

Caracterização físico-química e microbiológica do fluido ruminal e do conteúdo gastrointestinal de bezerros alimentados com silagem de leite de transição

Gercino Ferreira Virginio Júnior¹, Eduardo Robson Duarte¹, Laís Trindade de Castro Ornelas¹,
Rafael Alves de Azevedo², Maximiliano Soares Pinto¹, Luciana Castro Geraseev¹

¹ Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias, Avenida Universitária, 1000, Universitário, CEP 39404-547, Montes Claros-MG, Brasil. E-mail: gercino.ferreiravj@yahoo.com.br; duartevet@hotmail.com; microicaufmg@yahoo.com.br; maxonze@yahoo.com.br; lgeraseev@gmail.com

² Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Departamento de Zootecnia, Av Antônio Carlos, 6627, São Francisco, CEP 30161-970, Belo Horizonte-MG, Brasil. E-mail: rafaelzooufmg@gmail.com

RESUMO

O objetivo com esta pesquisa foi avaliar as características ruminais e a microbiota gastrointestinal de bezerros leiteiros em diferentes sistemas de aleitamento com silagem de leite de transição. Foram utilizados 18 bezerros Holandeses, entre 6 e 59 dias de idade, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado. No tratamento convencional, foram fornecidos 4 L de leite por dia. No segundo e terceiro tratamentos, foram fornecidos 2 L de silagem de leite de transição misturados a 2 L de água ou leite, respectivamente. Aos 60 dias de idade, após eutanásia, foram coletados aproximadamente 15 mL do conteúdo do rúmen, abomaso e do intestino delgado e 10 g de fezes. Os sistemas de aleitamento não influenciaram as características de cor, odor e viscosidade do líquido ruminal. O pH e a quantificação de Enterobacteriaceae, fungos micelianos e leveduriformes nos diferentes sítios do trato digestório não foram influenciados pelos sistemas de aleitamento avaliados. *Aspergillus* spp. foi o fungo miceliário mais frequente em ambos tratamentos. Os aleitamentos com silagem de leite de transição, em água ou em leite, não influenciaram as características físico-químicas e microbiológicas avaliadas, corroborando com os estudos que indicam que esse produto poderia ser utilizado como sucedâneo lácteo na criação de bezerros leiteiros.

Palavras-chave: fermentação láctica, microbiota ruminal, sistemas de aleitamento, sucedâneo

Physicochemical and microbiological characterization of ruminal fluid and gastrointestinal contents of calves fed with transition milk silage

ABSTRACT

The objective was to evaluate the ruminal characteristics and gastrointestinal microbiota of dairy calves in different milk feeding systems. In an entirely randomized design, 18 Holstein calves at 6 to 59 day of age were used randomly allotted. In the conventional treatment were provided 4 L of milk daily. In the second and third treatments, 2 L of transition milk fermented were administered to 2 L of water or 2 L of milk, respectively. At 60 days of age, it was collected approximately 15 mL of the contents of the tract digestive (rumen, abomasum, and small intestine) and feces after necropsy. The different systems of feeding did not influence the color characteristics, odor and viscosity of the ruminal juice. The pH and quantification of Enterobacteriaceae, mycelium fungi and yeast fungi did not show significant difference between treatments for the different sites studied. *Aspergillus* spp. was the mycelia fungi most frequent between isolates from gastrointestinal tract for both milk systems. The treatments with transition milk silage, in water or milk, did not influence the physicochemical and microbiological characteristics evaluated, corroborating studies indicate this product can be used as milk replacer for the dairy calves.

Key words: lactic fermentation, ruminal microbiota, milk feeding, milk replacer

Introdução

A fase de cria de bezerros em aleitamento artificial representa uma das etapas mais relevantes na produção leiteiras e pode comprometer a vida futura das matrizes dos rebanhos leiteiros. O leite utilizado nessa etapa ocasiona desvio de recursos e reduz a lucratividade dos sistemas (Castro et al., 2004). No entanto, representa o alimento com melhor valor biológico para os bezerros jovens, o que dificulta a substituição por sucedâneos nessa etapa de criação (Modesto et al., 2002).

Em propriedades leiteiras especializadas, o colostro e o leite de transição são produzidos em quantidades maiores do que as exigidas pelos bezerros. Esses produtos contêm características nutricionais superiores às do leite integral, entretanto não apresentam valor comercial (Modesto et al., 2002). Dessa forma representam alternativa viável e racional como sucedâneo do leite na cria de bezerros (Arguello et al., 2003; Ribeiro et al., 2001).

O acondicionamento e armazenamento, anaeróbico do colostro e do leite de transição excedente, em garrafas de plástico de politereftalato de etileno (PET) é conhecido como silagem de colostro, que pode ser estocada em temperatura ambiente até seis meses (Saalfeld et al. 2013). Entretanto, com relação ao desempenho de bezerros, os resultados ainda são controversos. Ganhos de peso de até 823 g por dia têm sido reportados com a utilização da silagem do colostro (Saalfeld et al., 2013). Entretanto, em outros estudos verificou-se que bezerros alimentados com esse sucedâneo apresentaram menor ganho de peso diário (Azevedo et al. 2013; Ferreira et al. 2013).

Bezerros recém-nascidos apresentam o trato gastrointestinal estéril com pré-estômagos pequenos e não funcionais e são considerados não ruminantes. O rápido desenvolvimento desses compartimentos está associado ao tipo de manejo alimentar adotado durante a fase de cria (Khan et al., 2016). Pouco se conhece sobre os efeitos da administração da silagem de colostro ou de leite de transição na microbiota em formação do trato digestório dos ruminantes.

Nesta pesquisa avaliou-se a influência do fornecimento da silagem de leite de transição, diluída em água ou misturada em leite, sobre as características físico-químicas e microbiológicas do trato gastrointestinal de bezerros leiteiros.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no setor de Nutrição de Ruminantes do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais (ICA/UFMG), Montes Claros, Minas

Gerais, Brasil. O experimento foi previamente aprovado pelo comitê local de ética em experimentação animal CETEA, sob o protocolo número 39/2009.

Foram utilizados 18 bezerros da raça Holandesa, com peso inicial médio de $36,50 \pm 4,03$ kg, provenientes da Fazenda Experimental do ICA/UFMG. Os animais foram alojados em baias individuais (1,20 m de largura, 2 m de comprimento e 1,30 m de altura) com pisos cobertos por areia, equipadas com baldes para fornecimento de água, concentrado, feno e suplemento mineral. Os animais foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos e seis repetições.

Após o nascimento os bezerros permaneceram com suas mães por 24 h para ingerirem colostro *ad libitum*. Em seguida foram alojados no galpão experimental, onde foram identificados com brincos. No segundo dia de vida, os animais foram alimentados com colostro de suas mães, fornecidos em mamadeiras de dois litros. Do terceiro ao quinto dia de vida, os animais dos tratamentos com silagem de leite de transição foram adaptados ao fornecimento da dieta, sendo acrescentado, inicialmente, 12,5% da silagem ao leite, no segundo dia 25% da silagem ao leite e no terceiro dia 37,5% ao leite. Já os animais dos tratamentos com leite, receberam a mesma quantidade de leite correspondente ao seu tratamento.

No grupo controle, os animais receberam 4 L de leite integral por dia. Nos tratamentos com sucedâneo, foram administrados 2 L de silagem de leite de transição diluída em 2 L água ou em 2 L de leite integral. Todos os tratamentos foram fornecidos em duas refeições de quantidades equivalentes a 50% do total, às 8 e 16 h, em mamadeiras com capacidade para 2 L. Água, concentrado peletizado e feno de tifton (*Cynodon* spp.) foram disponibilizados à vontade durante todo o experimento, em cochos plásticos, sendo ajustados para manter sobras em 20% do oferecido. O suplemento mineral foi fornecido *ad libitum* durante o experimento.

A silagem de leite de transição utilizada durante o experimento foi obtida a partir da coleta do colostro proveniente de vacas da raça Holandesa em diferentes períodos de lactação, também pertencentes ao mesmo rebanho. A coleta do colostro ocorreu do terceiro ao sexto dia de lactação, sendo coado em uma peneira e armazenado em garrafas de plástico com capacidade de 1,5 a 2,5 L, devidamente higienizadas. Todas as garrafas foram preenchidas totalmente, levemente pressionadas para retirada do ar e fechadas. O material ficou armazenado por no mínimo de 21 dias em local fresco. A composição do concentrado, do feno, do leite e da silagem de leite de transição estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Composição bromatológica do leite integral, da silagem de leite de transição, do concentrado peletizado e do feno de *Cynodon* spp. utilizados no arraçoamento de bezerros Holandeses aleitados com diferentes dietas até 59 dias de idade

Item	Concentrado [®] : 1	Feno ¹	Leite integral ²	Silagem de leite de transição ³
Matéria seca	87,00	93,00	12,00	10,00
Matéria mineral	6,95	5,35	-	0,86
Proteína bruta	19,00	12,10	3,00	4,19
Extrato etéreo	3,00	1,85	4,70	3,31
Lactose	-	-	4,45	2,33

[®]Tecnutri Bezerro Elite, empresa Tecnutri, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil; ¹Análises realizadas no laboratório de Bromatologia do Instituto de Ciências Agrárias da UFMG; ²Análises realizadas no laboratório de Análise de Qualidade do Leite da Escola de Veterinária da UFMG; ³Análises realizadas no laboratório de Leite e derivados do departamento de tecnologia de alimentos da Universidade Federal de Viçosa.

Ao completarem 60 dias, os animais foram submetidos a jejum alimentício de 12 h, com livre acesso a água. Para eutanásia foi administrada medicação pré-anestésica (Cloridrato de xilazina a 2%, Roumpun® – 1,5 mg kg⁻¹ de peso corporal) e anestésica geral (Pentorbital sódico Tiopental®, 10 mg kg⁻¹ de peso corporal), seguida por sangria jugular. Amostras do conteúdo ruminal, do abomaso e intestino delgado foram coletadas, respectivamente, na porção do saco dorsal do rúmen, na região medial do abomaso e na parte inicial do duodeno. Os materiais foram coletados com auxílio de pipetas estéreis, armazenados em tubos de ensaio estéreis e transportados em caixas isotérmicas. Entre as amostras coletadas, o conteúdo ruminal e intestinal foram analisados microbiologicamente. Também foram coletadas amostras de fezes de cada animal diretamente da ampola retal com auxílio de *swabs* estéreis.

A análise macroscópica do líquido ruminal coletado foi realizada imediatamente após a coleta, em tubo contendo cinco mL do fluido amostrado. Foram avaliados cor, odor, viscosidade e tempo de redução do azul de metileno na concentração 0,03%. O pH das amostras do líquido ruminal e das secreções do abomaso e intestino delgado foram aferidos, utilizando-se potenciômetro digital (Dirksen, 1993). As características micromorfológicas e tintoriais dos grupos bacterianos e das leveduras predominantes nas amostras do conteúdo ruminal e intestinal foram observadas após a confecção de esfregaços do fluido ruminal e coloração pelo método de Gram (Dirksen, 1993).

Para a detecção direta de fungos anaeróbios do rúmen, após a coleta, dois mL do conteúdo ruminal foram recolhidos e transferidos para tubos de ensaio, contendo 15 mL de solução de KOH a 10% para clarificação. Esses tubos foram incubados durante uma hora em banho-maria (90 °C), o sobrenadante foi removido e os resíduos neutralizados com 10mL de solução 0,02N de HCl, durante um a dois minutos. Após desprezar a solução ácida, os resíduos foram transferidos para tubos contendo seis mL de uma solução 0,05% de azul de metileno e lactofenol e incubados a 90 °C durante cinco minutos. Após desprezar o sobrenadante, o precipitado foi acondicionado em placa de petri, juntamente com 15 mL de lactofenol. O conteúdo foi inicialmente pesquisado em microscópio estereoscópio com o aumento de 400X (Chaudhry, 2000).

Para a quantificação de protozoários ruminais, após a coleta, um mL do conteúdo ruminal foi recolhido e transferido para um tubo de ensaio contendo nove mL de formaldeído 10%. Dessa diluição, uma alíquota de um mL foi transferida para um tubo contendo nove mL de solução salina 0,9%. As amostras foram homogeneizadas e uma alíquota de um mL foi transferida para câmara de contagem de *Sedgewick Rafter*, para visualização em microscópio óptico, na objetiva de 10X para contagem de protozoários pequenos, médios e grandes protozoários (Dirksen, 1993).

Para o cultivo microbiano, o material foi processado em câmara de fluxo laminar, e diluições decimais seriadas do fluido ruminal e da secreção do duodeno foram preparadas em tubos contendo nove mL de solução salina estéril. Após cada diluição, os tubos foram homogeneizados em vortex

durante um minuto. Alíquotas de 100 µL foram inoculadas em placas de petri estéreis de 90 x 90 mm contendo o meio ágar *MacConkey*, seletivo para Enterobacteriaceae, o meio ágar *Sabouraud Dextrose*, para o cultivo de fungos micelianos e leveduriformes e meio C contendo celulose, para o isolamento de microrganismos celulolíticos.

Os inóculos foram espalhados com alças de *Drigalski* estéreis e as placas foram incubadas em estufa BOD a 39 °C e monitoradas, para o crescimento de colônias por 48 horas para Enterobacteriaceae e até sete dias para fungos. Após esse período foi procedida a contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) por mL ou grama de conteúdo (Murray et al. 2007). Para a identificação dos fungos micelianos foi realizado microcultivo de 45 isolados provenientes do fluido ruminal dos cordeiros. As características micromorfológicas foram evidenciadas a luz do microscópio óptico com objetivas de 10 e 40X (Lacaz et al., 2002).

Os dados obtidos da quantificação das colônias de fungos micelianos, leveduriformes, microrganismos celulolíticos aeróbios e de Enterobacteriaceae foram transformados em log₁₀ (x+10) e submetidos à análise de variância e ao teste de não paramétrico, Kruskal-Wallis, considerando-se o nível de significância de 5%. A distribuição dos gêneros de Enterobacteriaceae foram avaliados, utilizando-se o teste do Qui-quadrado (χ^2), considerando os valores de $p \leq 0,05$. As médias de pH para os tratamentos nos diferentes sítios avaliados e a frequência de diarreia foram comparadas pelo teste de Duncan com nível de significância de 5%. As análises deste estudo foram processadas no pacote do Sistema de Análises Estatísticas Genéticas – SAEG (2007).

Resultados e Discussão

As características de odor e viscosidade não apresentaram diferença entre os tratamentos. A coloração predominante do conteúdo ruminal foi castanho claro para animais criados em sistema convencional e com silagem diluída em água. No tratamento com silagem misturada em leite, todas as amostras apresentaram coloração castanho esverdeado (Tabela 2).

A viscosidade aquosa observada para amostras de fluido ruminal de todos os bezerros, independente dos tratamentos, aos 60 dias de idade, pode estar relacionada com o baixo consumo de alimentos sólidos durante a fase de aleitamento e a

Tabela 2. Análises macroscópicas e físicas do líquido ruminal de bezerros Holandeses criados em diferentes sistemas de aleitamento

Variável	Convencional	Silagem em água	Silagem em leite
	n*		
Cor			
Castanho Claro	5	4	0
Castanho esverdeado	1	2	6
Odor			
Aromático	6	6	6
Viscosidade			
Aquoso	6	6	6
PRAM ¹			
Até 3 minutos	6	3	2
Acima de 6 minutos	0	3	4

*número de amostras, PRAM: Potencial de Redução do Azul de Metileno.

similaridade de consumo entre os tratamentos, como reportado em trabalho paralelo a esse estudo (Azevedo et al., 2014a).

O PRAM apresentou redução de até três minutos em 100% das amostras do sistema convencional, indicando microbiota normal, já a redução acima de seis minutos, observada em 50 e 66,7% das amostras, respectivamente, da silagem em água ou em leite, pode ser indicativo de indigestão simples, como observado em animais adultos (Dirksen, 1993). Entretanto, futuros estudos com referências às características físico-químicas do conteúdo ruminal de bezerros criados em aleitamento artificial são necessárias, para melhor definição de um padrão a ser comparado para esses animais.

Não foi observado efeito do sistema de aleitamento sobre o pH nos diferentes sítios avaliados do trato digestório dos bezerros (Tabela 3). Foi observado valor médio de pH ruminal de 6,7, valor bem acima ao descrito por Duffield et al. (2004), como sendo indicador de acidose subaguda em vacas em lactação, para os demais sítios avaliados não são encontrados faixas de referência para avaliação. Um dado relevante é que a silagem de leite de transição apresenta pH ácido (Azevedo et al., 2014b) devido o processo de fermentação, entretanto, a mesma não alterou as médias de pH do rúmen, do abomaso e nem do intestino delgado dos bezerros.

É importante relatar que os animais deste estudo passaram por jejum pré-abate de 12 h, sendo possível a influência desse período sobre os valores de pH observados. O pH pode estabilizar com o tempo, principalmente pela ação tamponante da saliva ou pela capacidade da mucosa do rúmen em absorver mais rapidamente os ácidos livres resultantes da fermentação, (Dirksen, 1993). Segundo Khan et al. (2016), a avaliação pontual não leva em consideração a variação diurna ou o comprimento e a extensão das condições das concentrações de ácidos ruminais, sendo mais indicada a avaliação contínua de pH ruminal em bezerros em desenvolvimento.

A análise direta pela coloração de Gram do conteúdo ruminal indicou a presença de leveduras e bactérias Gram negativas e Gram positivas, nos formatos de bastonetes, cocobastonetes e estreptococos nas amostras dos animais nos diferentes sistemas de aleitamento (Tabela 4).

Houve predomínio de cocobastonetes Gram negativos, seguido por bastonetes Gram positivos e *Streptococcus* spp. em todos os sistemas de aleitamento para a avaliação direta do fluido ruminal. A presença de leveduras foi detectada em todas as amostras, no entanto, foi observada menor quantidade no tratamento de silagem diluída em água. No conteúdo intestinal houve predomínio de cocobastonetes Gram negativos em todas as amostras avaliadas, seguido por leveduras e diplococos Gram positivos. Nesse sítio de avaliação houve menor observação de leveduras para os tratamentos com silagem, bem como menor

Tabela 3. Médias de pH do conteúdo ruminal, abomasal e intestinal de bezerros Holandeses criados em diferentes sistemas de aleitamento

Tratamentos	Rúmen	Abomaso	Intestino delgado
Convencional	6,8	3,3	5,9
Silagem em água	6,9	4,1	6,1
Silagem em leite	6,5	3,3	5,6

Tabela 4. Microrganismos presentes no exame direto do conteúdo ruminal e intestinal de bezerros Holandeses criados em diferentes sistemas de aleitamento

Microrganismos	Convencional	Silagem em água	Silagem em leite
Rúmen			
Cocobastonetes Gram negativos	(++++)	(++++)	(++++)
Bastonetes Gram positivos	(+++)	(+++)	(+++)
<i>Streptococcus</i> spp.	(+++)	(+++)	(++)
Leveduras	(++)	(+)	(++)
Intestino delgado			
Cocobastonetes Gram negativos	(+++)	(+++)	(+++)
Leveduras	(+++)	(++)	(++)
Diplococos Gram positivos	(++)	(++)	(+)

incidência de diplococos Gram positivos para o tratamento com silagem misturada em leite.

No exame direto do conteúdo ruminal, não foram detectadas a presença de protozoários nem de fungos anaeróbios em nenhuma das amostras dos diferentes sistemas de aleitamento. Vários fatores podem influenciar a colonização dos microrganismos no ambiente ruminal de bezerros (Meale et al., 2016), sendo promovida, principalmente, pelo contato com outros animais do rebanho e pelas fezes dos mesmos (Oliveira et al., 2007). Entretanto, os animais deste presente trabalho foram manejados em gaiolas individuais, podendo justificar a falta desses grupos de microrganismos no conteúdo ruminal.

No cultivo em Agar com celulose, como única fonte de carbono, fungos micelianos celulolíticos foram observados em 66,7% das amostras do rúmen provenientes dos três sistemas avaliados (Tabela 5). A positividade para amostras de fezes foi inferior nos tratamentos com silagem, representando 50 e 33,3% das amostras, respectivamente para diluição em água e mistura em leite.

A taxa de positividade para fungos micelianos e leveduriformes anaeróbios no meio ágar *Sabouraud* apresentou variação entre os diferentes sítios de avaliação e os tratamentos (Tabela 6). As menores positivities foram observadas para os conteúdos provenientes de animais dos tratamentos com silagem, sendo esses que apresentaram valores de PRAM acima de 6 minutos (Tabela 3) e no exame direto, a detecção de leveduras foi baixa (Tabela 6 e 7), corroborando com os resultados verificados nos cultivos. As médias de UFC de fungos não apresentaram diferença significativa entre os sistemas avaliados, independente do sítio de avaliação (Tabela 7, CV 35%).

O fato dos animais terem recebido uma fonte de dieta fibrosa (feno de *Cynodon* sp.) pode ter favorecido um tipo de determinado fungo, no caso o *Aspergillus* spp. ($p < 0,05$), em detrimento dos outros (Tabela 8), o que poderia ter auxiliado na degradação ruminal desse volumoso (Yone et al., 2015). Futuros estudos são necessários para elucidar a

Tabela 5. Positividade de fungos celulolíticos provenientes de bezerros Holandeses criados em diferentes sistemas de aleitamento

Tratamentos	Fungos celulolíticos	
	Rúmen	Fezes
Convencional	66,7%	66,7%
Silagem em água	66,7%	50,0%
Silagem em leite	66,7%	33,3%

Tabela 6. Positividade de fungos leveduriformes e micelianos para amostras provenientes do rúmen, intestino e fezes avaliados de bezerros Holandeses criados em diferentes sistemas de aleitamento

Tratamentos	Fungos leveduriformes			Fungos micelianos		
	Rúmen	ID*	Fezes	Rúmen	ID*	Fezes
Convencional	66,7%	50%	66,7%	83,3%	66,7%	83,3%
Silagem em água	33,3%	16,7%	33,3%	66,7%	33,3%	66,7%
Silagem em leite	50%	16,7%	33,3%	50%	16,7%	33,3%

*ID- Intestino delgado

Tabela 7. Médias de unidades formadoras de colônia (UFC mL⁻¹) de fungos leveduriformes e micelianos para amostras provenientes do conteúdo ruminal e intestinal de bezerros Holandeses criados em diferentes sistemas de aleitamento

Tratamento	Leveduras (UFC mL ⁻¹)		Fungos micelianos (UFC mL ⁻¹)	
	Rumen	Intestino delgado	Rumen	Intestino delgado
Convencional	8,0 x 10 ⁷	7,67 x 10 ⁷	3,5 x 10 ⁸	1,83 x 10 ⁷
Silagem em água	3,3 x 10 ⁶	1,26 x 10 ⁷	8,4 x 10 ⁴	8,3 x 10 ⁴
Silagem em leite	8,0 x 10 ⁷	5,00 x 10 ⁷	1,7 x 10 ⁴	1,6 x 10 ⁶

Tabela 8. Distribuição de gêneros de fungos micelianos isolados do trato digestório de bezerros criados em diferentes sistemas de aleitamento

Tratamentos/sítios	<i>Aspergillus</i>	<i>Paecilomyces</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Trichophyton</i>	Total
Convencional					
Rúmen	3	0	1	0	4
Intestino delgado	2	0	0	0	2
Fezes	6*	2	1	0	9
Silagem em água					
Rúmen	5	0	0	1	6
Intestino delgado	1	0	0	0	1
Fezes	3	1	0	1	5
Silagem em leite					
Rúmen	2	2	0	0	4
Intestino delgado	4	2	0	0	6
Fezes	1	0	0	0	1
Total	27*	7	2	2	38

*Gêneros mais frequentes, teste do qui-quadrado com p < 0,05

Tabela 9. Positividade e quantificação de Bastonetes Gram negativos aeróbios e anaeróbios facultativos provenientes do conteúdo ruminal e intestinal de bezerros Holandeses criados em diferentes sistemas de aleitamento

Tratamento	Rúmen		Intestino delgado	
	Positividade	UFC mL ⁻¹	Positividade	UFC mL ⁻¹
Convencional	100%	7,71 x 10 ¹¹	100,0%	5,2 x 10 ¹⁰
Silagem em água	100%	7,80 x 10 ¹⁰	50,0%	1,7 x 10 ¹⁰
Silagem em leite	100%	1,67 x 10 ¹⁰	83,3%	1,84 x 10 ¹⁰

microbiota de bezerros leiteiros, bem como associações desses microrganismos com o desempenho e sanidade dos animais submetidos a esses sistemas de aleitamento.

Os gêneros verificados no trato gastrointestinal dos bezerros avaliados neste estudo, são semelhantes àqueles observados na avaliação do conteúdo ruminal de bezerros de corte criados em pastagem de *Brachiaria* spp. no Norte Minas Gerais, que também constatou o predomínio de *Aspergillus* spp. (Abrão et al., 2014).

Após o período de cultivo de 48 h, as placas de ágar de *MacConkey* foram avaliadas quanto à positividade e quantificação do crescimento bacteriano (Tabela 9). As médias de unidades formadoras de colônia/mL (UFC) também não apresentaram diferença entre os sistemas de aleitamento.

Todas as amostras do conteúdo ruminal apresentaram positividade de 100% para bastonetes Gram negativos anaeróbios facultativos compatíveis com as características de Enterobacteriaceae. Amostras provenientes do intestino delgado apresentaram menores positivities nos tratamentos com silagem sugerindo uma possível contribuição para redução desses patógenos intestinais com a utilização da silagem do leite de transição. Entretanto essa diferença não

refletiu nos casos de diarreia apresentados pelos animais, sendo que no estudo paralelo, Azevedo et al. (2013), utilizando os mesmos animais do presente estudo, verificou-se que as dietas líquidas não interferiram na ocorrência de diarreia, os quais apresentaram média de 6,7 dias com diarreia. Também foi verificado que a frequência de animais que apresentaram diarreia foi de 100, 83 e 83%, respectivamente para os grupos alimentados exclusivamente com leite, silagem diluída em água e silagem misturada ao leite. Futuros estudos considerando uma maior amostragem de animais devem avaliar a ocorrência e gravidade dessa alteração em bezerros em aleitamento com silagem de colostro ou leite de transição.

Conclusões

Na cria de bezerros, a administração de silagem de leite de transição diluída em água ou em leite não alteraram significativamente a média do pH dos conteúdos do rúmen, abomaso e intestino delgado e a microbiota aeróbia desses sítios em comparação com bezerros alimentados com leite integral.

O estudo corrobora a indicação de outras pesquisas para utilização dessa silagem como sucedâneo lácteo para bezerros leiteiros.

Literatura Citada

- Abrão, F. O.; Duarte, E. R.; Rosa, C. A.; Freitas, C. E. S.; Vieira, E. A.; Huhges, A. F. S. Characterization of Fungi from Ruminant Fluid of Beef Cattle with Different Ages and Raised in Tropical Lignified Pastures. *Current Microbiology*, v.69, n.2, p.1-13, 2014. <<http://dx.doi.org/10.1007/s00284-014-0633-5>>.
- Arguello, A.; Catro, N.; Capote, J.; Ginés, R., Acosta, F.; López, J.L. Effects of refrigeration, freezing-thawing and pasteurization on IgG goat colostrums preservation. *Small Ruminant Research*, v.48, n.2, p.135-139, 2003. <[http://dx.doi.org/10.1016/S0921-4488\(02\)00277-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0921-4488(02)00277-8)>.
- Azevedo, R. A., Guimarães, F., Viegas, C. R., Almeida, P. N. M., Geraseev, L. C., Pinto, M. S., Duarte, E. R. Silagem de colostro: riscos microbiológicos e caracterização do pH em função do dia de coleta. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v.36, n.3, p.271-276, 2014b. <http://www.rbmv.com.br/pdf_artigos/16-12-2014_15-12RBMV053.pdf>. 02 Maio 2016.
- Azevedo, R. A.; Araújo, L.; Coelho, S. G.; Faria-Filho, D. E.; Duarte, E. R.; Geraseev, L. C. Desempenho de bezerros alimentados com silagem de leite de transição. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.48, n.5, p.545-552, 2013. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2013000500011>>.
- Azevedo, R. A.; Rufino, S. R. A.; Cruz, M. S. Costa, S. F.; Oliveira, N. J. F.; Coelho, S. G.; Duarte, E. R. Geraseev, L. C. Desenvolvimento de bezerros leiteiros alimentados com silagem de leite de transição. I - Trato digestivo. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.66, n.2, p.489-496, 2014a. <<http://dx.doi.org/10.1590/1678-41626564>>.
- Castro, A. L. M.; Campos, W. E.; Mancio, A. B.; Campos, O. F. Avaliação econômica de bezerros alimentados com colostro fermentado, associado ao óleo de soja e zeranól. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.56, n.2, p.202-206, 2004. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352004000200010>>.
- Chaudhry, A. S. Microscopic studies of structure and ruminal fungal colonization in sheep of wheat straw treated with different alkalis. *Anaerobe*, v.6, n.3, p.155-161, 2000. <<http://dx.doi.org/10.1006/anae.2000.0335>>.
- Dirksen, G. *Rosenberger exame clínico dos bovinos*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 419 p.
- Duffield, T.; Plaizier, J.C.; Fairfield, A.; Bagg, R.; Vessie, G.; Dick, P.; Wilson, J.; Arami, J.; McBride, B. Comparison of techniques for measurement of rumen pH in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.87, n.1, p.59-66, 2004. <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73142-2](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73142-2)>.
- Ferreira, L. S.; Bittar, C. M. M.; Silva, J. T.; Soares, M. C.; Oltramari, C. E.; Nápoles, G. G. O.; Paula, M. R. Desempenho e parâmetros sanguíneos de bezerros leiteiros que receberam sucedâneo lácteo ou silagem de colostro. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.65, n.5, p.1357-1366, 2013. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352013000500013>>.
- Khan, M. A.; Bach, A.; Weary, D. M.; von Keyserlingk, M. A. G. Invited review: Transitioning from milk to solid feed in dairy heifers. *Journal of Dairy Science*, v.99, n.2, p.885-902, 2016. <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-9975>>.
- Lacaz, C. S.; Porto, E.; Martins, J. E. C.; Heins-Vaccari, E. M.; Melo, N. T. *Tratado de Micologia Médica*. 9. ed. São Paulo: Sarvier, 2002. 1104p.
- Meale, S. J.; Li, S., Azevedo, P.; Derakhshani, H.; Plaizier, J.C.; Khafipour, E.; Steele, M. Development of ruminal and fecal microbiomes are affected by weaning but not weaning strategy in dairy calves. *Frontiers in Microbiology*, v.7, article 582, 2016. <<http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2016.00582>>.
- Modesto, E. C.; Mancio, A. B.; Menin, E.; Cecon, P. R.; Detmann, E. Desempenho produtivo de bezerros desmamados precocemente alimentados com diferentes dietas líquidas com utilização de promotor de crescimento. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.1, p.429-435, 2002. <<http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982002000200018>>.
- Murray, P. R.; Rosenthal, K.S.; Pfaller, M. A. *Microbiologia médica*. 6.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. 979p.
- Oliveira J. S.; Zanini A. M.; Santos, E. M. Fisiologia, manejo e alimentação de bezerros de corte. *Arquivo de Ciências Veterinárias e Zoologia*. Unipar, v.10, n.1, p.39-48, 2007. <<http://revistas.bvs-vet.org.br/acvzunipar/article/viewFile/13548/14417>>. 02 Maio 2016.
- Ribeiro, T. R.; Pereira, J. C.; Leão, M. I. Tamanho de órgãos e vísceras de bezerros holandeses, para produção de vitelos, recebendo dietas com diferentes níveis de concentrado. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.30, n.6, supl. 0, p.2163-2168, 2001. <<http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982001000800027>>.
- Saalfeld, M. H.; Pereira, D. I. B.; Silveira, K. R. K.; Schramm, R. Valente, J. S. S.; Borchardt, J. L.; Cularte, M. A.; Leite, F. P. L. Anaerobically fermented colostrum: an alternative for feeding calves. *Ciência Rural*, v.43, n.9, p.1636-1641, 2013. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782013000900016>>.
- Yohe, T. T.; O'Diam, K. M.; Daniel, K. M. Growth, ruminal measurements, and health characteristics of Holstein bull calves fed an *Aspergillus oryzae* fermentation extract. *Journal of Dairy Science*, v.98, n.9, p.6163-6175, 2015. <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-9313>>.