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

Leite acidificado para aleitamento de bezerros leiteiros em sistemas tropicais de criação

Marina Gavanski Coelho

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

Piracicaba
2019

Marina Gavanski Coelho
Médica Veterinária

Leite acidificado para aleitamento de bezerros leiteiros em sistemas tropicais de criação

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

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

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

Piracicaba
2019

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

Coelho, Marina Gavanski

Leite acidificado para aleitamento de bezerros leiteiros em sistemas tropicais de criação / Marina Gavanski Coelho. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2019.

68p.

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

1. Bezerras leiteiras 2. Dieta líquida 3. Conservação 4. Diarreia I. Título

A meus pais, Renato Cesar Coelho e Elvira Gavanski Coelho

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelas oportunidades e pela capacidade e força que me destes para lidar com as adversidades do caminho.

À minha família, que com base em sua união sempre me trouxeram amor, incentivo e orações, meu eterno amor e gratidão.

Ao meu companheiro Felipe, pela paciência, conselhos, por acreditar em mim em todas as vezes que deixei de acreditar, e pelos incessantes incentivos.

À Professora Carla Maris Machado Bittar, pela orientação, oportunidade, paciência e relação engradecedora que construímos, minha eterna gratidão e admiração.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” e ao Departamento de Zootecnia pela oportunidade de realizar o curso de Mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Supeior (Capes) pelo incentivo e concessão da bolsa.

Aos colegas que estiveram comigo durante esse período de crescimento e que o tornaram mais fácil: Marcos, Evangelina, Ana Paula, Pumba, Milaine, Gercino, Ariany, Maria Eduarda.

À Idalina, pelo bom papo, pela amizade e pelos abraços de mãe.

Aos estagiários e todos os participantes do Clube de Criação de Bezerras, em especial a Rafa, Ixplód, Amanda, Ana Cláudia e Juliane pelo auxílio na execução dessa pesquisa. A todos os estagiários que passaram pelo bezerreiro experimental e que contribuiram com nosso trabalho diário.

Aos funcionários do Setor de Não Ruminantes que sempre nos auxiliaram na nossa rotina.

Aos amigos que fiz em Piracicaba e que fizeram a saudade de casa ser mais amena.

As minhas amadas amigas que foram crucias também nesse momento, por todas as conversas, consolos, palavras de incentivo e conselhos: Paula, Isa, Karen, Duda, Letícia, Jéssica, Amanda, Nathy, Josi e Samara.

A todos que aqui não foram citados, mas que torceram pela realização desse sonho e contribuíram de alguma forma para a conclusão desse trabalho,

Muito obrigada!

"Neste dia perfeito, em que tudo amadurece e não apenas as uvas se tornam douradas, um raio de sol cai justamente sobre a minha vida: olhei para trás, olhei para a frente, e nunca vi ao mesmo tempo tantas e tão boas coisas".

(Friedrich Nietzsche– Ecce Homo)

Sumário

RESUMO 9
ABSTRACT 10
1 INTRODUÇÃO 11
2 REVISÃO DE LITERATURA 13
2.1. Custos na fase de criação de novilhas para reposição 13
2.2. Estratégias de aleitamento 15
2.3. Qualidade microbiológica do leite fornecido aos bezerros e suas implicações 18
2.4. Acidificação da dieta líquida 20
3 MATERIAL E MÉTODOS 26
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 32
4.1. Desempenho e desenvolvimento corporal 32
4.2. Diarreia e aspectos sanitários 41
4.3. Parâmetros metabólicos 46
5 CONCLUSÃO 51
REFERÊNCIAS 52

RESUMO

Leite acidificado para aleitamento de bezerros leiteiros em sistemas tropicais de criação

O uso de ácidos orgânicos para conservação do leite é uma ferramenta importante para propriedades que não possuem equipamentos para refrigeração, ou que utilizam sistemas de criação que mantêm o leite sob temperatura ambiente durante longos períodos, principalmente em sistemas de aleitamento intensivo e à vontade e que fazem uso de aleitadores automáticos. O objetivo deste estudo foi avaliar a acidificação como método de conservação da dieta líquida em condições climáticas tropicais. Foram utilizados 45 bezerros machos e fêmeas da raça Holandesa em delineamento de blocos contendo os tratamentos: 1) Leite integral acidificado mantido a temperatura ambiente (LA); 2) Leite refrigerado mantido a 5°C (LR) e 3) Sucedâneo lácteo diluído a 12,5% de sólidos (S). Após o nascimento, os animais foram devidamente colostrados e a partir do segundo dia recebiam 6L de dieta líquida de acordo com o tratamento. Os bezerros eram mantidos em abrigos individuais, e a temperatura ambiente média variou entre 17 e 26°C durante o período experimental de 56 dias, quando os animais eram desaleitados. Os bezerros tiveram livre acesso a água e concentrado. O consumo de alimentos e o escore fecal foram monitorados diariamente. Semanalmente, os animais eram pesados e medidas corporais realizadas, assim como eram realizadas coletas de sangue para determinação de metabólitos. O consumo de concentrado e dieta líquida, peso corporal, ganho de diário e medidas corporais foi menor para animais aleitado com S, mas não diferiu entre os tratamentos LA e LR ($P<0,05$). O escore fecal foi menor para o tratamento LR ($P<0,05$) o que indica que esses animais apresentaram menor frequência de diarreia, contudo, o valor apresentado pelo tratamento LA (1,98) não sugere ainda um processo diarreico. Houve efeito de tratamento ($P<0,05$) para o hematócrito e concentrações de glicose, βHBA, e proteína total, com valores inferiores para o tratamento S. Houve diferença ($P<0,05$) entre os tratamentos LA e LR, apenas para a concentração de lactato. A acidificação do leite demonstrou-se um método adequado de conservação da dieta bem como a refrigeração, não afetando negativamente o desempenho dos animais em comparação ao leite refrigerado.

Palavras-chave: Qualidade do leite, Desempenho, Diarreia

ABSTRACT

Acidified milk for feeding dairy calves in tropical raising systems

The use of organic acids to preserve milk is an important method for farms that do not have refrigeration equipment, or that use feeding systems that keep milk at ambient temperature for long periods, especially in intensive feeding systems with the use of an automatic feeder. The objective of this study was to evaluate the acidification as a method of preserving the liquid diet in tropical climatic conditions. Forty-five male and female Holstein calves were blocked according to sex, date and weight of birth and randomly assigned tothe treatments: 1) Acidified whole milk kept at ambient temperature (AM); 2) Refrigerated milk kept at 5ºC (RM) and 3) Milk replacer diluted to 12.5% solids (MR). After birth, the animals were colostrum fed and from the second day they received 6L of liquid diet according to the treatment. Calves were kept in individual hutches, and the mean ambient temperature varied between 26 and 17 °C during the experimental period of 56 days, when the animals were gradually weaned. Feed intake and fecal scores were monitored daily. Weekly animals were weighed and body measurements were performed, as were blood samples collected for metabolites analysis. Concentrated and liquid diet, body weight, daily gain and body measurements were lower for MR-fed animals, but did not differ between treatments AM and RM ($P < 0.05$). The fecal score was lower for the LR treatment ($P < 0.05$), indicating that these animals presented less frequency of diarrhea, however, the value presented by the LA treatment (1,98) does not yet suggest a diarrheal process. There was a treatment effect ($P < 0.05$) for hematocrit and concentrations of glucose, βHBA, and total protein, with lower values for MR treatment. There was a difference ($P < 0.05$) between LA and LR treatments, only for lactate concentration. Acidification of milk has been shown to be an adequate method of preserving milk as well as cooling, and does not adversely affect the performance of the animals compared to the refrigerated milk.

Keywords: Milk quality; Performance; Diarrhea

1 INTRODUÇÃO

A dieta líquida fornecida aos bezerros em fase de aleitamento possui elevada correlação com os aspectos sanitários e de desenvolvimento dos animais. Isso porque, a qualidade microbiológica do leite pode ser responsável pela ocorrência de enfermidades como a pneumonia e a diarreia, que podem prejudicar o desempenho dos bezerros (AUST et al., 2012).

O crescimento microbiano na dieta líquida tende a ser estimulado por erros de manejo que ocorrem desde a ordenha até falhas em processos de conservação e armazenamento, principalmente quando se utiliza sistemas de livre acesso à dieta (MOORE et al., 2009).

A temperatura de armazenamento do leite é o principal fator determinante da velocidade de crescimento bacteriano. No leite não refrigerado (25-30°C), o crescimento de bactérias que provocam a degradação do leite e alteração da sua qualidade nutricional é rápido e exponencial. Além disso, as bactérias predominantes são importantes agentes causadores de diarreia em bezerros, essa problemática é ainda mais considerável quando há a inclusão de leite de descarte à dieta dos animais (BUENO et al., 2004).

Como alternativa é crescente o uso de pasteurizadores para redução da carga microbiana, e consequentemente da morbidade e mortalidade do rebanho de cria (BUTLER et al., 2000). Contudo, essa é uma técnica muitas vezes inviável financeiramente, tendo em vista o elevado custo de investimento em relação ao número de bezerras em aleitamento (JAMALUDDIN et al., 1996).

Além disso, a pasteurização não impede a recontaminação do alimento pois não atua como uma esterilização, e algumas bactérias sobrevivem ao processo e podem se multiplicar rapidamente no leite não refrigerado. Em um estudo de Heinrichs e Jones (2011) os pesquisadores observaram que as contagens de bactérias *Staphylococcus* e *Streptococcus* em leite pasteurizado ao fornecimento foram mais altas que na pré-pasteurização devido a erros de manejo que são recorrentes na utilização deste equipamento.

O leite acidificado surge como uma alternativa para essa problemática, pois assim como a refrigeração ou a pasteurização, é um método de conservação do leite

e melhoria da qualidade microbiológica inicial. Essa ferramenta utiliza a adição de ácidos orgânicos a fim de reduzir o pH do alimento e tornar o ambiente desfavorável ao crescimento de microrganismos patogênicos (ANDERSON, 2011). Segundo um questionário desenvolvido por Todd (2013) na região de Ontario, cerca de 39,3% das fazendas utilizam algum tipo de acidificante nas dietas líquidas com o objetivo de reduzir a incidência de diarreias e melhorar o bem-estar dos animais, principalmente no verão. Segundo Fallon e Harte (1988) essa é a principal vantagem do uso de acidificantes na dieta líquida, e embora sua utilização se dê em grande parte ao aleitamento à vontade, existem outros benefícios do consumo de leite acidificado.

Além das melhorias da sanidade do rebanho, é possível observar maior ganho de peso até o desaleitamento, melhora no crescimento corporal e antecipação no consumo de concentrado inicial. Todd (2013) associou o fato da antecipação do consumo de concentado à tentativa do animal em promover o aumento do pH abomasal através da salivação gerada pelo inicio da ruminação.

O objetivo deste estudo foi comparar o desempenho, a incidência de diarreia e parâmetros séricos e metabólicos de bezerros da raça Holandesa aleitados com dietas líquidas com diferentes técnicas de conservação sob condições climáticas nacionais.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Custos na fase de criação de novilhas para reposição

Atualmente o Brasil disputa o terceiro lugar da produção mundial de leite com a China (IBGE, 2018). Segundo a FAO (2001) o leite é um dos alimentos mais consumidos no mundo e a crescente demanda por esse produto tem como justificativa o aumento da renda per capita e o crescimento populacional associado a mudanças nos hábitos alimentares. Nos últimos 16 anos, a produção de leite no país aumentou mais de 80%, a produção em 2000 que era de 19,77 bi L/ano, em 2016 foi para 35,66 bi, entre 2016 e 2017 o aumento foi de 4,1% (IBGE, 2018).

Quando analisamos os principais obstáculos enfrentados para o crescimento da atividade, é notório que a fase de criação traduz um importante gargalo. As bezerras representam a evolução genética e produtiva do rebanho, porém por ser esse um período extremamente oneroso, em virtude principalmente da dieta líquida, acaba por não ser vista como uma prioridade. Como resultado, são recorrentes os elevados índices de morbidade e mortalidade dos animais em fase de aleitamento, prejudicando o desempenho futuro da atividade (GUERRA et al., 2010).

Embora o aumento da receita em virtude de uma fase de cria bem executada seja em longo prazo, é necessário estabelecer a percepção de que as decisões quanto à nutrição, alojamento e sanidade irão influenciar o crescimento e desenvolvimento das bezerras. A taxa de crescimento, por sua vez, afetará a idade de concepção e idade ao primeiro parto, que podem acarretar consequências econômicas positivas ou negativas futuramente (COELHO, 2009).

Em um estudo realizado no Reino Unido, conclui-se que 15% das bezerras que sobrevivem a fase de criação nunca atingem a primeira lactação, e 19% entram em lactação apenas uma vez (BRICKELL & WATHES, 2011). Além disso, em média 8% das bezerras morrem nas primeiras 24 horas de vida (BRICKELL et al., 2009). A mortalidade de bezerras não acarreta apenas em prejuízo econômico, mas em perda de ganho genético cumulativo e de recursos utilizados até a morte do animal. Essas perdas econômicas não são recuperadas, devem ser incluídas no custo de criação e acabam sendo pagas pela renda obtida pela produção de leite.

O sistema de criação representa cerca de 20% dos custos totais da atividade e é a segunda maior despesa anual depois da alimentação do rebanho em lactação (GABLER et al., 2000). Os custos diretos e indiretos da criação são dificilmente conhecidos nas fazendas, e desta forma, acredita-se que esses valores sejam na maioria das vezes, subestimados.

O custo total da criação inclui os custos de alimentação, alojamento, mão-de-obra, reprodução e sanidade (Figura 2.1.1), mas ainda o custo de comprar bezerras quando não há novilhas de reposição suficientes disponíveis (BOULTON et al., 2015).

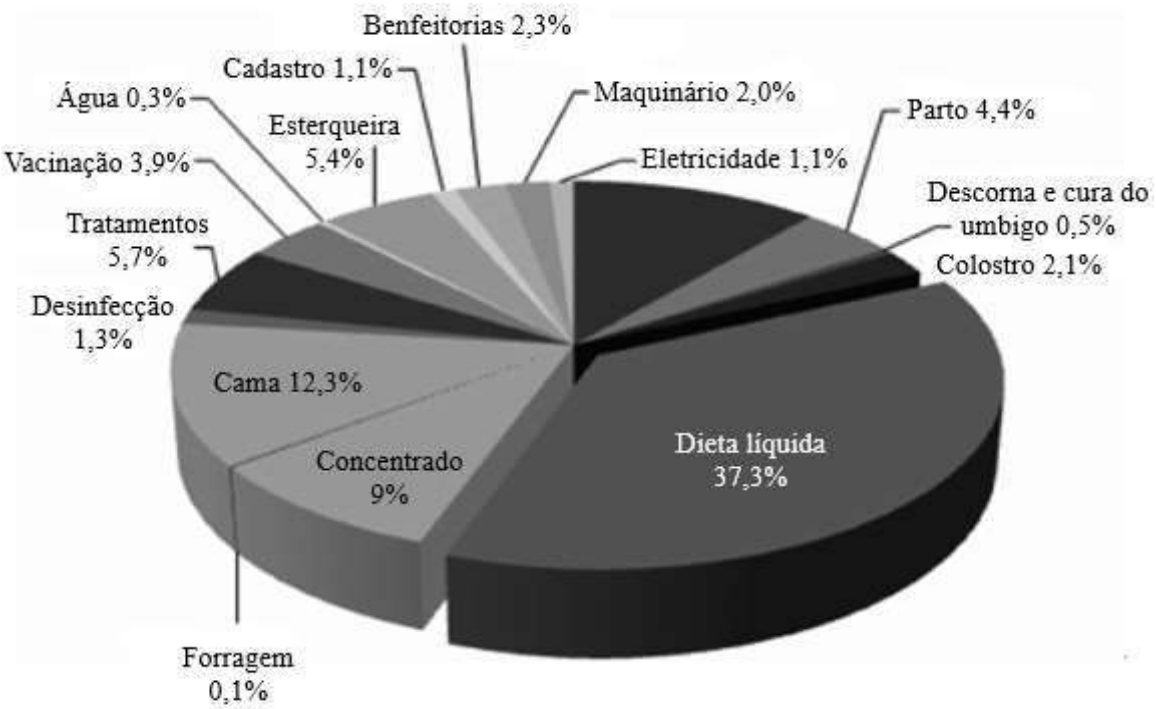

Figura 2.1.1 Contribuição dos custos de insumos para o custo total de criação de novilhas. Adaptado de: Boulton et al. (2015).

Independentemente de onde ou da forma como as análises de custos são realizadas, é concludente que o maior investimento na fase de criação é representado pela dieta líquida. Segundo Santos e Bittar (2015) existe uma ampla variedade de sistemas de criação brasileiros, que são representados em menor escala por propriedades de maior tecnificação que realizam aleitamento artificial e fazem uso de estratégias que aumentam a eficiência do sistema.

Segundo Wattiaux (2007) as bezerras devem receber adequada alimentação e manejo para que possam atingir o peso ideal de cobertura e idade ao primeiro parto apropriado para que iniciem a vida produtiva adequadamente. A idade ao primeiro

parto recomendada por uma perspectiva biológica e financeira é de 23 a 25 meses (ETTEMA e SANTOS, 2004), o que exige elevada taxa de crescimento até este ponto.

O desenvolvimento no período inicial está intimamente correlacionado ao manejo nutricional, especialmente da dieta líquida, pois a mesma contribui com a maior parte dos nutrientes para estes animais, resultando em crescimento efetivo e diminuição da morbidade, com consequente melhoria do desempenho (WATHES et al., 2014). Portanto, a decisão pela adoção de um programa de aleitamento restrito ou intensivo não só apresenta implicações financeiras, mas também afeta a eficiência e o crescimento das bezerras.

2.2 Estratégias de aleitamento

O fornecimento da dieta líquida de forma restrita/convencional (volume de 8 a 10% do peso corporal ao nascimento), tem por objetivo a redução do custo da bezerra desaleitada; uma vez que estimula o consumo de concentrado em idades mais jovens, permitindo o desaleitamento precoce (TODD et al., 2017). Segundo Bittar et al., (2009) durante a fase de aleitamento (60 dias), a retirada do leite e a introdução de alimentos concentrados tende a reduzir em até 32% o custo diário com a alimentação, justificando de forma financeira, o emprego deste método de criação.

Porém, ao fornecer baixo volume de dieta líquida, principalmente nas primeiras semanas onde o consumo de concentrado é baixo, o aporte de nutrientes se torna insuficiente para altas taxas de crescimento devido ao baixo consumo de energia e proteína, conforme os dados do NRC (2001, Tabela 2.1), gerando menor ganho médio diário, maior morbidade e detrimento do bem-estar dos bezerros. Por esse motivo dietas com maior volume de fornecimento acarretam maiores benefícios ao desenvolvimento dos animais. O sistema de aleitamento que oferece elevado volume de dieta líquida é conhecido como intensivo ou melhorado (KHAN et al., 2007a).

Tabela 2.1 - Potencial de ganho de acordo com a quantidade de leite fornecida.

L/dia	Consumo MS (g)	Consumo de energia metabólica (Mcal)	Ganho permitido pela energia metabólica (g)	Consumo de PB (g)	Ganho permitido pela PB (g)
2	250	1.34	--	65.5	139
4	500	2.68	354	127	380
6	750	4.03	756	190	627
8	1000	5.37	1050	254	868

Baseado em equações do NRC (2001)

Em sistemas intensivos pode-se fornecer maiores volumes de dieta líquida, com restrição do consumo (entre 15 e 20% do peso vivo ao nascimento) ou de forma à vontade (>20%) (Tabela 2.2). Nesse sistema, as fêmeas tendem a atingir a puberdade, conceber e parirem mais cedo além de produzirem mais leite durante a primeira lactação. A diferença de peso corporal obtida pelos animais aleitados à vontade ou com maior volume de dieta líquida pode persistir durante várias semanas após a fase de aleitamento (RAETH-KNIGHT et al., 2009; DRACKLEY, 2005). No entanto, o consumo de concentrado pode ser reduzido, havendo a necessidade de estratégias para adequado desaleitamento dos animais, pois de outra forma o investimento realizado com o aleitamento intensivo será perdido (DRACKLEY, 2008).

Tabela 2.2 - Comparação entre sistema de aleitamento de acesso livre e convencional.

	À vontade	Convencional
% Peso corporal	20-25	8-15
Litros	8-10	4-6
Ganho g/d	1000	200-500
Frequência /d	7x	2x-3x
Tempo em aleitamento (min)	48	6-8
Intervalo (horas)	4	10-14

Fonte: Anderson (2006)

Vários pesquisadores avaliaram o efeito da ingestão *ad libitum* e o crescimento dos bezerros (FALLON e HARTE, 1988; RICHARD et al., 1988; HEPOLA

et al., 2008), onde demonstraram que animais submetidos a este sistema possuem maior ganho diário durante a fase de aleitamento, porém menor ganho no pós-desmame quando comparado à animais em sistema de volume restrito.

Para Khan et al., (2011); Soberon e Van Amburgh (2013) o consumo de elevadas quantidades de dieta líquida diminui os sinais de fome, melhora o desempenho e o ganho de peso que está associado positivamente a maior produção de leite futura. Ao se tratar de dieta intensiva ou à vontade é importante ter em mente que a qualidade nutricional e microbiológica da dieta líquida é imprescindível, pois essa será a principal se não única fonte de energia para crescimento dos animais (TODD et al., 2010).

Segundo Wattiaux (2005) leite integral é o melhor alimento para ser utilizado na dieta líquida de bezerras leiteiras sendo sua composição ideal para o crescimento e desenvolvimento das fêmeas em criação (5% de lactose, 3 - 4% de proteína, 3,5 - 6% de gordura e 0,7% de minerais). Contudo, apresenta algumas desvantagens principalmente econômicas ao produtor, já que é um alimento de elevado custo e que ao ser fornecido aos animais reduz a quantidade a ser comercializada pela propriedade (SANTOS e BITTAR, 2015).

Possíveis alternativas foram então desenvolvidas, como o uso de sucedâneos ou sucedâneos lácteos criados na década de 1950 e testados e aprimorados desde então (OTTERBY e LINN, 1981). Os sucedâneos possibilitam além da comercialização do leite produzido, que a dieta fornecida seja sempre constante e desvinculada dos horários de ordenha. Por outro lado, a qualidade do sucedâneo é o fator determinante para os bons resultados em desempenho (NCR, 2001).

Os sucedâneos comerciais apresentam diferenças de composição que tem por objetivo diminuir o custo da dieta, como a baixa inclusão de proteína de origem láctea e utilização de fonte proteica de origem vegetal como substituição (COSTA et al., 2007). Entretanto, a inclusão desse tipo de alimento tem baixa aceitação pelo mercado, pois possui implicações digestivas aos bezerros que podem acarretar em prejuízos ao desenvolvimento dos animais DAVIS e DRACKLEY (1998). Miqueo et al. (2017) avaliando sucedâneos com diferentes inclusões de proteína de origem vegetal encontraram elevada ocorrência de diarreia e baixo desempenho dos animais independente do volume fornecido.

Em geral, pesquisas que comparam o uso de sucedâneo com leite integral possuem resultados variáveis, de acordo principalmente com a qualidade do produto.

Silva (2014) não observou diferenças de ganho de peso e consumo entre animais consumindo leite e diferentes sucedâneos. O mesmo aconteceu no estudo de Lynch et al. (1978).

Dawson et al. (1988) concluíram que bezerros que receberam sucedâneos com proteína de soja processada por diferentes formas apresentaram ganho de peso inferior aos do grupo leite durante as seis primeiras semanas, havendo diferença ainda entre os métodos de processamento. O mesmo aconteceu no estudo de França et al. (2011), onde bezerros consumindo sucedâneo apresentaram um desempenho inferior.

Segundo Teixeira et al. (2007) esses resultados são esperados, já que o desempenho de animais consumindo sucedâneo é aceitável em até 20% a menos em comparação a bezerros consumindo leite integral para que seja rentável. Isso se deve ao fato de que o valor biológico do sucedâneo tende a ser menor assim como a taxa de absorção dos nutrientes. Esse é um entrave para sua utilização em sistema de aleitamento intensivo, que exige alimentos de elevado valor nutritivo.

Tradicionalmente, os sucedâneos comercializados no mercado brasileiro possuem em torno de 22% de proteína bruta (PB), mas com variações entre 14 e 24% (BITTAR et al., 2018). O recomendado pelo NRC (2001) é de que esses valores estejam entre 20-22% na composição final. No entanto, trabalhos recentes com aleitamento intensivo mostram que são necessários sucedâneos com maiores teores de PB para que sejam observados efeitos no ganho de peso (DE PAULA et al., 2017) e no aumento do potencial de produção futura destes animais (SOBERON et al., 2012).

Por esse motivo, ainda existe resistência na utilização de sucedâneos pelos produtores em decorrência dos dados negativos que existem na literatura, principalmente pela falta de padronização da qualidade (BITTAR et al., 2018). De acordo com levantamento de Santos e Bittar (2015), apenas 13% dos produtores de leite fornecem sucedâneos lácteos para bezerras.

Com isso, ainda é extensa a utilização do leite de descarte como alternativa ao leite integral, pois é um alimento de elevado valor nutricional já que contem leite de transição em sua composição, porém baixa qualidade microbiológica pois também apresenta leite proveniente de vacas com mastite. Essa é uma prática que pode resultar em sérios problemas sanitários e de desempenho (HEINRICHS et al.,1995).

2.3 Qualidade microbiológica do leite fornecido aos bezerros e suas implicações

A qualidade microbiológica da dieta líquida fornecida às bezerras é importante para a sanidade, o desempenho e o bem-estar. Bezerros que consomem dieta líquida com elevada contagem bacteriana apresentam maior índice de morbidade e mortalidade durante o aleitamento e ganham menos peso que animais alimentados com uma dieta de qualidade (JAMALUDDIN et al., 1996a). O leite indicado para alimentação de bezerras deve possuir contagem bacteriana máxima de 10.000 UFC/mL e inexistente crescimento de coliformes (MCGUIRK, 2008).

Infelizmente, ainda é bastante comum a utilização de leite de descarte no aleitamento dos bezerros, sendo a opção de dieta líquida de 36% das propriedades das regiões sul e sudeste (SANTOS e BITTAR, 2015). Este é definido como todo o leite que não pode ser comercializado, seja por conter colostro ou leite de transição, leite proveniente de vacas com mastite clínica, leite obtido durante a fase de tratamento de vacas com produtos veterinários, tratadas para mastite ou outras doenças; e leite com alto teor de células somáticas. O uso de leite de descarte ou com taxas muito altas de CBT pode ser ainda mais desafiador para a qualidade da dieta ingerida, uma vez que já possuem altas cargas bacterianas e alterações prévias de pH e sólidos totais, o que aumenta o potencial de multiplicação bacteriano (MOORE et al., 2009).

Na Alemanha o leite de descarte corresponde entre 1 a 4% da produção de leite/ano (SCHAEREN e MAURER, 2006; STATISTISCHES BUNDESAMT, 2008). Nos Estados Unidos esse valor representa de 22 a 62 kg de leite por vaca/ano, o que implica em elevada perda econômica ao produtor (AUST et al., 2012). Além do prejuízo atrelado a elevada produção de leite de descarte, sua utilização para aleitamento das bezerras gera preocupação pela excessiva contaminação bacteriana e o consumo de subdosagens de antibióticos pelos bezerros (SCHAFFER e MCGUFFEY,1980; SELIM e CULLOR, 1997). Além da elevada contagem bacteriana, o leite de descarte possui altos níveis de endotoxinas que podem causar uma infinidade de prejuízos a sanidade dos animais (MOORE et al., 2009).

Embora a elevada carga microbiana geralmente seja associada à falhas de manejo de ordenha e ocorrência de mastite, pode-se também observar problemáticas relacionadas ao inadequado manejo de fornecimento aos bezerros (MOORE et al.,

2009). Leite não conservado exposto à temperatura ambiente por longos períodos de tempo, é conhecido por provocar o rápido crescimento microbiano (STEWART et al., 2005).

Manejos alimentares que permitem o acesso dos animais ao leite durante o dia todo em seus sistemas e alguns alimentadores automáticos onde o leite permanece por longos períodos em temperatura ambiente podem favorecer a proliferação de bactérias mesófilas (GODDEN et al., 2005). As bactérias mesófilas incluem as cepas patogênicas e as ácido-láticas. Bactérias produtoras de ácido láctico (*Streptococcus* lactis e *Lactobacillus*) são responsáveis pela redução do pH do leite, através da conversão de açúcar em ácidos. Já as enterobactérias fazem parte da microbiota normal do intestino e incluem uma ampla variedade de bactérias patogênicas *(E. coli, Salmonella* spp*. Enterobacter* sp.) (GODDEN et al., 2005; NAYLOR, 1999).

A ingestão de leite cru, em especial o leite de descarte, é responsável pela transmissão de diversos patógenos que geram elevado prejuízo econômico durante a fase de cria, como *Mycobacterium avium, Salmonella spp, Mycoplasma spp, Listeria monocytogenes, Campylobacter spp, Mycobacterium bovis* e *Escherichia coli* (AUST et al., 2012).

A principal enfermidade ocasionada pela ingestão de leite contaminado é a infecção do trato gastrintestinal, que gera como principal sintoma, a diarreia. Esse sintoma acarreta maior fluidez das fezes com significativa perda de água e eletrólitos, importantes para manter o equilíbrio fisiológico dos animais. Embora essa seja uma doença de caráter multifatorial, a qualidade microbiológica da dieta está intimamente relacionada a sua incidência (NAYLOR, 1999; NAYLOR et al., 2006). Os agentes bacterianos causadores dessa enfermidade mais comuns são *Salmonella spp* e *Escherichia coli* (VENTURINI et al. 2007).

O fornecimento da dieta líquida ocorre em uma fase da vida em que as bezerras estão ainda amadurecendo o seu sistema imunológico. Nesse período crítico os anticorpos colostrais estão em declínio e ainda não há imunidade madura o suficiente para lidar com altos desafios microbiológicos. A diminuição das contagens bacterianas presentes no leite é o início de uma estratégia eficaz no controle da infecção gastrintestinal (SLANZON et al. 2013).

Para Chase (2011) um dos fatores-chave para o sucesso nestes sistemas é a identificação de produtos químicos e/ou tratamentos que podem ser utilizados para controlar a deterioração, controlando ou diminuindo o crescimento bacteriano. As

atuais opções para reduzir o risco de transmissão incluem a alimentação de sucedâneo ou leite integral pasteurizado. A pasteurização do leite é um método eficaz para eliminação de diversos patógenos, no entanto, envolve um grande custo inicial para aquisição do equipamento, e se torna inviável financeiramente para pequenos produtores (BUTLER et al., 2000). O sucedâneo de leite por sua vez, pode prejudicar o desempenho dos animais, principalmente no caso de aleitamento intensivo devido ao seu baixo teor proteico, além de também sofrer contaminação de acordo com o manejo e sistema de aleitamento utilizado (GODDEN et al., 2005).

O uso da pasteurização para reduzir a carga bacteriana do leite e minimizar importantes patógenos, foi avaliado por diversos pesquisadores (SELIM e CULLOR, 1997; BUTLER et al., 2000). E em comparação ao uso de sucedâneo apresentou melhor ganho de peso e redução da morbidade e mortalidade (JAMALUDDIN et al., 1996b; GODDEN et al., 2005). Contudo, a pasteurização não resiste à proliferação bacteriana por muito tempo após a exposição ao meio devido principalmente, a erros relacionados ao maejo do pasteurizador (RICHARD et al., 1988).

Uma abordagem que se assemelha ao uso da pasteurização, mas que traz vantagens considerando-se aspectos econômicos é a acidificação do leite. Essa técnica envolve a redução do pH do leite a um nível inadequado para o crescimento e sobrevivência microbiana (ANDERSON, 2008). A acidificação proporciona um efeito conservante contínuo, desde que o pH permaneça a um nível apropriado, podendo ser uma alternativa viável para pequenos produtores.

2.4 Acidificação da dieta líquida

A adição de ácidos à dieta líquida de bezerros surgiu como uma alternativa para a conservação do alimento, seja ele leite ou sucedâneo lácteo. Esta técnica evita o crescimento e impede a sobrevivência de diversos microrganismos causadores de doenças, mesmo quando o leite é mantido em temperatura ambiente (TOLL-VERA e VERA, 1996). Assim, é indicada para propriedades ou sistemas de aleitamento que não possibilitam a refrigeração da dieta, ou que ainda apresentam problemas em decorrência da qualidade microbiológica do alimento ofertado (TODD, 2013; JASTER et al., 1990).

Algumas pesquisas demonstram o rápido aumento na contagem bacteriana no leite e sucedâneos que não estão armazenados sob refrigeração (MOORE et al., 2009; SLANZON et al., 2013). A mistura de ácidos específicos, resultando em pH alvo

controlado, permite a conservação da dieta por longos períodos, o que possibilita a criação de animais em sistemas coletivos ou com estratégias de aleitamento que fornecem elevado volume de dieta líquida e que a mantêm em temperatura ambiente (ANDERSON, 2013).

A acidificação do leite produz também vantagens do ponto de vista de bem-estar animal pois facilita a utilização de sistemas de criação coletivos, com fornecimento de leite durante todo o dia. Além disso, tende a reduzir a ocorrência de diarreias e disseminação de problemas respiratórios e para alguns autores, pode representar melhorias no desempenho e ganho de peso dos animais (ANDERSON, 2013).

A acidificação foi utilizada nos bezerreiros pela primeira vez na década de 80, no Canadá, onde é bastante difundida nas fazendas em substituição à pasteurização do leite (NOCEK e BRAUND, 1986; WOODFORD et al, 1987; RICHARD et al, 1988). A acidificação nessa localidade é recomendada principalmente durante o inverno, isso porque os pesquisadores têm dúvidas se a acidificação é tão eficiente em elevadas temperaturas ambientais, o que poderia ser um entrave para sua utilização em países de clima tropical (ANDERSON, 2006).

Os principais ácidos utilizados são o adípico, lático, propiônico e cítrico, ou a combinação destes (CHASE, 2011). As pesquisas apontam melhores resultados com a utilização do ácido fórmico (TODD, 2013; CHASE, 2011; ANDERSON, 2013; GÜLER et al. 2006). Entretanto, seu uso foi proibido nos EUA, devido as suas propriedades adversas que oferecem risco aos tratadores durante o manuseio (CHASE, 2011).

O pH do leite recém ordenhado varia de 6,4 a 6,8, sendo essa faixa considerada ótima para o crescimento de vários agentes patológicos (VENTURINI et al. 2007). O pH recomendado para a utilização do método de acidificação é entre 4,0 e 4,5. Isto porque existem estudos que indicam que a maioria das bactérias e fungos são incapazes de se multiplicar dentro desta faixa de pH (Tabela 2.3) e também porque em pH inferior a 4, observou-se rejeição da dieta pelos bezerros (ANDERSON, 2006; ANDERSON, 2008).

Existe pouca informação sobre o tempo de contato necessário para que o ácido inative bactérias específicas do leite ou sucedâneos e, por este motivo, na prática os produtores esperam de 6 a 12 horas após a acidificação para fornecer aos animais (ANDERSON, 2008).

Tabela 2.3 - Principais bactérias presentes na dieta de bezerros, pH ótimo para crescimento, faixa para crescimento e pH para inativação.

Bactéria	pH ótimo	Faixas de pH para crescimento	pH para inativação
Bacillus cereus	-	4,3-9,3	<4,3 e >9,3
Clostridium perfringes	6,0-7,0	5,5-9,0	<5 e >8,3
Clostridium botulinum	6,0-7,0	4,6-9,0	<4,6 e >9
Escherichia coli	6,0-7,0	4,4-9,0	<4,4
Lactobacillus acidophilus	5,8-6,6	4,0-6,8	<4,4
Listeria monocytogenes	7,0	4,4-9,4	<4,4
Mycobacterium avium	6,0-7,0	5,0-7,0	<5
Pseudomonas aeruginosa	6,6-7,0	5,6-8,0	<5,6
Salmonella spp	7,0-7,5	3,8-9,5	<4,4
Staphylococus aureus	7,0-7,5	4,2-9,3	<4,2
Streptococus pneumoniae	7,8	6,5-8,3	<4,5
Vibrio cholerae	7,6	5,0-9,6	<4,5

Fonte: Anderson (2008)

Quanto as variações de consumo e refugo da dieta, Ribeiro et al. (2009) e Todd (2013) não encontraram diferenças no consumo de leite acidificado com ácido fórmico. Por outro lado, Hill et al. (2013) observaram depressão do consumo de sucedâneo acidificado com ácido cítrico a um pH de 4,2 em comparação ao pH de 5,2. Todd et al. (2017) também observaram diminuição do consumo de sucedâneo acidificado em comparação ao não acidificado, entretanto, o ganho de peso se manteve o mesmo.

O mesmo foi observado por Güler et al. (2006), que concluiram que a acidificação limitou a quantidade de sucedâneo ingerido por visitação aos bicos. A maioria dos trabalhos que utilizam dieta líquida acidificada apresenta baixo consumo de concentrado (Nocek e Braund, 1986; Richard et al., 1988) contudo, esses dados estão vinculados ao sistema de aleitamento intensivo e *ad libitum,* que na grande maioria envolvem esses estudos. Quando se leva em consideração aleitamentos com

volume restrito, o consumo de concentrado não é alterado ou apresenta ingestão antecipada (TODD, 2013; ZOU et al., 2017).

No estudo de Bush e Nicholson (1987) é possível observar o inicio do consumo de concentrado inicial mais cedo em bezerros aleitados com leite acidificado com ácido fórmico em comparação ao controle. Todd (2013) notou a mesma tendência, fato ao qual atribuiu a hipótese de tentativa de promover o aumento do pH abomasal através da salivação gerada pelo consumo do concentrado inicial, uma vez que encontrou um pH abomasal significativamente mais baixo.

Stobo (1983) demonstrou que além da inibição do crescimento de bactérias no trato digestório, a acidificação do leite aliado a aleitamentos mais frequentes melhora a digestão da dieta. Em contrapartida, Woodford et al. (1987) sugerem que o efeito benéfico do baixo pH do leite possivelmente ocorre apenas em nível abomasal, tendo em vista que a digesta sofre efeito da secreção pancreática no duodeno.

A oferta de sucedâneo de leite acidificado *ad libitum* (pH de 5,27) a partir da acidificação com ácido cítrico resultou em menor pH ruminal e menos tempo com pH abomasal acima do crítico (maior que 4,0), quando comparado a dieta de sucedâneo não acidificado em duas refeições diárias, o que pode indicar uma melhora no processo digestivo (WOODFORD et al. 1987).

Segundo Nocek e Braund (1986) a utilização de leite acidificado em sistemas *ad libitum* resulta maior ganho de peso e melhor conversão alimentar durante o pré-desaleitamento. Fallon e Harte (1988) mostraram que bezerros alimentados com sucedâneos do leite acidificado a pH de 5,8 tiveram significativamente maior ganho de peso vivo, em comparação com os bezerros consumindo sucedâneo não acidificado. Os autores argumentaram que a adição de ácidos orgânicos melhora a digestão, permitindo que os animais utilizem a ração mais eficientemente.

Outra vantagem atribuída ao uso da dieta acidificada é a redução da incidência de diarreia nos bezerros, tanto pela redução da taxa de proliferação de micro-organismos patogênicos no leite durante sua estocagem, quanto também pela acidificação do trato digestório. A redução do pH do trato digestório que pode ser favorável para processos de digestão através da formação do coágulo abomasal, e concomitante diminuição da taxa de multiplicação dos patógenos no trato digestório inferior (FALLON e HARTE, 1988).

Güler et al. (2006) trabalhando com acidificação do leite a partir do ácido fórmico, encontraram um aumento da consistência das fezes, e diminuição dos dias

com diarreia. Fallon e Harte (1987) também notaram uma significativa diminuição da incidência de diarreia, bem como diminuição de 70% da mortalidade devido a casos de diarreia.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento desenvolveu-se no bezerreiro experimental “Evilásio de Camargo” localizado no Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (USP/ESALQ), em Piracicaba, SP, no período de janeiro a agosto de 2016. Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é do Cwa: tropical de altitude, com três meses mais secos (junho, julho e agosto), chuvas de verão e seca no inverno. As médias de temperatura durante o período experimental foram obtidas juntamente à Série de Dados Climatológicos do Posto Meteorológico do Campus Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP (Tabela 3.1).

Foram utilizados 45 bezerros, machos e fêmeas da raça holandesa provenientes do rebanho leiteiro da universidade. Logo após o nascimento os animais foram separados da mãe e transportados ao bezerreiro experimental. O coto umbilical foi curado com solução de iodo 7% e então os animais foram pesados, tiveram suas medidas corporais mensuradas e alojados em abrigos individuais para serem colostrados.

Tabela 3.1 - Dados das condições climatológicas referentes às médias do primeiro semestre de 2016.

	Precipitação, mm	Umidade relativa, %	Temperatura média, °C	Máx, °C	Min, °C
Médias mensais					
Janeiro	267,8	82	26,6	31,9	21,2
Fevereiro	197,6	88	26,2	31,5	20,9
Março	126,7	83	25,0	30,5	19,6
Abril	6,0	70	22,5	28,3	16,7
Maio	161,6	81	19,5	25,2	13,8
Junho	171,1	80	17,4	23,8	11,0
Julho	2,4	67	18,8	26,9	10,6
Agosto	45,4	67	20,1	27,8	12,4

Fonte: Posto metereológico, Esalq – USP (2016)

O colostro de alta qualidade (> 50 mg/mL) foi fornecido logo após o manejo inicial em volume de 10% do peso vivo, mais uma segunda administração em até 12 horas depois. A partir da terceira refeição os animais passaram a receber 6 L/d da dieta líquida, divididos em duas refeições (7h00 e 18h00). Os animais tiveram acesso livre à água e ao concentrado inicial (Ração Bezerra Ag Milk Agroceres Multimix Nutrição Animal Ltda., Rio Claro, São Paulo, Brasil) durante todo o período experimental, as sobras de concentrado eram pesadas diariamente a fim de obter os dados de consumo diário.

Os animais foram divididos em blocos casualizados, de acordo com o sexo, peso ao nascer e data de nascimento, e distribuídos em um dos seguintes tratamentos, de acordo com a composição da dieta líquida: 1) Substituto lácteo (Sucedâneo de leite Sucelac Ag Milk Agroceres Multimix nutrição Animal Ltda., Rio Claro, São Paulo, Brasil) diluído para 12,5% de sólidos; 2) Leite integral refrigerado ou 3) Leite acidificado. A partir dos 52 dias de idade os animais foram desaleitados de forma gradual, quando a dieta líquida foi reduzida diariamente (para 4L, 2L, 1L, 0,5L e 0L aos 56 de vida) até o completo desaleitamento.

O leite integral a ser ofertado era dividido em duas porções, sendo uma refrigerada e outra acidificada a pH 4,2 (Anderson, 2008) através da adição de ácido lático (ácido láctico 85%, Dinâmica Química Contemporânea Ltda, Diadema, São Paulo, Brasil), sendo o material mantido em temperatura ambiente. O pH era mensurado através de medidor de pH (Medidor de pH de bancada Microprocessado Tec-5 Tecnal, Piracicaba, São Paulo, Brasil) no momento da acidificação, primeiramente até atingir o pH alvo, sendo sempre corrigido no momento do fornecimento, para o valor de 4,2. O leite era acidificado sempre pelo menos 6 horas antes do fornecimento, à 5ºC para evitar a formação de coágulos de proteína e aquecido entre 38-40ºC para fornecimento aos animais. Foram colhidas amostras do leite integral utilizado para avaliação de sua composição pré-acidificação (Tabela 3.2) bem como para crescimento microbiano antes e após a acidificação.

Para as análises microbiológicas foram coletadas amostras do leite refrigerado no momento do fornecimento e do leite acidificado ao longo de 12 horas em horários pré-determinados (0h, 1h, 2h, 4h, 8h, 12h). Utilizaram-se métodos de diluição seriada, plaqueamento e contagem microbiana. Para preparar as diluições 1 mL da amostra foi adicionada à 9mL de água deionizada em tubos de ensaio previamente esterilizados, obtendo-se a diluição de 10^{-1}. Em seguida, 1 mL da solução diluída foi

adicionada a 9mL de água novamente, obtendo-se a diluição 10^{-2} e sucessivamente até a diluição necessária para a inoculação e contagem.

Tabela 3.2 - Composição e contagem de células somáticas do leite integral utilizado durante o período experimental.

Amostra	Gordura (%)	Proteína (%)	Lactose (%)	Sólidos totais (%)	CCS (mil cels/mL)
1	4,50	3,18	4,48	13,17	465
2	4,48	3,20	4,50	13,20	503
3	3,81	3,20	4,48	12,48	547
4	3,80	3,20	4,49	12,46	470
Média	4,15	3,20	4,49	12,83	496

CCS: Contagem de Células Somáticas obtida por citometria de fluxo.

Placas Petrifilm® enterobacteriaceae (3M do Brasil, Sumaré, São Paulo, Brasil) foram utilizadas para a contagem de enterobactérias. As placas foram inoculadas com 1mL das diluições e incubadas a 32,5±1°C em incubadora BOD Modelo TE-402 (Tecnal, Piracicaba, São Paulo, Brasil) durante 24 horas com posterior contagem, considerando como positivas colônias vermelhas com zonas amarelas e bolhas de gás. Placas Petrifilm® AC (3M do Brasil, Sumaré, São Paulo, Brasil) foram utilizadas para contagem de bactérias aeróbias também inoculadas com 1 mL das soluções diluídas e incubadas a 32,5±1ºC por 48 horas, considerando como positivas placas com o crescimento de colônias vermelhas.

Após o período de incubação as placas passavam por contagem das colônias que foram classificadas e calculadas como UFC/mL de acordo com a diluição utilizada e então realizada a média para cada horário (Tabela 3.3).

Os animais foram pesados ao nascimento e semanalmente até completarem 8 semanas de vida, sempre antes do fornecimento da dieta líquida pela manhã. Concomitante a pesagem, os animais eram medidos para obtenção da altura de cernelha, largura de garupa e perímetro torácico. A altura de cernelha e largura da garupa foram realizadas com auxílio de uma régua biométrica, enquanto o perímetro torácico foi aferido através de fita métrica torácica.

Tabela 3.3 - Crescimento de Enterobactérias e Bactérias aeróbias no leite integral refrigerado e leite acidificado.

Amostras, UFC/ml	Leite acidificado						
	Pré-acidificação	0h	1h	2h	4h	8h	12h
Enterobactérias	555	50	0	0	0	0	0
Bactérias aeróbias	4550	1575	1175	625	75	0	0

O escore fecal foi monitorado diariamente, no período da manhã após o fornecimento da dieta líquida, seguindo o método sugerido por Larson et al. (1977). A classificação utilizada considera a fluidez das fezes (1 para normal; 2: mole; 3: aquosa; 4: fluída). A partir do segundo dia consecutivo com fezes fluídas os animais eram considerados com episódio de diarreia e recebiam hidratação oral três horas após o aleitamento da manhã diariamente até que as fezes voltassem a consistência normal. Após a obtenção do escore, os abrigos dos animais eram mudados de local, a fim de garantir ambiente seco e limpo, e para que o escore do dia seguinte fosse realizado com fezes recentes. A temperatura retal era aferida diariamente após o aleitamento da manhã.

Amostras de concentrado e sucedâneo foram coletadas durante todo o período experimental e submetidas à análise para determinação da composição químico-bromatológica. As amostras foram analisad.as no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Zootecnia/Esalq/USP. As amostras de concentrado foram moídas em moinho tipo Wiley com peneira de 1mm para determinação da matéria seca definitiva através da secagem da amostra em estufa a 105ºC até obter peso constante, a matéria mineral (MM) obtida por incineração das amostras após determinação da matéria seca, extrato etéreo (EE) por extração com éter de petróleo acidificado durante cinco horas em extrator Soxhlet de acordo com Association of Official Analytical Chemists – AOAC (1990), de acordo com os métodos sugeridos por Campos et al. (2002). A energia bruta (EB) foi determinada através de bomba calorimétrica PARR 1261 (Parr Instrument Company, Moline, Illinois, EUA), proteína bruta (PB) através de combustão, utilizando-se analisador de nitrogênio modelo FP-528 (Leco Corporation, St. Joseph, MI, EUA), e fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) pelo método descrito por Van Soest et al., (1991).

Os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram determinados por intermédio da fórmula proposta por Weiss (1993):

$NDT= 0,98 (100-FDN_N-PB-MM-EE-1) + 0,93 \times PB +2,25 \times EE + 0.75 \times (FDN_N – lignina) \times [1-(lignina/FDN_N)^{0,667}] – 7$ Onde:

FDN_N: Nitrogênio insolúvel em FDN

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

A composição químico-bromatológica do concentrado inicial e sucedâneo lácteo, utilizados durante o experimento estão apresentados na Tabela 3.4.

Tabela 3.4 - Composição químico-bromatológica do concentrado e sucedâneo lácteo.

	Concentrado[1]	Sucedâneo lácteo[2]
Matéria seca, %	87,4	93,9
Matéria Mineral, % MS	8,6	4,6
Proteína Bruta, % MS	25,4	18,9
Extrato etéreo, % MS	5,9	16,5
FDN[3], % MS	14,7	4,0
NDT[4], % MS	82,5	-

[1]Ração Bezerra Ag Milk Agroceres Multimix Nutrição Animal Ltda.
[2]Sucedâneo de leite Sucelac Ag Milk Agroceres Multimix nutrição Animal Ltda.
[3]FDN: Fibra em detergente neutro; [4]NDT: Nutrientes digestíveis totais.

Semanalmente eram coletadas amostras de sangue dos animais, 2 horas após o aleitamento da manhã, através de punção da veia jugular com auxílio de tubos vacuolizados contendo fluoreto de sódio como antiglicolítico e EDTA de potássio como anticoagulante, para obtenção de plasma; e tubos vacuolizados com ativador de coágulo, para obtenção de soro.

Os tubos foram centrifugados a 2.000 x *g*, durante 20 minutos, a 4ºC e o plasma e soro, armazenados em microtubos e congelados para posterior análise de metabólitos. As análises foram realizadas utilizando-se Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA 200 (CELM, Barueri, SP, Brasil) e kits comerciais da LABTEST Diagnóstica S.A. (Lagoa Santa, MG, Brasil) para glicose plasmática (Ref.: 133-1/500), para proteína sérica total (Ref.: 99) e para concentração de lactato

plasmático (Ref.: 138-1/50). Já as determinações de BHBA foram realizadas utilizando o kit enzimático RANBUT – Ref.: B1007 (RANDOX Laboratories – Life Sciences Ltd., Crumlin, UK; importado por RANDOX Brasil Ltda., São Paulo, SP, Brasil).

Para dados que não foram considerados como medidas repetidas no tempo, foi utilizado o PROC GLM do pacote estatístico SAS (version 5.0, SAS Institute Inc., Cary, NC), de acordo com o modelo 2. O modelo incluiu como efeitos fixos os efeitos de Tratamento, semana (idade dos animais) e a interação Tratamento e semana. O efeito de bloco, formado em função da data de nascimento dos animais, peso ao nascer e sexo, foi incluído no modelo como efeito aleatório.

Os demais dados foram analisados como medidas repetidas no tempo através do procedimento MIXED do pacote estatístico SAS (9.1), conforme modelo:

$$Yijk=\mu+ Ti+Ij+TIij+eijk$$

Onde:

Y_{ijk} = variável resposta μ = média geral

T_i = efeito de Tratamento

I_j = efeito de Idade (semanas)

TI_{ij} = efeito de interação Tratamento x Idade e_{ijk} = erro experimental

As médias foram comparadas pelo teste de Tukey com nível de significância de 5%.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Desempenho e desenvolvimento corporal

O desenvolvimento precoce dos bezerros está intimamente correlacionado com a estratégia de aleitamento utilizada. Fornecer volume restrito de dieta líquida aos animais, mas que ainda assim estimule o consumo de energia e o crescimento durante o período de aleitamento, pode garantir melhor desenvolvimento ruminal por estimular o início do consumo de concentrado. Faz parte também da estratégia optar por um alimento de alta qualidade nutricional e microbiológica, para garantir melhora na eficiência alimentar, maior ganho de peso e crescimento estrutural.

Tabela 4.1.1 - Consumo e desempenho de bezerros em aleitamento com diferentes estratégias de conservação da dieta líquida, substituto lácteo (SL), leite refrigerado (LR) ou leite acidificado (LA).

	Tratamento			EPM[1]	P<[2]		
	SL	LR	LA		T	I	TxI
Consumo							
Concentrado, g/d	245,85[c]	395,2[a]	344,19[b]	63,04	0,095	<,0001	0,512
Dieta líquida, L/d	5,42[b]	5,63[a]	5,62[a]	42,496	0,02	<,0001	0,01
Peso corporal, kg							
Ao nascimento	33,24	32,09	32,02	1,814	0,412	-	-
Ao desaleitamento	47,2[b]	67,5[a]	67,7[a]	1,677	<,0001	<,0001	<,0001
Ganho de peso, kg/d	0,234[b]	0,631[a]	0,640[a]	0,030	<,0001	<,0001	<,0001
Medidas corporais, cm							
Perímetro Torácico	79,28[b]	85,31[a]	84,57[a]	1,3298	<,0001	<,0001	<,0001
Largura de Garupa	20,44[b]	22,27[a]	22,36[a]	0,3660	<,0001	<,0001	<,0001
Altura de Cernelha	77,08[b]	80,34[a]	79,30[a]	1,0475	<,0001	<,0001	0,0014

(1) EPM = erro padrão da média
(2) T = efeito da dieta líquida; I = efeito de idade; TxI = Efeito da interação tratamento x idade
a, b, c Diferentes letras na mesma linha indicam diferença estatística (p<0,05).

Dentre os dados de desempenho avaliados todos os parâmetros foram afetados pela dieta líquida (P<0,05), a exceção do peso corporal ao nascimento, conforme o esperado pelo delineamento estatístico utilizado (Tabela 4.1.1). O desempenho dos animais também foi afetado pela idade dos mesmos, sendo o

consumo de alimentos e o peso dos animais crescente conforme os animais ficam mais velhos (P<0,05).

O consumo de dieta líquida apresentou efeito de tratamento (P<0,05) que evidencia pior desempenho dos animais que consumiam sucedâneo lácteo (Tabela 4.1.1, Figura 4.1.1). Segundo Bittar e Coelho (2017) a variação do consumo de sucedâneo lácteo e consecutiva oscilação de desempenho está associada rincipalmente a porcentagem e a fonte proteica utilizada como matéria-prima do sucedâneo.

É recomendado pelo NRC (2001) que os produtos que irão substituir o leite integral nas dietas de bezerras possuam em suas formulações entre 20-22% de proteína bruta, mas para sistemas com maior fornecimento de dieta líquida, maiores concentrações de proteína são desejáveis (De Paula et al., 2017). Além disso, a utilização de fontes de proteínas alternativas de origem vegetal na composição, apresentam alguns fatores antinutricionais (DAVIS e DRACKLEY, 1998) que podem causar reações de hipersensibilidade, decréscimo da digestão proteica, inibição da secreção de enzimas e diarreias (BAMN, 2014).

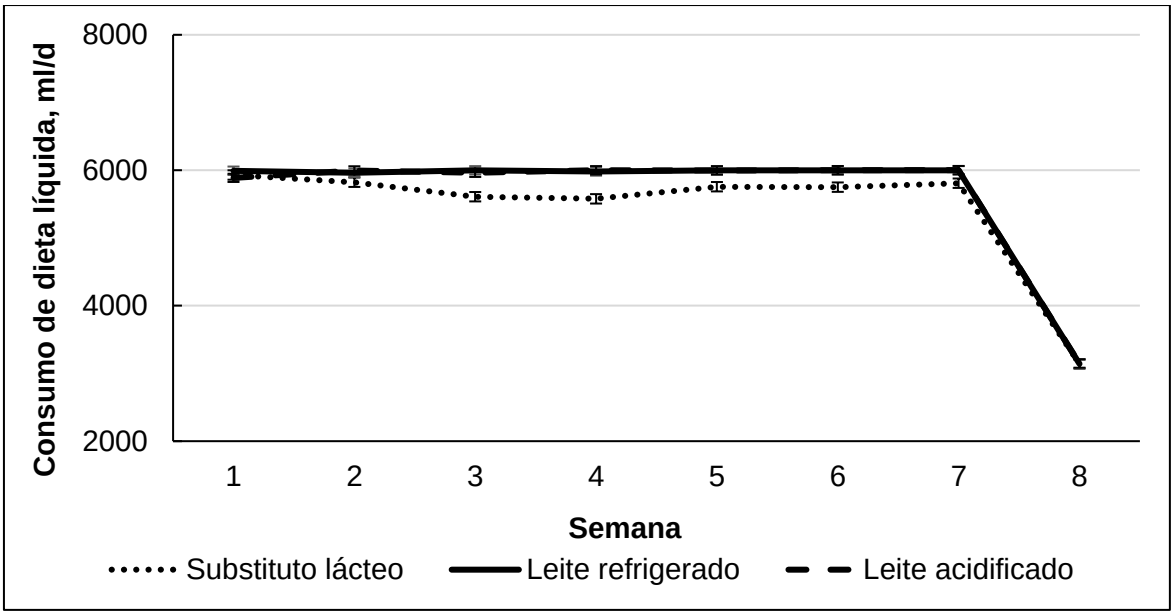

Figura 4.1.1 - Consumo de dieta líquida de bezerros holandeses sujeitos a diferentes dietas líquidas

Pesquisas anteriores demonstraram que a inclusão de proteína da soja no sucedâneo lácteo faz com que o pH do abomaso diminua de forma mais lenta, o que prejudica o aproveitamento da proteína presente na dieta e o prejudique o crescimento dos animais (SMITH e SISSONS, 1975; CONSTABLE et al., 2005). Portanto, ao se acidificar o sucedâneo, a diminuição do pH pode auxiliar no processo de digestão

abomasal e melhora a digestibilidade dos nutrientes e o crescimento dos bezerros (ZHANG et al., 2016). O mesmo raciocínio pode ser feito com relação ao leite acidificado.

Não houve diferença de consumo da dieta líquida quando se comparou o leite refrigerado com o leite acidificado (P>0,05) (Tabela 4.1.1, Figura 4.1.1), provavelmente pelo consumo ser restrito. Várias pesquisas, comparando dietas líquidas acidificadas com diferentes ácidos orgânicos a um pH entre 4,2-4,5 em sistema à vontade, concluíram que a adição dessas substâncias tende a causar efeito negativo no consumo da dieta líquida quando comparados a alimentos não acidificados (APPLEBY et al., 2001; COLLINGS et al., 2011; TODD, 2013). FOLEY e OTTERBY (1995) consideraram inviável a adição de ácido adípico na concentração de 1%, devido aos efeitos negativos sobre o consumo e, consequentemente, sobre o ganho de peso. Todd et al. (2016) concluíram que a acidificação afetou negativamente a ingestão diária de sucedâneo lácteo em sistemas *ad libitum* (11,2L/d para 12,3L/d em dietas sem acidificação).

Assim sendo, a depressão do consumo pode estar associada a palatabilidade da dieta líquida acidificada, tendo em vista que os bezerros são sensíveis a alterações de acidez. Todd (2013) verificou que os bezerros que recebiam dieta acidificada com ácido adípico (1%) ficavam menos tempo consumindo a dieta líquida, mas procuravam o aleitador mais frequentemente, sugerindo que acidificação pode reduzir a palatabilidade. Já para o uso do ácido lático também na concentração de 1%, não apresentou depressão de consumo.

Ribeiro et al. (2009), utilizando um composto com ácido lático a 0,5% de inclusão, também não encontraram diferenças com relação a alimentação líquida não acidificada. Entretanto, quando o pH de acidificação é maior (5,8) o consumo tende a não sofrer variação independente do sistema de aleitamento utilizado (FALLON e HARTE, 1988).

A ingestão de dieta líquida também teve efeito significativo de idade (P<0,05), uma vez que o desaleitamento foi realizado de forma gradual a partir da sétima semana (Figura 4.1.1). O desaleitamento gradual tem como objetivo aumentar o consumo de concentrado, garantindo melhor preparo do ponto de vista de desenvolvimento ruminal. Além disso, o desaleitamento gradual promove menor estresse aos animais e, portanto, melhora o bem-estar dos animais. Para alguns autores o desaleitamento feito de forma progressiva é indispensável em sistemas de

aleitamento intensivo ou à vontade para garantir manutenção das taxas decrescimento no período subsequente (SWEENEY et al., 2010; DE PASSILLE et al., 2011; BUDZYSNKA e WEARY, 2008).

Houve tendência de maior consumo de concentrado para animais recebendo leite refrigerado, seguido de leite acidificado e por último sucedâneo lácteo, com diferença de aproximadamente 210 g/d entre o maior e o menor consumo (Tabela 4.1.1, Figura 4.1.2).

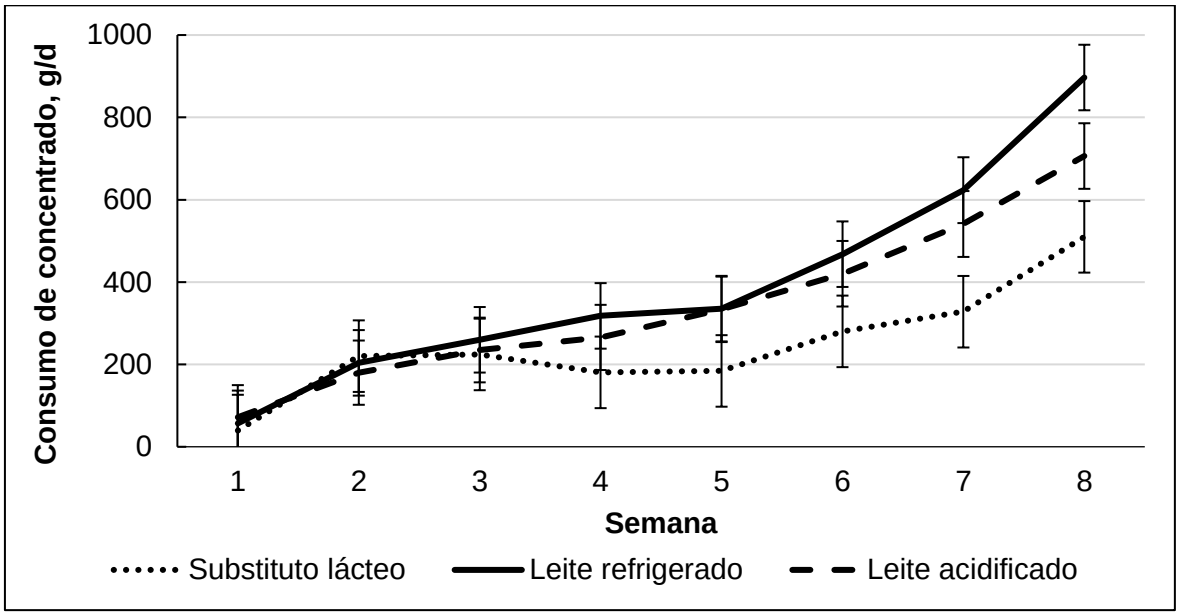

Figura 4.1.2 - Consumo de concentrado por bezerros holandeses aleitados com diferentes dietas líquidas

Embora sem efeito significativo, os animais que receberam sucedâneo apresentaram valores de consumo mais baixos a partir da sétima semana, sendo desaleitados com o menor consumo dentre os tratamentos (509,87 g/d) (Figura 4.1.2).

O fornecimento de leite acidificado mesmo resultando em menor consumo ao desaleitamento quando comparado ao fornecimento de leite refrigerado, teve consumo considerado como satisfatório (706,1 x 896,8 g/d) para evitar prejuízos ao desempenho pós-desaleitamento (QUIGLEY e BERNARD, 1996).

A maioria dos estudos que comparam o fornecimento do leite acidificado com o do leite integral ou de sucedâneos lácteos, são em sistemas de aleitamento intensivo ou *ad libitum.* Estes sistemas têm como característica maior ingestão de energia pela dieta líquida, menos sinais de fome, melhora no bem-estar dos animais e maior crescimento antes do desaleitamento. Contudo, atrasam o início do consumo de concentrado e afetam negativamente o desenvolvimento ruminal, quando comparado aos manejos de restrição alimentar (DRACKLEY, 2008; KHAN et al., 2011), uma vez

que o consumo de dieta sólida se relaciona negativamente com o de dieta líquida (GELSINGER et al., 2016).

Quando se trata de aleitamento intensivo, os animais geralmente consomem pouca ou nenhuma alimentação sólida durante as primeiras semanas, e começam a ingerir 100 a 200 g/d com aproximadamente 1 mês de idade (APPLEBY et al., 2001; JASPER e WEARY, 2002; KHAN et al., 2007b, TODD et al. 2010). Os dados da Figura 4.2 demonstram que os animais avaliados em todos os tratamentos, iniciavam o consumo já durante a primeira semana de vida. O fornecimento controlado de dieta líquida proporciona consumo de alimento sólido antecipado, com quantidades até duas vezes superior aos animais em aleitamento *ad libitum* (JASPER e WEARY (2002); KHAN et al. (2007a) e SWEENEY et al. (2010)). Zou et al. (2017) encontrou melhora do consumo de concentrado em sistemas ad libitum com dieta acidificada a um pH de 4,5.

Segundo Todd (2013), ao se utilizar dieta líquida acidificada em sistemas de aleitamento *ad libitum* pode ocorrer limitação do consumo de dieta líquida de até 1L/d pela alteração da palatabilidade, que implica em consumo de concentrado ocorrendo mais cedo e em maior quantidade, o que impactará positivamente no desenvolvimento ruminal.

Em relação ao início do consumo de concentrado inicial, Bush e Nicholson (1987) observaram que bezerros alimentados com dieta líquida acidificada com ácido fórmico iniciavam o consumo mais cedo do que os animais recebendo sucedâneo lácteo não acidificado. Todd (2013) observou os mesmos resultados e atribuiu a hipótese de tentativa de promover o aumento do pH abomasal através da salivação proveniente do consumo de concentrado inicial, uma vez que encontrou pH abomasal mais baixo em animais que consomem dieta acidificada.

Hill et al. (2013) comparando dietas não acidificadas com acidificadas a pH 5,0 ou 4,2, não observou diferença para o consumo de concentrado entre os tratamentos. Segundo Richard et al. (1988), animais que consomem dieta líquida acidificada restrita apresentaram consumo de concentrado de 150g/d durante as cinco primeiras semanas, resultado superior ao visualizado no aleitamento à vontade também acidificado onde o consumo foi de 70g/d. No trabalho de Todd et al. (2016), não houve diferença no consumo de concentrado inicial para dieta acidificada ou não.

Como resposta ao consumo de dieta líquida e ao menor consumo de concentrado, os animais que receberam sucedâneo apresentaram menor peso ao

desaleitamento e menor média de ganho de peso diário (GPD) durante o período experimental (GPD) (P<0,05) (Tabela 4.1.1, Figura 4.1.3).

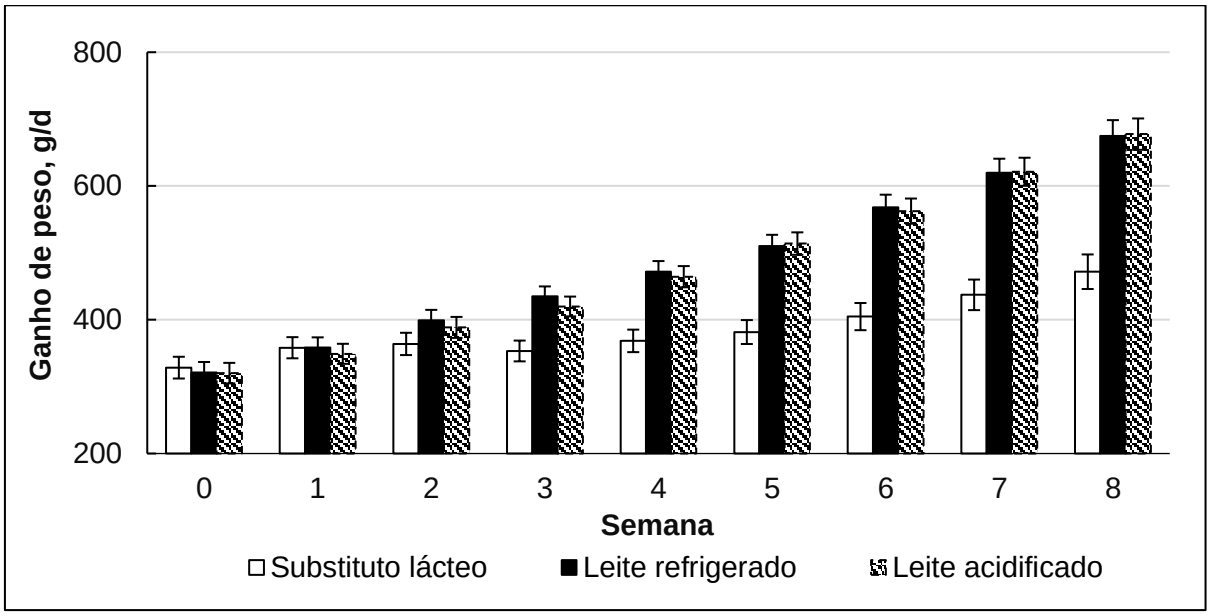

Figura 4.1.3 - Ganho de peso de bezerros holandeses sujeitos a diferentes dietas líquidas.

Muito embora os animais aleitados com leite acidificado tenham apresentado consumo de concentrado mais baixo, não houve diferença estatística (P>0,05) em comparação aos bezerros aleitados com leite refrigerado, sugerindo que a dieta acidificada resulta em maior eficiência. Para Drackley (2008), a estimativa de ganho de peso corporal durante a fase de aleitamento para animais em sistema restrito varia entre 0,2 a 0,6 kg/d. Taxas de ganho superiores são atribuídas para sistemas que fornecem volume de 20% do peso vivo ao nascimento.

Bezerros alimentados de forma *ad libitum* com sucedâneos de leite acidificados tendem a apresentar maior ingestão de matéria seca e dessa forma melhorar o ganho médio diário quando comparado a animais recebendo dieta sem acidificação (NOCEK e BRAUND, 1986; WOODFORD et al. 1987).

Existem também evidências que sugerem que a adição de ácidos na dieta pode melhorar a digestibilidade, através da facilitação da formação de coágulos no abomaso (WOODFORD et al., 1987). Segundo o mesmo autor, bezerros alimentados com sucedâneo acidificado tiveram pH abomasal significativamente mais baixo em comparação aos animais do grupo controle. Fallon e Harte (1987), observaram ganho de peso médio diário significativamente maior para bezerros alimentados com sucedâneo de leite acidificado a pH 5,8, quando comparados a bezerros consumindo sucedâneo de leite não acidificado. Esses autores concluíram que a adição de ácidos

orgânicos melhora a digestão e permite que os bezerros usem o alimento de forma mais eficiente.

O leite de descarte pasteurizado e mesmo acidificado resultam em desempenhos comparáveis. Porém, quando o leite é acidificado, apresenta vantagens como a melhora nos quadros de diarreia, facilidade de manejo e o investimento mais baixo o que o torna mais lucrativo, principalmente para propriedades com um menor número de animais na criação (ZOU et al., 2017). Além disso, alguns trabalhos na literatura têm mostrado que a qualidade microbiológica do leite pasteurizado muitas vezes é pior do que antes de sua pasteurização devido a problemas de manejo (ELIZONDO-SALAZAR et al., 2010).

Por outro lado, de acordo com Todd (2013) a acidificação do sucedâneo lácteo para um pH alvo entre 4-4,5 em sistema de aleitamento restrito, não afetou o desempenho e o crescimento dos animais. Entretanto, em condições de aleitamento intensivo, a acidificação demonstrou maiores ganhos médios diários. Estes dados sugerem que a utilização de sucedâneo na dieta líquida acidificada embora não demonstre resultados positivos no desempenho em sistema de aleitamento restrito, quando em aleitamento de acesso livre melhora o ganho de peso, o crescimento estrutural e a sanidade durante o período de aleitamento.

No presente estudo, foram observados maiores pesos ao desaleitamento (Tabela 4.1.1), mas não foram observadas diferenças para o peso médio e peso ao desaleitamento de bezerros aleitados com leite integral ou leite acidificado.

As medidas corporais (Tabela 4.1.1) seguiram a tendência dos demais dados de desempenho, com efeito significativo de tratamento ($P<0,05$), de idade ($P<0,0001$) e da interação entre estes dois fatores ($P<0,0014$). Os animais aleitados com sucedâneo apresentaram menores valores em relação as outras duas dietas líquidas, as quais não foram diferentes entre si (Tabela 4.1.1; Figura 4.1.3).

As medidas de crescimento corporal são altamente correlacionadas aos dados de ingestão e ganho de peso, entretanto, o ganho de peso por si só não expressa o real status nutricional do animal. A importância das medições está ligada ao diagnóstico de erros no manejo, seja alimentar ou sanitário (BAILEY e MURPHY, 1999). Mas de forma geral, deficiências de crescimento estrutural estão correlacionadas à baixa ingestão de proteína (HOFFMAN et al., 1996).

O sucedâneo utilizado nesse experimento apresentou teor de FDN de 4,1% na MS (Tabela 3.4). Segundo Teixeira et al. (2007) esse valor representa a inclusão de

fontes proteicas de origem vegetal. Essas proteínas, principalmente durante as três primeiras semanas de vida de bezerros, não são totalmente digeridas, resultando na ocorrência de diarreia e consequente deficiência da absorção de proteínas necessárias para seu ganho de peso e desenvolvimento estrutural.

A principal fonte utilizada para substituir proteínas de origem láctea é a proteína de soja, que quando não processada de forma adequada apresenta fatores antinutricionais e baixa digestibilidade, o que acarreta resultados abaixo do esperado para desempenho (BITTAR et al., 2016).

Os bezerros, assim como qualquer outro animal em fase de crescimento, necessitam de nutrientes para sua manutenção e desenvolvimento estrutural. O gasto de energia para mantença está vinculado às funções básicas, dentre elas, a mais importante é a manutenção e o funcionamento da resposta imunológica. Ocorre maior gasto de energia se o animal apresenta algum tipo de enfermidade, como a diarreia, ou se vive em desafio microbiológico constante, seja pela sanidade do ambiente como pela qualidade microbiológica da dieta (HOFFMAN et al., 1996).

O crescimento diz respeito ao acúmulo de novos tecidos e, antes do desaleitamento ocorre principalmente com a deposição de tecido ósseo e muscular, com concomitante mineralização da matriz proteica. Alguns lipídios são depositados nos tecidos e servem como armazenamento de energia na forma de triglicerídeos. Dessa forma, é possível perceber a importância da qualidade nutricional da dieta de animais em crescimento, para que o desenvolvimento ocorra de forma adequada (DRACKLEY, 2008).

A altura de cernelha quando associada ao ganho de peso representa com maior acurácia o desenvolvimento das bezerras. A altura da cernelha reflete o crescimento ósseo enquanto o peso corporal reflete o crescimento de órgãos, músculos e tecido adiposo (WATTIAUX, 2009). Os dados da Figura 4.1.4, demonstram o crescimento linear ao longo das semanas em todos os tratamentos. Os valores mais baixos ao desaleitamento foram observados em animais aleitados com sucedâneo lácteo, os quais também apresentaram menor ganho de peso diário.

No estudo de Richard et al. (1988), comparando o crescimento de bezerros consumindo sucedâneo lácteo acidificado em sistema restrito e *ad libitum*, foram obtidos valores semelhantes entre os tratamentos (79,8 e 79,3 cm, respectivamente), os quais são equivalentes aos encontrados neste estudo.

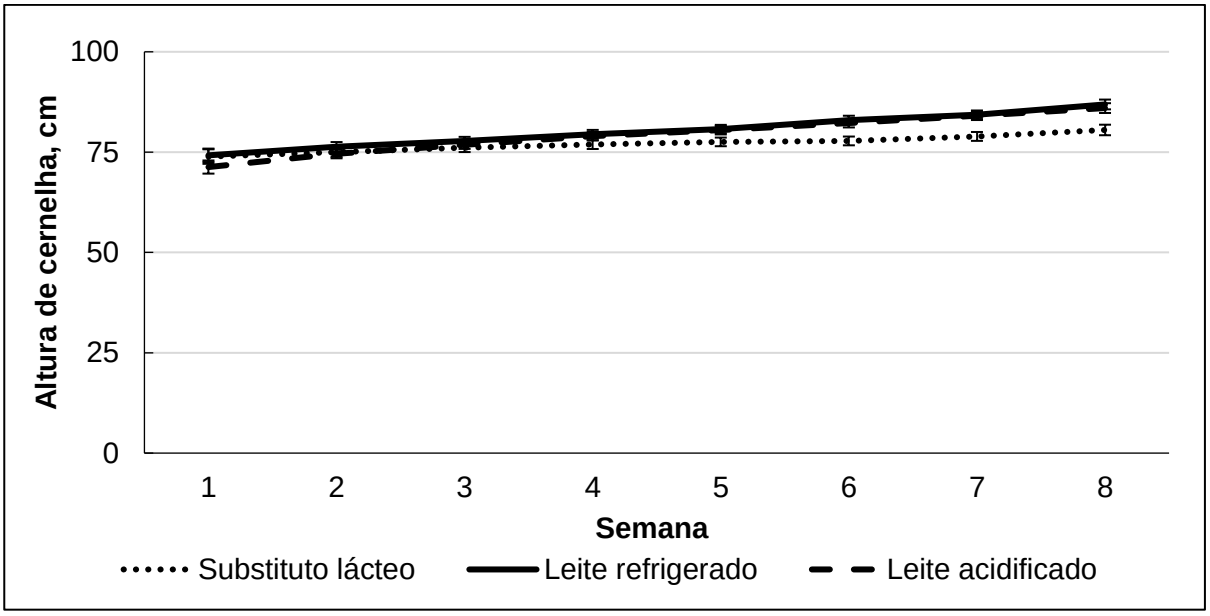

Figura 4.1.4 - Altura de cernelha de bezerros holandeses sujeitos a diferentes dietas líquidas.

O perímetro torácico, por sua vez, está altamente correlacionado com o peso corporal do animal. Assim como a altura de cernelha, os animais apresentaram aumento considerável ao longo das semanas, o que demonstra o efeito de idade (P<0,0001) (Tabela 4.1.1; Figura 4.1.5).

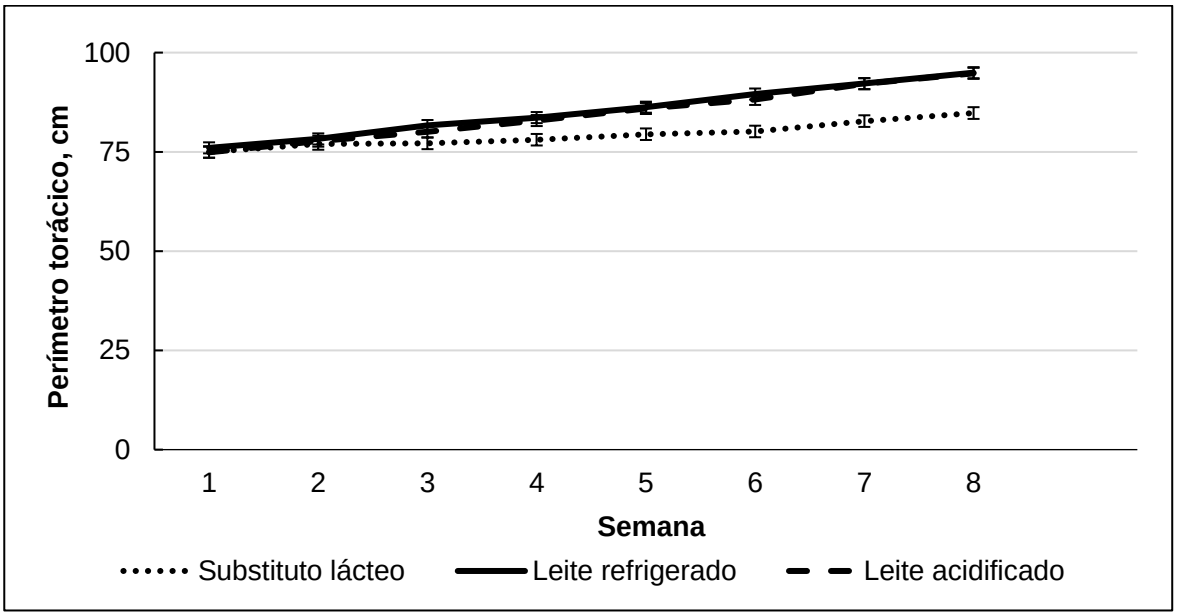

Figura 4.1.5 - Perímetro torácico de bezerros holandeses sujeitos a diferentes dietas líquidas

Já ao desaleitamento, os valores observados para animais aleitados com leite acidificado e leite refrigerado foram semelhantes (94,77 e 94,99 cm, respectivamente), valores aproximadamente 10 cm superiores aos observados para animais aleitados com sucedâneo.

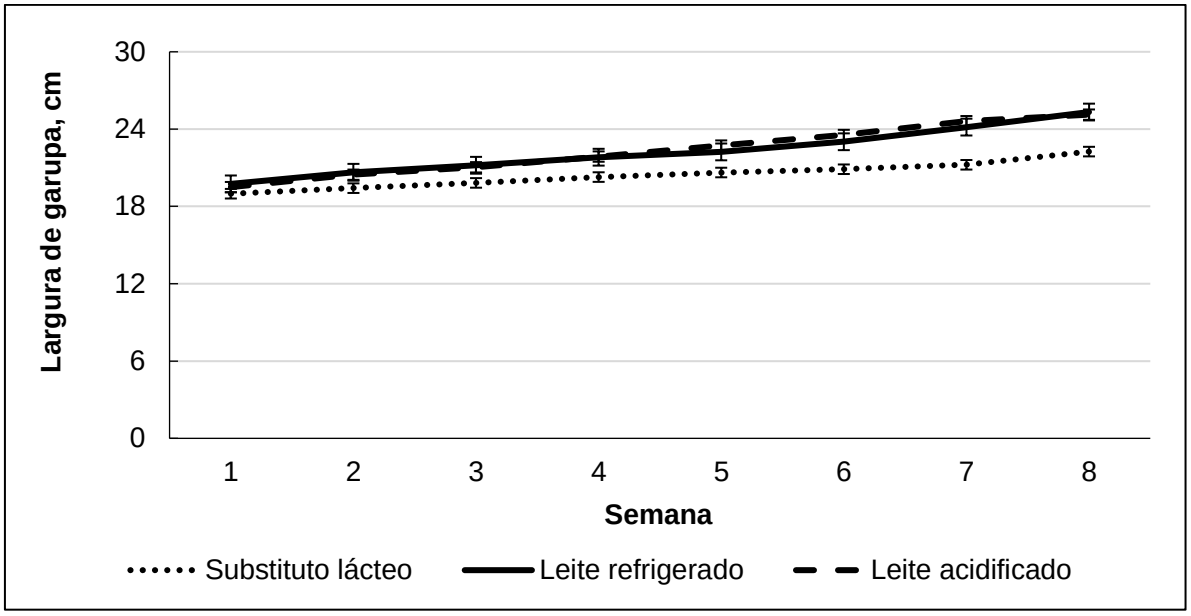

Figura 4.1.6 - Largura de garupa de bezerros holandeses sujeitos a diferentes dietas líquidas.

Todd et al. (2016) comparando dieta acidificada e não acidificada obtiveram valores semelhantes para perímetro torácico (91,8 e 88,8 cm, respectivamente), o mesmo ocorreu para largura de garupa.

A largura de garupa teve o mesmo comportamento, com efeito significativo de tratamento (P<0,05) e menores valores para animais aleitados com sucedâneo. O parâmetro sofreu efeito de idade (P<0,0001), com aumento gradual ao passar das semanas e interação Tratamento x Idade (Tabela 4.1.1, Figura 4.1.6). Para Todd (2013) houve diferença no desenvolvimento dos animais, onde os valores de crescimento de garupa ao longo do período de aleitamento foram maiores para a dieta acidificada em comparação ao sucedâneo sem acidificação (3,6 e 2,5 cm).

4.2 Diarreia e aspectos sanitários

A dieta líquida afetou o escore fecal (P<0,05), de forma que os animais que receberam sucedâneo lácteo apresentaram fezes de consistência mais fluida. Os animais que recebiam leite refrigerado apresentaram menor escore fecal, o que sugere uma menor frequência de diarreia entre a 2ª e 4ª semana, em relação aos demais tratamentos (Tabela 4.2.1, Figura 4.2.1).

Tabela 4.2.1 - Diarreia e dados sanitários de bezerros em aleitamento com diferentes estratégias de conservação da dieta líquida, sucedâneo lácteo (SL), leite refrigerado (LR) ou leite acidificado (LA).

	Tratamento			EPM[1]	P<[2]		
	SL	LR	LA		T	I	TxI
Escore fecal	2,48[a]	1,78[c]	1,98[b]	0,068	<,0001	<,0001	0,121
Primeira diarreia, d	8,2[b]	8,5[b]	15,4[a]	-	0,006	-	-
Nº de casos	3,4[b]	1,7[a]	2,8[b]	-	0,0081	-	-
Escore fecal 4, d	6,3[b]	1,6[a]	1,5[a]	-	0,0043	-	-
Hidratação oral, d	21,4[b]	5,4[a]	9,3[a]	-	<,0001	-	-
Febre, d	1,07	0,75	0,25	-	0,176	-	-

[1]EPM = erro padrão da média
[2] T = efeito da dieta líquida; I = efeito de idade; TxI = Efeito da interação tratamento x idade
[a, b, c] Diferentes letras na mesma linha indicam diferença estatística (p<0,05).

Contudo, embora os animais que receberam leite acidificado tenham apresentado fezes mais fluídas, as mesmas não caracterizam diarreia, o que torna, do ponto de vista biológico, os resultados semelhantes ao leite sob refrigeração.

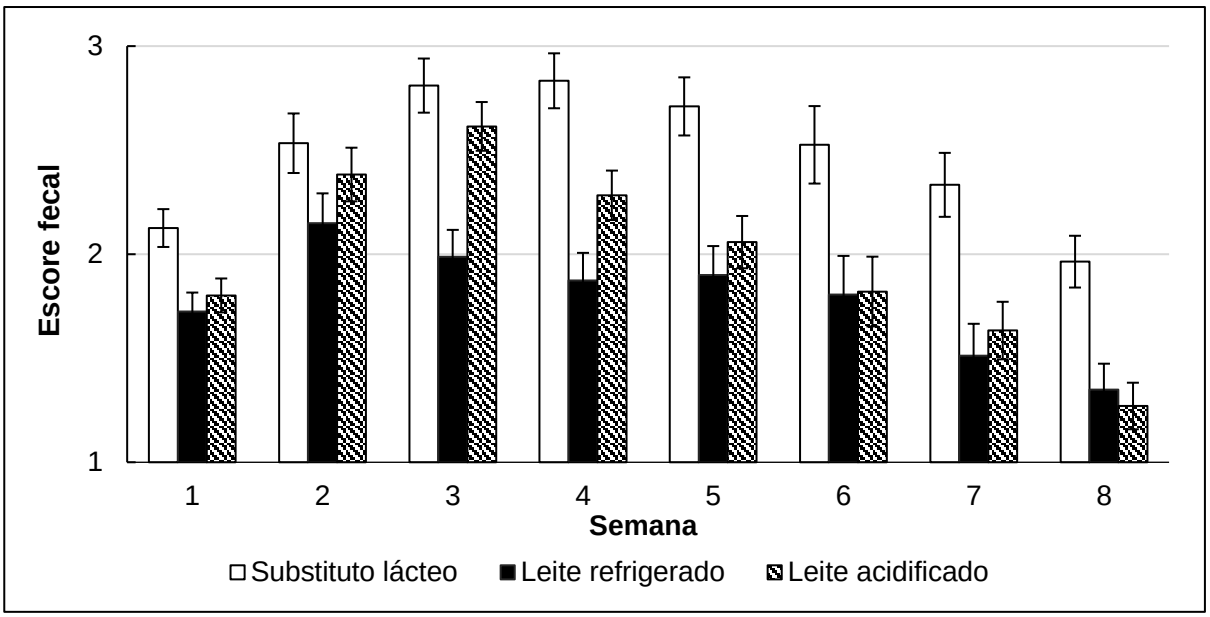

Figura 4.2.1 - Escore fecal de bezerros Holandeses sujeitos a diferentes dietas líquidas.

Os animais que recebiam leite acidificado, bem como os que recebiam sucedâneo lácteo tiveram um maior número de casos de diarreia em comparação aos animais que recebiam leite refrigerado (P<0,05). Entretanto, ao contrário do sucedâneo lácteo, os animais do tratamento leite acidificado tiveram o primeiro caso

em idades mais avançadas e apresentaram resultados semelhantes ao leite refrigerado quanto aos dias com escore fecal 4, bem como a necessidade de fornecimento de hidratação oral (P<0,05). Demonstrando mais uma vez, que esses animais não se apresentavam clinicamente doentes durante os episódios de maior fluidez das fezes (Figura 4.2.1). Não houve diferença estatística para os dias que apresentavam febre (P>0,05).

Os animais que recebiam leite acidificado, bem como os que recebiam sucedâneo lácteo tiveram um maior número de casos de diarreia em comparação aos animais que recebiam leite refrigerado (P<0,05). Entretanto, ao contrário do sucedâneo lácteo, os animais do tratamento leite acidificado tiveram o primeiro caso em idades mais avançadas e apresentaram resultados semelhantes ao leite refrigerado quanto aos dias com escore fecal 4, bem como a necessidade de fornecimento de hidratação oral (P<0,05). Demonstrando mais uma vez, que esses animais não se apresentavam clinicamente doentes durante os episódios de maior fluidez das fezes (Figura 4.2.1). Não houve diferença estatística para os dias que apresentavam febre (P>0,05).

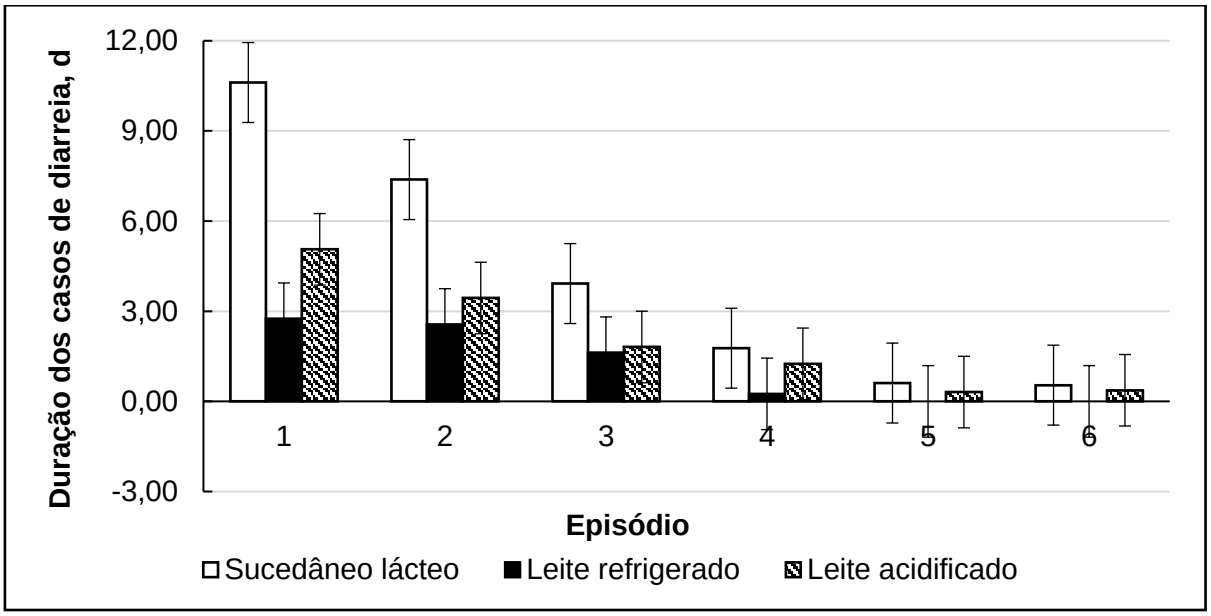

Figura 4.2.2 - Duração dos casos de diarreia de bezerros Holandeses sujeitos a diferentes dietas líquidas

Quanto a duração dos casos de diarreia (Figura 4.1.2), não houve diferença estatística entre os animais que recebiam leite refrigerado ou acidificado ao longo de todas as ocorrências de escore fecal ≥ 3. Porém os animais que recebiam sucedâneo

lácteo apresentavam-se mais susceptíveis nas duas primeiras ocorrências, permanecendo mais dias com escore fecal elevado (P<0,05).

Os animais aleitados com sucedâneo lácteo provavelmente foram mais delativos a alta inclusão de carboidratos e proteína de origem vegetal na dieta líquida em idades jovens (FDN 4,1%, Tabela 3.4). Durante as primeiras semanas de vida os bezerros são incapazes de digerir componentes de origem vegetal, o que resulta em elevada ocorrência de quadros de diarreia alimentar que tornam os animais mais susceptíveis a quadros infecciosos. Essa afirmação justifica o elevado escore fecal (Tabela 4.2.1, Figura 4.2.1) e a maior duração dos casos de diarreia nesses animais principalmente quando mais jovens (Figura 4.2.2).

Segundo Anderson (2006), a acidificação do leite é recomendada para propriedades que fornecem elevada quantidade de leite e/ou apresentam elevado índice de diarreia em decorrência da qualidade microbiológica da dieta líquida. Mesmo que as fezes continuem mais fluidas o quadro clínico do animal é muito mais brando, diferente da diarreia causada por infecção bacteriana e, portanto, a recuperação tende a ser mais rápida.

O leite acidificado, após um período de contato de até 2 horas, tende a inibir significativamente o desenvolvimento bacteriano, melhorar a qualidade microbiológica inicial pela desnaturação de agentes patogênicos, e apresentar substancialmente melhoras nos quadros de diarreia (ANDERSON, 2008).

Em um estudo desenvolvido por Anderson (2008), o autor relatou diferenças significativas na porcentagem de animais que apresentavam escore fecal superior a 3 (que caracteriza diarreia), comparando animais ingerindo leite acidificado e integral. Bezerros de 4 a 17 dias apresentaram diarreia em 2,85 vs 14,1% dos animais recebendo leite acidificado e leite integral, respectivamente. A incidência reduzida de diarreia acaba refletindo na melhora da saúde geral e diminuição das infecções secundárias, como a pneumonia.

Bayram et al. (2007), comparando animais recebendo volumes controlados de leite acidificado ou leite integral também obtiveram valores contrastantes para porcentagem de diarreia até 17 dias de vida. Todos os animais do tratamento leite acidificado apresentaram diarreia com duração de 3 dias ou menos; enquanto no leite *in natura*, 57% apresentaram diarreia inferior a 3 dias, e 43% com duração superior a três dias.

Além de reduzir a taxa de ocorrência de diarreia e sua duração, a acidificação do leite pode reduzir idade média para a primeira ocorrência de diarreia, conforme observado no presente estudo. Todd (2013) observou idades para a primeira ocorrência de 9,8 e 5,5 para bezerros recebendo dieta com e sem acidificação, respectivamente. O número médio de dias que os bezerros necessitaram de tratamento para diarreia foi de 6,4 e 7,2 dias, respectivamente.

A literatura mostra menor frequência e dias de tratamento para animais recebendo dieta acidificada, bem como a taxa de mortalidade (Fallon e Harte; 1987 Bush e Nicholson (1987); Jaster et al. (1990) e Kaya et al. (2000). Segundo esses autores, a redução da incidência de diarreia pode ser resultado da acidificação do trato gastrointestinal posterior, que teria um efeito bacteriostático, controlando e diminuindo a proliferação de agentes patogênicos no intestino.

Entretanto, estudos mais recentes não encontraram diferença no escore fecal e demonstraram que a digestão da dieta foi muito parecida entre animais recebendo dietas acidificadas ou não (Hepola et al., 2008; Hill et al., 2013). Isso porque a acidificação ocorre apenas a nível abomasal, pois com a passagem do quimo ao duodeno a ação do suco pancreático neutraliza o pH da digesta (Woodford et al., 1987). Segundo Zou et al. (2017), a ingestão de dieta acidificada não alterou o pH e o desenvolvimento jejunal e duodenal, contudo animais que consumiram dieta acidificada apresentaram escore fecal inferior aos animais que recebiam dieta pasteurizada ou não tratada (2,72 vs 2,94 ou 2,94). No presente trabalho, o escore fecal de animais recebendo leite acidificado foi de 1,98 (Tabela 4.2.1).

Todd (2013), encontrou diminuição do pH abomasal em bezerros alimentados com dieta acidificada com ácido fórmico, bem como redução da frequência de diarreias e outras afecções, concluindo que a acidificação diminuiu o desafio de doenças nos bezerros em aleitamento *ad libitum*. Por esse motivo, a acidificação tende a apresentar efeitos positivos quando o desafio está na manutenção da qualidade microbiológica, ou quando existe a presença de patógenos causadores de diarreia que conseguem se multiplicar no abomaso, como a *Escherichia coli* e *Cryptosporidium parvum* (ANDERSON, 2006). Sabe-se que o *C. parvum* é um dos principais agentes etiológicos de diarreia em bezerro e de caráter cosmopolita, é responsável pela manifestação do complexo de diarreia neonatal com elevada taxa de mortalidade (TROTZ-WILLIAMS et al., 2008).

No Canadá, a acidificação da dieta líquida tornou-se a principal recomendação para propriedades que sofrem com a infecção desse protozoário (Todd, 2013). Além disso, diversos autores registraram efeito positivo em infecções causadas por *Mycoplasma bovis*, que também é um importante agente causador de diarreia, com melhora do escore fecal após a acidificação da dieta. Os autores justificam que a ausência de parede celular nessas bactérias torna-as suscetíveis a mudanças no pH (BUTLER et al., 2000; PARKER et al., 2016).

4.3 Parâmetros metabólicos

Tanto a composição da dieta líquida quanto o consumo de dieta sólida, associado a idade e o crescimento dos animais alteram a concentração de alguns metabólitos do sangue em função das alterações do metabolismo de bezerros com o rúmen em desenvolvimento (BITTAR e FERREIRA, 2016). O perfil sanguíneo é de suma importância para o diagnóstico de transtornos metabólicos, deficiências nutricionais, e principalmente, avaliação e monitoramento do desempenho do rebanho (DUFFIELD et al., 2009). No caso de bezerros jovens, permite ainda avaliar o desenvolvimento ruminal.

Os parâmetros séricos avaliados (Tabela 4.3.1) apresentaram efeito significativo de dieta líquida ($P<0,05$), com exceção do lactato. Além disso, houve efeito da idade para todos os parâmetros ($P<0,01$). Porém, não houve interação entre os tratamentos e a idade dos animais ao longo do período experimental ($P>0,05$). O fornecimento de leite acidificado não resultou em diferenças nos parâmetros bioquímicos avaliados em comparação aos animais que consumiam leite integral refrigerado, com exceção da concentração de glicose plasmática, onde o valor médio de todo o período experimental foi menor (127, 57 vs 119,19).

A glicose plasmática apresentou diferença estatística entre os tratamentos ($P<0,05$), com maiores concentrações em bezerros aleitados com leite refrigerado. Com efeito de idade ($P<0,05$) evidenciado por picos durante as semanas 3 e 5 (Tabela 4.3.1, Figura 4.3.1).

Para que ocorra o desenvolvimento ruminal é necessário que o haja consumo de dieta sólida, principalmente alimentos concentrados inicial, que resultam em perfil de fermentação adequado para o crescimento das papilas ruminais e consequente maior produção de AGCC, que passarão a ser a principal fonte de energia dos

ruminantes adultos, diminuindo a concentração plasmática de glicose. O principal metabólito sanguíneo que caracteriza, portanto, esse desenvolvimento é o βHBA.

Tabela 4.3.1 - Concentração plasmática de glicose, β-hidroxibutirato (βHBA), proteína total e lactato e dos diferentes tratamentos.

	Tratamento			EPM[1]	P<[2]		
	SL	LR	LA		T	I	TxI
Metabólitos							
Glicose, mg/dL	113,24[b]	127,57[a]	119,19[b]	2,914	0,0011	0,011	0,083
βHBA, mmol/L	0,112[b]	0,157[a]	0,155[a]	0,0074	0,0002	<,0001	0,165
Proteína, g/dL	6,09[b]	6,62[a]	6,63[a]	0,122	0,002	<,0001	0,335
Lactato, mg/dL	10,55	11,15	11,64	0,623	0,483	<,0001	0,025

[1]EPM = erro padrão da média
[2] T = efeito da dieta líquida; I = efeito de idade; TxI = Efeito da interação tratamento x idade
[a, b, c] Diferentes letras na mesma linha indicam diferença estatística (p<0,05).

Para que ocorra o desenvolvimento ruminal é necessário que o haja consumo de dieta sólida, principalmente alimentos concentrados inicial, que resultam em perfil de fermentação adequado para o crescimento das papilas ruminais e consequente maior produção de AGCC, que passarão a ser a principal fonte de energia dos ruminantes adultos, diminuindo a concentração plasmática de glicose. O principal metabólito sanguíneo que caracteriza, portanto, esse desenvolvimento é o βHBA.

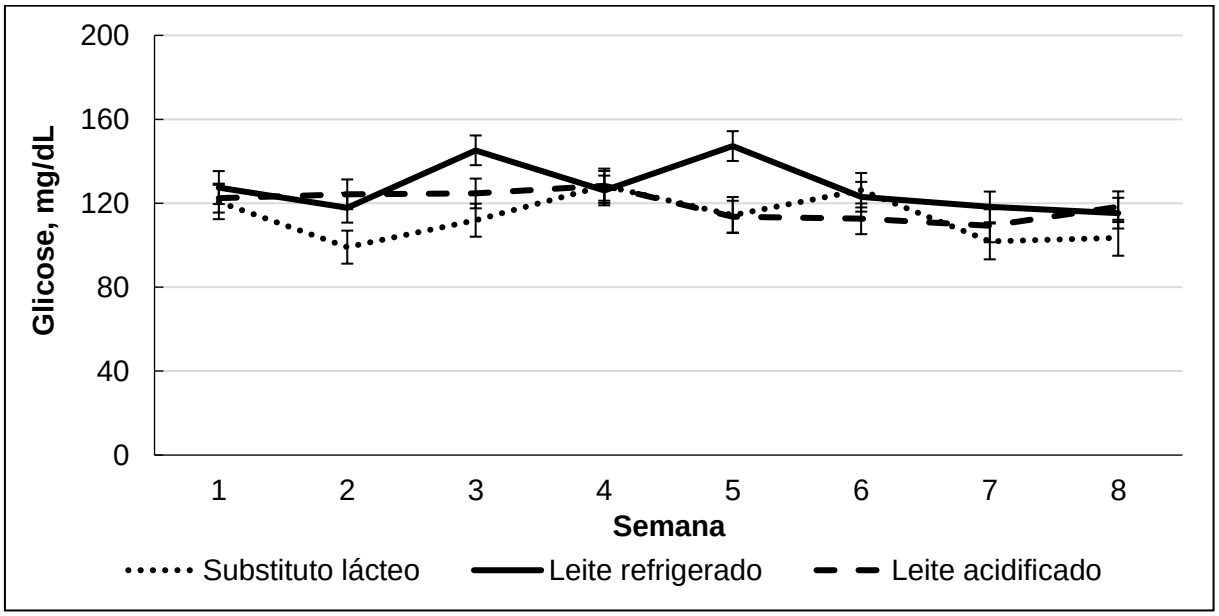

Figura 4.3.1 - Concentração de glicose de bezerros Holandeses sujeitos a diferentes dietas líquidas.

Esse parâmetro era muito utilizado para avaliar o metabolismo energético nos animais. Entretanto, foi observado a dificuldade de interpretação dos seus resultados, já que apresenta pouca variação inerente à dieta, por sofrer eficiente regulação homeostática (WITTWER, 2000). Nos bovinos, possui importância quando aplicada a animais jovens, pois evidencia a transição de pré-ruminante para ruminante funcional, quando em adição ao aumento gradual das concentrações de β-hidroxibutirato (βHBA) sérico próximo ao desaleitamento (BITTAR et al., 2009).

As concentrações plasmáticas de βHBA avaliadas a partir da quarta semana foram afetadas pela dieta líquida fornecida (P<0,05), mas de forma indireta, devido aos efeitos no consumo de concentrado (Tabela 4.3.1). A concentração de BHBA foi semelhante para animais aleitados com LR e LA, muito embora o consumo de concentrado tenha sido superior em animais que recebiam LR (Tabela 4.3.1).

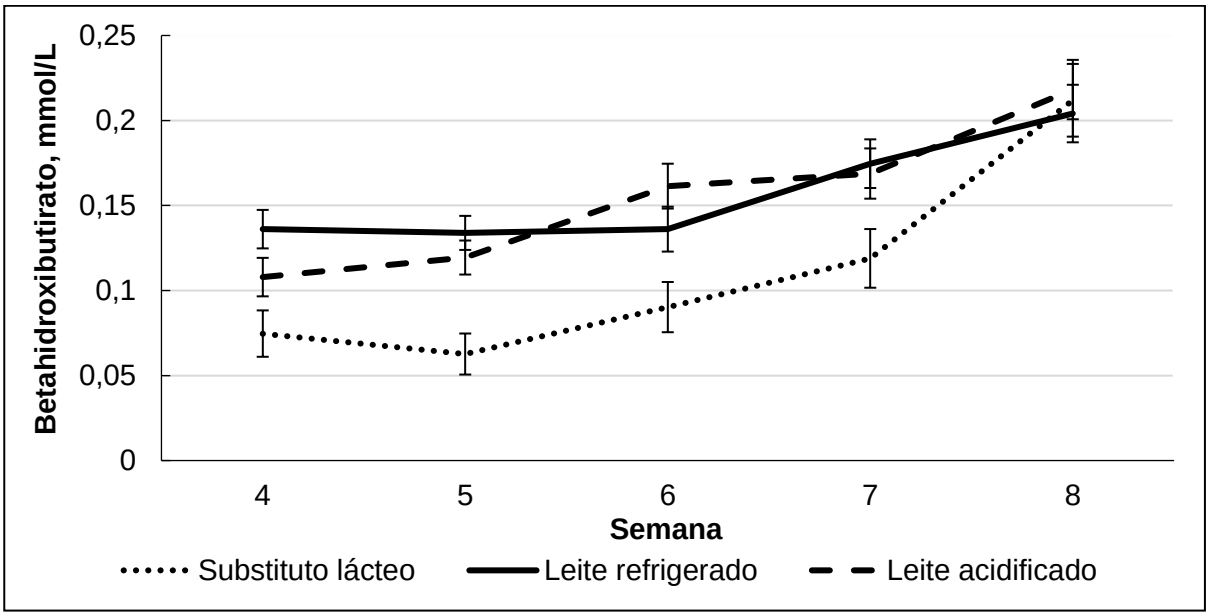

Figura 4.3.2. Concentração de βHBA de bezerros holandeses sujeitos a diferentes dietas líquidas.

Os animais que consumiam sucedâneo, por sua vez, apresentaram valores inferiores aos demais tratamentos ao longo do período experimental, com diferenças significativas entre a 5ª e 7ª semana de vida, em virtude do menor consumo de concentrado, entretanto ao desaleitamento não houve diferença. Houve efeito de idade (P<0,0001), isso porque ocorreu um aumento gradual já esperado das concentrações ao longo das semanas (Figura 4.3.2), evidenciando o desenvolvimento ruminal dos animais durante o período de aleitamento em decorrência do aumento do consumo de concentrado inicial. Os valores de βHBA encontrados nesse experimento,

foram semelhantes aos reportados por Bittar et al. (2016), testando a inclusão de probióticos para incrementar o perfil de fermentação da dieta e de Mirzaei et al. (2018) ao desaleitamento, fornecendo 5,5L de leite até 56 dias.

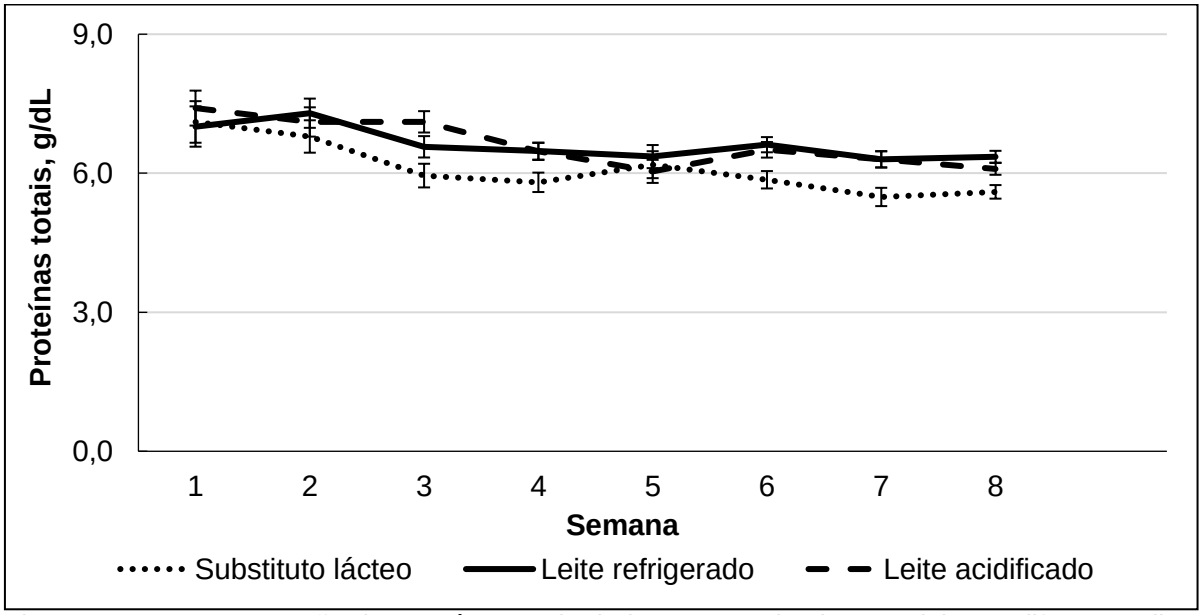

Figura 4.3.3 - Concentração de proteínas totais de bezerros Holandeses sujeitos a diferentes dietas líquidas.

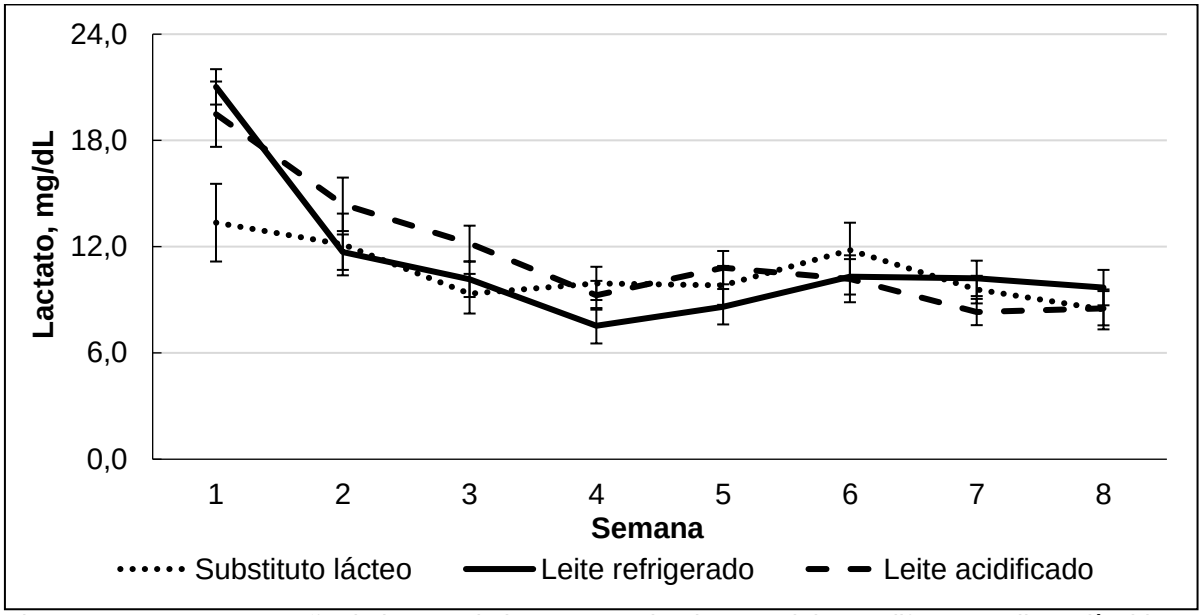

Figura 4.3.4 - Concentração de lactato de bezerros Holandeses sujeitos a diferentes dietas líquidas.

A concentração de proteína sérica total também foi significativamente afetada pela dieta líquida (P<0,05) e pelo fator idade (P<0,0001), no entanto não houve interação entre estes fatores (P>0,05), entretanto apresentaram diferença estatística ao longo do período experimental (P<0,05) com valores inferiores para o tratamento S da terceira a sétima semana (Figura 4.3.3). Com exceção do sucedâneo, os valores

estão de acordo com aqueles sugeridos como adequados para a espécie por Kaneko, et al. (2008).

A proteína total é a forma mais simples de avaliar o status proteico do animal (PAYNE e PAYNE, 1987). Com base nisso, sua diminuição traduz deficiência na dieta ou falha na absorção de proteínas, por consequência da diarreia, por exemplo (KANEKO, 1997). Segundo Daniele et al. (1994), durante as primeiras semanas a concentração de proteínas no sangue de bezerros tende a diminuir em consequência do catabolismo de globulinas provenientes do colostro.

A concentração de lactato foi a única que não foi afetada pela dieta líquida ($P>0,05$), porém houve efeito de idade ($P<0,0001$), com diminuição dos valores ao longo das semanas (Tabela 4.3.1, Figura 4.3.4). Além disso, foi observado efeito da interação entre dieta líquida e idade ($P<0,025$), com menor concentração na primeira semana para animais aleitados com sucedâneo lácteo. O lactato total é capaz de demonstrar a presença de acidose metabólica, e tem intervalo de concentrações consideradas normais entre 6 e 22mg/dL (KASARI e NAYLOR, 1984).

5 CONCLUSÃO

A acidificação da dieta líquida demonstrou-se uma boa alternativa para a conservação do leite, não afetando negativamente o desempenho dos animais quando comparado ao leite refrigerado, sendo ainda superior ao sucedâneo lácteo, que poderia ser uma segunda fonte alternativa ao leite refrigerado.

A dieta acidificada trouxe ainda benefícios sanitários aos animais, aumentando os dias para o primeiro caso de diarreia e menor severidade da doença, muito embora o escore fecal tenha demonstrado fezes mais fluidas.

.

REFERÊNCIAS

ANDERSON, N. G. Experiences with free-access acidified-milk feeding in Ontario. Proceedings of Annual Meeting of American Association of Bovine Practitioners, Charlotte, v. 41, p.12-24, 2008.

ANDERSON, N. G. Group housing and feeding of milk-fed calves: Moving closer to nature's way. OMAFRA Infosheet, 2013. Disponível em: <http://www.omafra.gov.on.ca/english/livestock/dairy/facts/grouphousing.htm#deliv er y>. Acesso em: 02/02/2018.

ANDERSON, N. G. Practical aspects of accelerated feeding of dairy calves. Proceedings of Annual Meeting of American Association of Bovine Practitioners. Saint Louis, v. 44, p. 88-100, 2011

ANDERSON, N. Mimicking nature's way for milk-fed dairy calves - free-access feeding with acidified milk. OMAFRA Infosheet, 2006. Disponível em: <http://www.dairyweb.ca/Resources/AABP2008/Anderson.pdf>. Acesso em: 02/02/2018.

APPLEBY, M. C.; WEARY, D. M.; CHUA, B. Performance and feeding behavior of calves on ad libitum milk from artificial teats. Applied Animal Behavior Science, Geel, v. 74, p. 191-201, 2001.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analyses of the Association of Official Analytical Chemists. Arlington: AOAC, 1990. 500p.

AUST, V.; KNAPPSTEIN, K.; KUNZ, H. J.; KASPAR, H.; WALLMANN, J.; KASKE, M. Feeding untreated and pasteurized waste milk and bulk milk to calves: Effects on calf performance, health status and antibiotic resistance of faecal bacteria. Journal of Animal Physiology Animal Nutrition. Berlim, v. 97, p. 1091-1103, 2012.

BAILEY, T.; MURPHY, J. M. Monitoring dairy heifer growth. Virginia Cooperative Extension, Virginia State University, Petersburg, p. 404-286, 1999.

BAYRAM, B.; YANAR, M.; GULER, C.; METIN, J. Growth performance, health and behavioural characteristics of Brown Swiss calves fed a limited amount of acidified whole milk. Italian Journal of Animal Science, Roma, v. 6, p. 273–279, 2007.

BENESI, F. J.; WACHHOLZ, L.; BERTAGNON, H. G.; LEAL, M. L. R.; MORI, E.; FERNANDES, W.R. Citologia dos lavados traqueobrônquico (LTB) e broncoalveolar (LBA) de bezerros holandeses sadios durante o primeiro mês de vida. Pesquisa Veterinária Brasileira, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 267-270, 2012.

BITTAR, C. M. M.; COELHO, M. G. Dieta líquida para bezerras leiteiras: estratégias de aleitamento x opções de alimento. In: III Simpósio Nacional de Produção e Nutrição de Gado de Leite, 2017, Uberlândia. III Simpósio Nacional de Produção e Nutrição de Gado de Leite. Uberlândia: UFU/UFMG, 2017.

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

BITTAR, C. M. M.; SILVA, J.T. da; CHESTER-JONES, H. Macronutrient and amino acids composition of milk replacer for dairy calves. Revista brasileira de saúde e produção animal. Salvador, v.19, n.1, p. 47-57, 2018.

BITTAR, C. M. M.; FERREIRA, L. S. Qualidade e composição de alimentos para o desenvolvimento ruminal de bezerras leiteiras. In: 1o. Simpósio de Nutrição de Bovinos de Corte e Leite, 2016, Dracena. Anais do 1o. Simpósio de Nutrição de Bovinos de Corte e Leite. Dracena: Unesp, 2016. v. 1. p. 78-92.

BITTAR, C. M. M.; FERREIRA, L. S.; SILVA, J. T. Sucedâneos lácteos para bezerras leiteiras. Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia (UFMG), v. 81, p. 56-74, 2016.

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

BOULTON, A. C.; RUSHTON, J.; WATHES, D. C. A study of dairy heifer rearing practices from birth to weaning and their associated costs on dairy farms. Journal of Dairy Science, Champaing, v. 05, p. 185-97, 2015.

BOVINE ALLIANCE ON MANAGEMENT AND NUTRITION. A Guide to Calf Milk Replacers: Types, Use and Quality, 2014. Disponível em: <https://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/dairy/downloads/bamn/BAMN14_ GuideMilkRepl.pdf> Acesso em: 30/11/2017.

BRICKELL, J. S.; MCGOWAN, M. M.; PFEIFFER, D. U.; WATHES, D. C. Mortality in Holstein-Friesian calves and replacement heifers in relation to body weight and IGF-I concentration, on 19 farms in England. Animal, Cambridge, v. 3, p. 1175–1182, 2009.

BRICKELL, J. S.; WATHES, D. C. A descriptive study of the survival of Holstein-Friesian heifers through to third calving on English dairy farms. Journal of Dairy Science, Champaing, v. 94, p. 1831–1838, 2011.

BRUN-HANSEN, H.C.; KAMPEN, A.H.; LUND, A. Hematologic values in calves during the first 6 months of life. Veterinary Clinical Pathology, Hoboken, v. 35, p. 182-187, 2006.

BUDZYNSKA, M.; WEARY, D.M. Weaning distress in dairy calves: Effects of alternative weaning procedures. Applied Animal Behaviour Science, Edinburgh, v. 112, p. 33–39, 2008.

BUENO, V. F. F.; MESQUITA, A. J.; OLIVEIRA, J. P.; NICOLAU, E. S.; OLIVEIRA, A.N.; NEVES, R. B. S; MANSUR, J. R. G. Influência da temperatura de armazenamento e o sistema de utilização de tanque de expansão sobre a

qualidade microbiológica do leite cru. Revista Higiene Alimentar, São Paulo, v. 18(124), p. 62-67, 2004.

BUSH, R. S. e NICHOLSON, J. W. G. Effect of two acids and formalin in calves milk on feed consumption and performance. Journal of Dairy Science, Champaing, v. 67, p. 1129-1131, 1987.

BUTLER, J.A.; SICKLES, S.A.; JOHANNS, C.J.; ROSNBUSCH, R.F. Pasteurization of discard Mycoplasma mastitic milk used to feed calves: thermal effects on various Mycoplasma. Journal of Dairy Science, Champaing, v. 83, p. 2285-2288, 2000.

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

CHASE, L. E. Preservatives and acidifying chemicals for milk. Cornell University, Ithaca, 2011. Disponível em: <http://www.atticacows.com/documentView.asp?docID=4910>. Acesso em: 24/02/2018.

COELHO, S. G. Desafios na criação e saúde de bezerros. In: VIII Congresso Brasileiro de Buiatria – S.1, Belo Horizonte. Anais... Ciência Animal Brasileira, 2009. Acesso em: 21/02/2018.

COLLINGS, L. K. M., PROUDFOOT, K. L.; VEIRA, D. M. The effects of feeding untreated and formic acid-treated colostrum ad libitum on intake and immunoglobulin levels in dairy calves. Canadian Journal of Animal Science, Napean, v. 91, p. 55– 59, 2011.

CONSTABLE, P. D.; AHMED, A. F.; MISK, N. A. Effect of suckling cow’s milk or milk replacer on abomasal luminal pH in dairy calves. Journal of Veterinary Internal Medicine, v. 19, p. 97-102, 2005.

COSTA, T. C.; COELHO, S. G.; FONTES, F. A. P. V.; CARVALHO, A. U.; LANA, A. M. Q.; FERREIRA, M. I. C. Consumo de mistura mineral e desempenho de

bezerros alimentados com sucedâneos do leite. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, v.59, n.3, p.749-758, 2007.

DANIELE, C.; MACHADO NETO, R.; BARACAT, R. S.; BESSI, R.; PACKER, L. U. Efeito de diferentes manejos de fornecimento prolongado de colostro sobre os níveis de proteína e albúmina séricas e desempenho de bezerras recém-nascidas. Scientia Agricola, Piracicaba, v. 51, p. 381-388, 1994.

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

DAWSON, D. P.; MORRILL, J. L.; REDDY, P. G.; MINOCHA, H. C.; RAMSEY, H. A. Soy protein concentrate and heated soy flours as protein sources in milk replacer for preruminant calves. Journal of Dairy Science, Champaing, v.71, p. 1301-1309, 1988.

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

DE PAULA, M. R.; OLTRAMARI, C. E.; SILVA, J. T.; GALLO, M. P. C.; MOURÃO, G. B.; BITTAR, C. M. M. Intensive liquid feeding of dairy calves with a medium crude protein milk replacer: Effects on performance, rumen, and blood parameters. Journal of Dairy Science, Champaing, v. 100, n. 6, p. 4448–4456, 2017.

DRACKLEY, J. K. Calf nutrition from birth to breeding. Veterinary Clinics Food Animal Practice, Maryland Heights, v. 24, p. 55-86, 2008.

DRACKLEY, J. K. Early growth effects on subsequent health and performance of dairy heifers. In: GARNSWORTH, P. C. Calf and heifer rearing: Principles of rearing the modern dairy heifer from calf to calving. Nottingham: Nottingham University Press, p. 352, 2005.

DUFFIELD, T. F.; LISSEMORE, K. D.; MCBRIDE, B. W.; LESLIE, K. E. Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 92, p. 571-580, 2009.

ELIZONDO-SALAZAR, J. A.; JONES, C. M.; HEINRICHS, A. J. Evaluation of calf milk pasteurization systems on 6 Pennsylvania dairy farms. Journal of Dairy Science, Champaign, v.93, p. 5509–5513, 2010.

ETTEMA, J. F.; SANTOS, J. E. P. Impact of age at calving on lactation, reproduction, health, and income in first-parity Holsteins on commercial farms. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 87, p. 2730–2742, 2004.

FALLON, J. R.; HARTE, F. J. Effect of Normal or Acidified Milk Replacer Offered Ad Libitum on Calf Performance. Irish Journal of Agricultural Research, Carlow, v. 27, p. 123-130, 1988.

FALLON, J. R.; HARTE, F. J. The effect of yeast culture inclusion in the concentrate diet on calf performance. Journal Dairy Science, Champaign, v.70, p.119, 1987.

FAO - Food and Agriculture Organization. 2001. Global Forest Resources Assessment 2000. Main Report. FAO Forestry Paper No. 140, FAO, Rome, Italy.

FOLEY, J. A.; OTTERBY, D. E. Availability, storage, treatment, composition, and feeding value of surplus colostrum: A review. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 61, p. 1033-1060, 1995.

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

GABLER, M.; TOZER, P. R.; HEINRICHS, A. J. Development of a cost analysis spreadsheet for calculating the costs to raise a replacement dairy heifer. Journal Dairy Science, Champaign, v. 83, p. 1104–1109, 2000.

GELSINGER, S. L.; HEINRICHS, A. J.; JONES, C. M. A meta-analysis of the effects of preweaned calf nutrition and growth on first-lactation performance. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 99, p. 6206-6214, 2016.

GODDEN, S. M.; FETROW, J. P.; FEIRTAG, J. M.; GREEN, L. R.; WELLS, S. J. Economic analysis of feeding pasteurized non-salable milk versus conventional milk replacer to dairy calves. Journal of the American Veterinary Medical Association, Schaumburg, v. 226, n. 9, p. 1547-1554, 2005.

GUERRA, M. G.; GUILHERMINO, M. M.; RANGEL, A. H. N.; MEDEIROS, H. R.; LIMA JÚNIOR, D. M. Custo operacional total na cria e recria de bovinos leiteiros. Revista verde de agroecologia e desenvolvimento sustentável, Pombal, v. 5, n. 3, p. 172-178, 2010.

GÜLER, O.; YANAR, M.; BAYRAM, B. Performance and health of dairy calves fed limited amounts of acidified milk replacer. South African Journal of Animal Science. Wilderness, v. 36, p. 149-154, 2006.

HEINRICHS, A. J.; S. J. WELLS; W. C. LOSINGER. A study of the use of milk replacers for dairy calves in the United States. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 78, p. 2831–2837, 1995.

HEINRICHS, J.; JONES, C. Composition and hygiene of colostrum on modern Pennsylvania dairy farms. Penn State Dairy and Animal Science, Altoona, v.11, n. 171, p. 1-6, 2011.

HEPOLA, H. P.; HANNINEN, L. T.; RAUSSI, S. M.; PURSIAINEN, P. A.; AARNIKOIVU, A. M.; SALONIEMI, H. S. Effects pf providing water from a bucket or a nipple on the performance and behavior of calves fed ad libitum volumes of acidified milk replacer. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 91, p. 1486-1496, 2008.

HILL, T. M.; BATEMAN, H. G.; ALDRICH, J. M.; QUIGLEY, J. D.; SCHLOTTERRBECK, R. L. Evaluation of ad libitum acidified milk replacer

programs for dairy calves. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 96, p. 3153-3162, 2013.

HOFFMAN, D. P.; STEVENSON, J. S.; MINTON, J. E. Restricting calf presence without suckling compared with weaning prolongs postpartum anovulation in beef cattle. Journal of Animal Science, Oxford, v. 74, p. 190-198, 1996.

HUUSKONEN, A.; TUOMISTO, L.; KAUPPINEN, R. Effect of drinking water temperature on water intake and performance of dairy calves. Journal of Dairy Science, v. 94, p. 2475-2480, 2011.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. Pesquisa Anual do Leite. IBGE, 2018. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/21121-primeirosresultadios2leite.html?=&t=o-que-e>. Acesso em: 20/05/2018.

JAMALUDDIN, A. A.; HIRD, D. W.; THURMOND, M. C.; CARPENTER, T.E. Economics of feeding pasteurized colostrum and pasteurized waste milk to dairy calves. Journal of the American Veterinary Medical Association, Schaumburg, v. 209, p. 751-756, 1996a.

JAMALUDDIN, A. A.; HIRD, D. W.; THURMOND, M. C.; CARPENTER, T.E. Effect of preweaning feeding of pasteurized and nonpasteurized milk on postweaning weight gain of heifer calves on Californian dairy. Journal of the American Veterinary Medical Association, Schaumburg, v. 28, p. 91-99, 1996b.

JASPER, J.; WEARY, D. M. Effects of ad libitum milk intake on dairy calves. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 85, p. 3054-3058, 2002.

JASTER, E. H.; MCCOY, G. C.; TOMKINS, T.; DAVIS, L. Feeding acidified or sweet milk replacer to dairy calves. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 73, p. 3563-3566, 1990.

KANEKO, J. J. Serum proteins and the dysproteinemias. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (Ed.) Clinical biochemistry of domestic animals. 5.ed. San Diego: Academic, 1997. p.117-138.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. Clinical biochemestry of domestic Animals, 6.ed. San Diego: Academic Press, 2008, p. 916.

KASARI, T. R.; NAYLOR, J. M. Metabolic acidosis without clinical signs of dehydration in young calves. Canadian Veterinary Journal, Ottawa, v. 25, n. 10, p. 394- 399, 1984.

KAYA, A., UZMAY, C., ALCICEK, A., KAYA, I. A research on rearing calves with acidified whole milk. Turkish Journal of Veterinary Animal Science, Ankara, v. 24, p. 413-421, 2000.

KHAN, M. A.; LEE, H. J.; LEE, W. S.; KIM, H. S.; KI, K. S.; KUR, T. Y.; HUR, G.H.; SUH, S. J.; KANG, J. H.; CHOI, Y. J. Structural growth, rumen development, and metabolic and immune responses of Holstein male calves fed milk through step-down and conventional methods. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 90, p. 3376– 3387, 2007b.

KHAN, M. A.; LEE, W. S.; KIM, H. S.; KIM, S. B.; KI, K. S.; HA, J. K.; LEE, H. G.; CHOI, Y. J. Pre-and post-weaning performance of Holstein female calves fed milk through step-down and conventional methods. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 90, p. 876-885, 2007a.

KHAN, M. A.; WEARY, D. M.; VON KEYSERLINGK, M. A. G. Invited review: Effects of milk ration on solid feed intake, weaning and performance in dairy heifers. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 94, p. 1071–1081, 2011.

LARSON, L. L.; OWEN, F. G.; ALBRIGHT, J. L.; APPLEMAN, R. D.; LAMB, R. C.; MULLER, L. D. Guidelines toward more uniformity in measuring and reporting calf experimental data. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 60, n. 6, p. 989-991, 1977.

LYNCH, G. P.; PIKE, T. L.; BOND, J. Nutritional responses of calves fed milk or a milk replacer. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 61, p. 212-220, 1978.

MCGUIRK, S. M. Disease Management of Dairy Calves and Heifers. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, Philadelphia, v.24, p.139- 153, 2008.

MCLEAN, N.; JURD, R. D. The control of haemoglobin synthesis. Biological Reviews, Cambridge, v. 47, p. 393-437, 1972.

MEDINA, R. B.; LÜDER, W.; FISCHER, V.; DA SILVA, C.; DA COSTA, C.; MORENO, C. Desaleitamento precoce de terneiros da raça holandês Preto e branco utilizando sucedâneo do leite ou leite e concentrado farelado ou peletizado. Current Agricultural Science and Technology, Pelotas, v. 8, p. 61-65, 2002.

MINAFRA, C.S.; MARQUES, S.F.F.; STRINGHINI, J.H.; ULHOA, C.J.; REZENDE, C.S.M.; SANTOS, J.S.; MORAES, G.H.K. Perfil bioquímico do soro de frangos de corte alimentados com dieta suplementada com alfa-amilase de *Cryptococcus flavus* e *Aspergillus níger* HM2003. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 39, n.12, p. 2691- 2696, 2010.

MIQUEO, E.; TORREZAN, T.M.; ROCHA, N.B.; PAULA, M. R. de; SILVA, F.L.M.; RODRIGUES, P.H.M.; BITTAR, C.M.M. Increase in crude protein content of milk replacer with vegetable protein: Effect on Health and Dairy Calves Performance. American Journal of Animal and Veterinary Sciences, Deira, v. 12, p. 17-25, 2017.

MIRZAEI, M.; DADKHAH, N.; BAGHBANZADEH-NOBARI, B.; AGHA-TEHRANI, A.; ESHRAGHI, M.; IMANI, M.; GHAFFARI, M. H. Effects of preweaning total plane of milk intake and weaning age on intake, growth performance, and blood metabolites of dairy calves. Journal of Dairy Science, Champaign, v. *101*, n. 5, p. 4212-4220, 2018.

MOHRI, M.; SHARIFI, K.; EIDI, S. Hematology and serum biochemistry of Holstein dairy calves: Age related changes and comparison with blood composition in adults. Research in Veterinary Science, Hoboken, v.83, p.30-39, 2007.

MOORE, D. A.; TAYLOR, J.; HARTMAN, M. L.; SISCHO, W. M. Quality assessments of waste milk at a calf ranch. Journal of Dairy Science, Champaign, n. 92, p. 3503-3509, 2009.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requeriments of dairy cattle. 7th ed. Washinton, National Academy of Sciences, 2001. 408p Parker et al., 2015

NAYLOR, J. M. Oral electrolyte therapy. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, Maryland Heights, v. 15, n. 3, p. 487-504, 1999.

NAYLOR, J. M.; ZELLO, G. A.; ABEYSEKARA, S. Advances in oral and intravenous fluid therapy of calves with gastrointestinal disease. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, Maryland Heights, v. 16, n. 3, p. 139-150, 2006.

NOCEK, J. E.; BRAUND, E. D. G. Performance, health, and postweaning growth on calves fed cold, acidified milk replacer *ad libitum.* Journal of Dairy Science, Champaign, v. 69, n. 7, p. 1871-1883, 1986.

OTTERBY, D. E.; LINN, J. G. Advances in nutrition and management of calves and heifers. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 64, n. 6, p. 1365-1377, 1981.

PARKER, A. M.; HOUSE, J. K.; HAZLTON, M. S.; BOSWARD, K. L.; MOHLER, V. L.; MAUNSELL, F. P.; SHEEHY, P. A. Milk acidification to control the growth of *Mycoplasma bovis* and *Salmonella Dublin* in contaminated milk. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 99, p. 9875-9884, 2016.

PAYNE, J.M., PAYNE, S. The metabolic profile test. Oxford: Oxford University, 1987, p. 179.

QUIGLEY, J. D. III; BERNARD, J. K. Milk replacers with or without animal plasma for dairy calves. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 79, p. 1881-1884, 1996.

RAETH-KNIGHT, M.; CHESTER-JONES, H.; HAYES, S.; LINN, J.; LARSON, R.; ZIEGLER, D.; ZIEGLER, B. Impact of conventional or intensive milk replacer programs on Holstein heifer performance through six months of age and during first lactation. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 92, p. 799–809, 2009.

RENGIFO, S. A.; SILVA, R. A.; BOTTEON, R. C. C. M.; BOTTEON, P. T. L. Hemogram and auxiliary serum biochemistry in neonatal crossbred calves and disease occurrence. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, v. 62, p. 993-997, 2010.

RIBEIRO, M. D.; PEREIRA, J. C.; de QUEIROZ, A. C.; CECON, P. R; DETMANN, E.; GOMES AZEVÊDO, J. A. Performance of dairy calves fed milk, milk replacer or post- weaning concentrate with acidifiers. Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v. 38, p.959-963, 2009.

RICHARD, A. L.; MULLER, L. D.; HEINRICHS, A. J. *Ad libitum* or twice daily feeding of acidified milk replacer to calves housed individually in warm and cold environments. Journal of Dairy Science, Champaign. v. 71, p. 2193-2202, 1988.

RIZZOLI, F.W.; FAGLIARI, J.J.; SILVA, D.G.; SILVA, S.L.; JORGE, R.R.L. Proteinograma e teores de cálcio, fósforo, magnésio e ferro de bezerros recém-nascidos que mamaram colostro diretamente na vaca ou em mamadeira. ARS Veterinária, Jaboticabal, v. 22, p. 10-17, 2006.

ROCHA, T. G.; NOCITI, R. P.; SAMPAIO, A. A. M.; FAGLIARI, J. J. Hemogram and acute phase proteins of healthy calves from birth to one month old. Pesquisa Veterinária Brasileira, Rio de Janeiro, v. 33, p. 25-31, 2013.

SANTOS, G. dos; BITTAR, C.M.M.; A survey of dairy calf management practices in some producing regions in Brazil. Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v. 44, n. 10, p. 361-370, 2015.

SCHAEREN, W.; MAURER, J. Prevalence of subclinical udder infections and individual somatic cell counts in three dairy goat herds during a full lactation. Schweizer Archiv für Tierheilkunde, Bern, v. 148, n. 12, p. 641-648, 2006.

SCHAFFER, L. V.; MCGUFFEY, R. K., Effects of feeding fermented mastitic milk to calves. In: 19th Annual Meeting National Mastitis Council, 1980, Louisville. NMC National Mastitis Council Annual Meeting, v.19, 65–69, 1980.

SELIM, S. A.; CULLOR, J. S. Number of viable bacteria and presumptive antibiotic residues in milk fed to calves on commercial dairies. Journal of the American Veterinary Medical Association, Schaumburg, v. 211, p. 1029-1035, 1997.

SILVA, J. T. Aminoácidos limitantes para o desempenho de bezerros leiteiros: avaliação de teores ótimos e via de fornecimento. 2014. 122 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.

SLANZON, G. S.; SANTOS, F. H. R.; BITTAR, C. M. M. Effect of cooling on microbiological profile of milk replacer stored in containers of automatic calf feeders. In: 50th Annual Meeting of Brazilian Society of Animal Science, 2013, Campinas. 50th Annual Meeting of Brazilian Society of Animal Science, 2013.

SMITH, R. H.; SISSONS, J. W. The effect of different feeds, including those containing soya-bean products, on the passage of digesta from the abomasum of the preruminant calf. British Journal of Nutrition, Cambridge, v. 33, p. 329-349, 1975.

SOBERON, F.; VAN AMBURGH, M. E. Lactation biology symposium: the effect of nutrient intake from milk or milk replacer of preweaned dairy calves on lactation milk yield as adult: a meta-analysis of current data. Journal of Dairy Science. Champaing, v. 91, n. 2, p. 706-712, 2013.

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

STATISTISCHES BUNDESAMT (2008). Bevölkerung und Erwerbstätigkeit. Bevölkerungmit Migrationshintergrund. Ergebnisse des Mikrozensus, Wiesbaden: Statistisches Bundesamt v. 1, p. 2, 2006.

STEWART, S.; GODDEN, S.; BEY, R.; RAPNICKI, P.; FETROW, J.; FARNSWORTH, R.; SCANLON, M.; ARNOLD, Y.; CLOW, L.; MUELLER, K. FERROUILLET, C. Preventing bacterial contamination and proliferation during the harvest, storage and feeding of fresh bovine colostrum. Journal of Dairy Science. Champaign, v, 88, p. 2571-2578, 2005.

STOBO, I. J. F. Milk replacers for calves. Recent Advances in Animal Nutrition. 1th ed. Butterworths: London, p. 113-140, 1983.

SWEENEY, B. C.; RUSHEN, J.P.; WEARY, D. M.; DE PASSILLÉ, A. M. B. Duration of weaning, starter intake, and weight gain of dairy calves fed large amounts of milk. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 93, p. 148-152, 2010.

TEIXEIRA, P. A.; OLIVEIRA, M. D. de; SOUSA, C. C. de; SILVA, T. M. da. Avaliação de diferentes dietas sobre o desempenho de bezerros da raça holandesa durante o período de aleitamento. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 31, p. 1831-1837, 2007.

THRALL, M. A. Hematologia e bioquímica clínica veterinária. São Paulo: Roca, 2007, 582p.

TODD, C. G. An Investigation into the Effects of Free-Access Acidified Milk Replacer Feeding Programs on the Productivity and Welfare of the Calf. 2013. 283 p. Tese (Doutorado em Filosofia da Medicina Populacional) - The University of Guelph, Ontario, 2013.

TODD, C. G.; DEVRIES, T. J.; LESLIE, K. E.; SARGEANT, J. M.; SHORE, K.; ANDERSON, N. G.; MILLMAN, S. T. Effects of free-access feeding and milk replacer acidification on calf performance and development of digestive anatomy. Journal of Animal Science, Oxford, v. 87, p. 514-520, 2010.

TODD, C. G.; LESLIE, K. E.; MILLMAN, S. T.; BIELMANN, V.; ANDERSON, N. G.; SARGEANT, J. M.; DEVRIES, T. J. Clinical trial on the effects of free-access acidified milk replacer feeding program on the health and growth of dairy replacement heifers and veal calves. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 100, p. 1-13, 2017.

TODD, C. G.; LESLIE, K. E.; MILLMAN, S. T.; SARGEANT, J. M.; MIGDAL, H.; SHORE, K.; ANDERSON, N. G.; DEVRIES, T. J. Milk replacer acidification for free-access feeding: effects on the performance on health of veal calves. Journal of Animal Sciences, Oxford, v. 6, p. 234-246. 2016.

TOLL-VERA, J. R. e VERA, J. R. T. Acidified raw milk in artificial feeding of calves. CAB Abstracts, 1996.

TROTZ-WILLIAMS, L. A.; MARTIN, S. W.; LESLIE, K. E.; DUFFIELD, T.; NYDAM, D. V.; PEREGRINE, A. S. Association between management practices and within-herd prevalence of Cryptosporidium parvum shedding on dairy farms in southern Ontario. Journal of Preventive Veterinary Medicine, Gwanak-gu, v. 83, n. 1, p. 11–23, 2008.

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

VENTURINI, K. S.; SARCINELLI, M. F.; SILVA, L. C. da. Características do leite. Vitória: Universidade Federal do Espírito Santo/Pró-Reitoria de Extensão, Programa Institucional de Extensão, 2007. (Boletim Técnico - PIE-UFES: 01007).

WATHES, D. C.; POLLOTT, G. E.; JOHNSON, K. F.; RICHARDSON, H.; COOKE J. S. Heifer fertility and carry over consequences for life time production in dairy and beef cattle. Animal, Cambridge, v. 8, n. 1, p. 91-104, 2014.

WATTIAUX, M. A. 34) Taxa de crescimento. Essenciais em gado de leite. Instituto Babcock para Pesquisa e Desenvolvimento da Pecuária Leiteira Internacional. University of Wisconsin – Madison. v. 29, p. 132-136, 2009.

WATTIAUX, M. A. Composição do leite e seu valor nutricional. Instituto Dairy essentials: Badcock Institute for International Dairy Research and Development, 2005. Disponível em: <http://professor.pucgoias.edu.br/SiteDocente/admin/arquivosUpload/4383/material/19_composicao_do_leite_e_seu_valor_nutricional.pdf>. Acesso em: 21 abr. 2018.

WATTIAUX, M. A. Da desmama ao primeiro parto. Dairy essentials: Badcock Institute for International Dairy Research and Development, 2007. Disponível em: < http://babcock.wisc.edu/node/257>. Acesso em: 09 set. 2017.

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

WITTWER, F. Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; BARCELLOS, J.O.; OSPINA, H.; RIBEIRO, L.A.O. Perfil Metabólico em Ruminantes: seu Uso em Nutrição e Doenças Nutricionais. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, p. 9-22, 2000.

WOODFORD, S. T.; WHETSTONE, H. D.; MURPHY, M. R.; DAVIS, C. L. Abomasal pH, nutrient digestibility, and growth of Holstein bull calves fed acidified milk replacer. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 70, p. 888-89, 1987.

ZHANG, R.; ZHOU, M.; TU, Y.; ZHANG N. F.; DENG, K. D.; MA, T.; DIAO, Q. Y. Effect of oral administration of probiotics on growth performance, apparent nutrient digestibility and stress-related indicators in Holstein calves. Journal of animal physiology and animal nutrition, Berlin, v. 100, n. 1, p. 33-38, 2016

ZOU, Y.; WANG, Y.; DENG, Y., CAO, Z.; LI, S.; WANG, J. Effects of feeding untreated, pasteurized and acidified waste milk and bunk tank milk on the performance, serum metabolic profiles, immunity, and intestinal development in Holstein calves. Journal of Animal Science and Biotechnology, Londres, v. 8, 53-64, 2017.