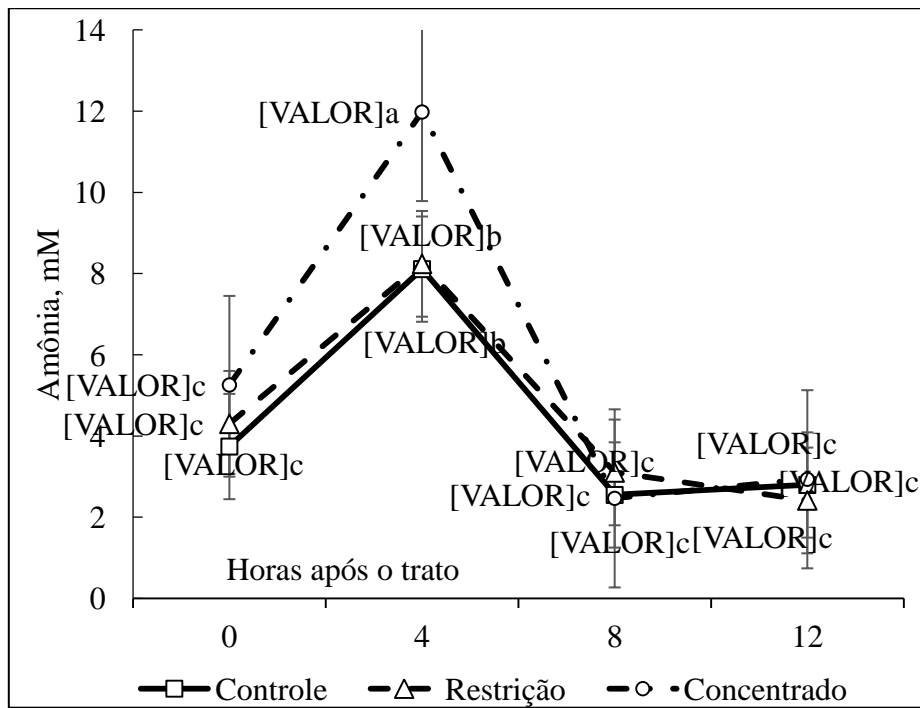
No dia 5, foi observada uma interação entre tratamento e tempo para a variável relação acetato/ propionato ( $P = 0,03$ ; Figura 3) (Tabela 5), sendo que os animais que receberam concentrado tiveram menor relação 8 e 12 horas após o trato.



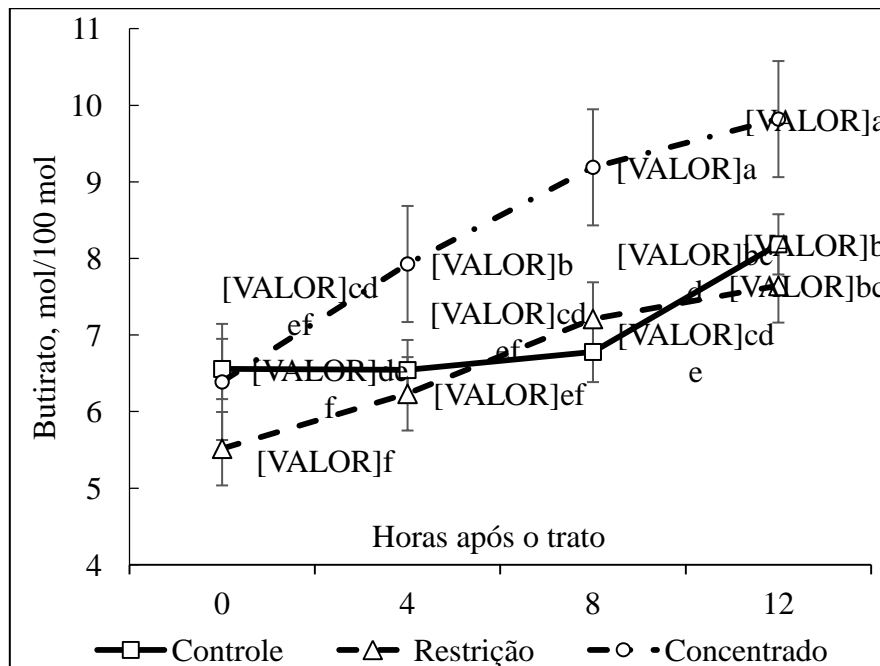
**Figura 4.** Interação entre tratamentos e horas após o trato sobre a concentração da relação de acetato/ propionato ruminal (mol/100mol) no dia 5 da fase de pré-adaptação de bovinos Nelore canulados adaptados a dietas de alta energia, submetidos previamente a restrição nutricional ou consumo de ingredientes concentrados. (EPM = 0,15). <sup>a,b,c</sup> Médias com letras diferentes, diferem entre si (P = 0,03). A barra de erros representa o EPM.

No dia 5 e 6, animais que receberam concentrado apresentaram maior concentração de butirato que os demais tratamentos (P ≤ 0,10) (Tabela 5). Animais com consumo de concentrado produzem mais propionato que acetato, o que faz com que a relação acetato: propionato diminua.

No dia 5, os animais que receberam concentrado apresentaram concentração de amônia ruminal maior em comparação aos bovinos submetidos ao tratamento controle (P ≤ 0,10- Tabela 5). No dia 6 e 7 a concentração de amônia apresentou uma interação (Figura 4 e 5) de tratamento e tempo (P ≤ 0,10). Quatro horas após o trato, os animais que receberam concentrado tiveram a maior concentração de amônia no rúmen (Figura 5).



**Figura 5.** Interação entre tratamentos e horas após o trato sobre a concentração de amônia ruminal (mM) no dia 6 da fase de pré-adaptação de bovinos Nelore canulados adaptados a dietas de alta energia, submetidos previamente a restrição nutricional ou consumo de ingredientes concentrados. (EPM = 2,72). <sup>a,b,c</sup> Médias com letras diferentes, diferem entre si (P = 0,01). A barra de erros representa o EPM.

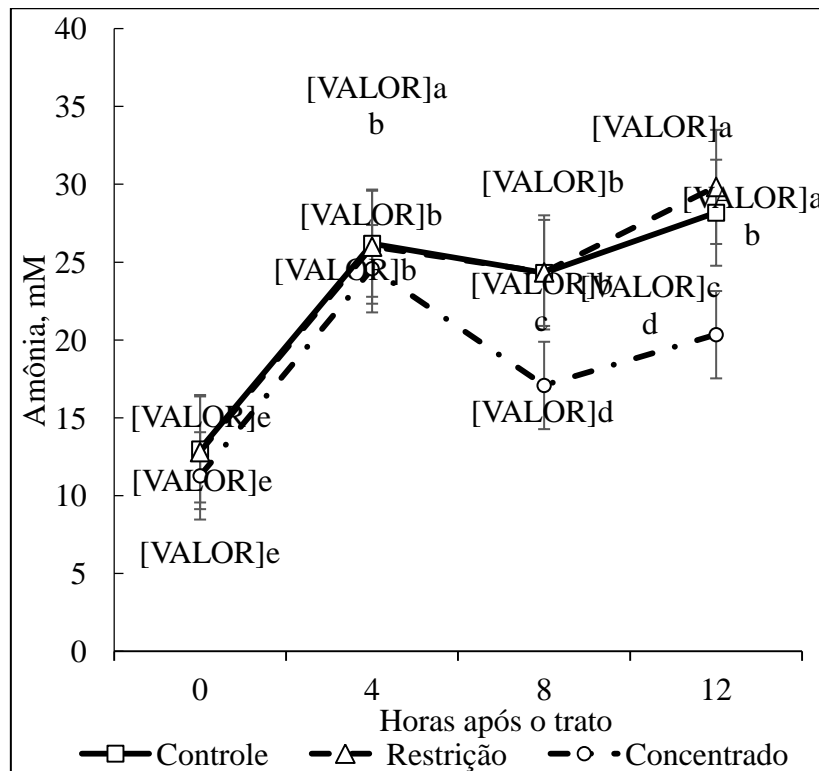


**Figura 6.** Interação entre tratamentos e horas após o trato sobre a concentração de butirato ruminal (mol/100mol) no dia 7 da fase de pré-adaptação de bovinos Nelore canulados adaptados a dietas de alta energia, submetidos previamente a restrição nutricional ou consumo de ingredientes concentrados. (EPM = 0,31). <sup>a,b,c,d,e,f</sup> Médias com letras diferentes, diferem entre si ( $P = 0,03$ ). A barra de erros representa o EPM.

#### 2.4.2.2 Fase de Adaptação

Os animais que consumiram concentrado na fase de pré-adaptação tiveram um maior CMS em relação aos outros tratamentos. ( $P < 0,01$ ) (Tabela 4). Como a dieta nessa fase era composta por 72% de concentrado, os animais tiveram uma queda na concentração da relação acetato/propionato e um aumento na concentração de propionato ( $P \leq 0,10$ ) (Tabela 7). Isso pode ter ocorrido porque a fermentação ingredientes concentrados tem como produto principal o propionato. Esses animais também apresentaram maior concentração total de AGCC ( $P = 0,02$ ) em relação aos animais do tratamento controle.

Além disso, os animais que receberam no período de pré-adaptação concentrado, tiveram menor concentração de  $\text{NH}_3$  ruminal em alguns momentos da fase de adaptação, como pode ser observada através da interação entre tratamento e tempo no dia 16 (Figura 6).



**Figura 7.** Interação entre tratamentos e horas após o trato sobre a concentração de amônia ruminal (mM) no dia 16 da fase de adaptação de bovinos Nelore canulados adaptados a dietas de alta energia, submetidos previamente a restrição nutricional ou consumo de ingredientes concentrados. (EPM = 1,30). <sup>a,b,c,d,e</sup> Médias com letras diferentes, diferem entre si ( $P < 0,01$ ). A barra de erros representa o EPM.

Isso pode estar relacionado ao fato desses animais também terem tido uma maior quantidade proteína microbiana (trabalho complementar, Bertoldi, 2017; dados não publicados) nessa mesma fase. Assim como no presente estudo, Chizzotti et al. (2006) relataram que animais que tiveram maior CMS apresentaram maior síntese ruminal de microrganismos. Cameron et al. (1991) e Grigsby et al. (1993) relataram que encontraram menor concentração de amônia em animais alimentados com ração rica em concentrado. Essa concentração de  $\text{NH}_3$  pode decrescer porque a amônia liberada no líquido ruminal, oriunda da degradação dos compostos nitrogenados, juntamente como fornecimento de energia (proveniente de carboidratos de rápida fermentação) e carbono são utilizados na síntese proteica dos microrganismos ruminais (HUNGATE, 1966).

Os animais do tratamento concentrado tiveram menor quantidade relativa da bactéria *Fibrobacter succinogenes* ( $P \leq 0,10$ ) (Tabela 12). Essa espécie de bactéria é do tipo celulolítica e sensível ao baixo pH, sendo que seu pH ótimo é acima de 6,0. Segundo Strobel e Russell (1986), conforme estudos *in vitro*, valores de pH abaixo de 6,0 podem

inibir as bactérias fermentadoras de celulose. Além disso, essa menor quantidade relativa dessa bactéria celulolítica, que sofreu influência do pH, pode ter contribuído para menor concentração da relação acetato/propionato e na menor concentração de butirato ( $P \leq 0,10$ ) (Tabela 7) uma vez que esse microrganismo libera como produto da fermentação principalmente acetato (RUSSEL, 2002). Diferentemente da *Fibrobacter succinogenes*, a bactéria *Streptococcus bovis* foi encontrada em maior quantidade relativa nos animais do tratamento concentrado do que nos animais do tratamento controle. Segundo Nagaraja e Titgemeyer (2007) são bactérias que proliferam no rúmen de bovinos alimentados com alto teor de concentrados e que contribuem para o rápido acúmulo de ácido láctico e AGCC. Os animais que receberam previamente concentrado tiveram pH mínimo de 5,50 durante os 3 dias (Tabela 8), o que pode ter ocorrido pois essa bactéria produz lactato em baixo pH podendo diminuir ainda mais o pH ruminal (RUSSEL, 2002).

**Tabela 13.** Quantificação de microrganismos ruminais de bovinos Nelore canulados no rúmen submetidos previamente a restrição nutricional ou consumo de ingredientes concentrados: fase de pré-adaptação, adaptação e terminação.

Quantidade relativa %	Tratamentos			EPM <sup>1</sup>	Valor de P
	Controle	Restrição	Concentrado		TRT <sup>2</sup>
<u>Pré-adaptação (Dia 8)</u>					
<i>Fibrobacter succinogenes</i>	4,90	4,91	5,44	0,44	0,14
<i>Megaesphaera elsdenii</i>	25,63 <sup>a</sup>	23,87 <sup>b</sup>	23,07 <sup>c</sup>	1,30	<b>&lt;0,01</b>
<i>Streptococcus bovis</i>	12,93 <sup>ab</sup>	11,86 <sup>b</sup>	13,60 <sup>a</sup>	0,99	<b>0,06</b>
<u>Adaptação (Dia 18)</u>					
<i>Fibrobacter succinogenes</i>	6,13 <sup>a</sup>	5,66 <sup>a</sup>	5,01 <sup>b</sup>	0,41	0,10
<i>Megaesphaera elsdenii</i>	26,11	24,74	24,80	2,24	0,73
<i>Streptococcus bovis</i>	13,53 <sup>b</sup>	14,10 <sup>ab</sup>	14,69 <sup>a</sup>	0,62	<b>0,08</b>
<u>Terminação (Dia 30)</u>					
<i>Fibrobacter succinogenes</i>	6,86 <sup>a</sup>	6,37 <sup>ab</sup>	5,85 <sup>b</sup>	0,30	<b>0,07</b>
<i>Megaesphaera elsdenii</i>	18,95	17,82	16,83	1,07	0,16
<i>Streptococcus bovis</i>	16,56	15,69	15,55	0,90	0,31

<sup>1</sup>Erro Padrão Médio; <sup>2</sup>Tratamento.

#### 2.4.2.3 Fase de terminação

Os animais que receberam concentrado na pré-adaptação tiveram o CMS semelhante ao grupo controle (Tabela 4). Essa variável pode evidenciar que os animais que receberam concentrado na fase de pré-adaptação quando chegaram na terminação estavam adaptados, pois segundo Counette & Prins (1981) o ruminante pode ser considerado adaptado para consumir ingredientes denominados “concentrados” quando for alimentado com esta dieta, desde que não apresentem efeitos adversos em um nível de ingestão sem aparecimento de acidose ruminal em bovinos não adaptados.

Nos dias 27e 28, a relação acetato/ propionato foi maior para animais do tratamento concentrado quando comparado aos do tratamento controle ( $P \leq 0,10$ ) (Tabela 13). Isso pode estar relacionado ao fato de que esses animais tem um pH ruminal mais controlado já que não houve diferença significativa desse tratamento perante ao tratamento controle para as variáveis de pH. Quando o pH do rúmen está próximo a neutralidade (o pH médio desses animais durante os três dias da terminação foi de 5,81; próximo de 6,0), a bactéria *Streptococcus bovis* produz acetato, formato e etanol através

da fermentação da glicose (RUSSELL e HINO, 1985), assim pode se explicar o aumento na relação de acetato: propionato que esses animais tiveram na fase de terminação. Além disso, os animais do tratamento controle tiveram uma maior concentração de propionato no dia 28, o que também pode ter ajudado para que essa relação tenha sido menor nos animais que receberam concentrado na pré-adaptação. Assim como para o pH, a avaliação dos produtos da fermentação teve valores semelhantes ao tratamento controle, podendo mostrar que os animais que receberam concentrado previamente a entrada ao confinamento tem características ruminais semelhantes aos animais que recebiam forragem *ad libitum* na pré-adaptação.

**Tabela 14.** Avaliação dos produtos da fermentação de bovinos Nelore canulados no rúmen submetidos previamente a restrição nutricional ou consumo de ingredientes concentrados: fase de terminação.

Dias	Tratamentos			Tempo após o trato				EPM <sup>1</sup>	Valor de P		
	Controle	Restrição	Concentrado	0 h	4 h	8 h	12 h		TRT <sup>2</sup>	Tempo	TRT*Tempo
<b><i>Dia 27</i></b>											
Total de AGCC, mM	93,46	96,15	93,15	95,63	85,63	91,27	104,47	3,81	0,54	<b>&lt;0,01 (Q)</b>	0,40
Acetato, mol/100 mol	59,15	62,55	61,10	62,91	55,62	59,22	65,98	2,28	0,25	<b>&lt;0,01 (Q)</b>	0,27
Propionato, mol/100 mol	23,63	22,21	20,73	20,87	19,79	21,32	26,79	2,09	0,24	<b>&lt;0,01 (L)</b>	0,50
Butirato, mol/100 mol	10,68	11,39	11,32	11,85	10,23	10,73	11,71	0,62	0,50	<b>&lt;0,01 (Q)</b>	0,65
Acetato:Propionato	2,57 <sup>b</sup>	2,90 <sup>a</sup>	3,11 <sup>a</sup>	3,12	2,88	2,88	2,58	0,16	<b>0,03</b>	<b>&lt;0,01 (L)</b>	0,30
Amônia, mM	20,91	22,81	19,60	12,05	21,90	25,34	25,14	2,36	0,41	<b>0,01 (L)</b>	0,19
<b><i>Dia 28</i></b>											
Total de AGCC, mM	108,82	103,45	106,57	107,82	108,99	101,99	106,31	4,91	0,61	0,25	0,54
Acetato, mol/100 mol	62,98	64,60	65,75	65,60	65,75	61,90	64,53	1,86	0,63	0,17	0,58
Propionato, mol/100 mol	32,02 <sup>a</sup>	26,25 <sup>b</sup>	27,85 <sup>ab</sup>	27,88	29,26	27,89	29,79	2,91	<b>0,08</b>	0,37	0,28
Butirato, mol/100 mol	13,82	12,59	12,97	14,34	13,98	12,19	12,00	1,38	0,70	<b>0,03 (L)</b>	0,70
Acetato:Propionato	2,05 <sup>b</sup>	2,57 <sup>a</sup>	2,60 <sup>a</sup>	2,56	2,43	2,35	2,28	0,25	<b>0,05</b>	<b>0,08 (L)</b>	0,11
Amônia, mM	19,75	21,32	21,53	12,14	22,53	22,60	26,19	1,57	0,77	0,08	<b>0,06</b>
<b><i>Dia 29</i></b>											
Total de AGCC, mM	105,24	101,18	105,53	104,69	98,67	100,61	111,95	6,11	0,65	<b>0,06 (Q)</b>	0,13
Acetato, mol/100 mol	64,55	63,58	64,25	64,94	60,48	61,87	69,06	2,49	0,95	<b>0,05 (Q)</b>	0,25
Propionato, mol/100 mol	29,38	26,80	29,09	27,64	27,23	27,97	30,85	3,65	0,50	<b>0,04 (L)</b>	0,25
Butirato, mol/100 mol	11,41	10,82	12,19	12,12	10,96	10,78	12,04	0,70	0,32	<b>0,04 (Q)</b>	0,35
Acetato:Propionato	2,27	2,55	2,39	2,52	2,41	2,34	2,33	0,28	0,46	<b>0,02 (L)</b>	0,57
Amônia, mM	20,38	20,35	21,12	12,71	24,50	19,02	26,25	1,57	0,91	<b>&lt;0,01 (C)</b>	0,65

<sup>1</sup>Erro Padrão Médio; <sup>2</sup>Tratamento, (L): efeito linear, (Q): efeito quadrático e (C): efeito cúbico.

## 2.5 Conclusão

Os animais que passaram por restrição alimentar ou por exposição de concentrado na fase de pré-adaptação apresentam características ruminais semelhantes durante a fase a terminação aos animais em forragem *ad libitum*.

## Referências Bibliográficas

- Almeida, R.; Medeiros, S. R.; Lanna, D. P. D.. 2010. Crescimento compensatório e seu efeito na eficiência. **Bovinocultura de corte Piracicaba**: Fealq, v. 1. p. 177-182.
- Barducci, R. S. Protocolos e durações de adaptação às dietas com alta inclusão de concentrados para bovinos Nelore confinados. 2013. 100 f. **Tese** (Doutorado) - Curso de Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2013.
- Bevans, D. W., K. A. Beauchemin, K. S. Schwartzkopf-genswein, J. J. McKinnon, and T. A. McAlliste. 2005. Effect of rapid or gradual grain adaptation on subacute acidosis and feed intake by feedlot cattle. **Journal of Animal Science**. 83:1116-1132.
- Brown, M. S., C. H. Ponce, and R. Pulikani. 2006. Adaptation of beef cattle to high concentrate diets: Performance and ruminal metabolism. **Journal of Animal Science**. 84:25-33.
- Cameron, M. R., Klusmeyer, T. H., Lynch, G. L. et al. 1991. Effect of urea and starch on rumen fermentation, nutrient passage to the duodenum, and performance of cows. **Journal of Dairy Science**. 74(4):1321-1336.
- Chizzotti, M.L.; Valadares Filho, S.C.; Chizzotti, F.H.M. et al. Consumo, digestibilidade e excreção de uréia e derivados de purinas em novilhas de diferentes pesos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1813-1821, 2006.
- Choat, W. T., Krehbiel, C.R., Brown, M.S., Duff, G.C., Walker, D.A. and Gill, D.R.. 2002. Effects of restricted versus conventional dietary adaptation on feedlot performance, carcass characteristics, site and extent of digestion, digesta kinetics, and ruminal metabolism. **Journal of Animal Science**. 2002. 80:2726–2739.
- Counette, G. H. M.; Prins, R. A..1981. Regulation of lactate metabolism in the rumen. *Veterinary research Communications*. v.5, p.101-115.
- Erwin, E.S.; Marco, G.J.; EmerY, E.M. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. **Journal of Dairy Science**, v.44, n.9, p.1768-1771. 1961.

- Estevam, D. D. Períodos de adaptação de bovinos Nelore confinados a dietas de alto teor de concentrado. 2016. 89 f. **Dissertação** (Mestrado) - Curso de Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2016.
- Etschmann, B., A. S. Suplie, and H. Martens. Change of ruminal sodium transport in sheep during dietary adaptation. **Arch. Anim.Nutr.** 63:26–38. 2009.
- Foldager, J.. Protein requirement and non protein nitrogen for high producing cow in early lactation. **Tese** (Doutorado em Ciência Animal) – Michigan State University, East Lasing, MI. 1977.
- Fox, D. G., L. O. Tedeschi, T. P. Tylutki, J. B. Russell, M. E. Van Amburgh, L. E. Chase, A. N. Pella, and T. R. Overton. 2004. The cornell net carbohydrate and protein system model for evaluating herd nutrition and nutrient excretion. **Animal Feed Science Technology.** 112:29-78.
- Galyean, M. L., R. W. Lee, and M. E. Hubbert. 1981. Influence of fasting and transit on ruminal and blood metabolites in beef steers. **Journal of Animal Science.** 53:7–18.
- Grigsby, K. N., Kerley, M. S., Paterson, J. A. et al. 1993. Combinations of starch and digestible fiber in supplements for steers consuming a low-quality Bromegrass hay diet. **Journal of Animal Science.** 71(4):1057-1064.
- Harmon, D. L., K. L. Gross, C. R. Krehbiel, K. K. Kreikemeier, M. L. Bauer, and R. A. Britton. 1991. Influence of dietary forage and energy intake on metabolism and acyl-CoA synthetase activity in bovine ruminal epithelial tissue. **Journal of Animal Science.** 69:4117–4127.
- Hungate, R. E. 1966. The Rumen and its Microbes. **Academic Press**, New York, NY.
- Hutcheson, D. P., and N. A. Cole. 1986. Management of transit-stress syndrome in cattle: Nutritional and environmental effects. **Journal of Animal Science.** 62:555–560.
- Kulasek, G. A.. A micromethod for determination of urea in plasma, whole blood cells using urease and phenol reagent. **Pol. Arch. Weter.** 15:801-810. 1972.
- Keogh, K., S. M. Waters, A. K. Kelly, and D. A. Kenny. 2015a. Feed restriction and subsequent realimentation in Holstein Friesian bulls: I. Effect on animal performance; muscle, fat, and linear body measurements; and slaughter characteristics. **Journal of Animal Science.** 93:3578-3589.
- Keogh, K., S. M. Waters, A. K. Kelly, A. R. G. Wylie, H. Sauerwein, T. Sweeney, and D. A. Kenny. 2015b. Feed restriction and realimentation in Holstein–Friesian bulls: II. Effect on blood pressure and systemic concentrations of metabolites and metabolic hormones. **Journal of Animal Science.** 93:3590-3601.

- Merchen, N. R., J. L. Firkins, and L. L. Berger. 1986. Effect of intake and forage level on ruminal turnover rates, bacterial protein synthesis and duodenal amino acid flows in sheep. **Journal of Animal Science**. 62:216–225.
- Murphy, T. A.; Loerch, S. C.; and Dehority, B. A.. 1994. The Influence of Restricted Feeding on Site and Extent of Digestion and Flow of Nitrogenous Compounds to the Duodenum in Steers. **Journal of Animal Science**. 1994. 72:2487-2496.
- NRC (National Research Council). 1984. **Nutrient requirements of beef cattle**. 6th ed. Washington, D.C.: National Academy Press.
- NRC (National Research Council). 1996. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington: National Academy Press, 242p
- Parra, F. S. Protocolos de adaptação à dietas com alta inclusão de concentrados para bovinos nelore confinados. 2011. 77 f. **Dissertação** (Mestrado) - Curso de Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2011.
- Penner, G. B.; Beauchemin, K. A.; Mutsvangwa, T.. A evaluation of the accuracy and precision of a stand-alone submersible continuous ruminal pH measurement system. **Journal of Dairy Science**.: 89:2133-2140. 2006.
- Russell, J. B., Hino, T. Regulation of Lactate production in *Streptococcus bovis*: A Spiraling Effect That Contributes to Rumen Acidosis. **Journal of Dairy Science**, Volume 68, Issue 7 , 1712 – 1721. 1998
- Rumsey, T. S., P. A. Putnam, J. Bond, and R. R. Oltjen.. Influence of level and type of diet on ruminal pH and VFA, respiratory rate and EKG patterns of steers. **Journal of Animal Science**. 31:608–616. 1970.
- Russel, J. R.; Hino, T..1985. Regulation of lactate production in *streptococcus bovis*: a spiraling effect that contribute to rumen acidose. *Journal of Dairy Science*, v. 68, n. 7, p.1712-1721.
- Russel, J. B. 2002. **Rumen microbiology and its role in ruminant nutrition**. p 9-23.
- Santos, J. E. P. Distúrbios metabólicos. In: Berchielli, T. T.; Pires, A. V.; Oliveira, S. G. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 485 p.
- SAS Institute (2003)‘SAS/STAT user’s guide. Release 9.1.’(SAS Institute: Cary, NC).
- Silveira, M. F.; Kozloski, G. V.; Brondani, I. L.; Alves Filho, D. C.; Restle, J.; Leite, D. T.; Metz, P. A. M.; Silveira, S. R. L. Ganho de peso vivo e fermentação ruminal em novilhos mantidos em pastagem cultivada de clima temperado e recebendo diferentes suplementos. **Ciência Rural**, v.36, n.3, 2006.

- Wertz-Lutz, A. E., J. A. Daniel, J. A. Clapper, A. Trenkle, and D. C. Beitz. 2008. Prolonged, moderate nutrient restriction in beef cattle results in persistently elevated circulating ghrelin concentrations. **Journal of Animal Science**. 86:564–575.
- Wertz-Lutz, A. E., T. J. Knight, R. H. Pritchard, J. A. Daniel, J. A. Clapper, A. J. Smart, A. Trenkle, and D. C. Beitz. 2006. Circulating ghrelin concentrations fluctuate relative to nutritional status and influence feeding behavior in cattle. **Journal of Animal Science**. 84:3285-3300.
- Yu, Z.; Morrison, M.. Improved extraction of PCR-quality community DNA from digesta and fecal samples. **Bio Techniques**. 36:808-812. 2004.
- Yokoyama, M. T.; Johnson, K. A.. 1993. Microbiology of the rumen and intestine. **In:** CHURCH, D. C. (Ed.). *The Ruminant animal digestive physiology and nutrition*. 5. ed. New Jersey: Englewood, Cliffs. p. 125-144.
- Zinn, R. A. and Y. Shen. 1998. An evaluation of ruminally degradable intake protein and metabolizable amino acid requirements of feedlot calves. **Journal of Animal Science**. 76:1280-1289.