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

**Desempenho e alterações metabólicas e comportamentais de
bezerros leiteiros em função do estresse ao desaleitamento**

Mariana Pompêo de Camargo Gallo

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

**Piracicaba
2013**

Mariana Pompêo de Camargo Gallo
Engenheira Agrônoma

**Desempenho e alterações metabólicas e comportamentais de bezerros
leiteiros em função do estresse ao desaleitamento**

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

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

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

Piracicaba
2013

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

Gallo, Mariana Pompêo de Camargo

Desempenho e alterações metabólicas e comportamentais de bezerros leiteiros em função do estresse ao desaleitamento / Mariana Pompêo de Camargo Gallo.- - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2013.
90 p: il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2013.

1. Aleitamento animal 2. Bezerros leiteiros 3. Consumo 4. Cortisol 5. Desmama animal 6. Estresse 7. Gradual 8. Metabolismo animal I. Título

CDD 636.214
G172d

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

Aos meus pais Adriana Guimarães Pompêo de Camargo Gallo e Henrique Alves Gallo, pelo amor e apoio em todos os momentos,

DEDICO

A minha avó Maria Helena Guimarães Pompêo de Camargo, por todo amor e generosidade,

Aos meus avôs Guilherme Herculano Pompêo de Camargo (*in memorian*) e Arnaldo Gallo (*in memorian*), “A vida me ensinou a dizer Adeus às pessoas que amo, sem tirá-las do meu coração”,

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

À Deus pela minha vida, família e todas as oportunidades,

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” e todos os professores, pelo importante papel na minha formação,

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudo,

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento do projeto,

À Prof.^a Carla Maris Machado Bittar, pela oportunidade de orientação e aprendizado,

Ao Grupo de Estudos em Metabolismo Animal: Jack, Marília, Gustavo, Dudu e Diandra pela dedicação e apoio na condução do experimento,

Ao Prof. Gerson Barreto Mourão pelo auxílio nas análises estatísticas,

Ao Prof. João Alberto Negrão e funcionária Sandra Aparecida de Oliveira do Laboratório de Fisiologia Animal da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA), pelo auxílio na realização das análises,

A funcionária Nélia Paula pela amizade e cuidados com o nosso laboratório,

Aos funcionários do Laboratório de Bromatologia Carlos César Alves e Tânia Aparecida Ferri,

Ao pesquisador e amigo Alexandre Mendonça Pedroso (Bolo), pelos conselhos, paciência e amizade,

Aos colegas de pós-graduação: Carolina Guerra, Vinicius Gouvêa, Carolina Brandani, Gregori Rovadoscki, Amália Saturnino, Marina Danés, Max Pasetti, Glauber dos Santos,

As amigas Camila Gomes e Andrea Chimentti (Pinókia),

A Jackeline Thais da Silva por toda amizade, paciência e auxílio nos momentos finais,

As amigas de república na pós-graduação: Magda Andrea (Andi), Jack, Maria Isabel e Alessandra.

À república Quartel (a família que eu escolhi), por todo seu significado e participação em todos os momentos da minha vida,

A minha madrinha Maria Marcondes, as tias Valéria, Ana Maria, Liza, Mimi e todos meus primos e primas,

E a todos aqueles que colaboraram direta ou indiretamente com a realização deste trabalho,

MUITO OBRIGADA

“Que Deus não permita que eu perca o ROMANTISMO, mesmo eu sabendo que as
rosas não falam.

Que eu não perca o OTIMISMO, mesmo sabendo que o futuro que nos espera não é
assim, tão alegre.

Que eu não perca a VONTADE DE VIVER, mesmo sabendo que a vida é, em muitos
momentos, dolorosa.

Que eu não perca a vontade de ter GRANDES AMIGOS, mesmo sabendo que com
as voltas do mundo eles acabam indo embora de nossas vidas,

Que eu não perca a vontade de AJUDAR as pessoas, mesmo sabendo que muitas
delas são incapazes de ver, reconhecer e retribuir esta ajuda.

Que eu não perca a vontade de AMAR, mesmo sabendo que a pessoa que eu mais
amo, pode não sentir o mesmo sentimento por mim...

Que eu não perca a LUZ E O BRILHO NO OLHAR, mesmo sabendo que muitas
coisas que verei no mundo, escurecerão meus olhos...

Que eu não perca a GARRA, mesmo sabendo que a derrota e a perda são duas
adversárias extremamente perigosas.

Que eu não perca a RAZÃO, mesmo sabendo que as tentações da vida são inúmeras
e deliciosas.

Que eu não perca o meu FORTE ABRAÇO, mesmo sabendo que um dia meus
braços estarão fracos...

Que eu não perca a BELEZA E A ALEGRIA de ver, mesmo sabendo que muitas
lágrimas brotarão dos meus olhos e escorrerão por minha alma...

Que eu não perca o AMOR POR MINHA FAMÍLIA, mesmo sabendo que ela, muitas
vezes, me exigiria esforços incríveis para manter a sua harmonia.

Que eu não perca a VONTADE DE SER GRANDE, mesmo sabendo que o mundo é
pequeno...

E, acima de tudo, que eu jamais me esqueça de que Deus me ama infinitamente, que
um pequeno grão de alegria e esperança

dentro de cada um é capaz de mudar e transformar qualquer coisa, pois...

A VIDA É CONSTRUÍDA NOS SONHOS E CONCRETIZADA NO AMOR! ”

(Chico Xavier)

SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	13
1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1 DESALEITAMENTO PRECOCE DE BEZERROS LEITEIROS.....	17
2.2 ESTRESSE.....	18
2.3 BEM-ESTAR ANIMAL X ESTRESSE.....	19
2.4 ESTRESSE NO DESALEITAMENTO.....	23
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
3.1 ANIMAIS, INSTALAÇÃO, MANEJO ALIMENTAR.....	33
3.2 AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO E DESENVOLVIMENTO CORPORAL.....	34
3.3 ESCORE FECAL E SANIDADE.....	34
3.4 ANÁLISES QUÍMICO BROMATOLÓGICA.....	34
3.5 COLHEITA DE SANGUE.....	36
3.6 ANÁLISES COMPORTAMENTAIS.....	36
3.7 METODOLOGIA ANALÍTICA.....	36
3.7.1 DETERMINAÇÃO DE GLICOSE PLASMÁTICA.....	36
3.7.2 DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS TOTAIS NO PLASMA.....	37
3.7.3 DETERMINAÇÃO DE β -HIDROXIBUTIRATO PLASMÁTICO.....	37
3.7.4 DETERMINAÇÃO DE CORTISOL PLASMÁTICO.....	38
3.7.5 DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS SOLÚVEIS EM ÁCIDO.....	38
3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	36
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
4.1 CONSUMO.....	41
4.2 DESEMPENHO.....	47
4.3 PARÂMETROS SANGUÍNEOS.....	55
4.4 MEDIDAS FISIOLÓGICAS.....	64
4.5 COMPORTAMENTO.....	69
5 CONCLUSÕES.....	81
REFERÊNCIAS.....	83

RESUMO

Desempenho e alterações metabólicas e comportamentais de bezerros leiteiros em função do estresse ao desaleitamento

O estudo avaliou o efeito do nível de consumo e do método de desaleitamento sobre o desempenho, metabolismo e fisiologia de bezerros leiteiros. Em delineamento fatorial 2x2, utilizando-se 36 bezerros leiteiros, os animais foram classificados em grupos com alto (>350 g/d) ou baixo (<350 g/d) consumo de concentrado na quinta semana de vida e alocados a dois métodos de desaleitamento: abrupto ou gradual. Os animais foram alojados em abrigos individuais, receberam 4L/d de dieta líquida, água e concentrado inicial à vontade (até 2 kg/dia). O desaleitamento abrupto foi realizado na oitava semana de vida. Animais desaleitados de forma gradual, receberam 4L/dia até a sexta semana, 3 L/dia da sexta até a sétima semana, 2L/dia da sétima semana até dois dias antes de completarem 8 semanas e 1L/dia até a 8ª semana, quando foram desaleitados. O consumo de concentrado foi avaliado diariamente. Semanalmente foram realizadas pesagens, medidas corporais e coletadas amostras de sangue para análise de glicose, β -hidroxibutirato (BHBA) e proteína total sérica (PT), até a 10ª semana de vida, quando se encerrou o período experimental. Foram realizadas observações de comportamento dos animais nos dias -14, -7, -2, 0, 2, 7 relativos ao desaleitamento. Nestes dias foram colhidas amostras de sangue para determinação de cortisol e glicoproteínas solúveis em ácido (GSA). Não houve interação entre os dois fatores estudados para nenhuma das variáveis analisadas. O consumo de concentrado não diferiu ($P < 0,05$) entre os métodos de desaleitamento, havendo efeito da idade ($P < 0,001$) de acordo com o nível de consumo. Animais com alto consumo de concentrado consumiram mais feno na nona semana de vida ($P < 0,05$). O método de desaleitamento não afetou as variáveis: ganho de peso, peso vivo e medidas corporais ($P < 0,05$), porém, houve diferença significativa para estas variáveis em função dos níveis de consumo ($P < 0,05$). Não houve interação entre os fatores estudados para parâmetros sanguíneos; os valores de BHBA para os animais de alto consumo de concentrado foram maiores durante praticamente todo período; os valores de PT e de cortisol não diferiram entre os tratamentos ou com a idade dos animais ($P < 0,05$). Não houve efeito do método de desaleitamento sobre as medidas fisiológicas dos animais. Os níveis de consumo tiveram efeito ($P > 0,05$) sobre as frequências cardíacas às 6:00, 12:00, 18:00; e temperatura retal às 18:00. Animais desaleitados gradualmente passaram mais tempo consumindo concentrado ($P > 0,05$) e o tempo ruminando e o tempo consumindo concentrado aumentaram conforme a idade do animal ($P > 0,05$). O número de vocalizações foi maior ($P > 0,05$) no dia do desaleitamento e no segundo dia subsequente, normalizando após uma semana. O método de desaleitamento afetou o número de vocalizações no segundo dia pós desaleitamento ($P > 0,05$), de forma que bezerros desaleitados de forma gradual vocalizaram menos que os demais. O método de desaleitamento não teve influência no desempenho, metabolismo ou bem estar dos animais. No entanto, o nível de consumo teve influência no desempenho e parâmetros sanguíneos dos bezerros. O consumo de concentrado é mais importante que o método de desaleitamento no que diz respeito ao desempenho, metabolismo e nível de estresse.

Palavras-chave: Aleitamento; Consumo; Cortisol; Desmama; Gradual

ABSTRACT

Performance and metabolic and behavior changes of dairy calves in response to the weaning stress

The study evaluated the effect of the level of concentrate intake at the 5th week of age and the weaning method on the performance, metabolism and physiology of dairy calves. In a 2x2 factorial design, using 36 dairy calves, animals were classified as presenting high (>350g/d) or low (<350 g/d) concentrate intake at the 5th week of life, and distributed in two weaning methods: abrupt or gradual. Animals were individually housed in hutches, had free access to water and concentrate (up to 2kg/d) and were fed 4L of milk-replacer. The abrupt weaning was done at the 8th week of age. Animals weaned gradually received milk-replacer at the rate of 4l/d until the 6th week of age, 3L/d from the 6th until the 7th week, 2L/d from the 7th until 2 days before weaning, and 1L/d until weaning at the 8th week of age. Concentrate intake was monitored daily. Animals were weighted and corporal measures, as well as, blood samples were taken weekly for glucose, β -hydroxybutyrate (BHBA) and serum total protein (TP), until the 10th week of age when the experimental period ended. Animal behavior was monitored on days -14, -7, -2, 0, 2, 7 relative to weaning. On those days blood samples were drawn for cortisol and acid soluble glycoprotein (ASG) levels determination. There was no significant interaction of the studied factors for all the analyzed variables. Average concentrate intake was not affected by the weaning method ($P>0.05$), however there was an significant age effect ($P<0.001$) according to the level of intake at the 5th week of age. Animals at the high intake level group presented higher hay intake at the 9th week of age ($P<0.05$). Weaning method had no effect on: live weight, daily gain or corporal measures ($P>0.05$); however, there was a significant difference for those variables according to the level of intake ($P<0.05$). There was no significant interaction of the intake level at the 5th week and the weaning method for blood parameters. BHBA concentrations were higher for animals at the higher concentrate intake level for almost the whole period. Cortisol and TP were not affected by the studied factors or by the animals age ($P>0.05$). Weaning methods had no effect on physiological measures. Concentrate intake level affected ($P<0.05$) heart rate at 6:00, 12:00, 18:00; and rectal temperature at 18:00. Animals gradually weaned spent more time consuming concentrate ($P<0.05$); and time ruminating and consuming concentrate were increased as animals aged ($P<0.05$). The number of vocalizations were higher ($P<0.05$) at the weaning day and the second day after that, getting back to normal a week after. The weaning method affected the number of vocalizations at the second day after weaning ($P<0.05$), with animals weaned gradually presenting lower numbers. The weaning method had no effect on performance, metabolism or well-being of dairy calves. However, the intake level had impact on performance and blood parameters. In spite of performance, metabolism and stress level of the animals the concentrate intake level is more important than the method of weaning.

Keywords: Intake; Gradual; Milk-feeding; Weaning

1 INTRODUÇÃO

A redução de custo associado à alimentação é o principal objetivo dos sistemas de desaleitamento precoce de bezerros. No entanto, a fase de desaleitamento representa um dos períodos de maior estresse na vida do animal, podendo afetar negativamente seu desempenho, se não realizada de maneira correta.

O estresse sofrido pelo animal pode ser avaliado por alterações comportamentais, como frequência de vocalização e atividade motora. Algumas vezes, somente estas medidas podem não ser suficientes para determinar os prejuízos do desaleitamento ao bem-estar e o desempenho do animal, sendo necessárias medidas adicionais que demonstrem a resposta fisiológica. Alguns parâmetros sanguíneos tem se mostrado eficientes em detectar respostas fisiológicas de animais em situações de estresse. Deste modo, o uso de uma associação de parâmetros sanguíneos e comportamentais pode ser utilizado na avaliação de fatores causadores de estresse, auxiliando no desenvolvimento de soluções de manejo que possam reduzi-lo.

Estudos comparando diferentes métodos de desaleitamento têm sido realizados com objetivo de minimizar os efeitos negativos das mudanças que o animal passa neste período. Entretanto, a maioria dos trabalhos publicados na literatura avaliou o estresse provocado pelo desaleitamento e seus efeitos sobre os padrões comportamentais e desempenho dos animais. Poucos trabalhos têm associado estas alterações às respostas fisiológicas dos animais.

Existe ainda um número restrito de trabalhos envolvendo métodos de desaleitamento de bezerros leiteiros; mas, alguns trabalhos demonstram que quando o consumo de concentrado dos animais é adequado, não há grandes diferenças no desempenho de animais desaleitados de forma abrupta ou convencional. No entanto, para animais de baixo consumo de concentrado, o desaleitamento gradual pode ser uma alternativa para elevar o consumo de forma a melhorar o desempenho destes animais no momento de retirada do leite. Deste modo, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de dois métodos de desaleitamento, gradual e abrupto e de dois níveis de consumo de concentrado, sobre parâmetros fisiológicos e comportamentais relacionados ao estresse em bezerros leiteiros.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Desaleitamento precoce de bezerros leiteiros

O desaleitamento representa a maior transição de manejo alimentar na vida dos bezerros, sendo um desafio para o produtor realizá-lo de maneira que não prejudique os ganhos obtidos na fase de aleitamento e nem comprometa a saúde do animal.

O principal sistema de desaleitamento utilizado nos sistemas de produção leiteiro é o desaleitamento precoce. Dentre as maiores vantagens do desaleitamento precoce as principais são a redução dos custos com alimentação (MACHADO NETO et al., 2004). No período de aleitamento de 60 dias, 70% do custo variável (alimentação, sanidade e mão de obra) referem-se ao fornecimento da dieta líquida. Quando o animal deixa de receber leite ou sucedâneo e passa a se alimentar exclusivamente de alimentos sólidos (concentrados e volumosos), o custo da alimentação reduz em até 32%, o que justificaria então, o método de desaleitamento precoce (BITTAR et al., 2011).

Dados de pesquisa realizada por Vasseur et al. (2011), apontam que o desaleitamento de bezerros é realizado ao redor de 7 semanas no Canadá, enquanto dados do USDA (2008), mostram que nos Estados Unidos o desaleitamento ocorre em torno de oito semanas de vida. Embora ainda sejam escassos os dados de produção de bezerros nacional, um levantamento realizado por Machado Neto et al. (2004) em 211 propriedades da região de Minas Gerais, aquelas que realizavam o desaleitamento de bezerros até os 3 meses de idade, possuíam os menores índices de mortalidade.

A importância do desaleitamento precoce está relacionada principalmente ao fator econômico, já que o custo da alimentação dos animais é mais baixo quando estes se alimentam com o concentrado e volumoso ao invés do leite. Além disso, a mão de obra demandada para alimentação das bezerras em aleitamento representa um custo adicional ao sistema, que é reduzido com o menor tempo gasto para fornecer o alimento sólido. Desta forma, desaleitar precocemente, é uma alternativa para reduzir o alto custo da criação de fêmeas de reposição (BITTAR et al., 2011)

Um levantamento realizado nos Estados Unidos indica que aproximadamente 90% dos produtores de leite têm fornecido quantidades limitadas de leite para bezerros, desaleitando os animais com aproximadamente 8 semanas de vida do animal (National Animal Health Monitoring System, 1993 em Vasseur et al. 2011).

Estudos indicam que fisiologicamente o animal pode ser desaleitado quando atinge o consumo de concentrado de 700-800g/d, durante três dias consecutivos (QUIGLEY, 1996). Alguns trabalhos associam o consumo ideal para o desaleitamento ao peso ao nascer dos animais, sendo proposto valor de 1,5% do peso ao nascer (GREENWOOD; MORRIL; TITGEMEYER, 1997; NUSSIO; RODRIGUES, 2003).

Apesar de a literatura concordar que o desaleitamento seja feito com base no consumo de concentrado ao invés da idade, o critério idade ainda é usado em 66,7% das propriedades canadenses (VASSEUR et al. 2011). No entanto, buscando minimizar os impactos deste evento na vida do animal, e estimular o consumo de concentrado, 89,6% das propriedades entrevistadas por estes autores, utiliza o método de desaleitamento gradual, reduzindo progressivamente o volume de dieta líquida fornecida.

O estresse relacionado ao período de desaleitamento se dá por uma série de mudanças às quais os animais são forçados no momento em que se interrompe o fornecimento da dieta líquida. A principal é a própria forma de nutrição do animal, que muda de líquida para sólida, também a redução da quantidade de matéria seca recebida com o não fornecimento do leite e ainda, a adaptação a digestão e fermentação de alimentos própria de ruminantes. Todos estes aspectos podem ser fator de estresse caso o animal ainda não esteja preparado para esta mudança. Além disso, neste período também ocorrem alterações no manejo e nas instalações dos animais, que passam muitas vezes de abrigos individuais para uma situação de agrupamento, devendo adaptar-se ao novo ambiente (QUIGLEY, 1996).

Um dos problemas de grande parte dos produtores é superestimar a maturidade dos animais para viver este período de transição pós desaleitamento, já que este é o período de maior estresse na vida dos animais. Desta forma, medidas que minimizem o impacto deste período, e reduzam o estresse ao que o animal é imposto, devem fazer parte do manejo destes animais, de forma a manter o bom desempenho obtido na fase de aleitamento (MORRILL, 1999).

2.2 Estresse

Estresse pode ser definido como um ajuste ou adequação anormal ou extremo na fisiologia de um animal em resposta a um efeito adverso do ambiente ou manejo alimentar a que é submetido (FRASER, 1975 apud FRANK; GRIFFIN, 2002). O termo estresse pode ser classificado em distresse quando a resposta do animal pode causar

dano patológico ao animal, causando alterações no comportamento, fisiologia e susceptibilidade a doenças. Ainda, quando as respostas fisiológicas do animal não produzem efeitos no hospedeiro, esse termo é classificado como eustresse (FRANK; GRIFFIN, 2002).

A resposta de qualquer animal a uma situação de estresse se divide em três principais fases: reconhecimento do agente estressor, resposta biológica contra o estressor e a consequência desta resposta. Esta última etapa será determinante em identificar se o estresse será classificado como distresse, ou se será apenas um episódio breve, que não trará impactos negativos sobre sua fisiologia (MOBERG, 2000). Uma vez que o sistema nervoso central identifica um desafio, são desenvolvidas resposta biológicas e de defesas, que consistem em uma combinação de quatro principais fatores biológicos: resposta comportamental, do sistema nervoso central, do sistema neuroendócrino e do sistema imune (MOBERG, 2000).

Uma das primeiras respostas de um animal diante de uma situação de estresse é a alteração do seu comportamento. O animal tentará evitar o agente estressor, ou minimizar os seus efeitos. Mesmo quando o animal não consegue evitar o estresse, seu padrão de comportamento será alterado, sendo assim, uma importante evidência da ocorrência de distresse no organismo (RUSHEN, 2000).

A segunda linha de defesa do animal é o seu sistema nervoso autônomo. Durante um período de estresse este sistema afeta diversos sistemas biológicos, provocando alterações nas taxas de batimento cardíaco, pressão sanguínea e atividade gastrointestinal. Porém, estes sistemas são afetados por um curto período de tempo, não tendo assim grande impacto sobre o bem estar dos animais.

Ao contrário das respostas orquestradas pelo sistema nervoso autônomo, os hormônios secretados pelo sistema neuro-endócrino, especialmente pelo eixo hipotálamo-pituitário resultam em efeito mais duradouro sobre o organismo animal. Em geral, todos os efeitos biológicos causados pelo estresse como alterações de comportamento, imunidade, metabolismo e reprodução, são comandados por este eixo (MATTERI; CARROL; DYER, 2000). Em casos de estresse crônico, há liberação de hormônio adrenocorticotrófico pela hipófise, o qual estimula a liberação de corticosteróides, como o cortisol, em um processo que pode levar de 10 a 90 minutos (DUKES, 1995). Aumentos na circulação dos glicocorticosteróides adrenais, como cortisol e corticosterona, têm sido relacionados ao estresse e usados como indicadores de bem estar animal.

A ocorrência de doenças durante o período de estresse tem sido relacionada a supressão do sistema imune do animal. O sistema imune é influenciado pelo sistema nervoso central e é, ainda, uma das principais respostas do organismo animal a um agente estressante (DUN, 1988 apud MOBERG 2000). Os mecanismos responsáveis pela supressão do sistema imune do animal ainda não foram bem esclarecidos devido à complexidade de fatores relacionados ao sistema imunológico. As respostas ao estresse podem ter influência de outros fatores fisiológicos como idade, fatores nutricionais e genéticos, dificultando o esclarecimento de sua relação com o sistema imune (MYUNG-HOO et al. 2011).

Quando o animal é exposto a uma situação de desafio, este sistema inicia a fase aguda de resposta e citocinas liberadas de macrófagos e monócitos são levadas até o fígado, onde induzem a produção das proteínas da fase de aguda (Baulman & Gauldie, 1994). As principais citocinas que estariam relacionadas a este processo são a interleucina-6 (IL6), fator indutor de tumor necrose alfa (TFN- α) e interleucina-1 (IL-1 β) (Alsemgeest, 1996).

Mensurações das concentrações de proteínas de fase aguda (PFA) têm sido realizadas com o objetivo de avaliar o estado imunológico de animais. As PFA são proteínas sanguíneas que tem sua concentração alterada quando os animais são expostos a desafios externos ou internos como infecções, inflamações e situações traumáticas ou de estresse (MURATA; SHIMADA; YOSHIKA, 2004).

A resposta da fase aguda pode acarretar em alterações nas concentrações de mais de 200 tipos de PFA. A função destas proteínas no organismo do animal é a de restaurar a homeostase e sua concentração na circulação indica a severidade do desafio ou desordem fisiológica no organismo (MURATA; SHIMADA; YOSHIKA, 2004). A fase aguda de resposta pode se estender a vários dias após o estímulo, dependendo da espécie animal e do dano sofrido. Em geral, a máxima concentração das PFA vai de 24 a 48h após o início da fase de resposta.

Somente na última década é que se iniciaram os estudos relacionando infecções e inflamações à presença de PFAs e a ocorrência de doenças. No entanto, tem sido reconhecidas diferenças entre as espécies de animais. Enquanto a proteína reativa-C (PRC) tem maior concentração em humanos, caninos e suínos; em ruminantes sua concentração não se altera. Em contraste, as concentrações de haptoglobina e de amilóide A sérica em bovinos e ovinos aumentam até 100 vezes em situações de estímulo (ECKERSALL, 1999).

As PFA também têm sido utilizadas como uma medida indicativa de estresse ou de bem estar animal (CRAY; ZAIAS; ALTAMN, 2009). Embora ainda não tenha sido bem esclarecido o mecanismo pelo qual ocorre a indução da produção de PFA em situações de estresse, este tipo de estímulo pode ativar o eixo hipotálamo-pituitaria-adrenal e determinar a produção de citocinas sistêmicas ou locais (intra-pituitária) e então estimular a produção hepática de PFA (MURATA; SHIMADA; YOSHIKA, 2004).

O principal desafio em avaliar os efeitos de um período de estresse na vida do animal, como por exemplo, a fase de desaleitamento, é entender como o organismo destes animais irá responder aos desafios, e quais as consequências que as possíveis alterações terão sobre seu organismo do ponto de vista produtivo. Quando um animal vivencia uma situação de medo ou dor, sua fisiologia e comportamento passam por mudanças, envolvendo vários aspectos do sistema nervoso, endócrino, postura, movimentos corporais e outros. Medir somente um destes aspectos pode captar apenas uma pequena fração destas mudanças (FRASER, 2007).

Desta forma, faz-se necessário aliar avaliações de comportamento aos parâmetros fisiológicos para detectar a ocorrência de estresse. Além disso, avaliar quão negativas serão as mudanças que ocorrem neste período, do ponto de vista do bem-estar animal, parece ser uma preocupação crescente na comunidade científica. Embora ainda não seja possível chegar a um acordo quanto à definição para “bem-estar animal”, a grande maioria dos autores consideram que situações de estresse afetam o estado de bem-estar dos animais (MOBERG, 2000).

2.3 Bem-estar animal x estresse

Estudos e discussões envolvendo bem-estar, qualidade de vida, direitos e ética no tratamento dos animais são relatados desde 60 a.C. na Grécia antiga. No entanto, discussões envolvendo sistemas de produção e bem-estar dos animais domésticos, tiveram início principalmente após o lançamento em 1964, do livro *Máquinas Animais* (Animal Machines) de Ruth Harrison, que descreveu sistemas de produção de aves, suínos e vitelos confinados e chocou muitos de seus leitores com as práticas destes sistemas. Desde então, a literatura vem retratando temas envolvendo não apenas o sofrimento causado por atos de maus tratos aos animais, mas, da qualidade de vida dos animais nos tradicionais sistemas de produção, que visam maximizar o lucro e a produtividade por área (FRASER, 2008).

O crescimento da preocupação em assegurar o bem-estar dos animais teve início principalmente nos países da União Europeia, havendo uma grande pressão destes países que já adotam práticas de produção visando o bem estar animal e que buscam importar produtos de origem animal provenientes de propriedades que também sigam essa filosofia. Desta forma, as discussões envolvendo bem-estar tem ganhado espaço na comunidade científica, que busca identificar os principais aspectos falhos em relação ao bem-estar nos sistemas de produção utilizado no Brasil.

A Organização Mundial de Saúde Animal define que um animal esta em bom estado de bem estar quando está saudável, confortável, nutrido, seguro, com possibilidade de expressar seu comportamento inato e não está sofrendo com situações não prazerosas, como medo, dores e estresse (Organização Mundial de Saúde Animal, 2008, em VON KEYSERLINGK et. al 2009).

Embora ainda não exista uma unanimidade quanto à conceituação de bem-estar, de acordo com Broom (1991), bem-estar seria uma característica do animal e não algo que seja fornecido a ele. Desta forma, existe maneiras de avaliar o bem-estar utilizando-se alguns indicadores. Broom (1991) considerou que expectativa de vida, crescimento e reprodução debilitados, doenças, supressão do sistema imune, atividade adrenal e comportamentos anormais seriam alguns dos indicadores de que o animal não se encontra em uma situação de bem-estar.

Fraser (1997) definiu três aspectos que se referem ao bem-estar animal: (1) o animal deve ser capaz de se sentir bem, sendo poupados de efeitos negativos (medo, fome, etc), tanto quanto possível, tendo experiências positivas que causem contentamento e prazeres normais; (2) os animais devem levar uma vida razoavelmente natural, sendo capazes de expressar comportamentos normais e tendo elementos naturais no seu ambiente, tais como ar fresco e espaço para socialização com outros animais; (3) os animais devem ter boa saúde, crescimento e desenvolvimento normal e funções normais do organismo. Estas preocupações podem ser agrupadas em três principais aspectos: viver naturalmente, estado afetivo e funcionamento biológico, sendo que muitas vezes elas se sobrepõem.

Figura 1 - Três áreas de sobreposição das preocupações em bem-estar animal, adaptado de Fraser et. al (1997)

A preocupação com bem-estar, além do caráter ético, também é uma questão importante quando se tem em pauta situações de manejo que afetam a produtividade. Situações em que o manejo propicie lutas entre os animais, injúrias e medos, podem levar a falhas reprodutivas, conversão alimentar baixa, redução no valor da carcaça e aumentos na mortalidade (BROOM; FRASER, 2007). Essas perdas podem ser significativamente reduzidas pelo conhecimento do comportamento dos animais (BROOM; FRASER, 2007).

Identificar o bem-estar, não se restringe somente a avaliar situações de estresse e seus efeitos na ação do sistema nervoso central e fisiologia do animal. A principal ferramenta utilizada para identificar se o animal se encontra em bem-estar, são as avaliações de comportamento. Desempenho e comportamentos anormais são muitas vezes interpretados como uma sinalização de um estado negativo. Existem estereótipos de comportamentos que podem ser interpretados como indicadores de fome, frustração e desejo de escapar em situações não prazerosas (RUSHEN 1993 apud FRASER 1997).

No caso de bezerros, comportamentos como mamada não nutritiva, vocalização e agitação motora, tem sido identificados quando estes animais passam por situações estressantes. Vocalização e outros sinais utilizados pelos animais para comunicação podem fornecer informações sobre experiências subjetivas (BROOM; FRASER, 2007). No entanto, ainda poucos experimentos têm focado nestas

experiências negativas e o quanto elas afetam o bem-estar e a fisiologia destes animais, especialmente nos sistemas de produção e nas condições do Brasil.

Uma pesquisa com produtores de leite realizada no Canadá identificou as principais práticas de manejo que afetam o bem-estar de bezerros. As principais práticas detectadas foram: baixo uso de piquete maternidade e pouca vigilância deste piquete; bezerro identificado e monitorado tardiamente e sem cura de umbigo; bezerros mamando colostro direto da mãe, sem fornecimento de quantidades adequadas e sem checar a qualidade do colostro ou da qualidade de transferência de imunidade passiva através do sangue do bezerro; descorna e remoção de tetos supranuméricos em idade avançada e sem uso de medicamentos para dor; uso de leite descarte sem tratamento adequado e quantidades limitadas de dieta líquida; desaleitamento baseado na idade ao invés de consumo de concentrado; bezerros individualizados e em sistemas de alojamento inadequados (VASSEUR, et. al 2010). Estes seriam requisitos para o mínimo de bem-estar nesta fase, no entanto, considerando-se que muitas pessoas tem se preocupado com o estado emocional dos animais preocupando-se não somente com as situações em que os animais sofrem de dor, injúrias, medos e estresse, mas também com situações associadas ao prazer do animal, como nas brincadeiras (VON KEYSERLINGK et. al., 2009).

Animais possuem capacidade de se adaptar em situações de restrição ambiental, mudança de manejo. Nem sempre este processo de adaptação é um desafio que afeta seu bem-estar, porém quando o animal não se adapta a nova situação pode haver comprometimento do bem-estar. A avaliação do comportamento auxilia na identificação das falhas de adaptação. Desta forma novos conhecimentos de comportamento animal em sistemas de criação intensivo se fazem necessários para avaliar os animais nestes sistemas de criação (BROOM; FRASER, 2007).

Tendo em vista esta crescente preocupação em assegurar o bem-estar dos animais, estudos de métodos de desaleitamento que minimizem os impactos deste período são importantes para auxiliar no entendimento das mudanças que o animal passa durante este processo e de suas reações comportamentais.

2.4 Estresse no desaleitamento

Em condições naturais, o desaleitamento de bezerros acontece de forma gradual, com redução do consumo de leite, aumento de consumo de alimento sólido e independência da mãe. No entanto, nos sistemas de produção de leite os animais são separados da mãe logo após o nascimento e podem passar por um processo de desaleitamento realizado de forma abrupta, sendo privados do consumo de leite precocemente (WEARY; JASPER; HOTZEL, 2008).

Diferente do que ocorre nas raças especializadas para corte, em que muitos dos efeitos do desaleitamento tem sido associado também a separação da mãe (HALEY; BAILEY; STOOKEY, 2005), nos sistemas de produção de leite o estresse decorrente deste período tem sido relacionado principalmente a mudança da dieta e as adaptações do animal. Além disso, é um período de mudanças na fisiologia e também metabolismo do animal, principalmente relacionadas ao desenvolvimento ruminal e a transição de pré-ruminante para ruminante funcional.

Diante deste cenário, existe uma preocupação crescente nos últimos anos em se estudar técnicas de desaleitamento que minimizem os impactos deste período na vida do animal. O desaleitamento é normalmente realizado interrompendo o fornecimento de leite de forma abrupta; no entanto, algumas práticas como reduzir a quantidade de leite gradualmente durante alguns dias, diminuindo a frequência de alimentação, reduzindo a quantidade de leite por alimentação, ou ainda, diluindo o leite ou sucedâneo, tem sido consideradas como algumas das possíveis alternativas para minimizar o estresse (JASPER; BUDZYNSKA, WEARY, 2008).

Sweeney et al. (2010) avaliou o desempenho de bezerros em aleitamento intensivo, recebendo 12L de leite por dia e desaleitados aos 42 dias de idade segundo um dos quatro tratamentos: abrupto, redução gradual durante 4, 10 ou 22 dias antes da data de desaleitamento. Os resultados mostraram que os bezerros desaleitados de forma gradual aumentaram o consumo de concentrado, quando comparado aos desaleitados de forma abrupta. No entanto, o aumento no consumo não compensou a redução no fornecimento do leite, havendo redução na quantidade de energia consumida pelos animais (Tabela 1). A redução na quantidade de energia consumida teve efeito negativo principalmente para os bezerros que foram desaleitados gradualmente durante 22 dias, já que o tratamento se iniciou quando esses animais estavam com apenas 19 dias de vida. Estes animais, apesar de não apresentarem perdas de peso após o desaleitamento, tiveram ganhos de peso moderados durante

todo o período. Os animais desaleitados de forma abrupta obtiveram ganhos de peso de até 1Kg/d no período de aleitamento; no entanto, quando desaleitados, perderem peso nos 4 dias pós desaleitamento. Já aqueles que foram desaleitados gradualmente durante 10 dias apresentaram os melhores resultados em ganho de peso pós desaleitamento, se mostrando o tratamento mais eficiente neste estudo (Sweeney et al., 2010) .

Tabela 1 - Consumo diário de leite pasteurizado, concentrado e energia digestível e desempenho de bezerros durante o desaleitamento e após o desaleitamento

	Tratamento			
	Abrupto	4 dias	10 dias	22 dias
Desaleitamento (19-41 dias)				
Consumo leite, Kg/d	10,1±0,27 ^a	8,6±0,30 ^b	8,3±0,30 ^b	5,7±0,27 ^c
Concentrado, Kg/d	0,1±0,03 ^a	0,1±0,03 ^a	0,3±0,03 ^b	0,3±0,03 ^b
Energia Digestível, Mcal/d	7,2±0,21 ^a	6,1±0,24 ^b	6,7±0,24 ^{ab}	4,8±0,21 ^c
GPD, Kg	1,06±0,07 ^a	0,75±0,08 ^b	0,83±0,08 ^b	0,50±0,07 ^c
Peso aos 45 dias, Kg	82,1±2,30 ^a	73,1±2,62 ^b	80,9±2,62 ^a	67,6±2,31 ^c
Pós desaleitamento, 41-49 dias				
Concentrado, Kg/d	0,07±0,09 ^a	1,0±0,11 ^{ab}	1,2±0,11 ^b	1,2±0,09 ^b
ED diária, Mcal	2,1±0,29	2,9±0,33	3,8±0,33	3,8±0,24
GPD, Kg	-0,21±0,11 ^a	0,10±0,13 ^{ab}	0,23±0,13 ^{bc}	0,51±0,11 ^c
Peso aos 49 dias	80,2±2,03 ^a	73,2±2,30 ^b	82,9±2,30 ^a	72,2±2,02 ^b

Adaptado de Sweeney et al. (2010), *Médias seguidas de letras diferentes diferem a P <0,05

Avaliando o efeito da ausência da rotina de aleitamento em bezerros leiteiros, Jasper, Budzynska e Weary (2008) forneceram leite diluído em água morna durante o período final de aleitamento. Os animais que receberam o tratamento tiveram maior consumo de concentrado antes e logo após o desaleitamento, em comparação a aqueles desaleitados de forma abrupta. No entanto, os animais desaleitados abruptamente conseguiram equiparar o consumo de concentrado observado no outro grupo em apenas três dias. Além disso, o maior consumo de concentrado antes do desaleitamento apenas compensou a energia recebida pelo leite, já que o ganho de peso no período não diferiu entre os dois tratamentos (JASPER, BUDZYNSKA; WEARY, 2008). No que diz respeito às manifestações comportamentais do estresse

ao desaleitamento, os dois grupos reagiram de forma semelhante. Mesmo com consumo médio de 2 kg/d, todos os animais vocalizaram e apresentaram comportamento típico de movimentação em resposta ao estresse do desaleitamento, sugerindo que talvez existam fatores não nutricionais que causem o estresse deste período de transição.

No mesmo experimento um grupo de bezerros foi submetido à manutenção da rotina de aleitamento, com fornecimento de água morna em substituição a dieta líquida. Este método teve efeito positivo no comportamento dos bezerros desaleitados, havendo menor ocorrência de vocalização, menor tempo em atividade e com a cabeça para fora do alojamento. Desta forma, parece haver uma relação do estresse não apenas aos fatores nutricionais, mas também com a rotina de aleitamento e manejo diário (JASPER, BUDZYNSKA; WEARY, 2008). Além disso, estes autores ainda ressaltam que pode haver algum tipo de saciedade causado pelo enchimento do intestino. Porém, no caso deste experimento os bezerros recebiam dieta líquida correspondente a 10% do peso ao nascer e foram desaleitados na décima semana de vida, período em que já apresentavam consumo adequado de concentrado. Os autores sugerem que talvez bezerros desaleitados mais jovens, e recebendo maiores volumes de dieta líquida sendo, portanto, mais dependentes desta dieta do ponto de vista nutricional, demonstrem maior estresse relacionado a perda do leite e da falta de energia. Já que neste caso os animais foram desaleitados mais jovens e possuíam um consumo relativamente alto de concentrado (1kg/dia), demonstrando as reações de estresse mais relacionadas aos fatores não nutricionais da rotina de aleitamento.

Neste sentido, Budzynska e Weary (2008) forneceu aos animais 9L de leite por dia durante todo o período de aleitamento. Os bezerros, além de apresentarem comportamentos relacionados ao estresse não foram capazes de aumentar o consumo de concentrado após o desaleitamento de forma a suprir a mesma quantidade de energia fornecida pelo leite, resultando em perdas de 0,8 kg/dia no peso corporal nos 3 dias seguintes ao desaleitamento. É comum se observar a campo animais com menores taxas de crescimento ou até mesmo perda de peso nos dias subsequentes ao desaleitamento, normalmente relacionadas ao baixo consumo de concentrado. Neste mesmo estudo, metade dos bezerros recebeu água morna na mamadeira, durante dois dias após o desaleitamento e vocalizaram menos que o grupo controle neste período; no entanto, no terceiro dia, quando foi interrompido o

fornecimento da água, a vocalização foi semelhante ao grupo controle (BUDZYNSKA; WEARY 2008). Desta forma, os autores também sugerem que não somente a interrupção no fornecimento do leite causa estresse ao animal, mas também fatores como: enchimento do trato digestório, realização de mamada, fatores de saciedade proporcionados pelo ato de mamar, fatores sociais e contato com o tratador.

Além da vocalização e atividade motora, comportamentos como a mamada cruzada ou não nutritiva, são comumente observados em bezerros criados em grupo, especialmente após o desaleitamento. Nielsen, Jensen e Lidfors (2008) realizaram desaleitamento abrupto ou gradual de bezerros em aleitamento convencional e intensivo mantidos em grupos. Todos os bezerros foram desaleitados na oitava semana, sendo o tratamento gradual iniciado na sexta semana de vida. No grupo de bezerros desaleitados de forma gradual, houve redução da ocorrência de mamada cruzada. Além disso, o desaleitamento gradual para bezerros em aleitamento intensivo se mostrou eficiente em estimular o consumo de concentrado e reduzir os impactos da transição para dieta baseada apenas em alimentos sólidos.

No entanto, De Passilé, Sweeney e Rushen (2010) avaliaram a ocorrência de mamada cruzada em bezerros leiteiros mantidos em grupo e desaleitados na sexta semana de vida de maneira abrupta ou gradual. Os bezerros que recebiam aleitamento intensivo (12 L/d) foram desaleitados aos 41 dias, de quatro maneiras diferentes: a) redução de 0,55 L/d de leite durante 22 dias, começando aos 19 dias; b) redução de 1,2 L/d durante 10 dias começando aos 31 dias; c) redução de 3 L/d durante 4 dias iniciando aos 37 dias de idade; e d) redução abrupta dos 12 L de leite aos 41 dias de idade. Os resultados obtidos neste estudo indicaram que uma vez iniciado o processo de desaleitamento, maior atividade de mamada cruzada foi observada. Ao contrário dos resultados de Nielsen et al. (2008), o desaleitamento gradual iniciado mais cedo (aos 19 d de vida) resultou em maior frequência de mamada cruzada, o que foi associado ao menor consumo de energia pelos animais (< 95,5 Kcal/Kg de PV). De Passilé, Sweeney e Rushen (2010) sugerem que os animais tenham sido desaleitados ainda muito jovens, na sexta semana de vida, e ainda apresentavam baixo consumo de concentrado, o que resulta em baixo consumo de energia quando se iniciou o processo de desaleitamento. Estes animais acabaram não compensando o menor consumo de leite com aumentos no consumo de concentrado o que resulta em menor consumo de energia.

Diante disso, fica claro que o estresse no período de desaleitamento ocorre em decorrência de uma associação de fatores e que o consumo de energia parece estar fortemente relacionado aos comportamentos indicativos de estresse.

Nem sempre as avaliações de comportamento são eficientes em detectar os sinais de reação a estresse, já que os animais reagem de forma diferente a diversas situações e desafios a que são impostos. Watts e Stookey (2000) avaliaram a atividade de vocalização em diferentes tipos de situações potencialmente causadoras de estresse e observou que alguns bezerros não aumentam a frequência de vocalização independentemente do tipo de situação, sugerindo grande variação no comportamento de vocalização entre os animais. Desta forma, associações entre medidas de comportamento e métodos que detectem sinais fisiológicos de manifestação de estresse como taxa respiratória, concentrações de cortisol e proteínas de fase aguda tem se mostrado úteis (LOMBORG et al. 2008).

Loberg et al. (2008) trabalharam com bezerros leiteiros mantidos junto à uma “vaca adotiva” e desaleitados abruptamente ou em duas etapas (separação do grupo e posterior desaleitamento). Os bezerros desaleitados em duas etapas apresentaram menores níveis de cortisol sanguíneo e, além disso, passaram mais tempo se alimentando, deitados e ruminando. Os autores indicam que essa diferença se deve ao fato de que estes animais tiveram um menor nível de estresse e também gastaram menor tempo andando e vocalizando após a separação.

Yanshev et al. (2008), concluíram que as concentrações de cortisol e glicose sérico não são influenciadas pelo desaleitamento quando o bezerro é separado da mãe imediatamente após o nascimento. Entretanto, os bezerros foram desaleitados aos 90 dias, idade considerada avançada nos sistemas de produção atuais.

Do mesmo modo, em experimento realizado por Hickey, Drenan e Early (2003), foi avaliado o efeito do desmame de bezerros de corte realizado em duas etapas: um grupo foi desmamado abruptamente, enquanto outro grupo foi mantido com uma vaca adotiva no momento do desmame. Neste caso o autor avaliou medidas fisiológicas e não comportamentais. Os resultados obtidos indicaram aumentos nas concentrações de cortisol e noradrenalina, indicando reação direta ao estresse vivido pelo animal no período. A saúde dos animais foi determinada por medidas de proteína da fase aguda como haptoglobina e fibrinogênio. Embora não tenha havido diferenças entre os grupos nas concentrações de haptoglobina, as concentrações de fibrinogênio foram maiores nos animais desmamados de forma abrupta. No entanto, 7 dias após o

desaleitamento estas concentrações voltaram ao nível normal, não tendo grandes efeitos sobre a saúde dos animais.

Lefcourt et al. (1995) observaram que o desmame e separação da mãe provocaram elevações nas concentrações sanguíneas de epinefrina e norepinefrina, mas não afetam as concentrações de cortisol em bezerros Angus x Hereford.

Myong-hoo, et al. (2011), estudou o efeito do desaleitamento de bezerros leiteiros sobre as PAF de fase aguda, cortisol e algumas citocinas e proteínas ligantes de ferro que são considerados potenciais estimulantes de produção das PAF (Tabela 2). Todos os bezerros foram submetidos ao mesmo manejo, desaleitados de forma gradual aos 42 dias de vida, com a redução do leite se iniciando aos 30 dias. As variáveis estudadas mostraram um quadro tipo (típico) de fase aguda de resposta, com aumento nas concentrações séricas de haptoglobina, e amilóide sérica A, no terceiro e quinto dia pós desaleitamento, aumento nas concentrações de cortisol, citocinas como o IFN-gama, TFN-alfa, e redução nas concentrações de lactoferrina.

Tabela 2 - Mudanças na concentração de parâmetros sanguíneos imunofisiológicos e relacionados ao estresse em bezerros após o desaleitamento

Dia	-2	1	3	5
Haptoglobina (µg/ml)	7,33±0,89 ^b	32,27±7,34 ^b	77,76±11,21 ^a	77,38±9,13 ^a
Amilóide A (µg/ml)	20,97±4,07 ^a	29,73±6,40 ^b	49,67±9,99 ^a	47,26±11,45 ^a
Lactoferrina (µg/ml)	315,11±42,28 ^b	216,74±32,48 ^a	201,78±26,28 ^a	191,72±20,63 ^a
Transferrina (µg/ml)	110,83±28,01	108,92±27,43	145,98±39,12	104,13±29,08
IFN-gama(Pg/ml)	13,34±2,75 ^a	6,30±1,41 ^b	5,27±1,1 ^b	7,59±2,53 ^a
TFN-α (pg/ml)	362,28±30,48 ^b	483,44±54,68 ^b	632,78±85,19 ^a	480,77±64,40 ^b
Cortisol (ng/ml)	6,74±0,40 ^b	10,21±1,12 ^b	17,10±4,33 ^a	7,24±1,55 ^b

Adaptado de Myong-hoo et al. (2011)

Com base nos dados revisados, conclui-se que o desaleitamento precoce de bezerros representa um fator causador de estresse e pode provocar mudanças comportamentais, afetar o sistema imunológico e, conseqüentemente, o desempenho destes animais. No entanto, pouco se sabe se o fator causador do estresse seria a transição da dieta líquida para a sólida, ou o consumo inadequado de energia de animais que ainda não estão preparados para tal mudança. Deste modo, o objetivo deste estudo foi de analisar os efeitos de duas técnicas de desaleitamento, abrupto e

gradual sobre o comportamento e metabolismo de bezerros leiteiros, considerando-se seu consumo de concentrado inicial.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais, instalações e manejo alimentar

O experimento foi conduzido no bezerreiro experimental do Departamento de Zootecnia da Esalq-USP, Piracicaba, SP. Foram utilizados 36 bezerros leiteiros, machos e fêmeas, em um delineamento de blocos casualizados com arranjo fatorial 2x2, sendo estudados dois métodos de desaleitamento, abrupto e gradual, e dois níveis de consumo na quinta semana de vida, alto (>350g) e baixo (<350g).

Os animais foram separados da mãe logo após o nascimento e alocados em abrigos individuais, recebendo 2 L de colostro logo após o nascimento, e a cada 12 horas, até o segundo dia de vida. Nos abrigos individuais os animais tiveram livre acesso a água e ao concentrado inicial (Rumina 18P, Guabi Nutrição Animal, Campinas, SP, Brasil) e após o período de colostragem passaram a receber 4L/d de sucedâneo lácteo (Sprayfo Violeta, Sloten do Brasil Ltda., Santos, SP, Brasil), divididos em duas refeições (7 e 17h).

Os tratamentos experimentais foram os dois manejos para o desaleitamento: abrupto e gradual, aplicados aos dois grupos de bezerros de alto e baixo consumo na quinta semana. Dessa forma, todos os animais foram manejados da mesma forma até a quinta semana, quando então foram alocados de acordo com o consumo de concentrado, maior ou menor que 350 g, a um dos tratamentos propostos:

- 1) Desaleitamento abrupto, baixo consumo;
- 2) Desaleitamento abrupto, alto consumo;
- 3) Desaleitamento gradual, baixo consumo;
- 4) Desaleitamento gradual, alto consumo.

Todos os animais foram desaleitados de acordo com idade na oitava semana de vida, sendo que para os desaleitados de forma abrupta os 4L de sucedâneo foram interrompidos de uma vez. O desaleitamento gradual foi realizado diminuindo-se o volume de fornecimento de sucedâneo da seguinte forma:

- Redução de 1L/dia na sexta semana de vida, sendo fornecido 1,5L em cada refeição;

-Redução de mais 1L/dia na sétima semana de vida, sendo fornecido 1L em cada refeição;

-Redução de 1L/dia dois dias antes de completar 8 semanas de vida, sendo fornecido 1L de leite apenas no período de manhã;

-Redução total do leite na oitava semana de vida.

O concentrado inicial peletizado (21,6% de proteína bruta (PB) e 72,9% de nutrientes digestíveis totais (NDT), foi fornecido toda tarde, ad libitum, até que fosse atingido consumo de 2 kg de concentrado. As sobras eram pesadas diariamente para obtenção do consumo diário de concentrado. A partir da oitava semana, quando os animais foram desaleitados, foi fornecido feno de capim coast-cross à vontade, sendo o consumo monitorado.

3.2 Avaliação do desempenho e desenvolvimento corporal

Os animais foram pesados ao nascer e semanalmente até 10 semanas de vida, sempre antes do fornecimento do leite da manhã em balança mecânica (ICS-300, Coimma Ltda., Dracena, SP, Brasil). No dia das pesagens foram também tomadas medidas de altura na cernelha e largura da garupa utilizando-se régua com escala em centímetros e perímetro torácico com fita flexível, também com escala em centímetros.

3.3 Escore Fecal e sanidade.

Foi realizada diariamente avaliação das fezes, de acordo com sua consistência, aspecto e coloração, como proposto por Larson et al (1977). As fezes foram classificadas como: normais (1), aspecto saudável e consistência pastosa (2), consistência líquida (3), quando consistência aquosa, coloração cinza, presença de bolhas, espuma ou grande quantidade de partículas de grão (4), quando consistência aquosa, presença de sangue ou coloração esbranquiçada (5). Além disso, foram anotados todos os eventos relacionados à saúde dos animais, como ocorrência de pneumonia, tristeza parasitária, diarreia, bem como os tratamentos utilizados.

3.4 Análises químico-bromatológicas

Periodicamente foram colhidas amostras do sucedâneo, do concentrado e do feno fornecidos para determinação da composição químico-bromatológica (Tabela 3.1). As amostras foram moídas a 1 mm em moinho do tipo Wiley para determinação de matéria seca (MS) à 105°C, matéria mineral (MM) e extrato etéreo (EE) de acordo com Campos; Nussio; Nussio (2002); proteína bruta (PB) através de

combustão, conforme método de Dumas, utilizando-se o analisador de nitrogênio LECO, modelo FP - 528 (LECO Corporation, St. Joseph, MI, EUA); fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) e lignina pelo método descrito por Van Soest; Robertson; Lewis (1991); nitrogênio insolúvel em FDN (NFDN); nitrogênio insolúvel em FDA (N-FDA) pelo método descrito por Goering; Van Soest (1970). Os valores de nutrientes digestíveis totais (NDT) foram calculados de acordo com as equações propostas por Weiss (1993) e os teores de carboidratos não-fibrosos (CNF) foram estimados através da equação (1):

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

Onde,

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

Tabela 3 - Composição químico-bromatológica do sucedâneo lácteo, concentrado inicial e feno

	Alimentos		
	Sucedâneo ¹	Concentrado ²	Feno
Matéria Seca, %	97,4	89,2	92,2
Matéria Mineral, % MS	8,2	8,2	5,2
Proteína Bruta, % MS	20,2	21,6	6,8
Extrato Etéreo, % MS	15,6	3,4	1,6
FDN, % MS	0,5	28	77,6
FDA, % MS	0	10,2	41,26
N-FDN, % N total	-	16,3	51,2
N-FDA, % N total	-	5,0	25,8
Lignina, % MS	-	2,5	5,9
Carboidratos não fibrosos, % MS	55,5	38,9	8,8
Nutrientes digestíveis totais (NDT)	104,82	72,9	52,3

(1) Sprayfo Violeta, Sloten do Brasil Ltda., Santos, SP, Brasil (12,5% de sólidos); (2) Rumina 18P, Guabi Nutrição Animal, Campinas, SP, Brasil.

3.5 Colheita de sangue

A partir da segunda semana de vida foram colhidas amostras de sangue semanalmente através de punção jugular, utilizando-se tubos vacuolizados contendo fluoreto de sódio como anti-glicolítico e EDTA de potássio como anticoagulante (VACUETTE, do Brasil, Campinas, SP, Brasil). As colheitas de sangue foram realizadas sempre duas horas após o aleitamento da manhã e as amostras foram colocadas em recipiente com gelo até o seu processamento. As amostras foram centrifugadas a 4000 x g, durante 25 minutos, a temperatura de 7 °C e o plasma armazenado em tubetes plásticos e mantido em freezer para posterior determinação de glicose, proteínas totais e β -hidroxibutirato (BHBA).

Também nos dias -14, -7, 0, 1, 2, 3, 4, e 7, relativos ao desaleitamento, foram colhidas amostras de sangue, sempre meia hora após o fornecimento de leite da manhã, para determinação das concentrações de cortisol, glicoproteínas solúveis em ácido (GSA), glicose e β -hidroxibutirato. As amostras foram colhidas através de punção da jugular, utilizando-se tubos providos de vácuo contendo fluoreto de sódio como antiglicolítico e EDTA de potássio como anticoagulante, sendo o material colhido colocado em recipiente com gelo imediatamente. As amostras foram centrifugadas a 4000 x g, durante 25 minutos, a temperatura de 7 °C, para obtenção do plasma, o qual foi armazenado em tubetes plásticos para posteriores análises.

3.6 Análises comportamentais

Observações de comportamento foram realizadas iniciando-se às 5h e terminando às 20h nos dias -14, -7, -2, 0, +2 e +7 relativos ao desaleitamento. Os animais foram observados a cada 5 minutos, quanto a posição em que se encontravam, (em pé ou deitado); posição da cabeça (baixa ou alta); realização de alimentação (concentrado, feno ou leite) e consumo de água. Foi observado também o número de vocalizações realizadas por cada animal.

Uma vez observado em uma determinada atividade ou posição, foi considerado um valor de 5 min. para o tempo gasto nesta atividade, obtendo-se no final o tempo total gasto em cada uma das atividades observadas no período de 15 horas.

Também nos dias em que foram realizadas as avaliações de comportamento, foram tomadas medidas de temperatura retal e frequência respiratória 3 vezes ao dia, às 6h, 12h e 18h.

3.7 Metodologia analítica

3.7.1 Determinação de glicose plasmática

Para a determinação das concentrações de glicose utilizou-se o kit enzimático GLICOSE HK LIQUIFORM – Ref.: 85 (LABTEST Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, MG, Brasil) por espectrofotometria de ponto final, utilizando-se o filtro de absorvância de 505 nm em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA –200 (CELM, Barueri, SP, Brasil). Uma alíquota de 4 µL do plasma foi pipetada em cubetas de reação, acrescida de 400 µL de reagente, fornecido pelo kit. Após período de incubação de 10 minutos, foi realizada a leitura da absorvância para obtenção dos valores de glicose em mg/dL. Para calibração do equipamento, a solução padrão fornecida pelo kit enzimático, com concentração de 100 mg/dL de glicose, foi analisada a cada rodada.

3.7.2 Determinação de proteínas totais no plasma

As concentrações de proteínas totais foram determinadas utilizando-se o kit enzimático PROTEÍNAS TOTAIS – Ref.: 99-250 (LABTEST Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, MG, Brasil) por espectrofotometria de ponto final, utilizando-se filtro de absorvância de 540 nm em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA-200 (CELM, Barueri, SP, Brasil). O método utiliza 400 µL de reagente de biureto pipetado em 8 µL de amostra ou solução padrão (4g/dL), incubados a 37°C por 10 minutos. Após o período de incubação, as reações das amostras com o reagente formaram um composto de cor púrpura, cuja absorvância foi proporcional à concentração de proteínas da amostra.

3.7.3 Determinação de β-hidroxibutirato plasmático

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

leituras inicial e final resulta na obtenção dos resultados de acordo com os valores observados para o padrão.

3.7.4 Determinação de cortisol plasmático

A determinação da concentração de cortisol foi realizada através de kit comercial (Assay Designs, EUA). O kit comercial se baseia em um imunoensaio competitivo para a determinação quantitativa de cortisol em fluidos biológicos. O kit utiliza um anticorpo monoclonal de Cortisol para se ligar, de forma competitiva, ao cortisol em uma amostra ou uma molécula de fosfatase alcalina que tem cortisol covalentemente ligado a ele. Após incubação simultânea à temperatura ambiente, o excesso de reagentes é lavado e um substrato é adicionado. Depois de um tempo curto de incubação, a reação enzimática é interrompida e a cor amarela gerada é lida por um leitor de microplacas a 405 nm.

3.7.5 Determinação de Proteínas solúveis em ácido

A quantificação da concentração de proteínas solúveis em ácido (PSA) foi realizada em duas etapas utilizando-se os métodos propostos por Nakajima; Kodair; Ichioka (1982) e Bradford (1976). Uma alíquota da amostra de plasma foi submetida a extração das proteínas solúveis em ácido através de sua incubação e centrifugação com ácido perclórico 0,6M. Após a extração a amostra foi incubada a 60°C com ácido bichinonico e sulfato de cobre, assim como o padrão para construção de curva, e então foi realizada a leitura em em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA-200 (CELM, Barueri, SP, Brasil).utilizando-se o filtro de 578nm.

3.8 Análise Estatística

O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados com um arranjo fatorial 2x2, sendo os animais blocados de acordo com o peso ao nascer e depois distribuídos nos tratamentos de acordo com seu consumo de concentrado na quinta semana de vida. Os dados de consumo de alimento, peso vivo, ganho de peso, comportamento e parâmetros sanguíneos foram analisados como medidas repetidas no tempo através do PROC MIXED do pacote SAS (1991), conforme o modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + i + C_j + DC_{ij} + B_k + w_{ijk} + S_l + SD_{il} + SC_{jl} + SDC_{ijl} + E_{ijkl}$$

onde,

$$Y_{ijkl} = \text{variável resposta}$$

μ = media geral

D_i = efeito do método de desaleitamento

C_j = efeito do nível de consumo de concentrado (alto ou baixo)

DC_{ij} = efeito da interação método de desaleitamento e nível de consumo

B_k = efeito do bloco

w_{ijk} = resíduo

S_l = efeito da semana de vida

SD_{il} = efeito da interação semana de vida e método de desaleitamento

SC_{jl} = efeito da interação semana de vida e nível de consumo de concentrado

SDC_{ijl} = efeito da interação semana de vida, método de desaleitamento e nível de consumo de concentrado

E_{ijkl} = resíduo

A estrutura de correlação utilizada foi aquela de melhor ajuste. As médias foram comparadas pelo teste dos quadrados mínimos (LSMEANS), com nível de significância de 5%.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Consumo

Não houve interação entre os dois fatores estudados (método de desaleitamento e nível de consumo de concentrado), sendo apresentados os resultados dos efeitos dos fatores de maneira isolada. O consumo de concentrado não diferiu ($P < 0,05$) entre os métodos de desaleitamento abrupto ou gradual (Tabela 4). Houve efeito significativo apenas para o nível de consumo na quinta semana de vida e para idade do animal ($P < 0,001$), conforme esperado (Tabela 5).

Tabela 4 - Médias do consumo de concentrado por bezerros desaleitados de forma abrupta ou gradual

	Desaleitamento		EPM*	P<**		
	Abrupto	Gradual		T	I	TxI
Consumo de concentrado, g/d						
Média do Período	951,7	1009,5	51,2	0,4296	<0,001	0,4438
Ao desaleitamento	928,8	1092,3	66,7	0,4296	-	-
Na semana 10	1788,4	1839,6	67,0	0,4296	-	-
Feno, g/semana						
Média pós desaleitamento	278,7	382,0	54,2	0,186	0,001	0,4526
Consumo Energia Total (Mcal/d)						
Média do período	3,959	3,734	0,111	0,1582	<0,0001	<0,0001

*EPM = erro padrão da média; **T = efeito do tratamento; I = efeito da idade dos animais; T x I = efeito da interação tratamento e idade dos animais

Nota: Sinal convencional utilizado: - Não se aplica dado numérico.

Tabela 5 - Médias do consumo de concentrado inicial por bezerros apresentando baixo e alto consumo de concentrado na quinta semana de vida

	Consumo		EPM*	P<**		
	Baixo	Alto		T	I	TxI
Consumo de concentrado, g/d						
Média do Período	691,56	1269,73	51,31	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Ao desaleitamento	615,44	1405,72	66,73	<0,0001	-	-
Na semana 10	1648,33	1979,76	66,73	<0,0001	-	-
Feno, g/semana						
Média pós desaleitamento	268,61	392,15	54,0	0,1113	0,0012	0,3066
Consumo Energia Total (Mcal/d)						
Média do período	3,209	4,484	0,111	<0,0001	<0,0001	<0,0001

*EPM = erro padrão da média; **T = efeito do tratamento; I = efeito da idade dos animais; T x I = efeito da interação tratamento e idade dos animais. Nota: Sinal convencional utilizado: - Não se aplica dado numérico.

Estes resultados sugerem que o método de desaleitamento gradual não estimulou o consumo de concentrado de forma satisfatória em bezerros que já apresentavam baixo consumo no início do processo de desaleitamento. De acordo com Quigley (1996) animais de raça grande, devem ser desaleitados com consumo de concentrado ao redor de 700-800 g/dia. Desta forma, os animais de baixo consumo não atingiram um valor satisfatório para o desaleitamento e, portanto, não estavam preparados para a transição da dieta líquida para sólida.

Quigley (1996) observou que animais desaleitados de forma abrupta ou gradual tiveram aumento considerável no consumo de concentrado na semana seguinte ao desaleitamento (567 e 454 g/dia, respectivamente). Porém, na segunda e terceira semana pós desaleitamento, estes animais tiveram aumentos menores no consumo de concentrado, sugerindo dificuldade de adaptação a nova forma da dieta.

Sweeney et al. (2010), avaliando o desaleitamento abrupto ou gradual (iniciando em três idades diferentes), observaram que o método de desaleitamento gradual estimulou o consumo de concentrado dos bezerros. No entanto, este aumento de consumo não foi suficiente para suprir a energia perdida devido à redução do leite, prejudicando desta forma o desempenho dos animais.

De acordo com Nielsen, Jensen e Lidforbs (2008), o desaleitamento gradual aumenta o consumo de concentrado pelos animais, facilitando a transição da dieta líquida para a sólida. Ao contrário dos resultados obtidos por Sweeney et al. (2010), estes autores não observaram diferenças significativas no consumo total de energia dos animais desaleitados de forma gradual ou abrupta. No entanto, nos sete dias seguintes ao desaleitamento, os animais alimentados de acordo com um sistema de aleitamento intensivo, os quais foram desaleitados de forma abrupta, tiveram menor consumo de energia quando comparados com animais em aleitamento intensivo com desaleitamento gradual, aleitamento convencional com desaleitamento abrupto ou convencional com desaleitamento gradual.

Neste experimento, os animais apresentando baixo consumo de concentrado na quinta semana de vida tiveram aumentos significativos no consumo, após a interrupção da dieta líquida, porém, a média de consumo de concentrado se manteve inferior aos animais de alto consumo de concentrado (Figura 2). Não houve influência do método de desaleitamento sobre o consumo de concentrado, sugerindo que existem ainda outros fatores limitando o consumo destes animais.

De maneira semelhante ao observado por Sweeney et al. (2010), neste experimento o desaleitamento gradual não proporcionou aumento de consumo de energia (Mcal/dia) satisfatório de forma a suprir a energia que deixou de ser fornecida com a redução do sucedâneo, nas duas semanas que antecederam o desaleitamento (Figura 3). A principal fonte de energia dos animais neste período foi proveniente da dieta líquida, sendo que quando o volume da dieta líquida começou a ser reduzido no tratamento gradual (semana 6), não houve aumento no consumo de concentrado de forma a compensar a redução da energia proveniente do sucedâneo lácteo. Os animais que passaram pelo desaleitamento gradual, tiveram menor ingestão de energia total, da sexta até a oitava semana, sendo que somente na semana 9 e 10 quando a dieta líquida foi totalmente interrompida, estes animais aumentaram o consumo de concentrado de forma a consumir a mesma quantidade de energia total que os animais desaleitados de forma abrupta. Deste modo, o método de desaleitamento gradual não preparou os animais para o desaleitamento através do estímulo do consumo de concentrado conforme esperado.

Figura 2. Consumo de concentrado de bezerros desaleitados de forma abrupta ou gradual (A) e de baixo ou alto consumo de concentrado na quinta semana de vida (B)

Figura 3. Consumo total de energia (Mcal/d) de bezerros desaleitados de forma abrupta ou gradual

Houve diferença significativa ($P < 0,05$) para o consumo de feno na nona semana entre os animais de baixo e alto consumo (Tabela 6). Os animais de baixo consumo tiveram consumo de feno inferior na nona semana de vida, porém, na semana seguinte igualaram seu consumo aos animais de alto consumo de concentrado.

As médias de consumo de feno para os dois fatores estudados pós desaleitamento (Tabelas 4 e 5) foram superiores aos valores encontrados por Bernardes et al. (2007), que observou 109 e 159 g de consumo de feno de coast cross para bezerros na nona e décima semana de vida, respectivamente. No entanto, estes resultados são inferiores aos obtidos por Paula (2012) que observou consumo de 461 g de feno pós desaleitamento, para bezerros que haviam passado por um sistema de aleitamento convencional, até a oitava semana de vida, semelhante ao utilizado neste experimento.

Houve diferença significativa ($P < 0,005$) entre os tratamentos Gradual-Alto e Abrupto-Baixo, para o consumo de feno pós desaleitamento (Figura 4). Esta diferença pode ter ocorrido devido ao fato de os animais de baixo consumo de concentrado, desaleitados de forma abrupta, ainda não estar preparados do ponto de vista fisiológico para a mudança de dieta, tendo o rúmen não adaptado para o consumo de forragem.

Tabela 6 - Consumo de feno por bezerros apresentando alto e baixo consumo de concentrado na quinta semana de vida

Semana	Alto	Baixo	EPM	P<
9	349,8	189,5	40,61	0,008
10	434,5	347,6	73,80	0,410

*Médias seguidas de letras diferentes na linha, diferem entre si a $P < 0,05$.

Figura 4 - Consumo de feno (g/semana) por bezerros desaleitados de forma abrupta ou gradual e de baixo ou alto consumo de concentrado

*AA = abrupto alto consumo, AB= abrupto baixo consumo, GA= gradual alto consumo, GB=gradual baixo consumo

Um dos fatores que estimula o desenvolvimento ruminal e, portanto, prepara o animal para transição da dieta líquida para sólida é o consumo de concentrado (QUIGLEY, 1991). Desta forma, os animais de baixo consumo de concentrado no presente experimento, estavam menos preparados a transição, o que foi confirmado com o baixo consumo de feno na semana subsequente ao desaleitamento. O fato de não estar preparado à mudança, além de reduzir o desempenho, pode colocar o animal em situação de estresse, comprometendo o seu bem estar. No entanto, apesar de menos preparados, estes animais de baixo consumo de concentrado, rapidamente se adaptaram a nova situação, aumentando o consumo de concentrado e feno.

Esperava-se que o tratamento gradual estimulasse o consumo de concentrado dos animais, de forma a reduzir o estresse vivido no momento do desaleitamento, o que não foi observado neste experimento. Os animais de baixo consumo de concentrado mantiveram médias mais baixas de consumo, independente do método de desaleitamento; desta forma, não é possível relacionar o baixo consumo desses animais a dieta líquida. O baixo consumo deve ser em decorrência a características do próprio animal. Da mesma forma como os animais reagem de maneiras diferentes a um mesmo estímulo externo, manifestando-se ou não a uma determinada situação (Weary, 2001), deve haver fatores próprios de cada animal, que determinam o nível de consumo de concentrado.

4.2 Desempenho

Os dois fatores estudados (método de desaleitamento e nível de consumo) não tiveram interação para ganho de peso ou peso vivo. Embora o método de desaleitamento não tenha afetado as variáveis ganho de peso ou peso vivo ($P < 0,05$) (Tabela 8), houve diferença significativa para as variáveis em função dos níveis de consumo ($P < 0,05$) (Tabela 7).

Tabela 7 - Desempenho de bezerros apresentando baixo ou alto consumo de concentrado na 5ª semana de vida

	Consumo		EPM*	P<**		
	Baixo	Alto		T	I	TxI
Peso vivo, kg						
Média do período	43,46	55,09	1,14	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Semana 5	36,57	43,07	1,02	<0,0001	-	-
Ao desaleitamento	43,61	56,76	1,23	<0,0001	-	-
Na semana 10	53,23	68,58	1,52	<0,0001	-	-
Ganho de peso, g/d						
Média do período	417,9	674,6	29,7	<0,0001	<0,0001	0,4331
Ao desaleitamento	374,3	664,9	60,42	<0,0001	-	-

* EPM = erro padrão da média; T = efeito do tratamento; I = efeito da idade dos animais; T x I = efeito da interação tratamento e idade dos animais

Nota: Sinal convencional utilizado: - Não se aplica dado numérico.

Tabela 8 - Desempenho de bezerros desaleitados de maneira abrupta ou gradual

	Desaleitamento		EPM*	P<**		
	Gradual	Abrupto		T	I	TxI
Peso Vivo						
Média do período	50,69	47,87	1,15	0,0936	<0,0001	0,4596
Semana 5	41,46	38,19	1,03	0,0936	-	-
Ao desaleitamento	51,36	49,02	1,24	0,0936	-	-
Na semana 10	62,44	59,38	1,52	0,0936	-	-
Ganho de peso, g/d						
Média do período	549,4	543,10	29,65	<0,8820	<0,0001	0,3949
Ao desaleitamento	530,4	508,9	60,54	-	-	-

* EPM = erro padrão da média; ** T = efeito do tratamento; I = efeito da idade dos animais; T x I = efeito da interação tratamento e idade dos animais

Nota: Sinal convencional utilizado: - Não se aplica dado numérico.

No presente experimento, bezerros que apresentavam consumo voluntário superior na quinta semana tiveram maiores médias de peso vivo e ganho de peso durante todo o período estudado. Já os bezerros de baixo consumo de concentrado tiveram desempenhos inferiores durante todo o período, independente do método de desaleitamento, evidenciando que o desaleitamento gradual não foi capaz de aumentar o consumo de forma a compensar a redução da ingestão de energia via sucedâneo. De maneira semelhante, Quigley (1996) observou que bezerros desaleitados de forma gradual tiveram menores ganhos de peso durante a quinta semana, quando houve redução do leite, mesmo tendo aumentado seu consumo de concentrado, sugerindo que este aumento não tenha sido suficiente para suprir a redução da dieta líquida. No entanto, ao contrário do que foi observado neste experimento, os animais do tratamento gradual, tiveram ganhos de peso superiores na sexta semana, não havendo diferença no peso final aos 56 dias.

Budzynska e Weary (2008) trabalharam com bezerros que recebiam 9L/dia de dieta líquida e consumiam em média 150 g/dia de concentrado. Estes animais que vinham ganhando 800g/dia antes do desaleitamento perderam 800g/dia nos três dias subsequentes, mesmo tendo aumentado seu consumo de concentrado, não estando,

portanto, preparados para suprir toda a energia que recebiam através do leite, com consumo de concentrado. Da mesma forma, De Passil Sweeney e Rushen (2010) observaram que o aumento no consumo de concentrado no foi suficiente para compensar a reduo da ingesto de energia aps a diminuio do fornecimento de sucedneo.

Segundo Sweeney et al. (2010), o consumo de energia no momento do desaleitamento o fator determinante do desempenho animal no perodo subsequente e a reduo gradual do fornecimento da dieta lquida no estimula o consumo de concentrado a contento em animais que apresentam baixo consumo. No presente trabalho, animais que apresentavam baixo consumo na quinta semana de vida no foram beneficiados pelo desaleitamento gradual, apresentando menor desempenho no perodo subsequente, independentemente do mtodo de desaleitamento (Tabela 9).

A reduo do ganho de peso, alm de reforar o fato de que estes animais ainda no estavam preparados do ponto de vista fisiolgico para serem desaleitados, pode ser relacionado tambm ao comprometimento do bem estar destes animais. Os animais passaram por uma transio de dieta lquida para slida, mas ainda no estavam totalmente preparados para obter toda energia necessria ao seu crescimento e desenvolvimento corporal atravs do consumo de alimentos slidos, passando, desta forma, por um momento de reduo na taxa de ganho. No entanto, se houve uma situao de estresse, este no foi to severo, j que no houve perda de peso e rapidamente, em decorrncia do aumento no consumo de concentrado, estes animais retomaram valores de ganho de peso dentro do esperado.

Tabela 9 - Ganho de peso (Kg/d) de bezerros apresentando alto ou baixo consumo de concentrado na 5 semana de vida

Semana	Baixo	Alto	EPM	P<
5	0,132	0,388	0,0604	0,0033
6	0,208	0,583	0,0604	0,0001
7	0,422	0,719	0,0604	0,0007
8	0,374	0,665	0,0604	0,0009
9	0,675	0,876	0,0604	0,0204
10	0,697	0,817	0,0604	0,1636

Hoffman (1997) sugere que bezerros de um e dois meses de vida, devem apresentar ganhos médios de 690 g/dia. Estes ganhos só foram observados neste experimento para os bezerros de alto consumo de concentrado, a partir da sétima semana da vida. Bezerros de baixo consumo só atingiram esta taxa de ganho em sua décima semana de vida.

O peso vivo ao final do período experimental foi inferior para os animais de baixo consumo de concentrado, não sofrendo influência do método de desaleitamento utilizado (Figura 5). Conforme o esperado em todos os casos, o peso aumentou conforme a idade do animal.

Figura 5 - Peso vivo de bezerros apresentando alto ou baixo consumo de concentrado inicial na 5ª semana de vida (A) e de bezerros desaleitados de forma abrupta ou gradual (B)

Os dois fatores estudados (método de desaleitamento e nível de consumo) não tiveram interação para nenhuma das variáveis do desenvolvimento corporal. O método de desaleitamento não afetou as variáveis perímetro torácico, altura da cernelha ou largura da garupa ($P < 0,05$) (Tabela 11). Entretanto, houve diferença significativa para as variáveis de acordo com o nível de consumo ($P < 0,05$) (Tabela 10).

Tabela 10 - Medidas corporais de bezerros apresentando baixo ou alto consumo de concentrado inicial na quinta semana de vida

	Consumo		EPM*	P<**		
	Baixo	Alto		T	I	TxI
Perímetro torácico, cm						
Média do período	80,36	86,18	0,5819	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Semana 5	76,52	79,88	0,5881	<0,0001	-	-
Semana 10	85,62	93,11	0,7720	<0,0001	-	-
Ganho semanal	1,61	2,48	0,1145	<0,0001	<0,0001	0,3205
Altura da cernelha, cm						
Média do período	78,20	80,68	0,4568	0,0007	<0,0001	0,0228
Semana 5	76,26	77,71	0,4428	0,0007	-	-
Semana 10	80,71	83,81	1,1691	0,0007	-	-
Ganho semanal	0,84	1,21	0,0634	0,0003	0,1886	0,5835
Largura da garupa, cm						
Média do período	21,63	22,65	0,1730	0,0003	<0,0001	0,0007
Semana 5	20,84	21,53	0,1912	0,0003	-	-
Semana 10	22,49	24,15	0,1912	0,0003	-	-
Ganho semanal	0,25	0,42	0,0782	0,0046	<0,0001	0,0774

*EPM= Erro padrão da média; T = efeito do tratamento; I = efeito da idade dos animais; T x I = efeito da interação tratamento e idade dos animais. Nota: Sinal convencional utilizado: - Não se aplica dado numérico.

Tabela 11- Medidas corporais de bezerros desaleitados de forma abrupta ou gradual

	Desaleitamento		EPM*		P<**	
	Abrupto	Gradual		T	I	TxI
Perímetro torácico, cm						
Média do período	82,54	84,01	0,5811	0,0848	<0,0001	0,4348
Semana 5	77,25	79,17	0,5873	0,0848	-	-
Semana 10	88,54	90,20	0,7725	0,0848	-	-
Ganho semanal	2,05	2,05	0,1144	0,9851	<0,0001	0,3570
Altura da cernelha, cm						
Média do período	78,74	80,15	0,4559	0,0373	<0,0001	0,1557
Semana 5	76,31	77,67	0,4417	0,0373	-	-
Semana 10	81,49	83,04	0,5846	0,0373	-	-
Ganho semanal	1,02	1,04	0,0632	0,8518	0,1886	0,1833
Largura da garupa, cm						
Média do período	21,92	22,37	0,1725	0,0723	<0,0001	0,1892
Semana 5	20,92	21,45	0,1909	0,0723	-	-
Semana 10	23,16	23,50	0,1909	0,0723	-	-
Ganho semanal	0,35	0,34	0,0390	0,8447	<0,0001	0,1430

*EPM= Erro padrão da média; T = efeito do tratamento; I = efeito da idade dos animais; T x I = efeito da interação tratamento e idade dos animais. Nota: Sinal convencional utilizado: - Não se aplica dado numérico.

Segundo Heinrichs e Hargrove (1987), é possível correlacionar as medidas corporais dos animais ao desempenho. Desta forma, como os animais com níveis de consumo altos tiveram melhor desempenho, suas medidas corporais avaliadas também apresentaram maiores valores (Tabela 10). Conforme esperado, houve efeito ($P<0,05$) da idade sobre as variáveis, com as medidas corporais aumentando conforme o tempo (Figura 6, 7 e 8).

Hoffman (1997) estabeleceu valores ideais de medidas corporais para bezerras, novilhas e vacas. Bezerras de dois meses devem ter altura na cernelha de

86 cm e ganhos de altura de 1,3 a 1,4 cm/semana. Neste experimento, independente do nível de consumo, os valores foram inferiores aos sugeridos na literatura na oitava semana de vida. Estas variações podem ser devido aos animais utilizados neste experimento não possuírem um padrão de raça homogêneo.

No entanto, os valores encontrados para bezerros de alto consumo de concentrado corroboram com os dados de Paula (2012), que assim como neste experimento trabalhou com bezerros aleitados de forma convencional (4L/dia), desaleitados na oitava semana de vida e obteve médias de 83,32, 84,32 e 23,08 cm para altura da cernelha, média do perímetro torácico e média de largura da garupa, respectivamente. Já os bezerros de baixo consumo, tiveram médias de desenvolvimento corporal bastante inferior a estes, evidenciando a importância do consumo de concentrado no desenvolvimento pré e pós desaleitamento.

Figura 6- Perímetro torácico de bezerros desaleitados de forma abrupta ou gradual e de alto ou baixo consumo de concentrado

Figura 7- Altura da cernelha de bezeros desaleitados de forma abrupta ou gradual (A) e de baixo ou alto consumo de concentrado (B)

As variáveis de desenvolvimento corporal aumentaram conforme a idade do animal (Figura 6, 7 e 8), seguindo o mesmo padrão de comportamento do peso vivo. O desenvolvimento músculo-esquelético é importante já que, altos ganhos de peso, sem crescimento esquelético podem prejudicar o desenvolvimento da glândula mamária e afetar as produções de leite futuras (HEINRICHS ; HARGROVE, 1987). O desenvolvimento corporal prejudicado, pode ser um indicativo de que o animal não se encontra em bem-estar (BROOM, 1991), no presente experimento os animais aumentaram as medidas corporais ao longo do tempo independente do método de desaleitamento. Desta forma, o desaleitamento abrupto não prejudicou a situação de bem estar dos animais e seu desenvolvimento, sendo o consumo de concentrado o principal fator influenciando o desenvolvimento corporal.

Figura 8- Largura da garupa de bezerros desaleitados de forma abrupta ou gradual (A) e de baixo ou alto consumo de concentrado (B)

4.3 Parâmetros sanguíneos

Os dados referentes aos parâmetros sanguíneos analisados estão apresentados nas Tabelas 12 e 13. Não houve interação significativa ($P < 0,05$) entre os dois fatores estudados para nenhum dos parâmetros. No entanto, tanto o nível de consumo quanto o método de aleitamento afetaram de forma significativa as concentrações plasmáticas de glicose e BHBA na semana de desaleitamento ou até mesmo no período total.

Tabela 12 - Parâmetros sanguíneos de bezerros de alto e baixo consumo de concentrado

	Consumo		EPM*	P < **		
	Alto	Baixo		T	I	TxI
Glicose, mg/dL						
Média do período	93,38	91,13	1,961	0,424	0,0003	0,043
Ao desaleitamento	91,69	75,17	3,332	0,0015	-	-
βHBA, mmol/L						
Média do período	0,25	0,16	0,011	<0,0001	<0,0001	0,010
Ao desaleitamento	0,30	0,18	0,021	0,0003	-	-
Proteína total, g/dL						
Média do período	9,65	9,94	0,658	0,754	0,205	0,674
Ao desaleitamento	8,5	9,18	0,835	0,566	-	-
Cortisol, ng/dL						
Média do período	3,44	3,01	0,290	0,301	<0,0001	0,754
Ao desaleitamento	4,15	3,42	0,472	0,281	-	-
GSA (µg/ml)						
Média do período	37,75	64,83	11,208	0,102	0,427	0,736
Ao desaleitamento	44,49	61,07	25,730	0,641	-	-

* EPM = erro padrão da média; ** T = efeito do tratamento; I = efeito da idade dos animais; T x I = efeito da interação tratamento e idade dos animais. Nota: Sinal convencional utilizado: - Não se aplica dado numérico.

*** βHBA= β-Hidroxibutirato, GSA= glicoproteínas solúveis em ácido.

Tabela 13 - Parâmetros sanguíneos de bezerros desaleitados de forma abrupta ou gradual

	Tratamento		EPM*	P < **		
	Abrupto	Gradual		T	I	TxI
Glicose, mg/dL						
Média do período	90,06	94,44	1,955	0,188	0,0003	0,481
Ao desaleitamento	82,12	84,75	3,336	0,580	-	-
βHBA***, mmol/L						
Média do período	0,19	0,21	0,011	0,312	<0,0001	0,176
Ao desaleitamento	0,21	0,27	0,021	0,037	-	-
Proteína total, g/dL						
Média do período	9,87	9,71	0,658	0,870	0,205	0,423
Ao desaleitamento	9,39	8,28	0,836	0,354	-	-
Cortisol ng/dL						
Média do período	2,99	3,46	0,291	0,249	<0,0001	0,839
Ao desaleitamento	3,66	3,92	0,474	0,689	-	-
GSA*** (µg/ml)						
Média do período	55,90	46,68	11,203	0,565	0,428	0,157
Ao desaleitamento	68,76	38,82	24,788	0,370	-	-

*EPM = erro padrão da média; **T = efeito do tratamento; I = efeito da idade dos animais; T x I = efeito da interação tratamento e idade dos animais. Nota: Sinal convencional utilizado: - Não se aplica dado numérico. *Valores seguidos por letras diferentes, diferem entre si na mesma linha.

*** βHBA= β-Hidroxibutirato, GSA= glicoproteínas solúveis em ácido.

Os valores médios de glicose no período não diferiram tanto para os métodos de desaleitamento gradual ou abrupto quanto para o consumo de concentrado. Houve diferença significativa ($P > 0,05$) para os animais de alto e baixo consumo, apenas no dia do desaleitamento (Figura 9).

Os valores esperados para bezerros no início da vida, são valores típicos de animais não ruminantes, por volta de 144 mg/dL (QUIGLEY ; CALDWEL; SINKS, 1991). No entanto, os valores observados nas primeiras semanas de vida dos animais foram um pouco inferiores, variando de a 86-90 mg/dl. A média observada no período encontra-se semelhante a apresentada por Quigley, Caldwell e Sinks (1991), que obteve valores de 85 e 90,3 mg/dL.

Os valores de glicose são semelhantes aos apresentados por Nussio e Rodrigues (2003), no início do período e assim como o observado por estes autores, reduziram conforme aumenta a idade do animal. De acordo com Nussio e Rodrigues (2003), esta redução é consequência do desenvolvimento ruminal dos animais, que passam de uma fase em que a absorção de glicose intestinal é semelhante aos animais monogástricos para aquela em que se tornam ruminantes funcionais.

Os animais de baixo consumo apresentaram menores valores de glicose no dia do desaleitamento, provavelmente devido à interrupção de fornecimento do sucedâneo, e ao fato de estarem consumindo menos ração. Os animais desaleitados com menor consumo de concentrado tem menor capacidade fermentativa o que reduz a disponibilidade de precursores para a gliconeogênese. Assim, a interrupção do fornecimento de sucedâneo e o baixo consumo de concentrado reduzem a glicose circulante.

Figura 9 - Concentrações plasmáticas de glicose da segunda a nona semana de vida de bezerros apresentando alto (A) ou baixo(B) consumo de concentrado na 5ª semana de vida

Não houve interação entre os dois fatores estudados para as concentrações β -Hidroxibutirato (BHBA) ao longo do período. Os valores de BHBA para os animais de alto consumo de concentrado foram significativamente maiores que os de baixo consumo durante praticamente todo período analisado (Figura 10). Os valores de BHBA apresentaram-se mais altos no tratamento gradual apenas no dia do desaleitamento.

Os valores médios de BHBA são semelhantes aos valores observados na literatura por Lemeister e Heinrichs (2004). Conforme esperado, estes valores aumentaram de acordo com a idade do animal, independente do tratamento. De acordo com Quigley (1991 e 1992), as concentrações de BHBA aumentam conforme aumenta o consumo de concentrado pelos animais. Haga et al. (2008) também observaram concentrações crescentes de BHBA para bezerros holandeses desaleitados na sexta semana de vida. Embora estas concentrações tenham sido inferiores as observadas neste experimento, estes autores indicam que o aumento nas concentrações de BHBA conforme o avanço da idade se deve ao fato dos animais começarem a absorver quantidades consideráveis de ácidos graxos voláteis e utiliza-los como principal fonte de energia. Dentre os ácidos graxos de cadeia curta, 85 a 90 % do butirato é convertido pela parede ruminal em β -hidroxibutirato, sendo este captado na circulação sanguínea (Beck et al. 1985, apud Baldwin, 2004). Desta forma, medidas de BHBA são um bom indicador de desenvolvimento e funcionalidade ruminal nos animais.

Assim como observado por Quigley (1992), os dados do presente experimento indicam que os bezerros de alto consumo estavam mais preparados do ponto de vista fisiológico para serem desaleitados. Associado as médias de consumo de concentrado, os valores de BHBA observados no tratamento gradual indicam que este tratamento não foi eficiente em estimular o consumo de modo a tornar o rúmen dos animais mais desenvolvido e prepará-los para esse período de transição de dieta.

Figura 10 - Concentrações plasmáticas de beta-hidroxibutirato da quinta a nona semana de vida de bezerros apresentando alto (A) ou baixo(B) consumo de concentrado na 5ª semana de vida

Os valores de proteína total sérica não diferiram entre os tratamentos e de acordo com a idade dos animais na maior parte do período, ficando na faixa de 8 a 11 g/dL (Figura 11). De acordo com Luca e Reis (2001) os valores de referência para bovinos situam-se entre 6 e 8,5 g/dL, sendo valores abaixo destes encontrados em casos de deficiência de proteína na dieta, baixo aproveitamento da proteína ingerida ou insuficiência hepática; valores acima seriam encontrados em casos de desidratação severa ou doenças crônicas. Apesar dos valores encontrados neste experimento estarem um pouco acima destes valores de referência, os animais não estavam em situação de desidratação ou com algum tipo de patologia crônica. Baracat et al. (1995) obteve valores variando de $5,95 \pm 0,80$ a $7,53 \pm 0,59$, um pouco inferiores aos observados neste experimento. No entanto, valores observados no presente experimento são próximos aos valores obtidos por Machado Neto et al. (1986), que obtiveram valores de proteína total sérica variando de 6 a 8 g/dl.

Os principais constituintes da proteína total sérica são: fibrinogênio, albumina, α , β e γ globulinas (ALTTMAN; DITTIMER, (1961) apud MACHADO NETO et al., 1986). Nos primeiros trinta dias de vida dos animais as proteínas totais sofrem grande influência das proteínas contidas no colostro que foi fornecido aos animais. A partir dos 30 dias, os valores de proteína estão mais sujeitos a influência endógena na produção da proteína do soro, demonstrando que existe maior influência da dieta sobre a proteína total do soro neste período (MACHADO NETO et al. 1986).

Houve diferença significativa entre os métodos de desaleitamento abrupto ou gradual para a concentração de proteína total no plasma, apenas no primeiro dia após o desaleitamento. Os bezerros que passaram pelo processo de desaleitamento abrupto tiveram média de proteínas totais de 12,00 g/dL, enquanto os desaleitados de forma gradual tiveram média de 8,65 g/dL neste dia. Esse dado pode indicar que talvez neste primeiro dia após o desaleitamento os bezerros desaleitados de forma abrupta apresentaram uma leve desidratação em relação ao outro grupo. No entanto, no segundo dia pós desaleitamento, não houve diferença entre os dois grupos (Tabela 14), embora os valores de proteína do grupo abrupto não tenham diminuído.

Figura 11 - Proteína total plasmática de bezerros

Tabela 14 - Proteína total de bezerros desaleitados de forma abrupta ou gradual nos dias próximos ao desaleitamento

Dia	Abrupto	Gradual	EPM	P<
-2	10,98	8,67	0,96	0,099
0	9,92	8,30	0,84	0,180
1	12,00	8,65	0,99	0,023
2	12,33	9,67	1,33	0,168
3	11,15	9,73	0,81	0,224
4	10,38	9,43	1,09	0,543

Os valores de glicoproteínas solúvel em ácido (GSA) não diferiram entre os tratamentos ($P < 0,05$). As glicoproteínas solúveis em ácido podem ser um indicador de que animais se encontram em processos inflamatórios, decorrentes de distúrbios metabólicos ou estresse. Nagahata; Taguchi e Noda (1989) encontraram para vacas consideradas dentro da normalidade, valores médios de GSA de 98mg/dL (variando de 42,2 a 161mg/dL), superiores aos valores médios observados no presente experimento. Estes mesmos autores encontraram valores bastante superiores para vacas com mastite sub-clínica ou que haviam passado por procedimentos cirúrgicos. Estudos realizados com suínos, também indicaram aumento da GSA quando estes

animais encontravam-se em processo inflamatório (ECKRSALL; SAINI E MACCOMB, 1996).

Desta forma, os animais deste experimento não manifestaram estresse ao desaleitamento, independente do método utilizado, e mantiveram valores de GSA dentro da normalidade.

Os níveis de cortisol séricos estão apresentados nas Figuras 12 e 13. Não houve interação entre os dois fatores estudados para as concentrações de cortisol ($P>0,05$) e nem efeito dos fatores estudados individualmente. A concentração de cortisol variou de 2,07 a 3,78 ng/mL, valores estes considerados dentro da normalidade. Encarnação (1992) indica que a concentração média de cortisol em bovinos varia de 2 a 12 ng/mL. Desta forma, mesmo havendo um pequeno aumento na concentração de cortisol no dia do desaleitamento, no presente experimento, este aumento não tem magnitude suficiente para que seja considerado que os animais apresentaram estresse fisiológico devido ao desaleitamento.

De maneira semelhante ao observado neste experimento, Paiva et al. (2006) analisando cortisol em bezerros no início da vida, após terem sido separados de sua mãe e receberem colostro, encontrou concentrações de cortisol variando de $43,49 \pm 0,74$ a $76,49 \pm 1,47$ mg/dL. Estes autores consideram que estes valores são estáveis e não indicativos de estresse.

Ao contrário dos resultados do presente experimento, Myung-Hoo et al. (2011), avaliaram o estresse do desaleitamento de bezerros e observaram que os animais que apresentavam concentrações de cortisol de $6,74 \pm 0,40$ ng/dL; passaram para concentrações de $10,21 \pm 1,12$ um dia após o desaleitamento, e $17,10 \pm 4,33$ três dias depois; retornando a valores próximos aos iniciais, cinco dias após a interrupção de fornecimento da dieta líquida. Estas concentrações se mostram bastante superiores às encontradas neste experimento.

Loberg et al. (2008) avaliou o desaleitamento em duas etapas de bezerros mantidos juntos a uma “vaca adotiva”, observando que os bezerros que foram desaleitados abruptamente, tiveram maiores valores de cortisol do que aqueles que foram primeiro separados do grupo e depois desaleitados. No caso do presente experimento, os animais foram separados da mãe ao nascimento e após desaleitados foram mantidos no mesmo local, dessa forma o estresse associado à separação como observado por Loberg et al. (2008) não foi constatado neste estudo.

Figura 12 - Concentrações plasmáticas de cortisol da sexta a nona semana de vida dos animais

Figura 13 – Concentrações plasmáticas de cortisol nos dias antecedentes (-2) ao dia do desaleitamento (0) e nos quatro dias subsequentes

Observando as concentrações de cortisol ao longo das semanas (Figura 12) e nos dias relativos ao desaleitamento (Figura 13), não é possível observar valores que indiquem que os animais sofreram algum tipo de estresse relacionado ao final da dieta líquida. Sendo as colheitas de sangue realizadas em intervalos de 24 h, pode ter ocorrido neste intervalo um aumento na concentração de cortisol não identificado neste experimento. No entanto, em 24h os valores observados encontravam-se dentro da normalidade, indicando que se houve alguma alteração nas concentrações de cortisol esta não proporcionou grandes prejuízos ao metabolismo dos animais.

4.4 Medidas Fisiológicas

Os dados das avaliações de medidas fisiológicas estão apresentados nas tabelas 15 e 16.

Tabela 15 - Medidas fisiológicas de bezerros apresentando alto ou baixo consumo de concentrado na 5ª semana de vida, tomadas nos dias -14, -7, -2, 0, 2 e 7 relativos ao desaleitamento.

	Alto	Baixo	EPM*	P<**		
				T	I	TxI
Frequência cardíaca (batimentos/min)						
6:00h	94	86	1,9018	0,0051	0,3599	0,8391
12:00h	108	94	2,4716	0,0004	0,0048	0,8112
18:00h	104	98	2,1680	0,0524	0,0154	0,7300
Frequência respiratória (movimentos/min)						
6:00h	30	30	0,9170	0,2650	0,5663	0,2863
12:00h	64	62	2,3128	0,5460	0,0153	0,4000
18:00h	40	36	1,7876	0,0946	0,0956	0,7900
Temperatura retal (°C)						
6:00h	38,5	38,5	0,0471	0,8590	0,0423	0,2056
12:00h	38,9	39,0	0,0473	0,1004	0,7047	0,7498
18:00h	39,0 ^b	39,2 ^a	0,0559	0,0199	0,1618	0,8502

*EPM = erro padrão da média; **T = efeito do tratamento; I = efeito da idade dos animais; T x I = efeito da interação tratamento e idade dos animais. Nota: Sinal convencional utilizado: - Não se aplica dado numérico.

Tabela 16 - Medidas fisiológicas de bezerros desaleitados de forma abrupta ou gradual tomadas nos dias -14, -7, -2, 0, 2 e 7 relativos ao desaleitamento

	Abrupto	Gradual	EPM*	P<**		
				T	I	TxI
Frequência cardíaca(batimentos/min.)						
6:00h	92	90	1,8910	0,6202	0,3599	0,8743
12:00h	102	98	2,4478	0,3284	0,0048	0,3166
18:00h	102	98	2,1588	0,1978	0,0154	0,9556
Frequência respiratória (movimentos/min.)						
6:00h	30	30	0,9140	0,8072	0,5663	0,2688
12:00h	62	62	2,3084	0,9695	0,0153	0,2428
18:00h	40	38	1,7744	0,4333	0,0956	0,7448
Temperatura retal (°C)						
6:00h	38,5	38,5	0,0471	0,5613	0,0423	0,5231
12:00h	39,0	39,0	0,0473	0,9990	0,7047	0,7931
18:00h	39,1	39,1	0,0556	0,6586	0,1618	0,8620

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

Não houve efeito ($P>0,05$) do método de desaleitamento (abrupto ou gradual) para nenhuma das médias das medidas fisiológicas analisadas. Tanto os bezerros desaleitados de forma abrupta como gradual, tiveram medidas fisiológicas dentro do padrão normal esperado para bezerros indicando, que a forma de desaleitamento não alterou a situação de bem estar em que se encontravam estes animais.

Houve efeito significativo para os níveis de consumo de concentrado nas médias de frequência cardíaca dos animais ($P<0,05$). Bezerros de alto consumo de concentrado tiveram as maiores médias de frequência cardíaca, independentemente do momento da medição (6:00, 12:00 e 18:00) na média das observações. Considerando somente o segundo dia após o desaleitamento (Figura 14 e 15), a frequência cardíaca as 6:00 h e as 12:00h, foi maior nos bezerros de alto consumo sendo talvez decorrente de uma maior agitação nestes animais provavelmente em resposta da espera pelo fornecimento de leite.

Jasper, Budzynska e Weary (2007) observaram que animais consumindo 2kg de concentrado, manifestaram comportamento de agitação e vocalização quando foi interrompido o fornecimento de leite. Os autores relacionaram este comportamento

não somente com o consumo de energia, mas também com a frustração da espera pelo leite e dos fatores relacionados ao ato de beber ou mamar o leite. Desta forma, este pode ser um possível motivo da maior frequência cardíaca dos animais no segundo dia após o desaleitamento. Além disso, estes animais, que consumiam maior quantidade de concentrado, podem ter o metabolismo mais acelerado, exigindo maior circulação sanguínea.

Babu, Pandey e Sahoo (2004) observaram frequência cardíaca variando de 80 a 89 bpm, valores um pouco mais baixos do que foi observado neste experimento. Valores próximos aos observados foram encontrados por Lomborg et al. (2008) que trabalharam com bezerros mantidos com uma vaca adotiva e separados em duas etapas. Estes autores observaram frequência cardíaca ao redor de 108 (bpm), sendo que a frequência diminui para cerca de 100 bpm após os bezerros serem submetidos ao flip nasal que os impede de mamar. Quando foram separados da mãe, os bezerros que passaram pelo processo de separação gradual (com uso de flip nasal), tiveram menores frequências (98 bpm) do que aqueles que foram separados de forma abrupta, sem se acostumarem à falta do leite (101 bpm).

Lesink et al. (2001) observaram os batimentos cardíacos de bezerros antes e após passarem por um processo de transporte (situação de estresse) e observaram que os batimentos cardíacos subiram de 100 bpm para valores próximos a 200 bpm. Desta forma, mesmo havendo diferença significativa entre os animais de alto e baixo consumo de concentrado, não é possível considerar que os animais se encontravam em situação de estresse, já que mesmo os valores mais altos de frequência cardíaca, se encontram dentro dos valores considerados normais.

Figura 14 - Frequência cardíaca de bezerros apresentando alto ou baixo consumo de concentrado, às 6 horas da manhã em dias relativos ao desaleitamento (dia 0).

*Médias seguidas de letras diferentes, diferem entre si a $P < 0,05$

Figura 15 - Frequência cardíaca de bezerros apresentando alto ou baixo consumo às 12 horas em dias relativos ao desaleitamento (dia 0)

*Médias seguidas de letras diferentes, diferem entre si a $P < 0,05$.

Foi observada diferença entre a temperatura retal apenas entre animais de alto e baixo consumo, às 18:00 h, o que não é suficiente para caracterizar mudanças no metabolismo destes animais, já que temperaturas ao redor de 39,3 °C, encontram-se dentro da normalidade. As médias de temperatura observadas encontram-se dentro dos valores normais de temperatura retal de bezerros de 38 a 39,3 °C (Dukes, 1996).

Os valores de temperatura retal foram semelhantes aos observados na literatura para bezerros leiteiros (CUNHA et al. 2007, BABU; PANDEY; SAHOO, 2004). Assim como observados por Cunha et al. (2004), os valores de temperatura retal pela manhã (6:00h) são inferiores aos valores no final da tarde (18:00h).

A frequência respiratória também não foi afetada pelos dois fatores estudados e nem para as datas de avaliação ($P < 0,05$). Dukes (1996) indica que a variação normal de frequência respiratória seria 20 a 25 movimentos por minuto, no entanto, foram observados valores superiores a este no presente experimento. Os valores de frequência respiratória de bezerros as 6:00h foram semelhantes aos observados por Babu, Pandey e Sahoo (2004), medindo a frequência de bezerros as 8:00h da manhã. Também se encontram dentro do observado por Mac-lean (2012), que observou uma variação de frequência respiratória de 27 a 80 movimentos por minuto.

De maneira semelhante, Cunha et al. (2007), observaram valores superiores aos propostos por Dukes (1996) quando mediram a frequência respiratória de bezerros mantidos em abrigos móveis. Cunha et al. (2007) indicam que os animais aumentam sua frequência respiratória como um mecanismo para aumentar a perda de calor e manter sua temperatura corporal dentro da normalidade. As médias observadas neste experimento foram maiores nas medições de 12 e 18 horas, corroborando a hipótese de Cunha et al. (2007). Uma vez que não houve diferença entre os tratamentos, é provável que as maiores frequências respiratórias observadas nas medições de 12 e 18 horas neste experimento, assim como em Cunha et al. (2007), também seja em decorrência da elevação de temperatura que ocorre ao longo do dia.

Observando as medidas fisiológicas dos animais no presente experimento, observa-se que os animais mantinham-se dentro da normalidade, indicando uma situação de conforto ou bem estar. Os animais de alto consumo apresentaram maiores médias de batimento cardíaco no segundo dia pós desaleitamento, podendo este aumento ser decorrente da agitação e frustração ocasionada pela espera do leite, assim como relatado por Jasper et al. (2007); ou de seu metabolismo mais acelerado em decorrência do alto consumo. Porém, estes valores rapidamente foram reduzidos, e os animais voltaram a sua situação de bem estar inicial, adaptando-se a nova forma de dieta.

4.5 Comportamento

Os resultados das avaliações de comportamento estão descritos nas tabelas (17, 18 e 19). Não houve interação entre os dois fatores estudados (níveis de consumo e método de desaleitamento) ($P < 0,05$), sendo apresentados seus efeitos isoladamente.

Tabela 17 - Tempo gasto (min) por bezerros leiteiros nas atividades comportamentais nos dias relativos ao desaleitamento (0)

	Dias em relação ao desaleitamento						EPM
	-14	-7	-2	0	+2	+7	
Tempo em pé							
Cabeça alta	195 ^a	182 ^{ab}	179 ^{ab}	196 ^a	171 ^b	149 ^c	9,08
Cabeça baixa	72	67	66	62	69	68	6,55
Tempo deitado							
Cabeça alta	334 ^b	336 ^b	367 ^a	339 ^b	330 ^b	382 ^a	14,84
Cabeça baixa	140 ^a	146 ^a	126 ^{ab}	98 ^{ab}	109 ^b	95 ^b	12,58
Tempo dormindo	92 ^a	62 ^b	60 ^b	52 ^b	49 ^b	49 ^b	7,10
Tempo lambendo arredores	10 ^b	15 ^a	12 ^{ba}	9 ^b	11 ^{ba}	9 ^b	2,26
Tempo de consumo							
Concentrado	58 ^c	70 ^c	68 ^c	82 ^b	95 ^a	94 ^a	4,98
Feno	NF	NF	NF	21 ^a	11 ^b	14 ^b	2,85
Pasto	38 ^{ba}	38 ^{ba}	33 ^b	33 ^b	46 ^a	47 ^a	5,59
Leite	9 ^a	8 ^a	5 ^b	NF	NF	NF	0,73
Água	9 ^{ab}	10 ^b	7 ^{ab}	9 ^{ab}	10 ^{ab}	11 ^a	1,50
Tempo ruminando	26 ^b	27 ^b	36 ^b	54 ^a	64 ^a	56 ^a	6,92
Tempo defecando	0,4 ^c	0,8 ^{bc}	0,6 ^{bc}	2 ^a	1,5 ^{ab}	0,7 ^{bc}	0,46
Tempo urinando	0,9 ^a	0,9 ^a	0,8 ^a	0,7 ^a	0,4 ^{ab}	0,1 ^b	0,28

^{abc} Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha, diferem entre si a $P < 0,05$.

NF - alimento não fornecido antes do desaleitamento

O tempo (min) de consumo de concentrado pelos animais aumentou gradualmente ao longo do tempo, conforme esperado. Em experimento realizado por

Façaanha et al. (2011), bezerros consumiram concentrado durante 82 minutos num período de 12 horas, valor pouco superior ao observado neste experimento.

O tempo ruminando aumentou conforme os animais passaram mais tempo consumindo concentrado (Figura 16), provavelmente devido ao desenvolvimento ruminal destes animais. O aumento da frequência de visitas e da duração da visita ao cocho ou bandeja de ração durante o período pré desaleitamento é considerado um dos fatores que estimula o desenvolvimento ruminal, permitindo o desaleitamento precoce (BABU; PANDEY; SAHOO, 2004).

De maneira semelhante Muller, Silva e Mielke (2011) também observaram maiores tempos de ruminação conforme a idade do animal. No entanto, estes autores obtiveram valores bastante superiores aos observados neste estudo: 42 minutos em 12 horas para bezerros de 39 dias e 171 minutos para bezerros de 59 dias mantidos individualizados com uso de estacas. Em Façaanha et al. (2011), o tempo de ruminação observado foi de 54 minutos em 12 horas, também superior aos observados neste experimento, podendo ser um reflexo do maior tempo consumindo concentrado destes animais.

Figura 16 - Tempo consumindo concentrado inicial e ruminando nas 15 horas de observação

Ruminar deitado é um ato que pode indicar situação de bem estar para bovinos (Fraser; Broom, 2002). No presente experimento não houve diferença entre os tratamentos para o tempo de ruminação, sendo que todos os animais ruminaram por mais tempo conforme a idade aumentou.

Em experimento avaliando o desaleitamento de bezerros mantidos com uma “vaca adotiva” em duas etapas: desaleitamento abrupto ou gradual (separação do grupo e posterior desaleitamento); Loberg et al. (2008) observou que os animais desaleitados em duas etapas passaram mais tempo se alimentando, deitados ou ruminando. Estes resultados sugerem que os animais desaleitados em duas etapas se estressaram menos do que aqueles que foram desaleitados e separados do grupo no mesmo momento. No presente experimento, os animais desaleitados de forma abrupta ou gradual, não passaram por mudança de local, ou do grupo a sua volta, desta forma a mudança da dieta não afetou o bem-estar destes animais. Esses resultados sugerem que o estresse relacionado ao desaleitamento por Loberg et al. (2008) esteja relacionado principalmente a separação do grupo e da “vaca adotiva”. Desta forma parece existir um fator social relacionado ao estresse no período de desaleitamento.

O método de desaleitamento ou o nível de consumo de concentrado na quinta semana não afetaram o padrão de consumo de água dos animais. Budzysnka et al. (2008) observaram um aumento em mais de três vezes no consumo de água para bezerros aleitados intensivamente e desaleitados na sexta semana de vida, de forma abrupta ou gradual. Muller, Silva e Mielke (2011) observaram que bezerros alojados individualmente com estacas, consumiram água por 14 minutos num período de 12 horas, valor superior ao observado neste experimento.

Espera-se que a inquietação dos animais aumente no dia do desaleitamento, o que aumentaria o tempo em pé e a vocalização. Budzysnka et al. (2008) observaram que animais desaleitados de forma abrupta, ficaram mais tempo em pé do que aqueles desaleitados de forma gradual, no entanto, não houve diferença significativa nesse tempo. No presente experimento, o tempo em pé com a cabeça baixa, o qual sugere morbidade, não foi afetado pelo dia em relação ao desaleitamento ($P < 0,05$). Este tipo de comportamento em geral manifesta-se quando animais estão passando por algum tipo de dor física, diarreias, ou outras doenças, o que não ocorreu no período de observação. Os animais passaram mais tempo em pé com a cabeça alta do período de fornecimento do leite até o dia do desaleitamento, o que demonstra certa agitação e expectativa pelo leite. Após o desaleitamento os animais passaram menos tempo em pé (Figuras 17 e 18) e, provavelmente por terem se acostumado a nova rotina, não manifestaram atividade e agitação característica da expectativa pelo leite.

Figura 17 - Tempo em pé de cabeça alta observado nos dias relativos ao desaleitamento

Figura 18 - Tempo em pé e deitado de bezerros leiteiros, em dias relativos ao desaleitamento

Muller, Silva e Mielke (2011) observaram que bezerros mantidos em estacas individuais passam mais tempo em ócio deitado que em ócio em pé. No estudo destes autores os bezerros passaram 260 minutos das 12 horas observadas em ócio deitado, e apenas 67 minutos em ócio em pé. Mac-lean (2012) observou que bezerros

mantidos em instalações semelhantes a deste experimento, passaram mais de 60 % do seu tempo deitados. Da mesma forma, neste experimento, os animais passaram maior parte do tempo de observação deitados com a cabeça em pé ou alta.

Tabela 17 - Tempo médio (min) de cada atividade durante o período de observação de bezerros desaleitados de forma abrupta ou gradual

	Método de desaleitamento		EPM*	P<**		
	Abrupto	Gradual		T	D	TxD
Tempo em pé						
Cabeça alta	182,20	176,29	6,57	0,528	0,002	0,727
Cabeça baixa	69,15	66,28	6,30	0,751	0,851	0,038
Tempo deitado						
Cabeça alta	349,35	347,56	15,84	0,937	0,001	0,124
Cabeça Baixa	122,83	116,10	13,43	0,726	0,321	0,804
Tempo Dormindo	63,74	58,39	6,97	0,591	<0,0001	0,697
Tempo Lambendo arredores	11,79	11,16	1,86	0,814	0,281	0,957
Tempo de Ingestão						
Feno	7,64	7,49	7,57	0,934	<0,0001	0,238
Concentrado	69,52	86,97	3,55	0,002	<0,0001	0,312
Pasto	41,47	37,92	4,87	0,611	0,250	0,020
Leite	3,76	4,64	0,44	0,153	<0,0001	0,063
Água	10,26	9,37	1,02	0,543	0,435	0,460
Tempo Ruminando	43,80	45,38	6,01	0,854	<0,0001	0,410
Tempo Defecando	1,28	0,94	0,30	0,425	0,056	0,268
Tempo Urinando	0,66	0,72	0,28	0,890	0,278	0,67
Vocalizações (nº/15h)	27	36	10	0,729	<0,0001	0,800

EPM = erro padrão da média; T = efeito do tratamento; D = efeito do dia relativo ao desaleitamento; D x I = efeito da interação tratamento e dia em relação ao desaleitamento. Nota: Sinal convencional utilizado: - Não se aplica dado numérico.

Tabela 18 - Tempo médio (min) de cada atividade durante o período de observação de bezerros de apresentando alto ou baixo consumo de concentrado

	Consumo		EPM*	P<**		
	Baixo	Alto		T	D	TxD
Tempo em pé						
Cabeça alta	178,64	179,85	6,55	0,8976	0,0019	0,7268
Cabeça baixa	68,07	67,36	6,25	0,9380	0,8507	0,0209
Tempo deitado						
Cabeça alta	343,01	353,90	15,85	0,6339	0,0010	0,3528
Cabeça Baixa	131,87	107,07	13,38	0,2035	0,3211	0,8471
Tempo Dormindo	63,58	58,55	6,99	0,6177	<0,0001	0,1512
Tempo Lambendo arredores	10,56	12,39	1,85	0,4964	0,2814	0,1267
Tempo de Ingestão						
Feno	6,63	8,49	1,21	0,3011	<0,0001	0,0004
Concentrado	75,10	81,37	3,54	0,2261	<0,0001	0,1501
Pasto	37,15	42,23	4,84	0,4697	0,2505	0,0009
Leite	4,59	3,81	0,43	0,2073	<0,0001	0,0621
Água	9,56	10,06	1,01	0,7326	0,4348	0,8136
Tempo Ruminando	40,98	48,19	6,02	0,4074	<0,0001	0,9512
Tempo Defecando	1,26	0,95	0,29	0,4583	0,0565	0,7244
Tempo Urinando	0,40	0,97	0,27	0,1752	0,2785	0,8399
Vocalizações (nº/15h)	29	34	11	0,5726	<0,0001	0,0800

* EPM = erro padrão da média; T = efeito do tratamento; D = efeito do dia relativo ao desaleitamento; D x I = efeito da interação tratamento e dia em relação ao desaleitamento. Nota: Sinal convencional utilizado: - Não se aplica dado numérico.

Apesar do consumo de concentrado ter sido semelhante nos dois métodos de desaleitamento, os animais submetidos ao processo de desaleitamento gradual passaram mais tempo se alimentando do que os desaleitados abruptamente (Tabela 17). Babu , Pandey e Sahoo (2004), avaliando o comportamento de bezerros alojados individualmente, observaram maiores tempos de consumo de concentrado inicial: 5,22 min /hora com duas semanas de vida e com 8 semanas o tempo de consumo era 24,42 min/hora. No entanto, estes autores só observaram o comportamento dos animais durante 4 horas por dia, uma hora antes e após o período de aleitamento. Roth et al. (2008), trabalhando com bezerros desaleitados na décima primeira

semana de vida, observaram, durante 10 horas por dia, que na oitava semana os animais gastaram 16 minutos por dia com o consumo de concentrado. Este valor é inferior aos resultados observados neste experimento, no entanto, a quantidade de concentrado consumida na oitava semana de vida pelos animais do experimento de Roth et al. (2008) foi de 1,000 kg/dia, bastante superior ao consumo dos animais classificados como baixo consumo neste experimento (0,6kg/dia) e inferior aos animais de alto consumo que consumiam em média 1,4 kg/dia na oitava semana de vida.

O tempo ingerindo feno não diferiu entre os tratamentos e foi superior no dia do desaleitamento, quando o feno foi fornecido pela primeira vez aos animais. Provavelmente, neste dia os animais passaram mais tempo consumindo feno pelo fato de ainda não conhecerem este alimento. Apesar do tempo ingerindo feno ter diminuído no segundo e sétimo dia após o desaleitamento, os dados de consumo de feno indicam que o mesmo aumentou ao longo do tempo (Tabela 6). Muller, Silva e Mielke (2011) obtiveram tempos de 58 e 84 minutos para o consumo de feno, avaliando o comportamento de bezerros durante 12 horas. Estes valores são bastante superiores aos observados, no entanto, os animais daquele receberam feno desde o início da vida, devendo, portanto, estar mais acostumados ao consumo.

Dormir é uma atividade importante especialmente para animais em crescimento e pode ser um indicador de que o animal está bem adaptado ao ambiente e manejo (Hokkanen et al., 2011). O tempo dormindo foi maior ($P < 0,05$) apenas na primeira avaliação, duas semanas antes do desaleitamento (-14). Não houve diferença entre o tempo dormindo para os métodos de desaleitamento ou níveis de consumo, sugerindo que estes fatores não alteraram o bem estar dos animais. Hanninen et al. (2008) avaliaram o tempo dormindo de bezerros recém nascidos e concluíram que os animais no segundo e terceiro dia de vida passaram cerca de 12 horas dormindo. São escassos os dados da literatura que avaliam o tempo que bezerros gastam dormindo. De acordo com Balch et al. (1955) bovinos e ovelhas passam muito pouco tempo dormindo (deitados e com olhos fechados), sendo que bezerros passam mais tempo dormindo que ruminantes adultos.

Um número restrito de trabalhos que descrevem o comportamento de bezerros leiteiros em alojamentos individuais, em geral, tem o foco em algum comportamento específico como a mamada cruzada, vocalização, visitas ao aleitador, etc. Estes comportamentos são os chamados comportamentos estereotipados, que acontecem

de forma repetitiva como um movimento de cabeça ou língua (Broom; Fraser, 2007). Tais comportamentos podem ser indicativos do animal se encontrar ou não em bem estar.

A vocalização é geralmente o comportamento mais relacionado a manifestações de estresse como o desaleitamento. Bezerros geralmente vocalizam no período em que ainda são dependentes do leite, antes do período de alimentação ou quando são desaleitados e passam pela mudança de dieta líquida para sólida (THOMAS, WEARY; APPLEBY, 2001).

Os resultados deste experimento mostram que não houve interação entre os dois fatores estudados no número de vocalizações ($P>0,05$). No entanto, conforme esperado, houve diferença significativa ($P<0,05$) para o dia de observação (Tabela 19). Os bezerros vocalizaram mais no dia do desaleitamento e no segundo dia depois, reduzindo as vocalizações na semana seguinte, quando a expectativa do recebimento da dieta líquida já havia diminuído, de maneira semelhante ao observado por Jasper, Budzynska e Weary (2007).

Tabela 19 - Número médio de vocalizações durante 15 horas de observações nos dias relativos ao desaleitamento

Dia de Observação	Número de vocalizações
-14	25 ^c
-7	21 ^c
-2	10 ^c
0	175 ^a
2	64 ^b
7	16 ^c

Não houve diferença ($P<0,05$) entre os animais de alto ou baixo consumo quanto ao número de vocalizações nos dias de observação em relação ao desaleitamento. No entanto, o método de desaleitamento (abrupto ou gradual), afetou de forma significativa o número de vocalizações no segundo dia pós desaleitamento. Bezerros desaleitados de forma gradual vocalizaram menos no segundo dia após o desaleitamento, do que aqueles que foram desaleitados de forma abrupta (Figura 19).

Estes dados indicam que os bezerros que passaram pelo desaleitamento gradual, ficaram menos agitados e aceitam mais rapidamente o fim do fornecimento da dieta líquida (Figura 19). O nível de consumo (alto ou baixo) não teve influência na atividade de vocalização dos animais (Figura 18), indicando que os bezerros de baixo consumo, mesmo não estando fisiologicamente preparados para serem desaleitados, apresentaram o mesmo comportamento que os animais de alto consumo com a mudança da dieta, quando o leite foi reduzido de forma gradual.

Budzysnka et al. (2007), trabalhando com bezerros desaleitados na sexta semana de vida de forma abrupta ou gradual (com fornecimento de água morna), observaram maior vocalização nos dias 1 e 2 após o desaleitamento para os bezerros desaleitados de forma abrupta. No entanto, no terceiro dia, quando os animais do tratamento gradual, pararam de receber a água morna, os bezerros dos dois tratamentos, tiveram quantidades de vocalização semelhante.

Figura 19 - Número médio de vocalizações durante 15 horas de observações nos dias relativos ao desaleitamento de bezerros desaleitados de forma abrupta (A) ou gradual (G)

Figura 20 - Número médio de vocalizações durante 15 horas de observações nos dias relativos ao desaleitamento de bezerros que apresentaram consumo de concentrado na 5ª semana alto (A) ou baixo (B)

Loberg et al. (2007) avaliou bezerros que foram criados com uma vaca adotiva e separados de forma abrupta ou em duas etapas com uso de flip nasal durante um período e posterior separação da vaca adotiva. Estes autores observaram que os bezerros desaleitados e separados abruptamente vocalizaram 66,8 vezes por hora, enquanto os que passaram pelas duas etapas apenas 1,6/hora. De maneira semelhante ao que ocorreu no presente experimento, estes autores observaram que as vocalizações nos bezerros separados em duas etapas aumentaram nas primeiras horas de observação até 26 horas após os bezerros serem separados, mas a partir do terceiro dia, a quantidade de vocalizações foi semelhante nos dois grupos.

Thomas, Weary e Appleby (2001) retiraram por três horas o leite de bezerros que vinham tendo acesso *ad libitum* e observou que os bezerros reagiram aumentando de 0,3 para 9,9 o número de vocalizações em 3 horas de observação. Estes autores sugerem que as vocalizações devem ser utilizadas como ferramenta para desenvolver técnicas de manejo ao desaleitamento que sejam menos estressantes aos animais.

Atividades como lambidas e mamadas não nutritivas também são consideradas comportamentos estereotipados de bezerros que são aleitados artificialmente. O tempo de realização de lambidas (TL) não foi diferente entre os tratamentos, havendo pequenas variações entre as datas de coletas.

Veissier et al. (2002) observou que bezerros recebendo dieta líquida via balde, passaram 25 minutos após as refeições lambendo partes do abrigo ou bezerros próximos. A quantidade de tempo que os bezerros passaram lambendo no presente experimento foi cerca de 10 a 12 minutos num período de observação de 15 horas, valor bastante inferior ao obtido por Veissier et al. (2002). Estes valores são mais próximo aos encontrados por Babu, Pandey e Sahoo(2004) que observaram que bezerros em alojamentos individuais passam menor tempo lambendo os arredores, que bezerros em grupo, e observaram que estes animais lambiam por cerca de 1 minuto por hora.

Em experimento avaliando atividades de mamada-cruzada e vocalização, De Passilé, Sweeney e Rushen (2010) concluíram que a manifestação deste tipo de comportamento se deve principalmente ao baixo consumo de energia em decorrência da redução do leite. Ao contrário destes autores, Jasper, Budzynska e Weary (2007), desaleitando bezerros consumindo em média 2kg de concentrado inicial por dia de forma abrupta ou gradual (com fornecimento de água morna), observou maior vocalização para os bezerros desaleitados de forma abrupta e concluiu que os motivos da manifestações de vocalização se devem a fatores não nutricionais relacionados ao fornecimento do leite. Os animais acostumados ao manejo de recebimento do leite, ao contato com o tratador, ao ato de mamar e outras práticas relacionadas ao fornecimento de leite, acabam se frustrando quando este é interrompido e manifestam-se através da vocalização.

Até o dia do desaleitamento (dia 0), os bezerros deste experimento apresentaram um padrão de comportamento normal de bezerros em situação de bem estar, havendo neste dia e nos dois subsequentes, grande manifestação através de vocalização. No entanto, estas manifestações foram reduzidas após dois dias de vida. Esta redução, associada aos resultados de consumo de concentrado, pode estar relacionada ao fato de os animais rapidamente se adaptarem a interrupção de leite, aumentando seu consumo de concentrado. Desta forma, os animais se manifestaram através da vocalização ao baixo consumo de energia com a redução do leite, mas rapidamente se adaptaram a nova dieta, interrompendo as vocalizações, sem que ocorressem alterações fisiológicas importantes como elevações de cortisol, que poderiam indicar níveis de estresse prejudicial ao organismo.

5 CONCLUSÕES

O método de desaleitamento não teve influência no desempenho, metabolismo e bem estar dos animais. O nível de consumo teve influencia no desempenho e parâmetros sanguíneos dos bezerros, sendo que aqueles que consumiram maior quantidade de concentrado na quinta semana de vida apresentaram os maiores valores de ganho de peso e desenvolvimento corporal.

Aparentemente outros fatores além do fornecimento do leite afetam o consumo de concentrado de bezerros de forma que adotar técnica de desaleitamento gradual não foi efetivo quando o bezerro já apresentava baixo consumo na 5ª semana de vida.

Referências

- ALSEEMGEST, S.P.M.; JONKER, F.H.; TAVERNE, M.A.M.; KALSBEK, H.C.; WENSING, T.H.; GRUYS, E. Serum amyloid-a (saa) and haptoglobin (hp) plasma concentrations in newborn calves. **Theriogenology**, New York, v.43, p.381-387, 1995.
- ARTHINGTON, J.D.; CORAH, L.R.; MINTON, J.E.; ELSASSER, T.H. ; BLECHA, F. Supplemental dietary chromium does not influence ACTH, cortisol, or immune responses in young calves inoculated with bovine herpesvirus-1. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.75, p.217-223, 1997.
- BABU, L.K.; PANDEY, H. N.; SAHOO, A. Effect of individual versus group rearing on ethological and physiological responses of crossbred calves. **Applied Animal Behaviour Science**, Edinburgh, v. 87 , p.177-191, 2004.
- BALDWIN, R.L.; MACLEOD, V.I.K.R.; KLOTZ, J.L.; HEITMANN, R.N. Rumen development, intestinal growth and hepatic metabolism in pre e post-weaning ruminant. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 887, p.55-65, 2004.
- BARACAT, R.S.; MACHADIO-NETO, R.; DANIELE, C.; BESSI, R.; PACKER, I.U. Influência do fornecimento prolongado de colostro sobre a flutuação de proteínas séricas em bezerros com diferentes níveis de imunidade passiva sérica. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 52, p. 537-542, 1995.
- BAUMANN, H.; GAULDIE, J. The acute phase response. **Immunology Today**, cidade, v.15, p. 74–80, 1994.
- BERNARDES, E.B.; COELHO, S.G.; CARVALHO, A.U.; OLIVEIRA, H.N.; REIS, R.B.; SATURNINO, H.M.; SILVA, C.A.; COSTA, T.C. Efeito da substituição do feno de *Tifton 85* pelo caroço de algodão como fonte de fibra na dieta de bezerros. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo horizonte, v. 59, n. 4, p. 955-964, 2007.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, cidade, v.72, p.248-254, 1976.
- BROOM, D. M. Animal welfare: concepts and measurement. . **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, p.4167-4175, 1991.
- BROOM, D. M.; FRASER, A. F. Domestic animal behavior and welfare. **CABI**, 2007.

BITTAR, C.M.M.; FERREIRA, C.M.M.; GALLO, M.P.C.; PAULA, M.R. Manejo alimentar de bezerras em aleitamento. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 9., Fealq: Piracicaba. **Anais...** Fealq: Piracicaba, 2011. p. 9-92.

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.

CRAY, C.; ZAIAS, J.; ALTMAN, N.H. Acute Phase Response in Animals: A Review. **Comparative Medicine**, Ithaca, v. 59, p.517-526, 2009.

CUNHA, D.N.F.V.; CAMPOS, O.F.; PEREIRA, J.C.; PIRES, M.F.A.; LIZIEIRE, R.S.; MARTUSCELLO, J.A. Desempenho, variáveis fisiológicas e comportamento de bezerros mantidos em diferentes instalações: época chuvosa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Maringá, v.36, n.4, p.1140-1146, 2007.

DE PASSILLE, A.M.; SWEENEY, B.; RUSHEN, J. Cross-sucking and gradual weaning of dairy calves. **Applied Animal Behaviour Science**, Edinburgh, v.124, p. 11-15, 2010.

DUKES, H.H. **The physiology of domestic animals**, Ithaca, Cornell University Press. 1995.p145.

ECKERSALL, P.D. The acute phase response in animals. **The Japanese Society of Veterinary Clinical Pathology**, Tokio, v. 20, p. 10-21, 1999.

ECKERSALL, P.D.; SAINI, P.K.; MACCOMB, C. The acute phase response of acid soluble glycoprotein, α -soluble glycoprotein, ceruloplasmin, haptoglobin and C-reactive protein in the pig. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v. 51, p.377-385, 1996.

ENCARNAÇÃO, R.O. Estresse e produção animal. EMBRAPA-CNPGC, Campo Grande, 1992. 32p.

FAÇANHA, D.A.E.; VASCONCELOS, A.M.; SILVA, W.S.T.; CHAVES, D.F.; MORAIS, J.H.G.; OLIVO, C.J. Respostas comportamentais e fisiológicas de bezerros leiteiros criados em diferentes tipos de instalações e dietas líquidas. **Acta Veterinária Brasileira**, Mossoró, v.5, p.250-257, 2011.

FRANK, J.; GRIFFIN, T. Stress and immunity: a unifying concept. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Lancaster, v.20, p. 263-312, 1989.

FRASER, D. Understanding animal welfare. The science in its cultural context. Wiley-Blackwell, Edinburgh, 2008.

GREENWOOD, R.H.; MORRILL, J.L.; TITGEMEYER, E.C. Using dry feed intake as a percentage of initial body weight as a weaning criterion. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 80, p. 2542-2546, 1997.

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

HALEY, D.B.; BAILEY, D.W.; STOOKEY, J.M. The effects of weaning beef calves in two stages on their behavior and growth rate. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.83, p.2205–2214, 2005.

HANNINEM, L.; HEPOLA, H.; RAUSSI, S.; SALONIEMI, H. Effect of colostrums feeding method and presence of dam on the sleep, rest and sucking behavior of newborn calves. **Applied Animal Behaviour Science**, Edinburgh, v.112, p. 213-222, 2008.

HEINRICHS, A.J.; HARGROVE, G.L. Standards of weight and height for Holstein heifers. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.70, p.653—660, 1987.

HICKEY, M.C.; DRENNAN, M.; EARLEY, B. The effect of abrupt weaning of suckler calves on the plasma concentrations of cortisol, catecholamines, leukocytes, acute-phase proteins and in vitro interferon-gamma production. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 81, p. 2847-2855, 2003.

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

HOKKANEN, A.H.; HANNINEN, L.; TIUSANEN, J.; PASTELL, M. Predict sleeping and lying time of calves with a support vector machine classifier using accelerometer data. **Applied Animal Behaviour Science**, Edinburgh, v.134, p. 10-15, 2011.

JASPER, J.; BUDZYNSKA, M.; WEARY, D.M. Weaning distress in dairy calves: Acute behavioural responses by limit-fed calves. **Applied Animal Behaviour Science**, Edinburgh, v.110, p. 136-143, 2008.

LEFCOURT, A.M.; ELSASSER, T.H. Adrenal responses of Angus x Hereford cattle to the stress of weaning. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, p. 2669-2676, 1995.

LESINK, B.J.; RAUSSI, S.; BOIVIN, X.; PYYKKONEM, M.; VEISSIER, I. Reactions of calves to handling depending on house condition and previous experience with humans. **Applied Animal Behaviour Science**, Edinburgh, v.70, p. 187-199, 2001.

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

LOBERG, J.M.; HERNANDEZ, C.E.; THIERFELDER, T.; JENSEN, M.B.; BERG, C.; LIDFORS, L. Weaning and separation in two steps—a way to decrease stress in dairy calves suckled by foster cows. **Applied Animal Behaviour Science**, Edinburgh, v.111, p. 222-234, 2008.

LOMBORG, S.R.; NIELSEN, L.R.; HEEGAARD, P.M.H.; JACOBSEN, S. Acute phase proteins in cattle after exposure to complex stress. **Veterinary Research Communications**, v.32, p.575–582, 2008.

LUCA, G.C.; REIS, B.F. Espectrofotometria de proteínas totais em plasma de sangue bovino por análise em fluxo. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, p. 251-256, 2001.

MACHADO NETO, R.; FARONI, C.E.; PAULETTI, P.; BESSI, R. Levantamento no manejo de bovinos leiteiros recém-nascidos: desempenho e aquisição de proteção passiva. **Revista Brasileira de Zootecnia, cidade**, v.33, n.6, p.2323-2329, 2004.

MACHADO NETO, R.; PACKER, I.U.; SUSIN, I.; NOLASCO, A.M. Proteína total sérica em bezerros da raça holandesa submetidos a diferentes regimes de aleitamento. **Anais da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**, Piracicaba, v. 43, p. 265-284, 1986.

MAC-LEAN, P.A.B. **Programa de suplementação de luz e relações entre variáveis fisiológicas e termográficas de bezerros em aleitamento em clima quente**. 2012. 104p. Tese (Doutorado Zootecnia) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga , 2012.

MAKIMURA, S.;SUZUKI, N. Quantitative determination of bovine serum haptoglobin and its elevation in some inflammatory diseases. **Japanese Journal Of Veterinary Science**, Tokio, v. 44, p. 15-21, 1982.

MATTERI, R.L.; CARROL, J.A.; DYER, C.J. Neuroendocrine responses to stress. In: MOBERG, G.P.; MECH, J.A. **The biology of animal stress, basic principles, implications for animal welfare**.Edinburgh:CAB, 2000. chap.3, p. 43.

MOBERG, G.P.; Biological Response to Stress: Implications on animal welfare. In: MOBERG, GP.; MECH, J.A. **The biology of animal stress, basic principles, implications for animal welfare**.Edinburgh: CAB, 2000. chap.1, p. 1.

MORRILL, J.L. Managing the calf from weaning through four months of age. In: ANNUAL PROFESSIONAL DAIRY HEIFER GROWERS ASSOCIATION NATIONAL CONFERENCE,3., 1999. Minnesota. **Proceedings...** Washington: Washington State University Press, 1999. 226p.

MULLER, M.; SILVA, R.W.S.M.; MIELKE, L.F. Efeito de diferentes instalações sobre o comportamento ingestivo de bezerras da raça holandesa. **Revista da 9ª Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa**. Dom Pedrito, Urcamp, 2011.p17.

MURATA, H.; SHIMADA, N.; YOSHIOKA, M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. **The Veterinary Journal**, cidade, v.168, p.28–40, 2004.

MYONG-HOO, K.; JI-YOUNG, Y.; UPADHAYA, S. D.; HYUNG-JUN, L.; YUN, C. H.; HA, J. K. The stress of weaning influences serum levels of acute-phase proteins, iron-binding proteins, inflammatory cytokines, cortisol and leukocyte subsets in Holstein Calves. **Journal of Vateriaary Sciences**, Champaign ,v. 12, p. 151-157, 2011.

NAGATA, H.; TAGUCHI,K.; NODA, H. Preliminary studies on the acid soluble glycoproteins in serum and their diagnostic value for acute inflammatory disease in catle. **Veterinary Research Communications**,, Edinburgh, v. 13, p.-257-263, 1989.

NAKAJIMA, K.T.; KODAIRA, Y.; ICHIOKA, H. ;NILLA, S.; NAGAKAWA, YAMAMOTO, H. ; CHIKAKIYO, H. ;OHTANI, H. A new method for serum mucoprotein (acid soluble glycoproteins) assay using Coomassie brilliant blue G-250. Rinsho Kagaku . **Japanese Journal of Clinical Chemistry**, Tokio ,v. 3,p.214-221, 1982.

NIELSEN, P.P.; JENSEN, M.B.; LIDFORS, L. Milk allowance and weaning method affect the use of a computer controlled milk feeder and the development of cross sucking in dairy calves. **Applied Animal Behaviour Science**, Edinburgh, v.67, p. 15-33, 2000.

NUSSIO, C.M.B.; RODRIGUES, A.A. Avaliação de critérios para desaleitamento de bezerras leiteiras. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: SBZ, 2003.1 CD-ROM.

PAIVA, F.A.; NEGRÃO, J.A.; BUENO, A.R.; SARAN-NETO, A.; LIMA, C.G. Efeito do manejo do fornecimento de colostro na imunidade passiva, cortisol e metabólitos plasmáticos de bezerras holandeses. **Arquivos Brasileiros de Medicina e Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.58, n.5, p.739-743, 2006.

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

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

QUIGLEY III, J.D.; CALDWELL, L.A.; SINKS, G.D. Changes in plasma volatile fatty acids in response to weaning and feed intake in young calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, p. 258-263, 1991.

ROTH, B.A.; HILLMAN, A.; STAUFFACHER, M.; KEIL, N.M. Improved weaning reduces cross-sucking and may improve weigh gain in dairy calves. **Applied Animal Behaviour Science**, Edinburgh, v.111, p. 251-261, 2008.

RUSHEN, J. Some issues in the interpretation of behavioural responses to stress. In: MOBERG, G.P.; MECH, J.A. **The Biology of Animal Stress, basic principles, implications for animal welfare.** Edinburgh, CAB, 2000. chap.2, p. 23.

SWEENEY, B.C.; RUSHEN, J.; WEARY, D.M.; DE PASSILÉ, A.M. 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.

THOMAS, T.J.; WEARY, D.; APPLEBY, M.C. Newborn and 5-week old calves vocalize in response to milk deprivation. **Applied Animal Behaviour Science**, Edinburgh, v.74, p.165-173, 2001.

TREVISI, E.; BERTONI, G. Some physiological and biochemical methods for acute and chronic stress evaluation in dairy cows. **Italian Journal of Animal Science**, Florença, v. 8, p.265-288, 2009.

VASSEUR, E.; BORDERAS, F.; CUE, R. I.; LEFEBVRE, D.; PELLERIN, D.; RUSHEN, J.; WADE, K. M.; DE PASSILÉ, A. M. A survey of dairy calve management practices in Canada that affect animal welfare. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.93, p.1307-1315, 2011.

VEISSIER, I.; DEPASSILE, A.M.; DESPRÉS, G.; RUSHEN, J.; CHARPENTIER, I.; DE LA FE, A.R.R.; PRADEL, P. Does nutritive and non nutritive sucking reduce oral behavior and stimulates rest in calves? **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 8, p.2574-2587, 2002.

VON KEYSERLINGK, M.A.G.; WOLF, F.; HOTZEL, M.; WEARY, D.M. Effects of continuous versus periodic milk availability on behavior and performance of dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.89, p.2126-2131, 2006.

VON KEYSERLINGK, M.A.G.; RUSHEN, J.; DEPASSILÉ, A.M.; WEARY, D.M. Invited review: The welfare of dairy cattle- Key concepts and the role of science. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.91, p.4101-4111, 2009.

WATTS, J.M.; STOOKEY, J.M. Vocal behaviour in cattle: the animal's commentary on its biological processes and welfare. **Applied Animal Behaviour Science**, Edinburgh, v.67, p. 15-33, 2000.

WATTS, J.M.; STOOKEY, J.M.; SCHMUTZ, S.M.; WALTZ, C.S. Variability in vocal and behavioural responses to visual isolation between full-sibling families of beef calves. **Applied Animal Behaviour Science**, Edinburgh, v.70, p. 255-273, 2001.

WEARY, D.M.; JASPER, J.; HOTZEL, M.J. Understanding weaning distress. **Applied Animal Behaviour Science**, Edinburgh, v.110, p. 24-41, 2008.

YANCHEV, I.; MONEVA, P.; GUDEV, D.; POPOVA-RALCHEVA, S.; PEEVA, T.; PENCHEV, P.; ILIEVA, I. Effect of weaning on some plasma metabolites in black-and-white calves fed diets with or without supplemental chromium picolinate. **Bulgarian Journal of Agricultural Science**, Tsarigradsko, v.14, p.329-334, 2008