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

**Alterações metabólicas em bezerros leiteiros em função do manejo
alimentar e do desaleitamento**

Carla Maris Machado Bittar

Piracicaba - SP
2014

Carla Maris Machado Bittar
Engenheira Agrônoma

Alterações metabólicas em bezerros leiteiros em função do manejo alimentar e do desaleitamento

Tese apresentada à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Livre Docente.

Área de concentração: Bioquímica e Metabolismo Animal

Piracicaba - SP
2014

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: Bittar, Carla Maris Machado

Título: Alterações metabólicas em bezerros leiteiros em função do manejo alimentar e do desaleitamento

Tese apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Livre Docente.

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof.

Dr.: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof.

Dr.: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof.

Dr.: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof.

Dr.: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof.

Dr.: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Ao meu pai, por ter mudado o que poderia ter sido a minha história.

Aos meus filhos, pela renovação diária e comprovação desta mudança.

AGRADECIMENTOS

Ao meu querido Prof. Maurício Molgilnik (*in memorian*), em nome do Colégio Equipe, pela minha formação básica e pelo exemplo de docência, amor pela profissão e por seus alunos.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, esta Escola gloriosa, por abrir portas de um novo mundo a todos os jovens que aqui chegam com um sonho e mostrar que ele pode se realizar! A todos os mestres que tive nesta Escola, não só no Departamento de Zootecnia, no qual permaneci, mas àqueles que mesmo em áreas distantes foram tão inspiradores. Muito obrigada!

Aos meus orientadores de pós-graduação, Prof. John Tal Huber e Prof. Flávio Augusto Portela Santos, pelas inúmeras oportunidades, pela confiança e por todo aconselhamento no direcionamento profissional. *Bear Down!*

Àqueles que colaboraram com o estabelecimento do grupo de pesquisa por mim liderado, seja enquanto pesquisadora da Embrapa Pecuária Sudeste, seja de volta a ESALQ como orientadora pontual e depois como docente do Departamento de Zootecnia.

Às agências de fomento (CNPq, Fapesp, Capes, *International Foundation for Science*) e empresas privadas do setor de produção animal (Agrocere, Guabi, DeLaval, Ouro Fino, Fazenda Agrindus, Fazenda Colorado e Agropecuária 2N), pela aprovação de recursos e/ou parceria na condução de pesquisas.

Aos meus colegas do Departamento de Zootecnia, docentes e funcionários, por toda a confiança e credibilidade, discussões técnicas e oportunidade de compartilhar esta jornada com vocês. Tenho aprendido todos os dias!

Por último, mas talvez o mais importante, agradeço aos meus orientados de graduação e pós-graduação, por também acreditarem que tudo vai dar certo no final...

SUMÁRIO

Resumo	11
Abstract	12
1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 Sistemas de aleitamento	15
2.2 Desaleitamento de bezerros leiteiros	18
2.3 Desenvolvimento ruminal e sua relação com a dieta sólida	26
2.4 Referências	36
3 Alterações no metabolismo energético e no desempenho de bezerros leiteiros em programas de aleitamento intensivo ou convencional	43
3.1 Objetivos	43
3.2 Material e Métodos	43
3.3 Resultados e discussão	47
3.4 Conclusões	60
3.5 Referências	61
4 Substituição de milho por co-produtos no concentrado de bezerros leiteiros: efeitos no desempenho e metabolismo	65
4.1 Objetivos	65
4.2 Material e métodos	65
4.3 Resultados e discussão	71
4.3.1 Experimento 1: Efeito da substituição do milho por polpa cítrica no concentrado inicial sobre o desempenho e alterações no metabolismo energético de bezerros leiteiros	71
4.3.2 Experimento 2: Efeito de doses crescentes de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial sobre o desempenho e alterações no metabolismo energético de bezerros leiteiros	85
4.3.3 Experimento 3: Efeito da substituição do milho por melaço de cana ou xarope de glicose no concentrado inicial sobre o desempenho e alterações no metabolismo energético de bezerros leiteiros	105
4.4 Conclusões	125
4.5 Referências	126

5 Alterações metabólicas e comportamentais em bezerros leiteiros em função do estresse em resposta ao desaleitamento gradual ou abrupto ...	137
5.1 Objetivos	137
5.2 Materiais métodos	137
5.3 Resultados e discussão	142
5.4 Conclusões	174
5.5 Referências	174
6 Considerações gerais e perspectivas futuras.....	179

Resumo

Esta tese compila dados de pesquisa gerados no Departamento de Zootecnia e tem como objetivo relatar alterações no desempenho e metabolismo de bezerros leiteiros em função do manejo alimentar. Os animais ruminantes nascem com rúmen afuncional, sendo o seu desenvolvimento dependente do consumo de dieta sólida e conseqüente produção de ácidos graxos de cadeia curta. O período de transição dos animais da condição de pré-ruminante para ruminante funcional é acompanhado não só por alterações anatômico- fisiológicas no rúmen, mas também no metabolismo geral dos animais, com alterações nas concentrações de alguns metabólitos plasmáticos. No entanto, o consumo de concentrado, embora seja uma característica multifatorial, está forte e inversamente relacionada com o fornecimento de maiores volumes de dieta líquida, o que é hoje preconizado na literatura como maneira de se aumentar o potencial de produção de fêmeas de reposição. Além disso, a composição, conseqüente perfil de fermentação e o método de desaleitamento, afetam o consumo de concentrado. Dessa forma foram conduzidos três estudos com animais em aleitamento: 1) Alterações no metabolismo energético e no desempenho de bezerros leiteiros em programas de aleitamento intensivo ou convencional; 2) Substituição de milho por co-produtos no concentrado de bezerros leiteiros: efeitos no desempenho e metabolismo; sendo avaliadas as inclusões de polpa cítrica, glicerina bruta, melaço ou xarope de milho no concentrado inicial de animais em aleitamento convencional em três experimentos distintos; e 3) Alterações metabólicas e comportamentais em bezerros leiteiros em função do estresse em resposta ao desaleitamento gradual ou abrupto. O fornecimento de maiores quantidades de dieta líquida não alterou o desempenho ou o metabolismo dos animais, uma vez que o consumo de concentrado foi reduzido. Animais aleitados com quantidades restritas de leite compensam o menor consumo de energia, aumentando o consumo de concentrado rapidamente, de forma que apresentaram desempenho semelhante aos animais em aleitamento intensivo ou programado. O consumo de diferentes fontes de energia, os quais resultam na produção de AGCC, tem relação direta com o desenvolvimento ruminal e a transição do animal da condição de pré-ruminante para ruminal funcional. Os efeitos mais importantes observados foram àqueles relacionados às alterações no perfil de fermentação ruminal em função da composição do concentrado fornecido. No entanto, a maior parte das alterações se deveu ao aumento no consumo de concentrado com a idade do animal, sugerindo que a composição tem efeito indireto no processo. O entendimento de fatores que determinam consumo de concentrado em bezerros em aleitamento será importante para melhorias no desempenho animal. O método de desaleitamento não teve influência no desempenho, metabolismo e bem estar dos animais. No entanto, o nível de consumo teve influência no desempenho e parâmetros sanguíneos dos bezerros, com melhores resultados observados em animais com maior consumo na quinta semana de vida. Aparentemente outros fatores além do fornecimento do leite afetam o consumo de concentrado de bezerros, de forma que a adoção da técnica de desaleitamento gradual não foi efetiva quando o bezerro já apresentava baixo consumo na 5ª semana de vida.

Palavras-chave: Aleitamento; Consumo; Concentrado; Desaleitamento; Desenvolvimento ruminal

Abstract

This thesis compiles research data generated in the Department of Animal Science and aims to report changes in performance and metabolism of dairy calves according to the feed management. Ruminant animals are born with undeveloped rumen, and the development process depends on the solid diet consumption and consequent production of short chain fatty acids (SCFA). The transition from the pre-ruminant to ruminant condition is accompanied not only by anatomic and physiological changes in the rumen, but also in the general animal metabolism, with changes in some plasma metabolites concentrations. However, concentrate intake, although is a multifactorial characteristic, is close and inversely related to the provision of large volumes of liquid diet, which is now recommended in the literature as a way to increase the replacement heifers potential production. Moreover, the composition, resulting fermentation profile and the weaning method, have an effect on concentrate intake. Thus three studies with dairy calves have been conducted: 1) Changes in energy metabolism and performance of dairy calves in intensive or conventional feeding programs; 2) Replacement of corn by co-products in dairy calves starter concentrate: effects on performance and metabolism; being evaluated the inclusion of citrus pulp, crude glycerin, molasses or corn syrup in the concentrate of animals in conventional feeding, in three separate experiments; and 3) Metabolic and behavioral changes in dairy calves as a function of stress in response to gradual or abrupt weaning. The provision of larger amounts of liquid diet did not affect performance or metabolism of the animals, since the concentrate intake was reduced. Animals fed with restricted quantities of liquid diet outweigh the lowest energy consumption, increasing consumption of concentrate, in a way that performance was similar to animals fed on intensive or programmed feeding management. The consumption of different energy sources, which result in the production of SCFA, has direct relationship with rumen development and transition of the animal from pre-ruminant to ruminant. The most important effects observed were those related to changes in ruminal fermentation profile depending on the composition of the concentrate fed. However, most of the changes were due to the increased concentrate intake as animal aged, suggesting that the composition has an indirect effect on the process. Understanding the factors that determine concentrate intake on milk-fed calves is important for improvements in animal performance. The weaning method had no influence on performance, metabolism and animal welfare. However, the intake level affected performance and blood parameters of calves, with better results seen in animals with higher consumption in the fifth week of life. Apparently factors other than the supply of milk affect concentrate intake, so the adoption of gradual weaning was not effective when the calf has had low consumption in the 5th week of life.

Key-words: Concentrate; Intake; Milk-feeding period; Rumen development; Weaning

1 INTRODUÇÃO

O manejo alimentar de bezerros leiteiros tem influência marcante na velocidade com que estes animais passam da condição de pré-ruminantes para ruminantes funcionais. O desenvolvimento ruminal é dependente de uma série de fatores, sendo o consumo de alimento concentrado o mais importante. A presença de substrato, aliada a colonização do rúmen por microorganismos, inicia os processos de fermentação com produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), os quais são responsáveis pelo aumento do índice mitótico do tecido epitelial ruminal. Além disso, a presença desses produtos finais de fermentação dispara a maturação do aparato enzimático da parede do rúmen, uma vez que estes ácidos precisam ser absorvidos e metabolizados. Ainda, a exemplo do que ocorre com o ruminante adulto, a dependência do animal por glicose como fonte de energia vai sendo reduzida, à medida que tecidos periféricos passam a utilizar outros metabólitos nos processos oxidativos.

Muitas pesquisas foram desenvolvidas desde 1950 com o objetivo de se entender o processo de desenvolvimento ruminal, quando se estabeleceu o manejo alimentar tradicional: fornecimento de dieta líquida na taxa de 10% peso ao nascer, além de concentrado inicial e água a vontade. Este manejo alimentar tem como objetivo principal o estímulo ao consumo de concentrado, sendo fornecidos reduzidos volumes de dieta líquida, o que permite o desaleitamento precoce dos animais. Além disso, a redução de custo associado à alimentação é o principal objetivo dos sistemas de desaleitamento precoce de bezerros.

Já nos anos 2000, dados de pesquisa demonstraram que os reduzidos volumes de dieta líquida fornecidos são quase que totalmente utilizados para atender as exigências de manutenção do animal, não permitindo altas taxas de desempenho. Assim, pequenos aumentos no fornecimento de dieta líquida resultam em aumentos significativos no ganho de peso de bezerros. Além disso, mais recentemente, alguns estudos demonstraram que as altas taxas de ganho no período de aleitamento podem resultar em aumento no potencial de produção de leite deste animal, não só durante primeira lactação, mas em toda sua vida produtiva. Estes dados tem levado produtores de todo o mundo a fornecer maiores volumes de dieta líquida.

Entretanto, esta tomada de decisão tem duas importantes conseqüências. A primeira é a necessidade de fornecimento de dieta líquida adequada no que se refere a sua composição em energia e proteína, para altas taxas de crescimento, de forma que o investimento traga retorno futuro. E a segunda, adequações no processo de desaleitamento dos animais, uma vez que o consumo de concentrado está negativamente relacionado ao consumo de dieta líquida.

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, assim como por parâmetros sanguíneos, os quais tem se mostrado eficientes em detectar respostas fisiológicas. 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 gradual. 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.

O estresse ao desaleitamento está relacionado ao consumo de energia e ao desenvolvimento ruminal adequado, o que em última instância definirá o desempenho animal no período pós-desaleitamento. A composição do concentrado está intimamente relacionada ao seu consumo voluntário e ao seu perfil de fermentação. Uma vez que os AGCC são responsáveis pelo desenvolvimento ruminal, a manipulação da composição do concentrado pode auxiliar na aceleração das alterações de metabolismo necessárias para adequado desaleitamento, independentemente do sistema de aleitamento utilizado.

Esta tese compila dados de pesquisa gerados no Departamento de Zootecnia da Esalq com objetivo de avaliar alterações no metabolismo de bezerros leiteiros em resposta ao manejo nutricional e ao processo de desaleitamento adotado.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Sistemas de aleitamento

O interesse em programas que possibilitem a aceleração do processo de criação de animais de reposição tem aumentado, principalmente devido ao pouco retorno financeiro relacionado a estes animais durante os primeiros anos de vida e a crescente demanda nos sistemas de produção de leite.

O sistema de manejo de alimentação de bezerras mais comumente empregado por produtores de leite baseia-se no fornecimento de leite integral, normalmente leite descarte, ou substituto de leite (sucedâneo) diluído a 12,5% de MS, fornecidos no volume de 10% do peso vivo da bezerra (tradicionalmente 4 litros), divididos em duas refeições. Entretanto, de acordo com Van Amburgh & Drackley (2005), esta quantidade padronizada de dieta líquida fornecida aos animais muitas vezes atende apenas as exigências de manutenção, não permitindo altas taxas de crescimento.

Embora o custo de produção possa ser reduzido com o fornecimento de menores quantidades de leite, volumes inferiores a 4L não fornecem nutrientes suficientes para desempenho adequado devido ao baixo consumo de energia e proteína, conforme os dados do NRC (2001, Tabela 1).

Tabela 1. Potencial de ganho de acordo com a quantidade de leite fornecida.

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

Baseado em equações do NRC (2001).

A quantidade de leite a ser fornecida às bezerras tem se tornado um tema polêmico devido a novos programas de alimentação desenvolvidos por companhias de sucedâneos e por Universidades americanas. Estes programas sugerem fornecimento de maiores quantidades de sucedâneo durante as duas primeiras semanas de vida da bezerra, de forma a obter ganhos de até 900g/d

(Diaz et al., 2001), já que neste período os animais apresentam maior eficiência de ganho.

Estudos mais recentes mostraram que o crescimento de bezerras e o ganho de peso no período de aleitamento podem ser melhorados quando os animais são alimentados com maiores quantidades de dieta líquida durante este período (Raeth-Knight et al., 2009). Além disso, maiores taxas de crescimento durante os primeiros estágios da vida do animal podem ser mais rentáveis e compensar o investimento, por resultar em animais maiores para o período de crescimento pós-desaleitamento (Davis & Drackley, 1998).

Existem basicamente três sistemas de aleitamento de bezerras para crescimento mais acelerado ou considerado como biologicamente normal: 1) Ad libitum: com fornecimento de dieta líquida à vontade, sem limitações; 2) Intensivo: fornecimento de maior volume de leite desde as primeiras semanas (entre 10 e 20% do PV); e 3) Programado (Step-up/step-down): com fornecimento de dieta líquida variável de acordo com o crescimento ou a idade, de forma a estimular o consumo de concentrado ao final do período, preparando o animal para o desaleitamento.

A atual edição do NRC para gado leiteiro (2001) apresenta as exigências de bezerras em aleitamento para manutenção. Dessa forma, para que uma taxa de crescimento ideal seja alcançada, deve-se fornecer aos animais alimentos em quantidade e qualidade adequados aos requerimentos nutricionais. Baseado nisso, Van Amburgh & Drackley (2005), reuniram os principais trabalhos publicados sobre o tema nos últimos anos e verificaram que as exigências energéticas por unidade de ganho para crescimento de bezerras, baseadas em dados provenientes da composição corporal, apresentadas pelo NRC (2001) estão subestimadas, e sugerem novos valores (Tabela 2). Estas exigências são interessantes porque reforçam a idéia de que a vaca iria fornecer normalmente para a bezerra a combinação adequada de proteínas e energia necessária para o animal.

Durante muitos anos, o sistema de aleitamento mais recomendado por técnicos e pesquisadores de todo o mundo, inclusive do Brasil, foi o de desaleitamento precoce, devido à facilidade de manejo e principalmente por reduzir os custos de produção destes animais. Entretanto, umas das áreas mais exploradas atualmente em pesquisas com animais em crescimento tenta

encontrar uma relação concreta entre os benefícios da adoção de programa de alimentação intensiva de bezerras durante o aleitamento e seus efeitos em longo prazo, ou seja, na produtividade futura.

Tabela 2 - Exigências nutricionais e eficiência estimada para bezerras de 50 kg utilizando modificações de Cornell-Illinois de equações do NRC (2001).

Ganho, g/dia	Consumo de MS, % PV	EM, Mcal/d	PB, g/d	PB, % MS da dieta	Eficiência estimada
200	1,05	2,34	94	18,0	0,38
400	1,30	2,89	150	22,4	0,63
600	1,57	3,49	207	26,6	0,77
800	1,84	4,40	253	27,4	0,86
1000	2,30	4,80	318	28,6	0,87

Estudos com diversas espécies animais demonstram que a nutrição durante os primeiros meses de vida apresenta significativos efeitos em longo prazo. Existem vários estudos publicados que mostram que o potencial de produção de leite pode estar relacionado a efeitos do consumo controlado ou alimentação ad libitum do nascimento até os 42 ou 56 dias de vida. De acordo com estes estudos, o aumento no consumo de nutrientes antes dos 56 dias de vida resultou em aumentos da produção de leite durante a primeira lactação, que variaram de 450 a 1500 kg a mais, quando comparados com bezerras alimentadas com dieta mais restrita durante o mesmo período (Tabela 3).

Embora, ainda durante um tempo se entendeu como o maior benefício do aleitamento intensivo a redução na idade ao primeiro parto e entrada mais precoce em produção, o trabalho de Soberon et al. (2012) comprovou efeitos no potencial de produção a partir da avaliação de dados de 1.867 lactações. A equipe de VanAmburgh da Cornell University sugere que para cada 1 kg de ganho diário de peso ocorra um aumento em 970 kg na produção da 1ª. Lactação. Segundo os autores, o ganho de peso durante o período de aleitamento responde por aproximadamente 20% da produção de leite futura destes animais. No entanto, estes dados foram obtidos com animais aleitados com sucedâneo contendo 28% de proteína e 15% de gordura, produto não disponível no mercado nacional. Outros trabalhos mostram a importância da adequada relação

proteína:energia na composição do ganho em animais em aleitamento intensivo (Blome et al., 2003; Bartlett et al., 2006; Hill et al., 2008)

Tabela 3 - Produção de leite em resposta ao aumento no fornecimento de nutrientes via leite ou sucedâneo lácteo

<i>Estudo</i>	<i>Diferença em relação ao controle, kg</i>
Foldager & Krohn, 1991	1405 ^s
Foldager et al., 1997	519 ^t
Bar-Peled et al., 1998	453 ^t
Ballard et al., 2005 (200 DEL)	700 ^s
Drackley et al., 2007	835 ^s
Raith-Knight et al., 2009	718 ^{ns}
Terre et al., 2009	624 ^{ns}
Morrison et al., 2009	0 ^{ns}
Davis-Rincker et al., 2011	416 ^{ns}
Soberon et al., 2012	552 ^s

Assim, vários resultados de pesquisa comprovam que o aleitamento intensivo pode ter efeitos em longo prazo sobre o desempenho dos animais, podendo ser uma boa estratégia de alimentação, contrapondo o sistema de desaleitamento precoce tradicionalmente utilizado.

2.2 Desaleitamento 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).

Segundo Quigley (1996 b), do ponto de vista fisiológico, o animal está pronto para o desaleitamento quando atinge o consumo de 700 g/d de concentrado durante três dias consecutivos. Fatores como a forma física do concentrado, tamanho do animal, disponibilidade de água e qualidade da dieta líquida (fonte de proteína), afetam o consumo de concentrado de bezerros. Entretanto, a quantidade de leite, ou substituto, fornecida ao animal parece ser o mais importante. O trabalho de Tomkins et al. (1995) demonstrou que embora o consumo de concentrado apresentasse tênues aumentos, não houve acréscimos significativos até que a quantidade de MS, proveniente de substituto de leite, fosse reduzida. Entretanto, Jenny et al. (1982) já haviam demonstrado que o volume de dieta líquida e não a quantidade de MS proveniente desta, é que afeta o consumo de concentrado em bezerros jovens.

Observa-se a campo que pelo menos três diferentes critérios para o desaleitamento são utilizados por produtores, sendo eles: 1) consumo de concentrado; 2) idade do animal; e 3) peso do animal.

A utilização do consumo diário como critério de desaleitamento tem limitações uma vez que o consumo em uma determinada idade depende do peso do animal. Leaver & Yarrow (1972) compararam três níveis de consumo para o desaleitamento e observaram que o consumo de 400 g/d foi adequado e reduziu dias ao desaleitamento quando comparado com consumos de 650 e 900 g/d. No entanto, o uso deste critério parece inadequado quando se compara o consumo de animais de raça de porte diferente (Holandês vs. Jersey). O critério consumo fixo para desaleitamento implica em bezerros mais leves devendo apresentar um consumo maior em percentagem de seu peso vivo, sugerindo-se que as recomendações devessem se basear em consumo como % de peso ao nascer (PN).

Assim, Greenwood et al. (1997) testaram 3 níveis de consumo em % do peso ao nascer (PN) (1, 1,5 e 2%) como critério de desaleitamento, com o objetivo de reduzir a variação na idade a desaleitamento. Os autores observaram um aumento no número de dias para a desaleitamento com o aumento na meta

de consumo em % PN. Entretanto, o número de dias necessários para que o consumo fosse de 1,5 e 2% PN não foi estatisticamente diferente, demonstrando que pode haver um platô para o consumo necessário ao desaleitamento. O ganho de peso dos animais desaleitados em idade mais jovem (1% PN) não foi negativamente afetado uma vez que apresentou o maior consumo total de concentrado.

No entanto, o desaleitamento vem sendo realizado baseado na idade do animal, idade esta em que o consumo deve ter alcançado níveis adequados. Um levantamento americano mostra que 43% dos produtores adotam a idade do animal como critério de desaleitamento, enquanto que 26,4 e 26,9 adotam o peso animal e o consumo de grãos, respectivamente. O restante dos produtores (3,7%) adota outros critérios não mencionados no levantamento (National Animal Health Monitoring System, 1993). Adotando-se estes critérios, a idade média de bezerros na ocasião da desaleitamento é de 7,9 ($\pm 0,1$) semanas. Entretanto, segundo Quigley (1999) a maior parte dos animais recebendo quantidades limitadas de leite apresentará consumo de concentrado suficiente para manter o funcionamento do rúmen com aproximadamente 28 dias, quando há disponibilidade deste desde os primeiros dias de vida. Segundo o autor, o aumento no consumo de concentrado apresenta uma tendência associada à limitação da dieta líquida e o aumento na idade do animal.

Em sua revisão, Kertz e Chester-Jones (2004), reunindo cerca de 24 experimentos publicados no *Journal of Dairy Science* entre os anos de 1998 a 2002 verificaram que em condições experimentais, o desaleitamento ocorria entre 28 e 60 dias após o nascimento, com média de 44 dias, sendo adotados diferentes critérios de desaleitamento. Entretanto, os dados mais recentes publicados pelo National Animal Health Monitoring System (NAHMS, 2003) mostram que o desaleitamento nos Estados Unidos é realizado principalmente de acordo com a idade dos animais. Segundo o levantamento, a idade ao desaleitamento tem evoluído pouco ao longo dos anos, permanecendo sempre ao redor de oito semanas após o nascimento. No Brasil, a idade fixa como critério também é adotada em muitas propriedades, entretanto o país não possui levantamento de dados oficiais em relação a este parâmetro.

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.

Winter (1985) comparou o desempenho de animais desaleitados de forma abrupta com 3, 5 e 7 semanas de vida e não observou efeito negativo no desempenho dos animais em função de idade de desaleitamento. O grupo desaleitado em idade mais jovem apresentou ganho de peso reduzido nas duas semanas seguintes a desaleitamento. Entretanto, nas semanas seguintes o ganho de peso foi comparável ao ganho dos outros grupos. Os dados de digestibilidade da dieta, assim como os dados de produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no rúmen na semana da desaleitamento, não foram diferentes quando se comparou a idade a desaleitamento. Segundo os autores, estes dados indicam que animais recebendo dieta com alta energia desenvolvem a capacidade de digestão de alimento tão cedo quanto à 3ª semana de vida, permitindo uma desaleitamento precoce.

Em dois trabalhos, Quigley et al. (1991 a e b) avaliaram os efeitos de idade ao desaleitamento e consumo de matéria seca nos parâmetros sanguíneos de bezerros. Os animais foram desaleitados com 28 ou 56 dias de vida, recebendo concentrado a partir da primeira semana (28 d) ou apenas após 28 dias de vida (56d), até o consumo atingir 2,7 kg/d, quando também passaram a receber feno de alfafa. O desempenho animal não foi diferente entre os tratamentos e as diferenças no consumo de fontes de nutrientes (leite x grão) refletiram o tratamento adotado. Houve tendência de menor concentração de glicose plasmática em animais desaleitados em idade mais jovem. As concentrações de glicose foram inicialmente típicas de animais monogástricos, mas chegaram a valores mais baixos por volta da 9ª semana. As concentrações de ácidos graxos livres não foram afetadas pela idade ao desaleitamento ou consumo de concentrado no período total, mas foram menores para bezerros desaleitados aos 28d no período entre 5 e 8 semanas. Por outro lado, as concentrações de BHBA foram maiores em bezerros desaleitados aos 28d durante todo o período experimental, estando fortemente relacionadas ao consumo de concentrado. As

concentrações de AGCC plasmáticos foram praticamente inalteradas durante as 3 primeiras semanas em ambos grupos, aumentando rapidamente após a 4ª semana nos animais desaleitados em idade mais jovem. As concentrações de AGVCC também foram altamente correlacionadas com consumo de concentrado, indicando que seu aumento foi consequência de fermentação de substrato no rúmen. As concentrações de cada AGCC foram aumentadas após o desaleitamento e as concentrações de acetato e butirato foram superiores para animais desaleitamentos aos 28d. O aumento nas concentrações de propionato no plasma após a desaleitamento indica um aumento na contribuição de glicose circulante a partir de gluconeogênese, condição típica de animal ruminante. As mudanças nas concentrações de metabólitos plasmáticos foram indicativas do desenvolvimento ruminal em termos de capacidade fermentativa, e sugerem que ocorre uma rápida adaptação fisiológica após a desaleitamento precoce.

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.

A desaleitamento é um fator de estresse para o bezerro o qual é forçado a várias mudanças: 1) sua principal fonte de nutrientes muda da forma líquida para a forma sólida; 2) a quantidade de matéria seca que o animal recebe é diminuída com o não fornecimento do leite; 3) o bezerro deve se adaptar ao tipo de digestão e fermentação própria de ruminantes; 4) mudanças de manejo e instalações geralmente ocorrem juntamente com a desaleitamento (Quigley, 1996 a). Segundo Morrill (1999), a maior parte dos produtores superestima a maturidade do animal no período de transição (logo após a desaleitamento), um dos períodos de maior estresse na vida animal. O autor frisa que bons programas de manejo para bezerros em período de transição devem ser desenvolvidos baseados principalmente na redução de estresse imposto ao animal. É de primordial importância que práticas como descorna, castração (no caso de machos),

mudança no tipo de concentrado, e de instalações, não ocorram no mesmo dia da desaleitamento. A desaleitamento por si só é um grande fator de estresse.

A adaptação do animal à fermentação ruminal é essencial para que a taxa de crescimento animal não seja afetada. Para isso, o animal deve ter o rúmen parcialmente desenvolvido e capaz de absorver e metabolizar produtos finais da fermentação antes do desaleitamento.

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).

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 et al., 2008).

Diferente do que ocorre nas raças especializadas para corte, em que muitos dos efeitos do desaleitamento tem sido associados também a separação da mãe (Haley et al., 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 et al., 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 4). 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 ganho 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, perderam 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) .

O estresse ao desaleitamento desencadeia uma série de respostas pelo animal, como comportamentais e fisiológicas. Ocorrem alterações comportamentais, como aumento de vocalização e atividade motora, realização de mamada não-nutritiva (Nielsen et al., 2008; De Passilé et al. 2010), além de

expressar comportamentos relacionados a frustração e expectativa de receber a dieta líquida (Budzynska e Weary, 2008), como se manter em pé e com a cabeça erguida durante os horários de aleitamento. Budzynska e Weary (2008) 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.

Tabela 4 - 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

No entanto, 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. Desta forma, associações entre medidas de comportamento e métodos que detectem sinais fisiológicos de manifestação de estresse como taxa respiratória, concentrações de cortisol, glicose e proteínas de fase aguda tem se mostrado úteis (Lomborg et al. 2008).

O consumo de energia, associado a adaptação do animal à fermentação ruminal é essencial para que a taxa de crescimento animal não seja afetada após o desaleitamento. Para isso, o animal deve ter o rúmen parcialmente

desenvolvido e capaz de absorver e metabolizar produtos finais da fermentação antes do desaleitamento.

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. A adaptação do animal à fermentação ruminal é essencial para que a taxa de crescimento animal não seja afetada. Para isso, o animal deve ter o rúmen parcialmente desenvolvido e capaz de absorver e metabolizar produtos finais da fermentação antes da desmama.

2.3 Desenvolvimento ruminal e sua relação com a dieta sólida

O sistema digestório de bezerros inicia seu desenvolvimento no estágio embrionário, onde os compartimentos do estômago (retículo, rúmen, omaso e abomaso), característicos de animais ruminantes, são claramente visíveis cerca de 56 dias após a concepção (Davis & Drackley, 1998).

Ao nascimento, os animais ruminantes apresentam características na digestão de alimentos típicas de animais monogástricos, sendo, nesta fase, o abomaso e o intestino, os principais órgãos de digestão. Entretanto, apesar do desenvolvimento rudimentar, a presença do retículo-rúmen e do omaso os distinguem destes animais.

De acordo com Beharka et al. (1998) o desenvolvimento de animais recém nascidos à condição de ruminante funcional envolve uma série de mudanças anatômicas e fisiológicas do aparelho digestório. Segundo os autores, embora esse desenvolvimento seja inato, a idade tem pouca influência no processo de maturação do epitélio ruminal e no desenvolvimento de papilas ruminais, estruturas importantes para a absorção dos produtos finais resultantes da fermentação microbiana.

Em recente revisão, Eastridge (2006) relata que um grande número de trabalhos tem investigado os fatores que afetam o desenvolvimento ruminal em bezerros.

Trabalhos pioneiros desenvolvidos nas décadas de 50 e 60 observaram que ao nascer, o retículo, o rúmen e o omaso dos ruminantes apresentam-se não funcionais, com tamanho inferior quando comparados ao abomaso, diferentes do

sistema digestório do ruminante adulto (Warner et al., 1956; Tamate et al., 1962). Ao nascimento, as proporções dos compartimentos são entre 35%, 14% e 51%, para retículo-rúmen, omaso e abomaso, respectivamente. Resultados destes trabalhos mostraram que o crescimento de papilas, vascularização e estrutura muscular do rúmen são mínimos ou inexistentes durante as primeiras semanas de vida (Warner et al., 1956; Church, 1988). Dessa forma, ensaios experimentais mostraram que animais ruminantes requerem um desenvolvimento físico e funcional do rúmen, demandado por um desejo inato de consumo de alimentos secos.

De acordo com Davis & Drackley (1998), entre 12-16 semanas de idade, os compartimentos do trato digestório superior de bezerros apresentam proporções semelhantes ao de um animal adulto. Segundo os autores, estas proporções são 67%, 18% e 15% para retículo-rúmen, omaso e abomaso, respectivamente, em termos de peso do tecido. A Tabela 5 apresenta a evolução na proporção e no peso dos compartimentos do trato digestório superior de bezerros.

Tabela 5 - Porcentagem na proporção e peso dos compartimentos do trato digestório superior de bezerros durante semanas de desenvolvimento

	Semanas						
	0	2	4	8	12	17	Adulto
Retículo-rúmen, %	35	40	55	65	66	68	62
Retículo-rúmen, g	95	180	335	770	1.150	2.040	4.540
Omaso, %	14	15	11	14	15	18	24
Omaso, g	40	65	70	160	265	550	1.800
Abomaso, %	51	45	34	21	19	14	14
Abomaso, g	140	200	210	250	330	425	1.030

Adaptado de Lyford (1988)

Tamate et al. (1962) avaliaram o desenvolvimento de bezerros leiteiros sob manejo usual, alimentados com leite, concentrado e feno, e observaram que o desenvolvimento do retículo-rúmen ocorre por volta da quarta semana de idade. Segundo os autores, na oitava semana os compartimentos já ocupam grande parte da cavidade abdominal. Resultados semelhantes foram obtidos por Carvalho et al. (2003), que observaram a inversão nas proporções dos

compartimentos retículo-rúmen e abomaso antes dos 50 dias de idade em bezerros desaleitados precocemente.

De acordo com Quigley (1996a), para que o desenvolvimento do sistema digestório do recém-nascido ocorra, o estabelecimento de microrganismos no rúmen, a presença de líquido, o fluxo de material para fora do rúmen, o desenvolvimento da capacidade de absorção do tecido e a disponibilidade de substrato são essenciais.

No momento do nascimento, o rúmen é estéril, ou seja, bactérias ou outros microrganismos são ausentes. Entretanto, com um dia de idade, grande concentração de bactérias aeróbicas pode ser encontrada (Quigley, 1996a). Com o avanço da idade, o número e o tipo de bactérias se alteram com o consumo de matéria seca e mudanças na fermentação do substrato. Antes do início do consumo de alimentos secos, porém, existe no rúmen a fermentação de outros produtos ingeridos, como pêlo, cama ou leite vindo do abomaso. Portanto, a mudança no número e tipos de bactérias está sempre associada ao tipo de substrato consumido (Lengemann & Allen, 1959).

De acordo com Beharka et al. (1998), a maior parte das bactérias presentes no rúmen de animais com até três semanas é diferente daquela encontrada em animais adultos. Neste trabalho, bezerros alimentados com concentrado moído apresentaram maior população total de bactérias amilolíticas e celulolíticas quando comparados com animais consumindo dieta mais grosseira. Bryant et al. (1958) já haviam observado diferenças na população microbiana de bezerros com até três semanas de vida em relação a animais adultos. Segundo os autores, foi observada a presença de microrganismos típicos de animais adultos somente após a nona semana de vida dos animais.

A necessidade da presença de líquido está relacionada com a importância do ambiente aquoso para a colonização das bactérias ruminais, ou seja, sem água suficiente, não ocorre crescimento bacteriano e o desenvolvimento ruminal é diminuído. De acordo com Quigley (1996a), devido à formação da goteira esofágica, o fornecimento de leite ou substituto de leite tem pouca influência no fornecimento de líquido ao ambiente ruminal. Dessa forma, a maior parte da água que entra no rúmen provém do livre consumo de água pelo animal. Em um dos poucos trabalhos sobre o assunto, Kertz et al. (1984) observaram aumentos no

consumo de concentrado, ganho de peso e redução de problemas com diarreia em bezerros consumindo água *ad libitum*.

O desenvolvimento da capacidade de regurgitação do material presente no rúmen, para ser remastigado, é necessário para proporcionar um desenvolvimento ruminal adequado. Ao nascer, o rúmen apresenta pouca atividade muscular, e a regurgitação do material inexistente na primeira semana de vida. Trabalhos mostram que quando os animais iniciam o consumo de alimentos secos, como feno ou concentrado inicial, as contrações ruminais podem ser medidas a partir da terceira semana de vida (Van Soest, 1994). Por outro lado, animais consumindo exclusivamente leite apresentam atraso no início das contrações (Quigley, 1996a).

O epitélio ruminal é responsável por importantes funções fisiológicas como absorção, transporte, proteção e metabolismo de AGCC (Gálfi et al., 1991) e durante a transição de pré-ruminante à ruminante funcional, iniciam-se estes processos (Warner et al., 1956). Dessa forma, a presença e absorção destes ácidos são utilizadas como indicativo do metabolismo pelo epitélio ruminal (Baldwin & McLeod, 2000).

Bush (1988) avaliou *in vitro* a produção de produtos finais do metabolismo epitelial em amostras de epitélio de bezerros desaleitados e animais alimentados com leite até os 60 dias. O autor observou que a produção de corpos cetônicos (β -hidroxibutirato e acetoacetato) pelo epitélio de bezerros desaleitados era semelhante à produzida por tecido maduro. Por outro lado, o epitélio dos animais ainda em aleitamento apresentava níveis de produção de cetonas entre 10-15% do valor encontrado nos tecidos maduros.

Um grande número de pesquisas tem indicado que o consumo de alimentos secos e os produtos finais resultantes da fermentação microbiana estimulam o epitélio ruminal (Nocek et al., 1984; Greenwood et al., 1997). Os fatores específicos que envolvem o desenvolvimento do epitélio ruminal têm sido identificados principalmente como a presença dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) resultantes da fermentação microbiana de carboidratos e frações protéicas da dieta. Baldwin & McLeod (2000) destacam que os principais AGCC são metabolizados em diferentes taxas pelo epitélio ruminal. Os efeitos estimulatórios dos diferentes ácidos graxos de cadeia curta não são iguais, sendo verificada maior atividade estimulatória para o ácido butírico, seguida pelo ácido

propiónico, com pouca influência do ácido acético no processo. Resultados deste trabalho mostram que o metabolismo pelo epitélio aumenta com o decréscimo do pH ruminal e aumento nas concentrações de ácido butírico.

Weigand et al. (1972) demonstraram que a taxa de absorção dos principais ácidos graxos ocorre na ordem ácido butírico, ácido propiónico, ácido acético, em condições de pH entre 4,8 e 6,0, se igualando com pH 7,2. Entretanto, segundo os autores, as quantidades transportadas no sangue estão na ordem reversa, ou seja, ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico, demonstrando que a ordem de importância dos AGCC para o desenvolvimento do rúmen é a mesma com que estes ácidos são metabolizados pelo epitélio ruminal.

De acordo com Davis & Drackley (1998), os ácidos butírico e propiónico são os estimuladores primários do crescimento do tecido, em parte por serem extensivamente metabolizados pelo epitélio ruminal durante a absorção. Este metabolismo fornece energia para o crescimento do tecido epitelial e contrações musculares. Adicionalmente, butirato e propionato apresentam diferentes efeitos na proliferação e diferenciação das células do epitélio ruminal. Desse modo, para garantir o crescimento normal dos tecidos dos pré-estômagos, os bezerros devem ser estimulados a consumir alimento seco (concentrado) desde a mais recente idade, uma vez que sua fermentação resulta na produção de ácidos de importância para o processo.

Neste sentido, muitos pesquisadores têm avaliado o efeito dos vários compostos no desenvolvimento do tecido epitelial em relação ao tamanho e número de papilas, e sua habilidade em absorver e metabolizar AGCC (Harrison et al. 1960; Tamate et al., 1962; Quigley, 1996a). A presença contínua dos AGCC mantém o crescimento, tamanho e atividade das papilas ruminais. Entretanto, a composição e o tipo da dieta afeta a taxa e extensão do crescimento epitelial de diferentes formas (Greenwood et al., 1997).

De acordo com Hayashi et al. (2006), com o desenvolvimento do rúmen e o estabelecimento de populações microbianas se tem o início da produção de ácidos graxos de cadeia curta provenientes da fermentação de carboidratos da dieta. Os AGCC produzidos são absorvidos pelo epitélio ruminal do animal que altera sua fonte de energia. Esta alteração resulta no decréscimo da absorção de glicose pelo intestino delgado e aumento da produção de glicose a partir da gluconeogênese (Otterby & Linn, 1981).

Este período é caracterizado por mudanças na absorção intestinal de glicose, ácidos graxos de cadeia longa e aminoácidos provenientes do leite para início da utilização de ácidos graxos de cadeia curta, corpos cetônicos, aminoácidos e proteína microbiana provenientes da fermentação no rúmen (Baldwin et al., 2004). Segundo Weigand et al. (1972), a extensão da conversão do butirato a corpos cetônicos pelo epitélio ruminal é dependente de taxas de absorção pelo tecido, concentração de ácido butírico e pH.

Nussio (2002) relata que com a passagem gradativa do animal de não ruminante para ruminante, a concentração de glicose no sangue diminui enquanto as concentrações de AGCC, acetato e β -hidroxibutirato aumentam. Durante as primeiras semanas de vida, a concentração plasmática de glicose de bezerros passa de concentrações encontradas em animais monogástricos (em torno de 100 mg/dL) a concentrações típicas de animais ruminantes adultos, próximos de 60 mg/dL (Davis & Brown, 1962). A Figura 1 mostra de forma clara a evolução nas concentrações plasmáticas dos principais parâmetros sanguíneos de acordo com o avanço da idade de bezerros.

De acordo com Baldwin et al. (2004), a partir destas mudanças o fígado sofre grandes alterações em sua função, com início de processos de síntese de glicose através de gluconeogênese, de uréia, síntese de proteínas, além de outras importantes funções para o ruminante adulto.

Figura 2.1 - Evolução dos parâmetros sanguíneos de acordo com as semanas de desenvolvimento de bezerros (Adaptado de Engstrom, 2005)

Suárez et al. (2006) observaram variações crescentes nas concentrações plasmáticas de acetato e β -hidroxibutirato com o desenvolvimento ruminal de bezerros. Quigley et al. (1991) avaliaram as mudanças que ocorrem nas concentrações plasmáticas de glicose e β -hidroxibutirato em bezerros desaleitados aos 28 ou 56 dias de idade. As concentrações de glicose plasmática nos bezerros desaleitados mais cedo (aos 28 dias) tenderam a ser menores que as encontradas nos animais desaleitados aos 56 dias. Por outro lado, as concentrações de β -hidroxibutirato apresentaram-se crescentes durante as semanas de experimento, servindo de indicativo do desenvolvimento da função do epitélio ruminal.

A colonização microbiana, disponibilidade de água, além do desenvolvimento da capacidade absorptiva são fatores importantes e sinais de ocorrência de desenvolvimento ruminal. Entretanto, o fator determinante para que isto ocorra é o consumo de alimento sólido o mais cedo possível. Devido à alta taxa de fermentação de grãos, com grande quantidade de carboidratos fermentáveis até ácidos propiônico e butírico, estes são os melhores promotores do desenvolvimento ruminal precoce. Por outro lado, diversos trabalhos mostram que carboidratos estruturais originados de forragens são fermentados até ácido acético, contribuindo pouco para o desenvolvimento ruminal.

A composição química dos concentrados causa desenvolvimento na população microbiana, e conseqüente aumento na produção de ácido butírico e propiônico, que também influenciam na redução do pH ruminal. De acordo com Zitnan et al. (1998), forragens têm habilidade de manter pH ruminal mais elevado, devido ao maior tamanho de partícula e perfil de fermentação. A manutenção de um pH ruminal mais elevado suporta populações microbianas associadas tipicamente com forragens, que por sua vez alteram a produção de butirato e propionato para acetato.

O crescimento normal e desenvolvimento do trato digestório do ruminante podem ser alterados pelo consumo de alimentos concentrados ou volumosos, níveis de inclusão, sua forma física, entre outros fatores. Porém, a composição química e os produtos finais resultantes da fermentação é que tem mostrado maior influência no desenvolvimento do epitélio ruminal (Nocek et al., 1984).

O NRC (2001) recomenda que o concentrado para animais em aleitamento apresente teores aproximados de 18% de proteína bruta (PB) na matéria original, 80% de nutrientes digestíveis totais (NDT), e níveis de FDA entre 6 e 20% e FDN entre 15 e 25%.

O teor de proteína no concentrado de bezerros leiteiros, recomendado pelo NRC, vem sendo questionado por pesquisadores. Segundo Drackley et al. (2003), bezerros consumindo concentrado com 22% de PB apresentaram maior eficiência. No entanto, vários trabalhos mostram que o teor de 18% de PB no concentrado é adequado para bezerros em aleitamento (Hill et al., 1991; Luchini et al., 1991; Akayezu et al., 1994; Hill et al., 2001). Desta forma, tem sido sugerido que concentrados para bezerros contenham 18% de PB na matéria original, utilizando-se de preferência farelo de soja como fonte principal.

Os teores da fração fibra recomendados pelo NRC (2001) devem ser respeitados. Valores superiores as recomendações indicam a inclusão de ingredientes menos nobres no concentrado, que provavelmente resultarão em menor desempenho animal, uma vez que alto teor de fibra está relacionado a baixo teor energético. Por outro lado, teores de FDN ou FDA abaixo da recomendação podem resultar em problemas como acidose ruminal e paraqueratose.

A concentração e o tipo de carboidrato no concentrado inicial tem relação com seu consumo voluntário, com seu perfil de fermentação e consequentemente na sua efetividade em estimular o desenvolvimento ruminal. As fontes de carboidratos mais utilizadas na formulação de concentrados iniciais no Brasil são o milho, o sorgo, farelo de trigo, aveia e o melaço. O milho é o a fonte de carboidrato preferível na formulação de concentrados iniciais por apresentar amido de maior digestibilidade para bezerros em aleitamento quando comparado ao sorgo.

A concentração de amido, além de sua fonte e processamento da mesma, pode alterar o perfil de fermentação ruminal, podendo ou não beneficiar o processo de desenvolvimento ruminal. O processamento de grãos para bezerros leiteiros em período de aleitamento não resultou em benefícios no desempenho ou no metabolismo (Nussio et al., 2003 a e b), como observado nos inúmeros trabalhos com animais adultos. Por outro lado, a concentração e fonte de amido, dependendo da sua taxa de degradação, podem resultar em grandes variações

no consumo voluntário de concentrado (Silva et al., 2011), provavelmente devido a quedas bruscas no pH ruminal de animais com o rúmen em desenvolvimento. A literatura mostra grande variação no consumo de concentrado por bezerros em aleitamento e embora as variações de pH não sejam responsáveis por todo este erro, deve explicar boa parte do mesmo.

Assim, a inclusão de ingredientes alternativos ao milho pode ser adotada com objetivos de aumentar o consumo voluntário, por ter efeito palatilizante, como ocorre com o melaço; ou auxiliar no controle de pH ruminal, por não resultar em fermentação láctica, a exemplo da polpa cítrica; ou ainda alterar o perfil de fermentação de forma a beneficiar o animal do ponto de vista energético, como ocorre com o fornecimento de glicerina bruta ou xarope de milho.

A inclusão de melaço no concentrado inicial de bezerros é realizada nas taxas entre 5 e 12%, sendo o mais comum por volta de 6-8%. Maiores quantidades de melaço no concentrado em substituição ao milho podem resultar em menor tempo de validade do concentrado, empedramento e aparecimento de fungos. Ainda assim, maiores taxas de inclusão podem baratear o custo deste alimento. Lesmeister & Heinrichs (2005) avaliaram a inclusão de 5 e 12% de melaço no concentrado de bezerros em aleitamento e observaram redução no consumo de concentrado e consumo total com a maior inclusão de melaço (12%), assim como o ganho de peso diário dos animais. No entanto, as concentrações de AGCC foram aumentadas em animais consumindo concentrado inicial contendo 12% de melaço os quais, conseqüentemente, tiveram um melhor desenvolvimento ruminal.

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

bezerros em aleitamento. No entanto, alterações no metabolismo dos animais não foram avaliadas neste trabalho.

Suarez et al. (2006a) avaliaram os efeitos de concentrados contendo diferentes fontes de carboidratos sobre o desempenho e parâmetros de fermentação ruminal de bezerros. Foram testados concentrados a base de pectina na formulação, concentrado com alto FDN, concentrado tendo amido como base na formula, uma mistura de todos estas formulações. Foram observados efeitos das dietas no consumo de concentrado, sendo que os animais que consumiam concentrado a base de amido apresentaram menor consumo em relação aos outros tratamentos. Foram observadas também diferenças no ganho de peso, onde os animais consumindo o concentrado a base de FDN ou o misto apresentaram maiores desempenhos. Em relação aos parâmetros de fermentação ruminal, foram observadas menores relações Acetato:Propionato para os animais consumindo dieta a base de amido, e menor para os animais consumindo dieta a base de FDN, mostrando que a fonte de carboidratos também influenciou os parâmetros de fermentação ruminal. Em trabalho subsequente Suarez et al. (2006b) utilizando as mesmas dietas e formulações observaram maior desenvolvimento muscular do rúmen de bezerros consumindo dieta a base de FDN. Também foram observados maiores valores de BHBA no plasma de bezerros consumindo concentrado a base de pectina ou misto com 8 semanas de vida, entretanto, não foram observadas diferenças entre os tratamentos para este parâmetro as 12 semanas de vida.

O potencial de uso da glicerina bruta na alimentação de animais em aleitamento tem sido pouco estudado, embora alguns trabalhos com inclusão deste ingrediente na dieta líquida tenham sido publicados recentemente. Bezerros jovens utilizam a lactose proveniente do leite integral ou de substituto de leite como o principal carboidrato da dieta, já que nas primeiras semanas de vida apresentam capacidade limitada de utilização de polissacarídeos mais complexos como o amido. Em um dos únicos trabalhos conduzidos com a utilização de glicerol para bezerros leiteiros, Ebert et al. (2008) forneceram substituto de leite com a mesma composição, exceto a adição de 15% de glicerol substituindo parte da lactose em um dos tratamentos. Os resultados mostraram que os animais não apresentaram diferenças entre os tratamentos, com ganhos de peso semelhantes ao longo de todo o período experimental. Também não foram verificadas

diferenças significativas nas medidas corporais e em medidas de saúde. Com base nestes resultados, os autores sugerem que o glicerol pode substituir de maneira aceitável pelo menos 37,5% do total de lactose na fórmula do substituto de leite, tornando-se economicamente favorável. Raeth-Knight et al. (2009) também avaliaram a substituição de lactose por glicerol em substituto de leite para bezerros em aleitamento e não observaram redução no ganho de peso e no desenvolvimento corporal quando esta substituição foi por até 35% de glicerol na MS ou 46% em relação ao teor de lactose do tratamento controle.

A formulação de concentrados com ingredientes de boa qualidade e com altos coeficientes de digestibilidade para bezerros jovens é extremamente importante para o adequado desempenho animal e sucesso do desaleitamento precoce. A inclusão de co-produtos na formulação de concentrados iniciais, em substituição ao milho, sem que ocorram prejuízos ao desempenho animal ou alterações negativas no metabolismo podem ser interessantes.

2.4 Referências

- AKAYEZU, J. M.; LINN, J. G.; OTTERBY, D. E.; HANSEN, W. P.; JOHNSON, D. G. Evaluation of calf starters containing different amounts of crude protein for growth of Holstein calves. **Journal of Dairy Science**, v.77, p.1882-1889, 1994.
- BALDWIN, R. L.; VI, MCLEOD, K. R. Effects of diet forage:concentrate ratio and metabolizable energy intake on isolated rumen epithelial cell metabolism in vitro. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 78, p. 771-783, 2000.
- 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. 87, p.55-65, 2004.
- BARTLETT, K.S.; McKEITH, F.K.; VandeHAAR, M.J.; DAHL, G.E.; DRACKLEY, J.K. Growth and body composition of dairy calves fed milk replacers containing different amounts of protein at two feeding rates. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, p. 1454-1467, 2006.
- BEHARKA, A. A.; NAGARAJA, T. G.; MORRILL, J. L.; KENNEDY, G. A.; KLEMM R. D. Effects of form of the diet on anatomical, microbial, and fermentative development of the rumen of neonatal calves. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 81, p. 1946-1955, 1998.
- 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.

- BLOME, R.M.; DRACKLEY, J.K.; McKEITH, F.K.; HUTJENS, M.F.; McCOY, G.C. Growth, nutrient utilization, and body composition of dairy calves fed milk replacers containing different amounts of protein. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 81, p. 1641-1655, 2003.
- BRYANT, M.P.; SMALL, C.; BOUMA, C.; ROBINSON, I. Studies on the Composition of the Ruminal Flora and Fauna of Young Calves. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 41, p.1747-1767, 1958.
- 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.
- BUSH, R.S. Effect of age and diet on in vitro metabolism in rumen epithelium from Holstein calves. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 68, 1245-1251, 1988.
- CARVALHO, P.A.; SANCHEZ, L.M.B.; VIEGAS, J.; VELHO, J.P.; JAURIS, G.C.; RODRIGUES, M.B. Desenvolvimento de estômago de bezerros Holandeses desaleitados precocemente. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.32, n.6, p.1461-1468, 2003.
- CHURCH, D. C. **The ruminant animal: digestive physiology and nutrition**. New Jersey: Prentice-Hall, 1988. 564 p.
- DAVIS, C.L.; BROWN, R.E. Availability and metabolism of various substrates in ruminants. IV. Glucose metabolism in the young calf and growing steer **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 45, p.513-516, 1962.
- DAVIS, C.L.; DRACKLEY, J. K. **The development, nutrition, and management of the young calf**. Ames: Iowa State University Press, 1998. 339 p.
- DAVIS, C.L.; DRACKLEY, J.K. **The development, nutrition, and management of the young calf**. Ames: Iowa State University Press, 1998. 339 p.
- 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.
- DIAZ, M.C.; Van AMBURGH, M.E.; SMITH, J.M.; KELSEY, J.M.; HUTTEN, E.L. composition of growth of Holstein calves fed milk replacer from birth to 105-kilogram body weight. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, p. 830–842, 2001.
- EASTRIDGE, M.L. Major advances in applied dairy cattle nutrition. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.89, p. 1311-1323, 2006.
- EBERT, R.A.; WILLIS, G. M.; DRACKLEY, J. K. Efficacy of glycerol as a replacement for lactose in calf milk replacer. **J. Anim. Sci.**, v.86, p.68/**J. Dairy Sci.**, v. 91, p.68, 2008.
- GÁLFI, P.; NEOGRÁDY, S.; SAKATA, T. Effects of volatile fatty acids on epithelial cell proliferation of the digestive tract and its hormonal mediaton. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON RUMEN PHYSIOLOGY, 7., Delaware, 1991. **Proceedings...**, Delaware: Academic Press, 1991. p. 49.

- 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.
- GREENWOOD, R. H.; MORRILL, J. L.; TITGEMEYER, E. C.; KENNEDY, G. A. A new method of measuring diet abrasion and its effect on the development of the forestomach. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 80, p. 2534-2541, 1997.
- 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.
- HARRISON, H. N.; WARNER, R. G.; SANDER, E. G.; LOOSLI, J. K. Changes in the tissue and volume of the stomachs of calves following the removal of dry feed or consumption of inert bulk. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 43, p. 1301-1312, 1960.
- HAYASHI, H., KAWAI, M., NONAKA, I., TERADA, F., KATOH, K., OBARA, Y. Developmental Changes in the Kinetics of Glucose and Urea in Holstein Calves **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 89, p.1654-1661, 2006.
- HILL, T. M.; ALDRICH, J. M.; PROESCHEL, A. J.; SCHLOTTERBECK, R. L. Protein levels for neonatal calf starters. **Journal of Dairy Science**, v.84 (Suppl. 1), p.265, 2001.
- HILL, S.R.; KNOWLTON, K.F.; DANIELS, K.M.; JAMES, R.E.; PEARSON, R.E.; CAPUCO, A.V.; AKERS, R.M. Effects of milk replacer composition on growth, body composition, and nutrient excretion in preweaned Holstein heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 91, p.3145-3155, 2008.
- 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.
- JENNY, B.F., VAN DIJK, H.J., GRIMES, L.M. Performance of calves fed milk rations once daily at various fluid intakes and dry matter concentrations. **J. Dairy Sci.** v.65, p.2345-2350, 1982.
- KERTZ, A.F.; CHESTER-JONES, H. Invited Review: Guidelines for measuring and reporting calf and heifer experimental data. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 87, p.3577-3580, 2004.
- KERTZ, A.F.; RUETZEL, L.F.; MAHONEY, J.H. Ad libitum water intake by neonatal calves and its relationship to calf starter intake, weight gain, feces score, and season. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.67, p.2964-2969, 1984.
- LEAVER, J.D.; YARROW, N.H. Rearing of dairy cattle. 2. Weaning according to their concentrate intake. **Animal Production**, v.14, p. 161-165, 1972.
- LENGEMANN, F.W.; ALLEN, N.N. Development of rumen function in the dairy calf. II. Effect of diet upon characteristics of the rumen flora and fauna of young calves. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 42, p.1171, 1959.
- LESMEISTER, K.E.; HEINRICHS, A.J. Effects of adding extra molasses to a texturized calf starter on rumen development, growth characteristics, and blood parameters

- in neonatal dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.88, p.411–418, 2005.
- 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.
- LUCHINI, N.D., LANE, S.F., COMBS, D.K. Prewaning intake and postweaning dietary energy effects on intake and metabolism of calves weaned at 26 days of age. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.255-266, 1993.
- 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.
- 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.
- NATIONAL ANIMAL HEALTH MONITORING SYSTEM. **Changes in the United States dairy industry, 1991–2002**. Fort Collins: USDA, 2003. 56p.
- NATIONAL ANIMAL HEALTH MONITORING SYSTEM. National dairy heifer evaluation project: Dairy herd management practices focusing on preweaned heifers. Ft. Collins, CO: USDA: APHIS:VS, 1993.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirement in dairy cattle. 7th ed. Washington: National Academy of Science, 2001. 381 p.
- 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.
- NOCEK, J. E.; HEALD, C. W.; POLAN, C. E. Influence of ration physical form and nitrogen availability on ruminal morphology of growing bull calves. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.67, p. 334-343, 1984.
- NUSSIO, C. M. B.; SANTOS, F. A. P.; ZOPOLLATTO, M.; PIRES, A.V.; MORAIS, J.B.; FERNANDES, J.J.R. Parâmetros de fermentação e medidas morfométricas dos compartimentos ruminais de bezerras leiteiros suplementados com milho processado (Floculado vs. Laminado a vapor) e monensina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.32, n.4, p.1021-1031, 2003.
- NUSSIO, C.M.B.; HUBER, J.T.; NUSSIO, L.G. Decoquinate, lasalocid and monensin for starter feeds and the performance of Holstein calves to 20 weeks of age. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.59, n.3, p.421-426, 2002.
- 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.

- OTTERBY, D.E.; LINN, J.G. Advances in nutrition and management of calves and heifers. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 64, p. 1365-1377, 1981.
- 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 b. p.245-255.
- QUIGLEY III, J.D. Feeding prior to weaning. In: CALVES, HEIFERS AND DAIRY PROFITABILITY NATIONAL CONFERENCE, Pennsylvania, 1996. **Proceedings...** Ithaca: Northeast Regional Agricultural Engineering Service Cooperative Extension, 1996. p. 245-255.
- 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 a.
- QUIGLEY III, J.D.; CALDWELL, L.A.; SINKS, G.D.; HEITMANN, R.N. Changes in blood glucose, nonesterified fatty acids, and ketones in response to weaning and feed intake in young calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, p. 250-257, 1991 b.
- RAETH-KNIGHT, M.; CHESTER-JONES, H.; HAYES, S.; LINN, J.; LARSON, R.; ZIEGLER, D.; ZIEGLER, B. Impact of conventional or intensive milk replacer programs on Holstein heifer performance through six months of age and during first lactation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, p. 799–809, 2009.
- SCHALCH, F. J.; SCHALCH, E.; ZANETTI, M. A.; BRISOLA, M. L. Substituição do milho em grão moído pela polpa cítrica na desmama precoce de bezerros leiteiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, p. 280-285, 2001.
- SILVA, J.T.; FERREIRA, L.S.; MOURÃO, G.B.; BITTAR, C.M.M. Dairy calves' intake daily variation according to starch level and degradability. In: XXII Reunião Latinoamericana de Produção Animal, 2011, Montevideo. **XXII Reunião Latinoamericana de Produção Animal**. 2011.
- SOBERON, F.; RAFFRENATO, E.; EVERETT, R.W.; Van AMBURGH, M.E. Prewaning milk replacer intake and effects on long-term productivity of dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 95, p. 783–793, 2012.
- SUAREZ, B. J.; VAN REENEN, C. G.; BELDMAN, G.; VAN DELEN, J.; DIJKSTRA, J.; GERRITS, W. J. J. Effects of supplementing concentrates differing in carbohydrate composition in veal calf diets: I. animal performance and rumen fermentation characteristics **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 89, p. 4365–4375, 2006.
- 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.
- TAMATE, H.; MCGILLIARD, A. D.; JACOBSON, N. L.; GETTY, R. Effect of various dietaries on the anatomical development of the stomach in the calf. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 45, p. 408-420, 1962.

- TOMKINS, T., SOWINSKI, J.S., DRACKLEY, J.K., DAVIS, C.L., KEITH, N.K. The influence of protein level in milk replacers on growth and performance of male Holstein calves. II. All milk protein milk replacer fed in conjunction with calf starter. Abstr. **J. Dairy Sci.**, v.78 (Suppl. 1), p.233, 1995.
- Van AMBURGH, M.; DRACKLEY, J.K. Current perspectives on the energy and protein requirements of the pre-weaned calf. In: GARNSWORTHY, P.C. Calf and heifer rearing: principles of rearing the modern dairy heifer from calf to calving. Nottingham: Nottingham University Press, 2005. chap. 5, p. 67-82.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476 p.
- 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.
- WARNER, R. G.; FLATT, W. P.; LOOSLI, J. K. Dietary factors influencing the development of the ruminant stomach. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 4, p. 788-792, 1956.
- WEARY, D.M.; JASPER, J.; HO"TZEL, M.J. Understanding weaning distress. **Applied Animal Behaviour Science**, Edinburgh, v.110, p. 24-41, 2008.
- WEIGAND, E.; YOUNG, J.W.; MCGILLIARD, A.D. Extent of butyrate metabolism by the rumino-reticulum ephitelium and the relationship to absorptive rate. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 55. p. 589-597, 1972.
- WILLIAMS, P.; FALLON, R.J.; INNES, G.M.; GARTHWAITE, P. Effects on food-intake, rumen development and live weight of calves of replacing barley with sugar-beet citrus pulp in a starter diet. **Animal Production**, Penicuik, v. 44, p. 65-73, 1987.
- WINTER, K.A. Comparative performance and digestibility in dairy calves weaned at three, five, and seven weeks of age. **Can. J. Anim. Sci.**, v.65, p.445-450, 1985.
- ZITNAN, R.; VOIGT, J.; SCHONHUSEN, U.; WEGNER, J.; KOKARDOVA, M.; HAGEMEISTER, H.; LEVKUT, M.; KUHLA, S.; SOMMER, A. Influence of dietary concentrate to forage ratio on the development of rumen mucosa in calves. **Archives of Animal Nutrition**, Berlin, v. 51, p. 279-291, 1998.

3 Alterações no metabolismo energético e no desempenho de bezerros leiteiros em programas de aleitamento intensivo ou convencional¹

3.1 Objetivos

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de diferentes sistemas de aleitamento - convencional, programado ou intensivo – utilizando-se sucedâneo comercial contendo 20% de proteína bruta, sobre o desempenho e alterações no metabolismo energético de bezerros leiteiros.

3.2 Material e Métodos

Foram utilizados 30 bezerros machos da raça Holandês em um delineamento experimental do tipo blocos completos casualizados. Os animais foram adquiridos de fazenda comercial da região (Agrindus S/A), sendo transportados entre um e cinco dias de vida para o bezerreiro experimental da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ, da Universidade de São Paulo, Piracicaba – SP.

Na fazenda de nascimento, os animais foram separados da mãe, alojados em abrigos individuais e alimentados com dois litros de colostro, logo após o nascimento e a cada 12 horas, até o segundo dia de vida. Decorrido este período, os animais passaram a receber dieta líquida, basicamente composta por leite não comercializável, mas também substituto de leite. Ao serem transportados para o bezerreiro experimental os animais passaram a receber sucedâneo lácteo (Sprayfo Violeta (20PB:16EE, 12,5% sólidos), Sloten do Brasil Ltda.), divididos em duas refeições, as 07 e 17h, e tiveram livre acesso à água e ao concentrado inicial (Rumina 18P, Guabi Nutrição Animal).

Os animais foram divididos em blocos, de acordo com o peso ao nascer e a data de nascimento, e distribuídos em um dos seguintes tratamentos, de acordo com o sistema de aleitamento: 1) Convencional: 4L/d; 2) Intensivo: 8L/d; 3) Programado: semana 1: 4L/d; semana 2 a semana 6: 8L/d e semana 7 e 8: 4L/d.

¹ Projeto de Auxílio à Pesquisa Fapesp (2010/16175-6), o qual resultou na dissertação desenvolvida e defendida por Marília Ribeiro de Paula em 23/07/2012.

Todos os animais foram desaleitados de forma abrupta com oito semanas de vida.

O concentrado comercial peletizado (18% PB e 80% NDT) foi fornecido toda tarde, *ad libitum*, pesando-se a sobra do dia anterior, de forma a se obter o consumo diário de concentrado. A partir do desaleitamento, durante duas semanas, foi fornecido feno de capim coast-cross à vontade, sendo o consumo semanal monitorado.

Os animais foram pesados ao nascer e semanalmente, sempre antes do aleitamento da manhã, em balança mecânica (ICS-300, Coimma Ltda), até a décima semana de vida, quando se encerrou o período experimental. Foram mensuradas semanalmente, a 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.

Diariamente foram realizadas avaliações das fezes de acordo com sua coloração, consistência e aspecto geral conforme proposto por Larson et al. (1977). As fezes foram classificadas como (1) quando normais e firmes; (2) quando com consistência pastosa, porém com aspecto geral saudável; (3) quando com consistência líquida; (4) quando com consistência aquosa, coloração cinza, presença de bolhas, espuma ou grande quantidade de partículas de grãos; (5) quando com consistência aquosa, presença de sangue, ou coloração esbranquiçada. Além disso, todos os eventos relativos à saúde dos animais foram anotados, registrando-se o período de sua duração e da aplicação de medicamentos.

Amostras do sucedâneo, do concentrado e do feno fornecidos foram colhidas periodicamente para determinação da composição químico-bromatológica (Tabela 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 et al. (2002); proteína bruta (PB) através de combustão, conforme método de Dumas, utilizando-se o analisador de nitrogênio LECO, modelo FP - 528 (LECO Corporation); fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) e lignina pelo método descrito por Van Soest et al. (1991); nitrogênio insolúvel em FDN (N-FDN); 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: $CNF (\%MS) = 100 - (PB + EE + FDN_{LP} + MM)$; onde, PB, EE, $FDN_{livre\ de\ prote\ina(LP)}$ e MM são expressos em % da MS.

Tabela 1 – 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	8,1	5,2
Proteína Bruta, % MS	20,2	21,6	6,8
Extrato Etéreo, % MS	15,6	3,4	1,6
FDN, % MS	0,5	28,0	77,6
FDA, % MS	0,0	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)	-	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

Amostras de sangue foram colhidas a partir da segunda semana de vida, através de punção da jugular, utilizando-se tubos vacuolizados contendo fluoreto de sódio como antiglicolítico e EDTA de potássio como anticoagulante (VACUETTE do Brasil). As colheitas de sangue foram realizadas semanalmente, sempre duas horas após o aleitamento da manhã. As amostras foram centrifugadas ($2.000 \times g$, 20 minutos, 4°C) e o plasma foi armazenado em tubetes plásticos em freezer para posterior determinação de glicose, lactato, proteínas totais e β -hidroxibutirato (BHBA).

Foram utilizados kits enzimáticos comerciais para a determinação das concentrações de glicose (GLICOSE HK LIQUIFORM – LABTEST Diagnóstica S.A.), lactato, proteínas totais (LACTATO LIQUIFORM – LABTEST Diagnóstica S.A.), proteínas totais (PROTEÍNAS TOTAIS – LABTEST Diagnóstica S.A.) e BHBA (RANBUT – RANDOX Laboratories), utilizando-se filtro de absorvância específico em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA – 200 (CELM).

Amostras de fluido ruminal foram colhidas na 4^a, 8^a e 10^a semana de vida do animal, por via oro esofágica, utilizando-se uma mangueira flexível conectada a uma bomba de vácuo – Modelo TE-0581 (Tecnal Ltda.). As amostras (aproximadamente 30 mL) foram colhidas, descartando-se a amostra inicial de forma a se evitar a contaminação com saliva. Após filtração em pano de fralda, foi realizada a determinação de pH, através de pHmetro – Modelo Tec-5 (Tecnal Ltda.). As amostras de fluido ruminal foram centrifugadas a 15.000 x *g* a 4°C por 60 minutos, e analisadas em cromatógrafo gasoso (Hewlett Packard 5890 Series II Integrator) e injetor automático (Hewlett Packard 6890 Series Integrator), conforme descrito por Campos et al. (2002). As amostras de fluido ruminal destinadas para determinação de N-NH₃ foram descongeladas e centrifugadas a 11.000 x *g* a 4°C durante 30 minutos para obtenção do sobrenadante. As amostras foram analisadas segundo o método de Chaney & Marbach (1962) adaptado para leitura em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA-200 (CELM) com filtro de absorvância de 540 nm.

O delineamento experimental foi o de blocos casualizados, sendo os animais alocados nos blocos de acordo com seu peso ao nascer e data de nascimento. Todas as medidas foram analisadas como medidas repetidas no tempo com auxílio do procedimento MIXED do pacote estatístico SAS (version 5.0, SAS Institute Inc., Cary, NC), conforme modelo (1). Para efeito de comparação de médias, foi utilizado o teste t de Student, sendo as médias estimadas através do método dos quadrados mínimos (LSMEANS).

$$(1) Y_{ijk} = \mu + T_i + B_j + W_k + E_{ijk}$$

Onde,

Y_{ijk} = variável resposta;

μ = média geral;

T_i = efeito do tratamento (sistema de aleitamento);

B_j = efeito do bloco;

W_k = efeito da idade dos animais (semana de colheita de dado/amostra);

E_{ijk} = efeito devido ao acaso (resíduo).

3.3 Resultados e discussão

Os dados de consumo em geral apresentaram diferença significativa ($P < 0,06$), sendo observado efeito da idade e interação tratamento x idade para todos os parâmetros avaliados (Tabela 2).

O consumo de sucedâneo foi afetado pelos tratamentos ($P < 0,0001$), sendo o maior consumo de MS observado para animais em aleitamento intensivo e menores consumos para aqueles em aleitamento programado e convencional (Tabela 2). Conforme esperado, houve efeito da idade ($P < 0,0001$), pois no aleitamento programado a ingestão variou de acordo com o programa estabelecido ao longo das semanas (Figura 1). Também é possível observar que, ao contrário do esperado, os animais em aleitamento intensivo consumiram quantidades menores às oferecidas (8 L/d ou 974 g MS/d), certamente devido à fisiologia digestiva dos animais, que não comportava o volume de sucedâneo oferecido. É provável que em idades mais jovens o maior fracionamento desse volume de dieta líquida; ou menor taxa de diluição do sucedâneo, seja necessária para garantir consumo.

Tabela 2 – Consumo de sucedâneo, concentrado e feno por bezerros em aleitamento convencional (C), programado (P) ou intensivo (I)

	Tratamento				P< ²		
	C	P	I	EPM ¹	T	I	TxI
Consumo de sucedâneo							
Ingestão, L/d	3,93 ^c	6,03 ^b	7,32 ^a	0,13	<,0001	<,0001	<,0001
Ingestão, g MS/d	476 ^c	733 ^b	891 ^a	12,4	<,0001	<,0001	<,0001
Consumo de concentrado, g/d							
Ao desaleitamento	941,7 ^a	721,3 ^a	244,5 ^b	95,6	<0,05	-	-
Média do período	722,5 ^a	552,0 ^b	435,7 ^b	38,1	<,0001	<,0001	<,0001
Consumo de feno, g/d							
Pós-desaleitamento	461,0 ^a	150,5 ^b	307,4 ^{a,b}	88,3	0,06	0,0003	0,05

⁽¹⁾EPM = erro padrão da média

⁽²⁾ T = efeito da dieta líquida; I = efeito da idade dos animais; TxI = efeito da interação dieta líquida e idade dos animais

⁽³⁾ Inicial = valores médios à segunda semana; Ao desaleitamento = valores médios à oitava semana; Após desaleitamento = valores médios a nona e décima semanas

^{a, b, c} Letras minúsculas na mesma linha diferem para $P < 0,07$

O consumo de sucedâneo foi afetado pelos tratamentos ($P<0,0001$), sendo o maior consumo de MS observado para animais em aleitamento intensivo e menores consumos para aqueles em aleitamento programado e convencional (Tabela 2). Conforme esperado, houve efeito da idade ($P<0,0001$), pois no aleitamento programado a ingestão variou de acordo com o programa estabelecido ao longo das semanas (Figura 1). Também é possível observar que, ao contrário do esperado, os animais em aleitamento intensivo consumiram quantidades menores às oferecidas (8 L/d ou 974 g MS/d), certamente devido à fisiologia digestiva dos animais, que não comportava o volume de sucedâneo oferecido. É provável que em idades mais jovens o maior fracionamento desse volume de dieta líquida; ou menor taxa de diluição do sucedâneo, seja necessária para garantir consumo.

Figura 1. Consumo de sucedâneo (g MS/d) de bezerros em aleitamento convencional, programado ou intensivo ($P<0,0001$)

De acordo com Khan et al. (2011b), bezerros com livre acesso à dieta líquida ao longo do dia alcançam consumos de até 20% do peso ao nascer. Em um estudo onde o consumo foi monitorado por meio de um aleitador automático Vieira et al. (2008), observaram que animais com livre acesso à dieta líquida consumiram em média 8,5 litros de leite ao dia, distribuídos em cinco visitas diárias ao aleitador automático. Em outro experimento, realizado por Borderas et al. (2009), também utilizando aleitador automático, animais que tinha livre acesso ao sucedâneo consumiram em média nove litros por dia divididos em 11 visitas

em média; enquanto os animais com acesso restrito consumiam em média quatro litros por dia, divididos em 21 visitas, mostrando que os animais do aleitamento restrito visitaram o aleitador por mais vezes como demonstração de fome.

O consumo de concentrado foi afetado pelo programa de aleitamento ($P < 0,0001$) e foram observadas diferenças significativas ($P < 0,0001$) para a interação tratamento x idade, com maior consumo médio de concentrado pelos animais em aleitamento convencional (Tabela 3). A alta ingestão de MS via sucedâneo pelos animais em aleitamento intensivo refletiu no menor consumo de concentrado durante o período de aleitamento, resultando em consumo inadequado de concentrado por ocasião do desaleitamento. Conforme recomendado por Quigley (1996), para animais de raças grandes, o consumo sugerido para que seja realizado o desaleitamento está em torno de 700 – 800 g/d durante três dias consecutivos. Ao desaleitamento, os animais em aleitamento convencional apresentavam consumo de concentrado conforme o esperado, pois ao longo das semanas, a exigência nutricional destes animais passa a não ser suprida apenas pela dieta líquida, fazendo com que o consumo de concentrado aumente ao longo das semanas, beneficiando o desenvolvimento ruminal (Kristensen et al., 2007). No caso dos animais em aleitamento programado houve aumento no consumo de concentrado após a sexta semana, quando houve redução no fornecimento da dieta líquida (Figura 2). Em geral, todos os animais aumentaram o consumo de concentrado ao desaleitamento (Figura 2). Ao final do experimento, todos os animais apresentavam o mesmo consumo de concentrado, mostrando que, apesar dos animais em aleitamento intensivo não estarem com o consumo indicado de concentrado ao desaleitamento, conseguiram se adaptar facilmente a nova dieta.

Resultados semelhantes foram encontrados por Jasper et al. (2002), onde os animais em aleitamento intensivo tiveram baixo consumo de concentrado durante o período de aleitamento. Entretanto, após o desaleitamento, o consumo de concentrado e o ganho de peso foram semelhantes entre os tratamentos. Da mesma forma, Terré et al. (2006) avaliaram o aleitamento intensivo *versus* convencional e encontraram que o consumo de concentrado foi menor para os animais do intensivo durante o período de aleitamento. No entanto, após o desaleitamento, o consumo de concentrado foi semelhante entre os tratamentos. Rincker et al. (2011), também avaliaram aleitamento intensivo e o consumo de

concentrado foi menor em relação ao tratamento convencional. Porém, durante as duas semanas após o desaleitamento o consumo de concentrado foi semelhante entre os tratamentos.

Figura 1. Consumo de concentrado (kg/d) de bezerros em aleitamento convencional, programado ou intensivo ($P < 0,0001$)

Fica claro o efeito de substituição de consumo de dieta sólida quando maiores volumes de dieta líquida são fornecidos. Embora o animal possa se beneficiar apresentando maiores taxas de crescimento, não apresenta consumo adequado para estimular o desenvolvimento ruminal, podendo ter redução de desempenho na fase seguinte. Assim, quando maiores volumes de dieta líquida são fornecidos sugere-se a redução da mesma, dias antes do desaleitamento, como no aleitamento programado, ou o desaleitamento dos animais em idades mais velhas, de forma que o consumo de concentrado esteja em patamares adequados para estimular o desenvolvimento ruminal. No entanto, alguns trabalhos mostram que os animais desaleitados com baixo consumo, devido ao maior fornecimento de dieta líquida, aumentam rapidamente o consumo de concentrado logo após o desaleitamento. Aparentemente, desaleitar animais mais pesados e, portanto, com maior exigência, faz com que o consumo se ajuste mais rapidamente, o que foi observado neste experimento.

Os dados de consumo de feno se referem ao período após o desaleitamento (semanas 9 e 10), sendo observadas diferenças significativas entre os programas de aleitamento ($P < 0,06$), com maior consumo pelos animais em aleitamento convencional em comparação ao programado, não sendo

diferente do intensivo (Tabela 3). De acordo com Broesder et al. (1990), a redução no consumo da dieta líquida faz com que os animais aumentem o consumo de concentrado e feno, para compensar a queda nos nutrientes pouco fornecidos pela dieta líquida anteriormente. O consumo médio diário de feno dos animais do tratamento programado mostrou-se baixo e corroboram os dados de Bernardes et al. (2007), que consideraram baixos os valores de consumo médio de feno de 130 g/d nas semanas 9 e 10 após o desaleitamento.

Segundo Khan et al. (2011a) animais em aleitamento programado devem receber feno no momento em que se reduz a dieta líquida, pois nesta fase os animais tem menor suprimento de nutrientes via dieta líquida e tendem a procurar uma fonte alternativa de alimento, ocorrendo assim aumento tanto no consumo de feno quanto no consumo de concentrado, permitindo um melhor desenvolvimento ruminal ao desaleitamento.

O consumo de alimentos sólidos, além de favorecer a proliferação bacteriana, estimula o desenvolvimento ruminal. No entanto, a característica química do alimento tem grande influência no processo (Lesmeister & Heinrichs, 2004). O fornecimento de feno deu-se após o desaleitamento, pois a fermentação de alimentos concentrados resulta principalmente na produção de butirato e propionato (Gabel et al., 2002), enquanto que a fermentação das forragens resulta em maiores proporções de ácido acético e menores proporções dos ácidos propiônico e butírico. Além disso, as forragens produzem menores concentrações totais de AGCC em relação aos alimentos concentrados (Nocek & Polan, 1984).

A média do período para PV e ganho de peso médio diário (GPD) não foi afetada pelo aleitamento ($P>0,07$) durante o período experimental (Tabela 4). No entanto, houve efeito de idade ($P<0,0001$) e interação tratamento x idade tanto para PV, quanto para GPD, sendo os valores crescentes ao longo das semanas de experimento. O GPD ao desaleitamento foi diferente ($P<0,05$) entre os tratamentos, sendo observado maior GPD para os animais em aleitamento convencional, seguido pelos animais em aleitamento programado e intensivo.

Tabela 4 – Peso corporal e ganho de peso diário de bezerros em aleitamento convencional (C), programado (P) ou intensivo (I)

	Tratamento				P< ⁽²⁾		
	C	P	I	EPM ⁽¹⁾	T	I	TxI
Peso corporal, kg							
Ao desaleitamento	56,7	56,5	58,3	2,08	0,99	-	-
Média do período	50,6	51,6	52,7	1,91	0,70	<,0001	0,03
Ganho de peso diário, g/d							
Ao desaleitamento	591,7 ^a	597,2 ^a	386,6 ^b	82,8	<0,05	-	-
Média do período	469,1	455,0	466,4	34,9	0,94	<,0001	0,004

⁽¹⁾EPM = erro padrão da média

⁽²⁾ T = efeito da dieta líquida; I = efeito da idade dos animais; TxI = efeito da interação dieta líquida e idade dos animais

⁽³⁾ Ao desaleitamento = valores médios à oitava semana;

O PV dos animais foi crescente (Figura 3) durante o experimento e, mesmo com a redução do fornecimento de dieta líquida na oitava semana, os animais continuaram a ganhar peso. Apesar do consumo de concentrado ter sido menor pelos animais em aleitamento intensivo e programado, ao final do experimento, os animais de todos os tratamentos alcançaram o mesmo peso corporal.

Figura 2 - Peso vivo (kg) de bezerros em aleitamento convencional, programado ou intensivo (P<0,03)

O GPD foi variável, principalmente nas primeiras semanas (Figura 4), pois nesta fase a ocorrência de diarreia foi mais alta (Figura 5). É possível observar também que houve uma redução brusca no ganho de peso dos animais do tratamento programado na sexta semana, reflexo da redução no fornecimento de

dieta líquida. Após o desaleitamento, o ganho de peso foi crescente para todos os tratamentos, em consequência do maior consumo de concentrado. Interessante observar que, mesmo com menor consumo de concentrado, os animais em aleitamento intensivo não tiveram redução tão brusca nas taxas de ganho de peso por ocasião do desaleitamento, quanto os animais em aleitamento programado apresentaram por ocasião da redução do volume de dieta líquida fornecida. De qualquer modo, estes animais aumentaram rapidamente seu consumo de concentrado, apresentando peso similar ao dos outros tratamentos ao final do período experimental.

Figura 3 - Ganho de peso diário (kg/d) de bezerros em aleitamento convencional, programado ou intensivo ($P < 0,004$)

Os resultados obtidos são contrários aos observados na literatura: Hill et al. (2010) e Rincker et al. (2011) encontraram maior GPD e maior PV ao desaleitamento para animais em aleitamento intensivo quando comparados ao aleitamento convencional.

No entanto, os dados encontrados corroboram os encontrados por Borderas et al. (2009), que trabalharam com dois grupos de bezerros Holandês alimentados, através de um aleitador automático, com quantidade restrita (4L de sucedâneo/d) ou *ad libitum* de sucedâneo. Estes pesquisadores encontraram PV e GPD semelhantes entre os animais em aleitamento intensivo e convencional após a terceira semana de experimento. Os pesquisadores utilizaram sucedâneo lácteo com 18,5%PB e 18%EE, formulação parecida com a do sucedâneo utilizado neste experimento (20%PB e 15,6%EE), sendo esta talvez a possível

causa dos menores GPD encontrados em ambos os experimentos para animais em aleitamento intensivo.

Conforme recente revisão de Kertz & Loften (2013), vários trabalhos mostram que melhores desempenhos são obtidos quando bezerros são aleitados com sucedâneos contendo maiores teores de PB. Pesquisas realizadas com animais em diferentes sistemas de aleitamento (Bartlett et al., 2006), demonstraram que animais recebendo aleitamento intensivo com sucedâneo contendo 26% de PB ganharam em média o triplo de peso (700g/d) quando comparados à animais em aleitamento convencional com sucedâneo contendo 14% de PB (250g/d). Da mesma forma, Brown et al. (2005) estudaram diferentes concentrações proteicas e energéticas em sucedâneo, e concluíram que animais aleitados em sistema convencional com sucedâneo contendo 30% de PB e 16% de gordura ganharam praticamente o dobro de peso (670g/d), em relação aos animais aleitados da mesma forma, mas recebendo sucedâneo com 21% de PB e 21% de gordura (380g/d). Esperava-se que o ganho de peso dos animais em aleitamento intensivo fosse superior aos demais, devido ao maior fornecimento de dieta líquida e consequente maior quantidade de nutrientes de fácil utilização por animais jovens. No entanto, não houve diferenças entre os programas de aleitamento, possivelmente devido ao teor de PB no sucedâneo utilizado no estudo.

Na avaliação do escore fecal, considerou-se a ocorrência de diarreia quando o escore foi superior a 2,5, na escala de 1 a 5 sugerida por Larson et al. (1977). O programa de aleitamento afetou o escore fecal ($P < 0,0001$) durante o período de aleitamento, principalmente nos animais em aleitamento programado e intensivo, que apresentaram fezes com consistência fluida por mais tempo (Figura 5). Os animais em aleitamento intensivo apresentaram maior escore fecal, sugerindo maior frequência de diarreia, nas semanas de 4 a 7, em relação aos animais em aleitamento convencional, não havendo diferenças em relação aos animais em aleitamento programado. A maior frequência de diarreia ocorre, no entanto, durante as duas ou três primeiras semanas de vida, conforme citado por Millemann (2009). Este fato sugere que a causa do maior escore fecal é o maior volume de leite fornecido aos animais e não problemas relativos ao manejo sanitário, colostragem ou a falta de higiene de utensílios para fornecimento da dieta líquida.

Figura 5 - Escore fecal (sendo 1= fezes normais e 5= diarreia severa) em bezerros em aleitamento convencional, programado ou intensivo ($P < 0,0001$)

Alguns autores relataram que animais recebendo maiores quantidades de dieta líquida tendem a apresentar as fezes mais fluidas (Brown et al., 2005). Em experimento realizado por Diaz et al. (2001), animais em aleitamento intensivo exibiram fezes mais fluidas em resposta ao maior volume de dieta líquida ingerida. Appleby et al. (2001) observaram diferença significativa para os escores fecais até a quarta semana de vida, quando os animais em aleitamento intensivo apresentaram maior incidência de diarreia que animais em aleitamento convencional, não havendo diferenças após este período. No entanto, em outros trabalhos (Jasper & Weary, 2002; Khan et al., 2007), o volume da dieta líquida não interferiu na consistência das fezes dos animais. De acordo com Borderas et al. (2009), as diferenças observadas nos escores fecais podem ser atribuídas ao sistema de avaliação das fezes adotado pelo pesquisador, às variações na colostragem do animal, à qualidade da dieta líquida e até mesmo às condições climáticas do ambiente, onde o experimento foi conduzido. Alguns autores acreditam que estas diferenças na consistência das fezes estão mais relacionadas à falta de higiene e problemas de manejo, do que propriamente ao aumento da ingestão da dieta líquida (Roy, 1980; Jasper & Weary, 2002).

Os parâmetros sanguíneos avaliados (Tabela 5) são resultantes de análises de sangue colhido duas horas após o fornecimento de leite no período da

manhã, sendo este o pico da maior parte dos metabólitos conforme observados por Nussio et al. (2003). Não houve diferença significativa ($P>0,32$) entre os tratamentos para as concentrações plasmáticas de glicose. Os valores encontrados estão de acordo com os encontrados na literatura para animais neste período de vida, recebendo aleitamento convencional ou intensivo (Shingu et al., 2007; Blome et al., 2003).

Tabela 5 - Concentrações plasmáticas de glicose, β -hidroxibutirato (β HBA), proteínas totais e lactato de bezerros em aleitamento convencional (C), programado (P) ou intensivo (I)

	Tratamento				$P<$ ⁽²⁾		
	C	P	I	EPM ⁽¹⁾	T	I	TxI
Glicose, mg/dL							
Ao desaleitamento	92,3	95,9	94,9	4,02	0,99	-	-
Média do período	88,8	89,8	92,4	2,25	0,32	<,0001	0,06
βHBA, mmol/L							
Ao desaleitamento	0,17 ^a	0,15 ^a	0,07 ^b	0,02	<0,05	-	-
Média do período	0,15 ^a	0,12 ^b	0,10 ^c	0,01	<,0001	<,0001	0,012
Proteínas totais, g/dL							
Ao desaleitamento	6,83	5,80	6,12	0,33	0,99	-	-
Média do período	6,81 ^a	6,26 ^b	6,37 ^b	0,17	0,007	0,002	0,012
Lactato, mmol/L							
Ao desaleitamento	0,49	0,43	0,54	1,49	0,99	-	-
Média do período	0,47	0,52	0,52	0,56	0,36	0,01	0,38

⁽¹⁾EPM = erro padrão da média

⁽²⁾ T = efeito da dieta líquida; I = efeito da idade dos animais; TxI = efeito da interação dieta líquida e idade dos animais

⁽³⁾ Ao desaleitamento = valores médios à oitava semana;

^{a, b, c} Letras minúsculas na mesma linha diferem para $P<0,07$

No metabolismo dos animais jovens, a digestão dos constituintes da dieta líquida ocorre primeiramente no abomaso e em seguida no intestino (Drackley, 2008). Esta digestão é responsável pelo fornecimento da glicose, em especial, para a manutenção das funções vitais e do crescimento do animal. Para o bezerro, a glicose e os ácidos graxos são as principais fontes de energia; assim, os controles glicostático e lipostático podem ser essenciais no controle do consumo de dieta líquida e no tamanho da refeição, principalmente antes do início no consumo de alimentos sólidos. Níveis baixos de glicose podem desencadear

sinais de fome, enquanto que o aumento na glicemia resultaria em sinais de saciedade e, conseqüentemente, restrição à refeição (Khan et al. 2011b). Desta forma, esperava-se que os animais do tratamento intensivo apresentassem maiores concentrações de glicose plasmática durante todo o experimento, devido ao maior suprimento de lactose via dieta líquida, conforme observado por outros autores (Quigley et al., 2006; Cowles et al., 2006).

Embora não tenha havido efeito do programa de aleitamento na concentração plasmática de glicose, foram observados efeitos da idade dos animais ($P < 0,0001$) e interação entre tratamento x idade (Figura 6). É possível observar que, após o desaleitamento, houve redução nas concentrações plasmáticas de glicose, fator relacionado com o desenvolvimento ruminal.

Figura 6 - Concentrações plasmáticas de glicose, BHBA, proteínas totais e lactato de bezerras em aleitamento convencional (●), programado (▲) ou intensivo (■)

Em estudo realizado por Terré et al. (2006) maiores concentrações plasmáticas de glicose foram observadas em animais em aleitamento intensivo quando comparados aos animais em aleitamento convencional, e isto ocorre como consequência do maior suprimento de lactose para os animais consumindo maiores volumes de dieta líquida. Da mesma forma, Khan et al. (2007) relataram que animais em aleitamento intensivo, quando comparados à animais em aleitamento convencional, tendem a ter glicose plasmática mais alta, e esta

glicose tende a diminuir, principalmente após o desaleitamento, devido ao desenvolvimento ruminal. Com o avanço da idade ocorre redução da glicose plasmática conforme observado por Quigley et al. (1991) e Haga et al. (1998).

Segundo Hayashy et al. (2006), conforme o rúmen se desenvolve, ocorre o estabelecimento das populações microbianas, como também o início da produção de AGCC, por meio da fermentação dos carboidratos da dieta. Os tecidos que antes dependiam da glicose fornecida através do leite, passam a depender do metabolismo dos AGCC como fonte primária de suprimento de glicose (Baldwin et al., 2004). Portanto, durante as primeiras semanas de vida do animal, as concentrações plasmáticas de glicose passam de concentrações encontradas em animais monogástricos (114,5 mg/dL) à concentrações encontradas em ruminantes adultos, aproximadamente 76 mg/dL (Quigley et al., 1991).

As concentrações plasmáticas de β -hidroxibutirato (BHBA) apresentaram diferenças significativas de acordo com o programa de aleitamento ($P < 0,0001$), com animais em aleitamento convencional apresentando as maiores concentrações. Conforme esperado, houve efeito de idade ($P < 0,0001$), uma vez que com o avanço da idade ocorre o desenvolvimento do rúmen (Figura 6). É possível também observar que praticamente durante todo o período experimental, os animais em aleitamento convencional mantiveram concentrações de BHBA superiores aos outros tratamentos, em resposta ao maior consumo de concentrado por estes animais e consequente desenvolvimento ruminal. Os animais em aleitamento programado passaram a ter maiores concentrações de BHBA, principalmente após a sexta semana, quando houve redução da dieta líquida e aumento no consumo de concentrado.

De acordo com Quigley et al. (1991), as concentrações de BHBA tendem a aumentar com o avanço da idade devido ao aumento no consumo de alimentos sólidos. Consequentemente, ocorre início do metabolismo ruminal, com produção de corpos cetônicos pelo epitélio ruminal em desenvolvimento. Isto ocorre porque as células do epitélio ruminal dos bezerros durante as primeiras semanas oxidam glicose e butirato a taxas semelhantes. No entanto, com o avanço da idade, a taxa de oxidação da glicose pelas células do epitélio ruminal decrescem, e o butirato produzido na fermentação passa a ser o substrato preferencial a ser oxidado (Baldwin et al., 2004).

As concentrações de BHBA encontradas para animais em aleitamento convencional corroboram as encontradas por Haga et al. (2008), que trabalharam com bezerros da raça Holandês recebendo sucedâneo com 25,5% PB e 21,4% EE. De acordo com os autores, as concentrações de BHBA aumentaram com o avançar da idade e mantiveram-se elevados após o desaleitamento. Isto ocorreu porque os animais passaram a absorver quantidades consideráveis de AGCC e passaram a utilizá-los como fonte de energia após o desaleitamento.

Para animais em aleitamento intensivo, as concentrações de BHBA são menores durante o período de aleitamento e aumentam conforme aumenta o consumo de concentrado. Comprovando isto, Kristensen et al. (2007) em pesquisa fornecendo diferentes quantidades de dieta líquida, mostraram que animais em aleitamento intensivo (8,34 L/d) apresentaram menores concentrações plasmáticas de BHBA em relação aos animais do tratamento convencional (3,10 L/d). Animais em aleitamento convencional passam a consumir concentrado mais cedo e os produtos da fermentação do concentrado passam a contribuir como fonte de energia para o metabolismo do animal.

As concentrações plasmáticas de proteínas totais foram afetadas pelo programa de aleitamento ($P < 0,07$), sendo também observado efeito da idade ($P < 0,002$), com variações das concentrações com o avanço da idade, e especial aumento nas concentrações após o desaleitamento (Figura 6). Variações nas concentrações de proteínas totais são utilizadas como parâmetros de avaliação do estado geral do animal. Segundo Luca & Reis (2001), valores de referência em sangue bovino situam-se entre 6,0 e 8,5 g/dL, sendo que níveis abaixo do valor mínimo indicam deficiência de proteína na dieta e valores acima do valor máximo indicam casos de desidratação ou alguma doença crônica.

De acordo com Machado Neto et al. (1986), a queda nas concentrações plasmáticas de proteínas totais ocorrida até os 30 dias de idade pode ser consequência da redução de anticorpos adquiridos passivamente através da ingestão de colostro e a elevação nas concentrações após este período pode ser atribuída ao início da produção endógena de imunoglobulinas, refletindo na concentração da proteína total.

Os valores observados para concentrações plasmáticas de proteínas totais estão próximos aos encontrados por Khan et al. (2007). Os autores trabalharam com bezerros em aleitamento convencional ou programado e foram desaleitados

aos 45 dias. As concentrações plasmáticas de proteínas totais foram numericamente maiores para os animais do tratamento programado, mas não apresentaram diferença significativa em relação aos animais do tratamento convencional. No entanto, em ambos os tratamentos os valores foram aumentando ao longo das semanas e continuaram a aumentar após o desaleitamento. As concentrações observadas pelos autores em bezerros ao desaleitamento foram de 5,83 e 5,59 g/dL para animais em aleitamento programado e convencional, respectivamente.

As concentrações plasmáticas de lactato não foram afetadas pelos tratamentos ($P>0,36$), mas efeito da idade dos animais foi observado ($P<0,01$), com variações ao longo das semanas e aumento após o desaleitamento (Figura 6).

A gliconeogênese é extremamente importante tanto para o neonatal, quanto para o ruminante adulto e os seus principais precursores são: lactato, propionato, aminoácidos, valerato e glicerol (Nafikov & Beitz, 2007). Semelhante aos monogástricos, alguns tecidos dos ruminantes, como o cérebro, medula renal, entre outros, dependem de glicose como única fonte de energia. No entanto, a glicose raramente é absorvida em quantidades significativas, sendo a gliconeogênese um processo constante (Kosloski, 2002).

A disponibilidade de lactato aos tecidos periféricos pode ser significativa, principalmente quando as dietas dos animais são à base de concentrado ou quando são consumidas em grandes quantidades. Nestas condições, a quantidade absorvida é relativamente alta e o fígado capta somente uma pequena fração deste lactato (Kosloski, 2002), razão pela qual os animais em aleitamento intensivo e programado mantiveram níveis mais elevados de lactato durante a fase de aleitamento. Após o desaleitamento, as concentrações plasmáticas de lactato aumentaram em todos os tratamentos, podendo ser reflexo da dieta à base de concentrado.

3.4 Conclusões

O fornecimento de maiores quantidades de dieta líquida não alterou o desempenho ou o metabolismo dos animais, uma vez que o consumo de concentrado foi reduzido. Animais aleitados com quantidades restritas de leite compensam o menor consumo de energia, aumentando o consumo de

concentrado rapidamente, de forma que apresentaram desempenho semelhante aos animais em aleitamento intensivo ou programado.

3.5 Referências

- APPLEBY, M.C.; WEARY, D.M.; CHUA, B. Performance and feeding behaviour of calves on ad libitum milk from artificial teats. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 74, p. 191-201, 2001.
- BALDWIN, R.L.; McLEOD, K.R.; KLOTZ, J.L.; HEITMANN, R.N. Rumen development, intestinal growth and hepatic metabolism in the pre- and postweaning ruminant. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 87, p. E55-E65, 2004. Supplement.
- BARTLETT, K.S.; McKEITH, F.K.; VandeHAAR, M.J.; DAHL, G.E.; DRACKLEY, J.K. Growth and body composition of dairy calves fed milk replacers containing different amounts of protein at two feeding rates. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, p. 1454-1467, 2006.
- 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, p. 955-964, 2007.
- BLOME, R.M.; DRACKLEY, J.K.; McKEITH, F.K.; HUTJENS, M.F.; McCOY, G.C. Growth, nutrient utilization, and body composition of dairy calves fed milk replacers containing different amounts of protein. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 81, p. 1641-1655, 2003.
- BORDERAS, T.F.; De PASSILLÉ, A.M.; RUSHEN, J. Feeding behavior of calves fed small or large amounts of milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, p. 2843-2852, 2009.
- BROESDER, J.T.; JUDKINS, M.B.; KRYSL, L.J.; GUNTER, S.A.; BARTON, R.K. Thirty or sixty percent milk replacer reduction for calves: effects on alfalfa hay intake and digestibility, digestive kinetics and ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 68, p. 2974-2985, 1990.
- BROWN, E.G.; VandeHAAR, M.J.; DANIELS, K.M.; LIESMAN, J.S.; CHAPIN, L.T.; KEISLER, D.H.; NIELSEN, M.S.W. Effect of increasing energy and protein intake on body growth and carcass composition of heifer calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, p. 585-594, 2005.
- CAMPOS, F.P.; NUSSIO, C.M.B.; NUSSIO, L.G. **Métodos de análises de alimentos**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 135 p.
- CHANEY A.L.; MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, Washington, v. 8, p. 130-132, 1962.
- COWLES, K.E.; WHITE, R.A.; WHITEHOUSE, N.L.; ERICKSON, P.S. Growth characteristics of calves fed an intensified milk replacer regimen with additional lactoferrin. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, p. 4835-4845, 2006.

- DIAZ, M.C.; Van AMBURGH, M.E.; SMITH, J.M.; KELSEY, J.M.; HUTTEN, E.L. composition of growth of Holstein calves fed milk replacer from birth to 105-kilogram body weight. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, p. 830–842, 2001.
- DRACKLEY, J.K. Calf nutrition from birth to breeding. **Veterinary Clinics Food Animal Practice**, Maryland Heights, v. 24, p. 55-86, 2008.
- GÄBEL, G.; ASCHENBACH, J.R.; MÜLLER, F. Transfer of energy substrates across the ruminal epithelium: implications and limitations. **Animal Health Research Reviews**, Cambridge, v. 3, p. 15-30, 2002.
- GOERING, H.K.; Van SOEST, P.J. **Forage fiber analysis (Apparatus, reagents, procedures and some applications)**. Washington: USDA, 1970. 379 p. (Agricultural Handbook).
- 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.
- HAYASHI, H.; KAWAI, M.; NONAKA, I.; TERADA, F.; KATOH, K.; OBARA, Y. Developmental changes in the kinetics of glucose and urea in Holstein calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, p. 1654-1661, 2006.
- HILL, T.M.; BATEMAN II, H.G.; ALDRICH, J.M.; SCHLOTTERBECK, R.L. Effect of milk replacer program on digestion of nutrients in dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, p. 1105-1115, 2010.
- JASPER, J.; WEARY, D.M. Effects of ad libitum milk intake on dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, p. 3054-3058, 2002.
- KHAN, M.A.; LEE, H.J.; LEE, W.S.; KIM, H.S.; KIM, S.B.; KI, K.S.; HA, J.K.; LEE, H.G.; CHOI, Y.J. Pre - and post-weaning performance of Holstein female calves fed milk through step-down and conventional methods. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, p. 876-885, 2007.
- KHAN, M.A.; WEARY, D.M.; Von KEYSERLINGK, M.A.G. Hay intake improves performance and rumen development of calves fed higher quantities of milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, p. 3547-3553, 2011a.
- KHAN, M.A.; WEARY, D.M.; Von KEYSERLINGK, M.A.G. Invited review: effects of milk ration on solid feed intake, weaning, and performance in dairy heifers. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, p. 1071-1081, 2011b.
- KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. Santa Maria: Editora da Universidade Federal de Santa Maria, 2002. 140 p.
- KRISTENSEN, N.B.; SEHESTED, J.; JENSEN, S.K.; VESTERGAARD, M. Effect of milk allowance on concentrate intake, ruminal environment, and ruminal development in milk-fed Holstein calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, p. 4346-4355, 2007.
- LARSON, L.L.; OWEN, F.G.; ALBRIGHT, J.L.; APPLEMAN, R.D.; LAMB, R.C.; MULLER, L.D. Guidelines toward more uniformity in measuring and reporting calf experimental data. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 60, p. 989-991, 1977.

- LESMEISTER, K.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. 90, p. 4346-4355, 2004.
- 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.; 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.
- NAFIKOV, R.A.; BEITZ, D.C. Carbohydrate and lipid metabolism in farm animals. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 137, p. 702-705, 2007.
- NOCEK, J.E.; POLAN, C.E. Influence of ration form and nitrogen availability on ruminal fermentation patterns and plasma of growing bull calves. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.67, p. 1038-1042, 1984.
- NUSSIO, C.M.B.; SANTOS, F.A.P.; ZOPOLLATTO, M.; PIRES, A.V.; MORAIS, J.B. Processamento de milho (floculado vs. laminado a vapor) e adição de monensina para bezerras leiteiras, pré e pós-desmama precoce. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, p. 229-239, 2003.
- QUIGLEY, J.D.; WOLF, T.A.; ELSASSER, T.H. Effects of additional milk replacer feeding on calf health, growth, and selected blood metabolites in calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, p. 3439-3450, 2006.
- QUIGLEY III, J.D.; CALDWELL, L.A.; SINKS, G.D.; HEITMANN, R.N. Changes in blood glucose, nonesterified fatty acids, and ketones in response to weaning and feed intake in young calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, p. 250-257, 1991.
- QUIGLEY III, J.D. Feeding prior to weaning. In: CALVES, HEIFERS AND DAIRY PROFITABILITY NATIONAL CONFERENCE, Pennsylvania, 1996. **Proceedings...** Ithaca: Northeast Regional Agricultural Engineering Service Cooperative Extension, 1996. p. 245-255.
- RINCKER, L.E.D.; VANDEHAAR, M.J.; WOLF, C.A.; LIESMAN, J.S.; CHAPIN, L.T.; NIELSEN, M.S.W. Effect of intensified feeding of heifer calves on growth, pubertal age, calving age, milk yield, and economics. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, p. 3554-3567, 2011.
- ROY, J.H.B. Factors affecting susceptibility of calves to disease. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 63, p. 650-664, 1980.
- SAS INSTITUTE. **SAS users guide**: Statistics. version 5. Cary, 1991. 1028p.
- SHINGU, H.; HAYASHI, H.; TOUNO, E.; OSHIBE, A.; KUSHIBIKI, S.; ODA, S.; KATOH, K.; OBARA, Y. Characteristics of developmental changes in the kinetics of glucose and urea in Japanese Black calves: comparison with Holstein calves. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 85, p. 2910-2915, 2007.

- TERRÉ, M.; TEJERO, C.; BACH, A. Long-term effects on heifer performance of an enhanced-growth feeding programme applied during the preweaning period. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 76, p. 331–339, 2009.
- TERRÉ, M.; DEVANT, M.; BACH, A. Performance and nitrogen metabolism of calves fed conventionally or following an enhanced-growth feeding program during the preweaning period. **Livestock Science**, Amsterdam, v.105, p. 109-119, 2006.
- SAS INSTITUTE. **SAS users guide**: statistics. version 5. Cary, 1991. 1028 p.
- Van SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.74, p.3583-3597, 1991.
- VIEIRA, A.P.; GUESDON, V.; De PASSILLÉ, A.M.; Von KEYSERLINGK, M.A.G.; WEARY, D.M. Behavioural indicators of hunger in dairy calves. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam.

4 Substituição de milho por co-produtos no concentrado de bezerros leiteiros: efeitos no desempenho e metabolismo²

4.1 Objetivos

O objetivo deste estudo foi avaliar a inclusão de co-produtos (glicerol, polpa cítrica, melaço e xarope de milho) em substituição ao milho grão na formulação de concentrado e seus efeitos no desempenho, desenvolvimento ruminal e parâmetros sanguíneos de bezerros leiteiros em aleitamento convencional.

4.2 Material e métodos

Os três experimentos que compõe este estudo apresentam o mesmo manejo e avaliações dos animais, apenas alterando-se a formulação do concentrado inicial de acordo com os co-produtos de interesse e o número de unidades experimentais.

Após o nascimento, os animais foram separados da mãe, alojados em abrigos individuais e receberam 2 L de colostro logo após o nascimento, e a cada 12 horas, até o segundo dia de vida. Decorrido este período, foram transportados da fazenda de origem para o Bezerreiro Experimental da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Os animais foram alojados em abrigos individuais, tiveram livre acesso à água e passaram a receber 4L de sucedâneo lácteo por dia (Servalmilk PRO, Serval Nutrição Animal - 22,5 PB:19 EE, 12,5% sólidos, para o segundo experimento e Sprayfo Violeta, Sloten do Brasil Ltda. - 20PB:16EE, 12,5% sólidos, para o primeiro e terceiro experimentos) divididos em duas refeições (07h e 18h) e concentrado inicial, formulado de acordo com as recomendações do NRC (2001) para atender as exigências destes animais (20% de PB e 70% NDT na MS), conforme o tratamento experimental proposto. O concentrado farelado foi fornecido toda manhã, *ad libitum*, até que o animal

² Projeto de Auxílio à Pesquisa FAPESP (2010-50240-0), o qual resultou na dissertação desenvolvida e defendida por Gustavo Guilherme de Oliveira Nápoles em 01/02/2013; e na tese desenvolvida e defendida por Carlos Eduardo Ultramari em 06/09/2013.

atingisse o consumo de 2 kg/d, pesando-se a sobra do dia anterior, de forma a se obter o consumo diário de concentrado. O desaleitamento dos animais foi realizado de forma abrupta na 8^a. semana de vida.

Os animais foram pesados ao nascer e semanalmente até 8 semanas de vida, sempre antes do fornecimento do leite da manhã. Foram também mensuradas, semanalmente, a 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.

O monitoramento do escore fecal foi realizado pelas observações visuais diárias utilizando adaptações do método descrito por Larson et al. (1977), quanto a fluidez das fezes. As fezes foram classificadas como normal (1); mole (2); corrente (3); aquosa (4) ou consistência líquida (5).

Semanalmente foram colhidas amostras de sangue 2 horas após a alimentação da manhã, utilizando-se tubos providos de vácuo contendo fluoreto de sódio como antiglicolítico e oxalato de potássio como anticoagulante. As amostras foram centrifugadas a 3000 x *g*, durante 20 minutos, à temperatura de 4 °C, para obtenção do plasma que foi armazenado para posterior determinação de glicose e lactato, através de leitura direta em autoanalisador bioquímico YSI 2700 (Biochemistry Analyser, Yellow Spring, OH, EUA); e β -hidroxibutirato, através de kit enzimático (310-A, Sigma Diagnostics, St. Louis, MO, EUA) segundo o método de Williamson et al. (1962), adaptado para leitura em placas de microtítulo em aparelho Microplate Reader BIO RAD (absorbância de 340 nm), como indicativo do desenvolvimento ruminal.

Nas semanas 4, 6 e 8 de vida, duas horas após a alimentação da manhã, foram realizadas colheitas de fluído ruminal, com o auxílio de sonda e bomba de vácuo. As amostras (aproximadamente 50 mL) foram colhidas e filtradas. A determinação do pH foi realizada logo após a amostragem, sendo aferida através de potenciômetro. Após esta leitura, uma alíquota foi armazenada a -10°C para determinação das concentrações de ácidos graxos de cadeia curta conforme descrito por Campos et al. (2004) e N-amoniaco conforme método de Chaney & Marbach (1962), adaptado para leitura em placas de microtítulo em aparelho Microplate Reader BIO RAD (absorbância de 540 nm).

Ao completarem oito semanas os animais foram insensibilizados através de pistola de dardo cativo e em seguida abatidos por meio de sangria, com o corte

da jugular. Os animais tiveram sua cavidade abdominal aberta, sendo os quatro compartimentos retirados livres de tecido adiposo omental. O conteúdo do trato foi será retirado com auxílio de lavagens com água e os compartimentos divididos em retículo-rúmen, omaso e abomaso. A capacidade máxima do retículo-rúmen foi medida com auxílio de amarrações na saída deste compartimento, sendo este cheio com água até sua máxima capacidade e o volume medido em proveta. Depois da retirada do excesso de água dos tecidos, foram tomadas medidas de peso do retículo-rúmen, do omaso, do abomaso e dos quatro compartimentos em conjunto. Foram colhidas amostras do tecido epitelial no saco ventral do rúmen para avaliação de comprimento, largura e número de papilas por cm² como principais medidas de desenvolvimento ruminal.

Amostras de concentrado foram colhidas a cada nova batida, secas a 55°C e moídas à 1 mm para determinação de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO) e proteína bruta (PB) de acordo com AOAC (1980); fibra em detergente neutro (FDN) pelo método descrito por Van Soest et al. (1991).

O delineamento utilizado em todos os experimentos foi de blocos casualizados, sendo utilizado como fator de blocagem o peso ao nascer e a data de nascimento dos animais. Os dados de consumo de alimento e desempenho (ganho de peso diário, ganho em altura de cernelha, ganho em largura de garupa e ganho de perímetro torácico) foram analisados como medidas repetidas no tempo através do PROC MIXED do pacote SAS (1991), utilizando-se o peso ao nascer como co-variável. O mesmo procedimento estatístico foi utilizado para análise dos parâmetros ruminais (pH, N-amoniaco e ácidos graxos de cadeia curta), parâmetros sanguíneos (glicose, lactato e BHBA) e atividade enzimática, levando-se em conta o efeito da idade dos animais (semana). As medidas morfológicas do trato digestório superior, assim como as medidas relativas ao desenvolvimento do rúmen (papilas) foram analisadas através do PROC GLM do programa estatístico SAS (1991).

Particularidades do material e métodos de cada experimento que compoem este estudo são descritas a seguir.

Experimento 1: Efeito da substituição do milho por polpa cítrica no concentrado inicial sobre o desempenho e alterações no metabolismo energético de bezerros leiteiros

O experimento foi conduzido entre dezembro de 2011 e março de 2012. Os 24 bezerros receberam concentrado inicial contendo níveis crescentes de polpa cítrica (PC), em substituição ao milho: 0%PC (0% de PC e 100% milho), 50%PC (50%PC e 50% milho) e 100%PC (100%PC e 0% milho). O concentrado foi formulado segundo o NRC (2001) para terem os mesmos teores de proteína e minerais (Tabela 1).

Tabela 1 - Ingredientes e composição química dos concentrados.

Ingredientes, % MS	Tratamentos		
	0%PC	50%PC	100%PC
Milho moído	64,0	32,0	0,0
Polpa cítrica	0,0	32,0	64,0
Farelo de soja	26,0	28,0	28,5
Casca de soja	6,0	0	0
Farelo de trigo	0,0	5,5	7,0
Calcário calcítico	3,0	1,5	0,0
Premix mineral/vitamínico ¹	1,0	1,0	1,0
Composição química			
Proteína bruta, % MS ²	20,6	20,7	19,5
Extrato etéreo, % MS ²	3,4	3,0	2,8
Fibra em detergente neutro (FDN), % MS ²	13,4	17,7	21,7
Fibra em detergente ácido (FDA), % MS ²	6,9	13,7	22,3
Energia metabolizável, Mcal/kg ³	2,94	2,97	2,96

¹ Composição do Premix mineral/vitamínico: Ca 16,8%; P 4,2%; S 2,3%; Na 11,6%; Cl 8,0%; Mg 2,4; Co 38,2 ppm; Cu 343 ppm; I 30,2 ppm; Fe 578,2 ppm; Mn 1146,4 ppm; Se 15,5 ppm; Zn 1176,2 ppm; Vit. A 68.760 UI/kg; Vit. E 764 UI/kg; Vit. D 57.300 UI/kg.

² Valores obtidos com base nos resultados das análises bromatológicas dos ingredientes.

³ Valor estimado pelo NRC (2001).

Experimento 2: Efeito de doses crescentes de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial sobre o desempenho e alterações no metabolismo energético de bezerros leiteiros

O experimento foi conduzido entre janeiro e junho de 2011. Os 24 bezerros receberam concentrado inicial contendo níveis crescentes de glicerina bruta (GB), em substituição ao milho: 0%GB (0% de GB e 100% milho), 5%GB (5%GB e 95% milho) e 10%GB (10%GB e 90% milho). O concentrado foi formulado segundo o NRC (2001) para terem os mesmos teores de proteína e minerais (Tabela 2). A composição da glicerina bruta estava de acordo com os padrões estabelecidos pelo ministério para sua comercialização como ingrediente para ração animal (glicerol: 80,70%; cloreto de sódio: 5,8%; ácidos graxos: 0,22%; metanol: 80ppm). De acordo com o NRC (2001) a glicerina bruta apresenta em torno de 3.525 kcal/kg de energia bruta.

Tabela 2 - Ingredientes e composição química dos concentrados e da glicerina.

Ingredientes, % MS	Tratamentos		
	0% GB	5% GB	10% GB
Milho moído	60,0	55,0	50,0
Glicerina bruta	0,0	5,0	10,0
Melaço de Cana	2,0	0,0	0,0
Farelo de soja	28,0	29,0	29,0
Premix mineral/vitamínico ¹	2,0	2,0	2,0
Casca de Soja	6,5	7,5	7,5
Farelo de trigo	1,5	1,5	1,5
Composição química			
Proteína bruta, % MS ²	20,72	21,33	21,07
Extrato etéreo, % MS ²	3,87	3,38	3,19
Fibra em detergente neutro (FDN), % MS ²	18,00	18,15	17,80
Fibra em detergente ácido (FDA), % MS ²	8,07	8,87	8,57
Energia metabolizável, Mcal/kg ³	3,08	3,06	3,03

¹ Composição do Premix mineral/vitamínico: Ca 20,2%; P 7,9%; S 2,5%; Na 11,6%; Cl 8,0%; Mg 2,5; Co 38,2 ppm; Cu 343 ppm; I 30,2 ppm; Fe 578,2 ppm; Mn 1146,4 ppm; Se 15,5 ppm; Zn 1176,2 ppm; Vit. A 68.760 UI/kg; Vit. E 764 UI/kg; Vit. D 57.300 UI/kg.

² Valores obtidos com base nos resultados das análises bromatológicas dos ingredientes.

³ Valor estimado pelo NRC (2001).

Experimento 3: Efeito da substituição do milho por melaço de cana ou xarope de glicose no concentrado inicial sobre o desempenho e alterações no metabolismo energético de bezerros leiteiros

O experimento foi conduzido de abril a julho de 2012. Os 36 animais receberam concentrado inicial contendo níveis crescentes de melaço de cana (ME) ou xarope de glicose (XG), em substituição ao milho: 0%ME (0% de ME e 100% milho), 5%ME (5%ME e 95% milho), 10%ME (10%ME e 90% milho) e 5%XG (5% XG e 95% milho). O concentrado foi formulado segundo o NRC (2001) para terem os mesmos teores de proteína e minerais (Tabela 3)

Tabela 3 - Ingredientes e composição dos concentrados iniciais experimentais.

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

¹ Composição do Premix mineral/vitamínico: Ca 16,8%; P 4,2%; S 2,3%; Na 11,6%; Cl 8,0%; Mg 2,4; Co 38,2 ppm; Cu 343 ppm; I 30,2 ppm; Fe 578,2 ppm; Mn 1146,4 ppm; Se 15,5 ppm; Zn 1176,2 ppm; Vit. A 68.760 UI/kg; Vit. E 764 UI/kg; Vit. D 57.300 UI/kg.

² Nitrogênio insolúvel em detergente neutro

³ Nitrogênio insolúvel em detergente ácido

⁴ Valor estimado pelo NRC (2001)

4.3 Resultados e discussão

4.3.1 Experimento 1: *Efeito da substituição do milho por polpa cítrica no concentrado inicial sobre o desempenho e alterações no metabolismo energético de bezerros leiteiros*

O consumo de concentrado não foi afetado pelos tratamentos ($P>0,05$), não havendo também interação entre tratamento x idade (Tabela 4). Mesmo com coloração escura e odor cítrico, não houve problemas de adaptação e aceitação do concentrado contendo 50 ou 100% de polpa cítrica em substituição milho, sugerindo não haver queda na palatabilidade. Bhattacharrya & Harb (1973) substituíram o milho por 20, 40 ou 60% de polpa cítrica (base seca) na ração de cordeiros e também relataram palatabilidade similar entre os tratamentos.

Tabela 4 – Consumo de concentrado, ganho de peso diário e peso corporal de bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0PC), 50% (50PC) ou 100% (100PC) de polpa cítrica em substituição ao milho

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

⁽¹⁾ EPM = erro padrão da média

⁽²⁾ T = efeito de tratamento; I = efeito da idade dos animais; T x I = efeito da interação tratamento e idade dos animais

Nota: Sinal convencional utilizado:

.. Não se aplica dado numérico.

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

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

Como pode ser observado na Figura 1, o consumo de concentrado aumentou ($P<0,001$) com o avanço da idade do animal, fator esse importante para que o desaleitamento possa ser realizado de maneira satisfatória. Valores similares foram relatados por Ferreira & Bittar (2010) e Silva et al. (2011), testando a utilização de aditivos alimentares na dieta de bezerros em aleitamento. De acordo com Quigley (1996), animais que consumirem 700 g/dia de concentrado inicial durante três dias consecutivos podem ser desaleitados sem haver prejuízos no desempenho. Outro aspecto importante relacionado ao consumo adequado de concentrado ao desaleitamento é a sua alta relação com o potencial de produção de leite futura (Heinrichs & Heinrichs, 2011).

Figura 1 – Consumo de concentrado (g/dia), de acordo com a idade, de bezerros recebendo 0% (0PC), 50% (50PC) ou 100% (100PC) de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado inicial

O peso vivo e o ganho de peso diário médio não foram afetados ($P>0,05$) pela inclusão de polpa cítrica no concentrado inicial (Tabela 4), havendo, no entanto, aumento significativo com o avanço da idade ($P<0,001$) para estas variáveis (Figura 2, respectivamente). Esses resultados eram esperados, visto que o consumo de concentrado também apresentou efeito de idade e não diferiu entre tratamentos ao longo do período experimental. Essas variáveis estão de acordo com o encontrado na literatura com vistas ao desaleitamento precoce (Nussio et al., 2003; Ferreira & Bittar, 2010; Silva et al., 2011), onde os animais

são submetidos ao aleitamento convencional (4 L/dia) de forma a estimular o consumo de concentrado.

Figura 2 – Peso corporal e ganho de peso (g/dia) de bezerros recebendo 0% (0PC), 50% (50PC) ou 100% (100PC) de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado inicial

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

A substituição de milho por polpa cítrica no concentrado inicial de bezerros leiteiros não afetou o escore fecal (Figura 3), não havendo também efeito de interação tratamento x idade ($P>0,05$). No entanto, houve diminuição significativa ($P<0,001$) do escore fecal com o avanço da idade dos animais. Os resultados do presente estudo corroboram com os relatados por Schalch et al. (2001), que não verificaram aumento dos casos de diarreia de bezerros recendo concentrado inicial contendo níveis crescentes (0, 15, 30 ou 45%) de polpa cítrica em substituição ao milho.

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

De acordo Larson et al. (1977), animais apresentando escore fecal acima de 2 são considerados como acometidos por diarreia. Pode-se observar na Figura 3 que todos os tratamentos apresentaram valores acima de 2 na terceira semana de vida, demonstrando maior incidência de diarreia nessa fase. De acordo com a literatura, é comum ocorrer maior frequência de diarreia durante as três primeiras semanas de vida do animal (Franklin et al., 2003; Quigley et al., 1995), assim como observado nesse experimento.

Figura 3 – Escore fecal de bezerros recebendo 0% (0PC), 50% (50PC) ou 100% (100PC) de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado inicial

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

Como pode ser observado na Figura 4 e Tabela 5, não houve efeito ($P > 0,05$) de da composição do concentrado inicial, da idade ou da interação destes fatores nos valores de pH do fluido ruminal. Esses resultados estão de acordo com Bampidis & Robinson (2006), os quais realizaram ampla revisão da literatura e concluíram que dietas contendo inclusão de polpa cítrica não causam alteração no pH do fluido ruminal. Esses valores, considerados relativamente baixos para ruminantes adultos, podem ser decorrentes da ingestão elevada de carboidratos de rápida e extensa fermentação ruminal, promovendo produção acelerada de AGCC e consequente diminuição do pH.

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

Figura 4 – Valores de pH ruminal de bezerros recebendo 0% (0PC), 50% (50PC) ou 100% (100PC) de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado inicial

A produção de AGCC total (Tabela 5) não foi afetada pela composição do concentrado inicial ($P>0,05$), porém as concentrações observadas na 4ª semana de vida dos animais foram inferiores ($P<0,05$) às outras semanas de avaliação, sugerindo aumento na capacidade de fermentação ruminal dos animais (Figura 5). O efeito de idade na produção total de AGCC acompanhou o aumento no consumo de concentrado (Figura 1) e consequente fermentação ruminal, confirmando os dados de Anderson et al. (1982) e Quigley et al. (1991) que trabalharam com bezerros em aleitamento recebendo concentrado inicial *ad libitum*.

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

Tabela 5 – Valores médios de parâmetros de fermentação ruminal de bezerros recebendo 0% (0PC), 50% (50PC) ou 100% (100PC) de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado inicial

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

⁽¹⁾ EPM = erro padrão da média

⁽²⁾ T = efeito de tratamento; I = efeito da idade dos animais; T x I = efeito da interação tratamento e idade dos animais

^{a,b} Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si (P<0,05)

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

De acordo com Bampidis & Robinson (2006), o principal AGCC gerado pela fermentação da polpa cítrica é o acetato, enquanto o propionato é o principal produto da fermentação do amido. No presente estudo, não houve efeito (P>0,05) da inclusão de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado, assim como da interação da composição e da idade dos animais sobre as concentrações de acetato e propionato (Tabela 5). Porém, como pode ser visualizado na Figura 6 houve efeito de idade (P<0,05) para ambas as variáveis. Tal resultado decorre do aumento na ingestão de dieta sólida com a idade dos animais (Figura 1) e consequente aumento na fermentação ruminal, gerando principalmente acetato e propionato como produtos finais.

Figura 5 – Concentração molar total de ácidos graxos de cadeia curta (µmol/mL) de bezerros recebendo 0% (0PC), 50% (50PC) ou 100% (100PC) de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado inicial

A relação acetato:propionato não foi afetada pela composição do concentrado ($P>0,05$) (Tabela 5), não havendo também interação deste fator com a idade dos animais. No entanto, esta relação foi reduzida com a idade dos animais ($P<0,01$). Tal resultado sugere que o aumento da concentração de propionato foi mais acentuada que a de acetato. Corroborando com os resultados do presente estudo, Gilaverte et al. (2011) não encontraram diferenças ($P>0,05$) na relação acetato:propionato no fluido ruminal de ovinos consumindo milho como principal fonte energética do concentrado (relação acetato:propionato = 2,50) e 100% de polpa cítrica em substituição ao milho (relação acetato:propionato = 2,92). Esses mesmos autores não verificaram diferenças ($P>0,05$) para a concentração de acetato, propionato e butirato.

Animais que consumiram dietas contendo 50 ou 100% de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado inicial apresentaram maior ($P<0,05$) concentração de butirato quando comparado aos do tratamento sem inclusão de polpa cítrica (Tabela 5). A produção de butirato, aliada a alta concentração de propionato, está normalmente associada ao maior crescimento das papilas ruminais (Sander et al., 1959) e, portanto, preparo fisiológico do animal para absorção de produtos da fermentação (principalmente AGCC) gerados a partir de dietas sólidas, permitindo o desaleitamento sem queda no desempenho. Tal resultado pode ser confirmado pela maior altura e área das papilas ruminais em comparação ao tratamento controle (Tabela 7).

Figura 6 – Concentração molar dos ácidos acético (1), propiônico (2) e butírico (3) no fluido ruminal de bezerros recebendo 0% (0PC), 50% (50PC) ou 100% (100PC) de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado inicial

A concentração de butirato aumentou ($P < 0,05$) com o avanço da idade dos animais (Figura 6) devido ao aumento no consumo de alimentos sólidos e consequente início da fermentação ruminal. De acordo com Baldwin et al. (2004), bezerros com poucas semanas de vida oxidam glicose e butirato a taxas

semelhantes pelo epitélio ruminal. No entanto, com o avanço da idade, a taxa de oxidação da glicose pelas células do epitélio ruminal decrescem e o butirato produzido na fermentação passa a ser o substrato preferencial a ser oxidado.

A concentração média de N-amoniaco no fluido ruminal não foi afetada pela composição do concentrado ($P>0,05$), não havendo também efeito da idade dos animais, ou da interação destes fatores (Tabela 5). Em todas as coletas realizadas (Figura 7), a concentração de N-amoniaco manteve-se acima do mínimo recomendado por Satter & Roffler (1975) e Leng & Nolan (1984), de 5 mg/dL, sugerindo que houve N-amoniaco suficiente para adequado crescimento microbiano em todas as dietas fornecidas.

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

Figura 7 – Concentração de N-amoniaco no fluido ruminal de bezerros recebendo 0% (0PC), 50% (50PC) ou 100% (100PC) de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado inicial

Não houve efeito ($P>0,05$) de tratamento e interação entre tratamento x idade para a concentração de glicose plasmática (Tabela 6), sendo observadas concentrações dentro do encontrado na literatura, próximas de 100 mg/dL (Ferreira & Bittar, 2010; Quigley & Bernard, 1992). Entretanto, houve aumento

($P < 0,01$) na concentração de glicose plasmática com a idade dos animais (Figura 3.11). Dados similares foram relatados por Nápoles (2012), De Paula (2012), Ferreira (2011) e Silva et al. (2011), ao testarem diferentes dietas para bezerros da raça Holandês desaleitados à oitava semana de vida.

Tabela 6 – Concentrações plasmáticas de glicose, β -hidroxibutirato (β HBA) e lactato em bezerros recebendo 0% (0PC), 50% (50PC) ou 100% (100PC) de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado inicial

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

¹EPM = erro padrão da média

²T = efeito de tratamento; I = efeito de idade; T x I = efeito da interação entre tratamento e idade

Nota: Sinal convencional utilizado:

.. não se aplica dado numérico

O aumento da glicose plasmática pode estar relacionado à glicose obtida através da dieta líquida juntamente com a proveniente da gliconeogênese hepática. O aumento na produção de propionato ruminal com o avanço da idade (Figura 8) embasa este resultado. Segundo Sauer et al. (1989), a maior produção de propionato no rúmen pode resultar em maiores níveis de glicose plasmática devido a sua intensa produção através da gliconeogênese hepática. No entanto, esperava-se que os animais ingerindo 100% de milho como fonte energética apresentassem maior glicose plasmática em todo o período experimental, visto que o amido é fermentado a propionato e lactato, enquanto que a polpa cítrica apresenta padrão de fermentação mais acético. Propionato e lactato são importantes compostos gliconeogênicos, diferentemente do acetato, o qual não tem função gliconeogênica (Bampidis & Robinson, 2006).

Figura 8 – Concentrações plasmáticas de glicose (mg/dL) e β -hidroxibutirato (mmol/L) em bezerros recebendo 0% (0PC), 50% (50PC) ou 100% (100PC) de polpa cítrica em substituição ao milho no concentrado inicial

Conforme esperado, os níveis séricos de BHBA aumentaram ($P < 0,001$) com a idade, acompanhando o aumento da concentração ruminal de butirato (Figura 8) e o aumento no consumo de concentrado (Figura 1). As concentrações de BHBA tendem a aumentar com o avanço da idade devido ao aumento no consumo de alimentos sólidos e, consequentemente, início do metabolismo ruminal, com maior produção de AGCC pelas bactérias ruminais e maior produção de corpos cetônicos pelo epitélio ruminal em desenvolvimento (Quigley et al., 1991). Animais na fase de pré-ruminante utilizam glicose e butirato para gerar energia para manutenção e multiplicação das células do epitélio ruminal. Já

nas fases de transição e ruminante adultos a taxa de oxidação da glicose pelas células do epitélio ruminal decrescem, e o butirato produzido na fermentação ruminal passa a ser o substrato preferencial a ser oxidado, gerando quantidades maiores de BHBA quando comparado a animais neonatos (Baldwin & Jesse, 1992). De acordo com Santos (2006), a concentração plasmática de BHBA em ruminantes adultos está em torno de 0,1 a 0,3 mmol/L. No presente estudo, apenas o tratamento contendo milho como principal fonte de energia apresentou valores abaixo de 0,1 mmol/L, indicando que os animais ainda não estavam com o rúmen completamente desenvolvido.

Esperava-se maior concentração média de BHBA em animais consumindo concentrado contendo 50 e 100% de polpa cítrica frente àqueles que não receberam, uma vez que os tratamentos 50PC e 100PC apresentaram maior concentração de butirato ruminal (Figura 8) e maior desenvolvimento das papilas ruminais (Tabela 7). Entretanto, a interação tratamento x idade ($P<0,05$) existente nesta variável foi relativa apenas a concentração plasmática de BHBA dentro do mesmo tratamento (50% de polpa cítrica) entre as semanas 3, 4, 5 vs a semana 8.

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

Animais que tiveram a inclusão de 50 ou 100% de polpa cítrica no concentrado inicial em substituição ao milho apresentaram maior ($P<0,05$) peso total do trato digestório superior (rúmen, retículo, omaso e abomaso), peso do retículo-rúmen e peso do omaso ($P<0,05$) (Tabela 7). Estes mesmos tratamentos tenderam a ter maior proporção do retículo-rúmen (porcentagem do trato total) e volume do retículo-rúmen ($P<0,10$). Resultados semelhantes foram descritos por Suárez et al. (2006), os quais demonstraram que bezerros recebendo concentrado contendo pectina em substituição ao amido apresentaram maior peso do rúmen (1.423 g e 894g, respectivamente). Schalch et al. (2001), por sua vez, não encontraram diferenças significativas quanto ao volume e peso do

retículo-rúmen e omaso-abomaso de bezerros recebendo até 45% de polpa cítrica no concentrado e abatidos aos 70 dias de vida.

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

Tabela 7 – Medidas morfométricas do trato digestório anterior e de papilas ruminais de bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0PC), 50% (50PC) ou 100% (100PC) de polpa cítrica em substituição ao milho

	Tratamentos			EPM ¹	P< ²
	0PC	50PC	100PC		
Trato total, g	1.075,0 ^b	1.547,9 ^a	1.415,6 ^a	291,7	0,01
Retículo-rúmen, g	613,21 ^b	1.051,29 ^a	980,73 ^a	213,6	<,001
% Trato total	55,37	68,73	70,33	4,5	0,06
Capacidade, L	9,55	12,96	12,78	2,9	0,07
Omaso, g	176,81 ^b	198,50 ^a	186,52 ^a	60,8	0,03
% Trato total	14,56	13,38	13,41	2,2	0,28
Abomaso, g	285,06	298,15	248,40	30,7	0,05
% Trato total	30,03 ^a	17,92 ^b	16,27 ^b	4,1	0,01
Medidas de papilas ruminais					
Número/cm²	82,39	71,20	85,08	24,3	0,36
Altura, mm	1,28 ^b	3,30 ^a	1,97 ^b	0,39	0,01
Largura, mm	0,97	1,29	1,10	0,32	0,33
Área, cm²	1,55 ^b	3,93 ^a	2,03 ^{ab}	1,02	0,03

¹ EPM = erro padrão da média

² P = efeito de tratamento

^{a,b} Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si (P<0,05)

A inclusão de polpa cítrica no concentrado inicial resultou em menor proporção (P<0,05) do abomaso quando comparados aos pré-estômagos (Tabela 7), sugerindo a inversão na proporção dos compartimentos, conforme o animal se torna ruminante funcional. Quando o animal nasce, o abomaso representa em torno de 70% dos quatro compartimentos do trato digestório superior, enquanto o rúmen perfaz em torno de 25% (Huber, 1969). No entanto, conforme o animal passa a ingerir alimento sólido e tem o retículo-rúmen colonizado por microrganismos, este passa a compreender em torno de 65% do total e o

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

Observou-se maior altura e área das papilas dos animais consumindo concentrado contendo 50% de PC em substituição ao milho (Tabela 7). Este fato pode ser explicado pela maior concentração dos ácidos butírico no fluido ruminal desses animais quando comparado ao tratamento contendo milho como principal fonte energética do concentrado. De acordo com Davis & Drackley (1998), o butirato e o propionato são os principais estimuladores do crescimento do tecido ruminal, em parte por serem extensivamente metabolizados pelo epitélio ruminal durante a absorção. Segundo Santos (2006), 30 a 70% do butirato produzido pela fermentação pré-gástrica são metabolizados no epitélio ruminal, com o intuito de gerar energia para o próprio órgão, favorecendo assim o desenvolvimento da musculatura e diferenciação do epitélio.

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

4.3.2 Experimento 2: *Efeito de doses crescentes de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial sobre o desempenho e alterações no metabolismo energético de bezerros leiteiros*

Como pode ser observado na Tabela 8, não foram encontradas diferenças significativas no consumo de concentrado em resposta a inclusão de glicerina bruta em substituição ao milho moído ($P>0,05$), assim como não houve diferenças para o efeito de interação tratamento x idade ($P>0,05$).

Tabela 8 – Consumo de concentrado (g/dia), ganho de peso (g/dia) e peso corporal (kg) de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial

	Tratamentos			EPM ¹	P< ²		
	0%	5%	10%		T	I	T x I
Consumo de concentrado, g/d							
Ao desaleitamento	1523,6	1459,3	1499,5	133,52	0,79	..	..
Média do período total	754,9	688,4	641,1	118,50	0,69	<,0001	0,71
Ganho de peso diário, g/d							
Média do período total	563,23	501,24	473,96	49,26	0,30	<,0001	0,34
Peso corporal, kg							
Inicial	38,2	37,5	37,2	2,77	1,00	..	..
Final	63,8	60,2	59,8	2,77	0,99	..	..
Média do período total	48,4	46,5	45,8	2,67	0,44	<,0001	0,29

¹EPM = erro padrão da média

²T = 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.

Esperava-se que as médias de consumo de concentrado dos tratamentos contendo glicerina fossem inferiores ao consumo do tratamento controle, uma vez que diversos trabalhos tem encontrado esse efeito da glicerina sobre o consumo de MS (Ilse & Anderson, 2009; Gunn et al., 2011). Entretanto, os resultados mostram que a glicerina não afetou o consumo de concentrado, o que possivelmente, pode estar relacionado ao nível de substituição adotado e pela qualidade da glicerina utilizada neste estudo. Como esperado e relatado por diversos autores (Kertz, 1979; Williams & Frost, 1992), observou-se grande variação nos dados de consumo de concentrado inicial, sendo observado valor de erro padrão da média de 118,5 g/d. De maneira geral, os animais apresentaram consumo de concentrado bastante adequado para animais em sistema de aleitamento com vistas ao desaleitamento precoce. Além disso, os dados do consumo de concentrado durante o período de aleitamento foram semelhantes aos apresentados por Quigley et al. (1996a) e superior aos encontrados por Raeth-Knight et al. (2009) que avaliaram a glicerina na dieta de bezerros em aleitamento.

Como pode ser observado na Figura 9, o consumo de concentrado aumentou ($P < 0,01$) com o avanço da idade do animal, fator importante para que o desaleitamento possa ser realizado de maneira satisfatória. Além disso, o consumo de concentrado alcançou valores para desaleitamento conforme sugerido por Quigley et al. (1996b). De acordo com esses autores, para que o desaleitamento possa ser realizado de forma adequada e sem afetar o desempenho animal, bezerros da raça Holandês, devem apresentar consumo entre 700-800 g de matéria seca de concentrado inicial, durante três dias consecutivos. Outro aspecto importante a ser considerado é a alta relação do consumo de concentrado inicial por ocasião do desaleitamento de bezerros leiteiros com o potencial de produção de leite futura (Heinrichs & Heinrichs, 2011). Neste sentido, os resultados observados neste estudo estão acima da média esperada para bezerros leiteiros com a mesma idade, conforme revisão apresentada por Davis e Drackley (1998).

Figura 9 – Consumo de concentrado (g/dia) de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial

Trabalhos avaliando os efeitos da substituição de milho por glicerol em dietas para animais em crescimento estão disponíveis na literatura em sua maioria com animais de corte, apresentando resultados bastante variados e dependentes da formulação da dieta. Parsons et al. (2009), por exemplo, observaram redução linear no consumo de matéria seca em animais alimentados com rações contendo de 0 a 16% de glicerina bruta em substituição ao milho. Da

mesma forma, Gunn et al. (2011), avaliando níveis maiores de substituição do milho da dieta de bezerros de corte recém desaleitados, 0, 15 e 30% de glicerina bruta combinada com grãos secos solúveis de destilaria (DDGS), observaram redução linear no consumo de matéria seca, sugerindo que a substituição do milho por até 15% de glicerina bruta, parece ser a melhor opção.

Por outro lado, Mach et al. (2009) não observaram efeitos no consumo de matéria seca em dietas com alto teor de concentrado contendo 0, 4, 8 ou 12% de glicerina bruta. Schroder & Sudekum (1999) utilizaram dietas contendo 10% de glicerol e não verificaram diferença no consumo de MS para vacas leiteiras. De acordo com a revisão de Donkin (2008) a inclusão de glicerina bruta na ração em substituição ao milho em níveis de até 15% não altera o consumo de matéria seca de vacas em lactação. Segundo Drouillard (2008), a glicerina bruta tem reduzido o consumo de matéria seca quando incluída em níveis superiores a 10%, mas aumentado o ganho de peso diário, melhorando consequentemente a eficiência em 16 a 23% quando comparada a dietas sem inclusão de glicerina.

A semelhança entre tratamentos observada no consumo de concentrado, também foi verificada nos valores de ganho de peso diário e de peso corporal final (Tabela 8), não havendo diferenças entre os tratamentos ($P>0,05$). Estes dois parâmetros apresentaram efeito de idade ($P<0,001$), com valores sempre crescentes (Figura 10). As taxas de crescimento animal apresentam-se de acordo com o observado na literatura para animais em aleitamento (Heinrichs & Losinger, 1998; Hoffman, 1997; Kertz & Chester-Jones, 2004), fator relacionado principalmente ao consumo de concentrado, o que garante ganhos diários satisfatórios também após o desaleitamento. Contudo, o valor de peso corporal final não atingiu a recomendação de se dobrar o peso ao nascer de bezerros leiteiros durante a fase de aleitamento (Van Amburgh & Drackley, 2005). Isto porque, em sistemas de aleitamento convencional onde se fornece 4L/d de dieta líquida aos animais, a meta de dobrar o peso ao nascer ao desaleitamento é dificilmente atendida tendo em vista que esta quantidade fornecida atende pouco mais que a exigência de manutenção do animal.

Figura 10 – Ganho de peso (g/d) e peso corporal (kg) de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial

Os valores de ganho de peso diário médio de todo o período experimental estão acima do normalmente observado em experimentos nacionais e em sistemas de produção comerciais, onde se aplica manejo alimentar com vistas ao desaleitamento precoce (Ferreira et al., 2010; Nussio et al., 2003; Silva et al., 2011). Nestes sistemas os animais são aleitados com volumes restritos de dieta líquida, normalmente em torno de 4L/d, de forma a estimular o consumo de concentrado mais cedo, o que permite o desaleitamento tendo em vista o desenvolvimento ruminal.

Em alguns trabalhos conduzidos com a adição de glicerina na dieta de bezerros em aleitamento, assim como ocorrido no presente estudo, não foram observados efeitos negativos no desempenho animal, seja com a adição na dieta líquida ou sólida. Ebert e Drackley (2008) forneceram substituto de leite com a mesma composição do utilizado neste estudo, exceto a adição de 15% de glicerol

substituindo parte da lactose em um dos tratamentos para bezerros, os quais apresentaram ganhos de peso semelhantes ao longo de todo o período experimental. Também não foram verificadas diferenças significativas nas medidas corporais e em medidas de saúde. Com base nestes resultados, os autores sugerem que o glicerol pode substituir de maneira aceitável pelo menos 37,5% do total de lactose na fórmula do substituto de leite, tornando-se economicamente favorável. Raeth-Knight et al. (2009) também avaliaram a substituição de lactose por glicerol em substituto de leite e não observaram redução no ganho de peso ou no desenvolvimento corporal quando esta substituição foi por até 35% de glicerol na MS ou 46% em relação ao teor de lactose do tratamento controle.

Alguns trabalhos também avaliaram a substituição de milho por glicerina bruta no concentrado para bezerros. Golombeski et al. (2009) forneceram concentrado com 0, 3 ou 6% de glicerina bruta para bezerros após o desaleitamento e não observaram diferenças entre o consumo diário de concentrado e ganho diário de peso. De acordo com estes resultados, a substituição de milho por até 6% de glicerina foi adequada para bezerros no período pós-desmama. Maciel et al. (2012) avaliaram maiores níveis de inclusão (0, 8, 16 ou 24% de glicerina bruta) na dieta sobre o desempenho de 28 bezerros mestiços holandês/zebu e não observaram efeito negativo no ganho de peso diário, mesmo para o maior nível de inclusão.

Baseado nos resultados encontrados, a substituição do milho por até 10% de glicerina não afetou o consumo de concentrado, ganho de peso médio e peso corporal final, podendo assim ser incluída na dieta de bezerros com vista ao desaleitamento precoce, sem prejuízos ao desempenho animal.

Os dados de escore fecal com o avanço da idade dos animais para os tratamentos encontram-se na Figura 11. De acordo com os estudos realizados por Larson et al. (1977), considera-se o animal com diarreia quando seu escore fecal está acima do escore 2. No presente estudo não houve diferença entre os tratamentos e efeito de interação tratamento x idade ($P > 0,05$), no entanto, houve significância com o avanço da idade dos animais ($P < 0,0001$).

Figura 11 – Escore de condição das fezes de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial

Conforme pode ser observado, durante a segunda e a terceira semanas de vida, observou-se a maioria dos casos de diarreia. Entretanto, os valores de escore fecal ficaram abaixo de 3, demonstrando que a ocorrência de diarreia nos animais não foi grave. Além disso, a maior parte dos dados de escore fecal observadas durante todo período experimental, estiveram abaixo de 2, comprovando o bom manejo sanitário durante o período experimental. A semelhança entre os tratamentos mostra que a glicerina não influenciou a ocorrência de diarreia nos animais. De acordo com a literatura, é comum ocorrer maior frequência de diarreia durante as duas ou três primeiras semanas de vida do animal (Franklin et al., 2003; Quigley et al., 1995), assim como foi observado neste experimento. Bezerros ao nascimento são frequentemente expostos a significativos estressores ambientais e imunológicos. Como o animal encontra-se em desenvolvimento, o sistema imunológico não está totalmente desenvolvido nesse período, o que os torna susceptíveis a agentes causadores de diarreia, principalmente vírus e bactérias.

Com a inclusão de glicerina bruta nas dietas, suspeitava-se que os tratamentos contendo a glicerina aumentassem a fluidez das fezes, devido ao seu alto teor de sódio (5,81% de cloreto de sódio), aumentando assim a incidência de diarreia alimentar nos animais. Porém, essa suspeita não se confirmou e os animais recebendo concentrado contendo glicerina apresentaram baixos escores fecais ao longo de todo período experimental. Os dados encontrados neste

experimento corroboram os resultados encontrados Raeth-Knight et al. (2009), que avaliando a inclusão de glicerina na dieta de bezerros, encontraram escore fecal com pontuações médias de 1,1 entre os tratamentos, indicando nenhum impacto da glicerina sobre a consistência das fezes. Da mesma forma, Ebert & Drackley (2008) também não encontram influência da glicerina sobre as medidas de saúde dos animais (escores fecais e tratamentos médicos).

Tabela 9 – Perfil de fermentação ruminal de bezerros recebendo 0, 5 e 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial

	Tratamento ¹			EPM ²	P< ³		
	0%	5%	10%		T	I	T x I
pH	5,25	5,11	5,10	0,08	0,303	0,016	0,225
Acético, mmol/L	64,93	52,15	52,76	4,98	0,142	0,623	0,256
Propiônico, mmol/L	46,95 ^a	36,03 ^b	44,28 ^a	3,11	0,057	<,0001	0,111
Butírico, mmol/L	7,29	6,62	6,85	0,52	0,650	0,216	0,100
AGCC total, mmol/L	130,46	107,86	115,29	7,58	0,115	0,130	0,580
Acetato : Propionato	1,39 ^a	1,19 ^b	1,20 ^b	0,05	0,021	<,0001	0,263

¹Concentrado inicial com substituição do milho por 0, 5 e 10% de glicerina bruta

²EPM = erro padrão da média

³T = efeito do tratamento; I = efeito da idade dos animais; T x I = efeito da interação tratamento e idade dos animais

^{a, b} Letras minúsculas na mesma linha diferem para P<0,05

Não houve diferença entre os tratamentos no pH médio do fluido ruminal ($P>0,05$), assim como não foi significativa à interação tratamento x idade (Tabela 9). Entretanto, foi significativa ($P<0,05$) a alteração do pH ruminal com valores decrescentes com o avanço da idade (Figura 8). O tratamento 5% de glicerina apresentou valores médios de pH abaixo de 5 por volta da sexta semana, provavelmente em decorrência do aumento excessivo no consumo de concentrado por esses animais observado entre a quinta e sexta semana. A queda do pH ruminal com o avanço da idade dos animais encontrada neste experimento corrobora os resultados encontrados por Anderson et al. (1987); Beharka et al. (1991); Nussio et al. (2003b) e Lesmeister e Heinrichs (2004).

Figura 12 – Medidas do pH do fluido ruminal de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial

A queda no pH ruminal ocorre principalmente devido ao aumento no consumo de concentrado com o avanço da idade, além disso, o epitélio ruminal encontra-se em desenvolvimento e a microbiota não está plenamente estabelecida, predominando bactérias amilolíticas levando a queda do pH (Vazquez-Anon et al., 1993; Beharka et al., 1998). De acordo com Owens et al. (1988), o pH do líquido ruminal se situa na faixa de 5,5-6,5 para dietas ricas em concentrado e 6,2-7,0 para dietas compostas exclusivamente de forragem. Neste sentido, o aumento no consumo de concentrado verificado neste trabalho justifica a queda do pH ruminal observado ao longo do período experimental.

O pH do fluido ruminal de todos os tratamentos durante todo o período se mostrou baixo (Tabela 9). De acordo com Bernardes et al. (2007), a ruminação se mostra incipiente e há baixo fluxo de tamponantes salivares para o rúmen até por volta da sexta semana de idade, o que, associado ao alto consumo de concentrado observado nas ultimas semanas de vida dos animais, pode justificar os baixos valores encontrados neste experimento. Outra hipótese a ser considerada, é a alta fermentação e degradação ruminal da glicerina (Trabue et al., 2007), justificando também os baixos valores de pH no fluido ruminal de bezerros que receberam concentrado contendo este ingrediente.

Como pode ser observado na Tabela 9 não houve efeito para tratamentos, idade (semana) ou interação tratamento x idade na concentração molar de AGCC total ($P>0,05$). Entretanto, era esperado que houvesse aumento na concentração

molar dos AGCC totais para os diferentes tratamentos e com o avanço da idade, já que ocorreu aumento significativo no consumo de concentrado pelos animais no presente estudo. É possível que a quantidade de glicerina adicionada na dieta tenha sido baixa e parte dos AGCC possam ter sido metabolizados na parede do rúmen, o que justificaria a ausência do aumento para os diferentes tratamentos avaliados.

Anderson et al. (1982) e Quigley et al. (1991) encontraram valores crescentes nas concentrações totais de AGCC com o avanço da idade de bezerros em aleitamento. Dados de literatura mostram que a glicerina bruta na dieta tende a aumentar a produção de AGCC total, uma vez que sua fermentação resulta no aumento da produção de propionato e butirato. DeFrain et al. (2004) e Trabue et al. (2007) relataram que animais suplementados com glicerol apresentaram maiores concentrações totais de AGCC no fluido ruminal.

De acordo com Bergman (1990), os AGCC são importantes fontes de energia para os animais ruminantes, podendo representar até 70% da energia exigida por esses animais. Aumentos na atividade metabólica do epitélio ruminal e na área absorptiva do rúmen de animais em crescimento são atribuídos ao aumento na concentração de AGCC resultantes da maior fermentação da matéria orgânica (Lesmeister & Heinrichs, 2004). Dessa forma, a maior produção de AGCC com o avanço da idade funciona como indicador de desenvolvimento ruminal adequado. Nesse sentido, como pode ser evidenciado pela Figura 13, houve uma tendência de aumento na produção de AGCC com o avanço da idade dos animais ($P=0,13$). Além disso, os dados de produção de AGCC total encontram-se próximos ao recomendado pela literatura para animais com rúmen desenvolvido (120 mmol/L, Vazquez-Anon et al., 1993; 150 mmol/L, ZITNAN et al., 1998).

Não foram encontrados efeitos significativos ($P>0,05$) para os diferentes tratamentos, idade (semana) e efeito da interação tratamento x idade sobre a concentração molar de ácido acético (Tabela 9). Os dados encontrados neste estudo são similares aos encontrados por Suárez et al. (2007) que avaliaram bezerros em aleitamento recebendo dietas com alto teor de concentrado. A concentração deste ácido no fluido ruminal varia para alimentos volumosos e concentrados, sendo que dietas com alto teor de fibra tendem a produzir mais acetato enquanto que dietas ricas em concentrado tendem a diminuir sua

concentração (Owens et al., 1988). Coverdale et al. (2004) observaram tendência no aumento nas concentrações de ácido acético no fluido ruminal de bezerros recebendo dietas ricas em forragem. Entretanto, de acordo com um estudo realizado por Krueger et al. (2009), a suplementação com glicerol superior a 20% pode afetar negativamente a digestão da fibra e alterar o perfil de AGCC ruminal. Como neste estudo o nível máximo de inclusão foi de 10%, essa pode ser a possível justificativa para não haver diferenças entre os tratamentos, entretanto houve uma tendência ($P=0,14$) de menor produção de acetato nos tratamentos com glicerina em relação ao tratamento controle.

Figura 13 – Concentração molar de AGCC total no fluido ruminal de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial

O metabolismo ruminal da glicerina gera principalmente propionato em detrimento à produção de acetato (Kijora et al., 1998). Além disso, a glicerina exerce um efeito depressor sobre a microbiota celulolítica presente no rúmen, o que afeta ainda mais a produção de acetato ruminal (Roger et al., 1992). DeFrain et al. (2004) avaliaram a inclusão de glicerina bruta na dieta de vacas no período de transição e encontraram redução na produção de acetato. Desse modo, essa pode ser a possível justificativa para a concentração de acetato encontrada neste

estudo, ser numericamente inferior nas dietas contendo glicerina em relação à dieta controle ($P=0,14$).

Houve efeito significativo ($P<0,05$) da inclusão de glicerina bruta no concentrado nas concentrações molares de ácido propiônico, com menor concentração em animais consumindo concentrado contendo 5% de glicerina bruta (Tabela 9). Da mesma forma, com o avanço da idade, ocorreram aumentos significativos nas concentrações molares deste ácido no fluido ruminal dos animais ($P<0,0001$), o que possivelmente pode ser justificado pelo aumento no consumo de concentrado. Através da Figura 13 perceber-se uma queda na produção média de propionato do tratamento 5% a partir da sexta semana do período experimental ($P=0,11$, Tabela 9). A queda na produção deste ácido pode ter ocorrido em função de uma acidose ruminal nos animais desse tratamento, justificada pelo menor valor de pH (abaixo de 5) nesse mesmo período (Figura 12).

DeFrain et al. (2004) e Trabue et al. (2007), relataram que animais adultos suplementados com glicerol apresentaram maiores proporções molares de propionato e butirato no fluido ruminal e uma diminuição na concentração molar de acetato. Contudo, os valores de propionato para os tratamentos contendo glicerina bruta não foram superiores à dieta controle, o que possivelmente se deve ao nível mais baixo de inclusão deste ingrediente nas dietas avaliadas neste experimento.

As concentrações molares de ácido butírico não apresentaram efeito significativo de acordo com a inclusão de glicerina bruta no concentrado, assim como efeito de idade ou da interação tratamento x idade dos animais ($P>0,05$). Os dados encontrados estão de acordo com valores encontrados na literatura para bezerros em aleitamento até a oitava semana (Berharka et al., 1998; Suárez et al., 2006). Contudo, esperava-se que houvesse um aumento nas concentrações deste ácido com a inclusão de glicerina no concentrado inicial, assim como com o avanço da idade dos bezerros.

É possível que a ausência desse aumento seja resultado da utilização de butirato para o crescimento epitelial (Anderson et al., 1987; Tamate et al., 1962), ou a um aumento na captação ruminal de butirato evidenciado pela elevação na concentração sanguínea de BHBA dos animais ao longo do período experimental.

A inclusão de glicerina bruta afetou de forma significativa a relação acetato:propionato, assim como a idade dos animais ($P < 0,05$). Os tratamentos contendo glicerina bruta não diferiram entre si, no entanto, apresentaram significativamente menor relação que o tratamento controle. A explicação para o ocorrido possivelmente se deve a maior produção de propionato em detrimento a produção de acetato em dietas contendo glicerina bruta (Donkin et al., 2009), ricas em concentrado e pobres em fibra.

A relação acetato:propionato diminuiu com a idade, provavelmente influenciado pela maior produção de propionato em detrimento a produção de acetato e pelo aumento no consumo de concentrado com o avanço da idade dos animais. Quigley et al. (1992) observaram menores valores na relação acetato:propionato em bezerros consumindo alto concentrado durante o período de aleitamento.

Tabela 10 – Concentração plasmática de glicose, lactato, β -Hidroxibutirato e proteína total em bezerros recebendo 0, 5 e 10% de glicerina bruta como substituto para o milho no concentrado inicial

	Tratamento ¹			EPM ²	P< ³		
	0%	5%	10%		T	I	TxI
Glicose, mg/dL							
Ao desaleitamento	103,26	102,22	100,09	7,31	1,000	..	..
Média do período	96,50	90,70	94,00	5,80	0,743	0,007	0,992
βHBA, mmol/L							
Ao desaleitamento	0,15	0,17	0,18	0,02	0,999	..	..
Média do período	0,13	0,13	0,12	0,01	0,865	<0,0001	0,321
Proteína total, g/dL							
Ao desaleitamento	5,92	6,12	6,25	0,24	0,999	..	..
Média do período	6,23	6,40	6,33	0,19	0,585	<0,0001	0,585
Lactato, mg/dL							
Ao desaleitamento	9,33	11,12	12,06	1,94	1,000	..	..
Média do período	11,66	11,66	11,70	0,80	0,998	0,306	0,982

¹Concentrado inicial com substituição do milho por 0, 5 e 10% de glicerina bruta

²EPM = erro padrão da média

³T = 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 significativo da inclusão de glicerina bruta ou a interação inclusão e idade ($P>0,05$) para a concentração de glicose no plasma (Tabela 10), entretanto, foi observado efeito significativo para idade dos animais ($P<0,05$).

A concentração de glicose plasmática observada em bezerros na primeira semana de vida é semelhante à concentração observada em animais monogástricos, estando em torno de 115 mg/dL. No entanto, à medida que ocorre o desenvolvimento ruminal e o animal, através da fermentação, passa a produzir AGGC, os valores diminuem e por volta da nona semana se apresentam próximos ao encontrado em animais adultos, em torno de 75 mg/dL (Quigley et al., 1991). As reduções que ocorrem ao longo desse período são influenciadas principalmente pela dieta e desenvolvimento ruminal. Inicialmente, o leite através da lactose fornece a glicose necessária aos tecidos, tão logo o animal passa a produzir AGCC, em consequência do desenvolvimento ruminal, esses ácidos passam a responder pelo fornecimento de glicose através da gliconeogênese hepática (Baldwin et al., 2004). Khan et al. (2007) relataram que houve diminuição dos níveis de glicose no plasma, com o aumento no consumo de alimentos sólidos por bezerros da raça Holandês em aleitamento convencional.

Esperava-se que a glicose sanguínea diminuísse com o avanço da idade, entretanto, no presente estudo, a glicose apresenta flutuação ao longo do período (Figura 14), ocorrendo queda até por volta da quarta e quinta semana de idade e o aumento a partir da sexta semana de vida dos animais. Esse aumento da glicose plasmática a partir da sexta semana pode ser em decorrência da glicose obtida através do sucedâneo juntamente com o aumento no consumo de concentrado com o avanço da idade. O sucedâneo forneceu parte da glicose e a gliconeogênese hepática a partir do propionato ruminal absorvido, poderiam justificar o aumento da glicose circulante. O aumento na produção de propionato ruminal com o avanço da idade observado na Figura 13 corrobora esses resultados. Segundo Sauer et al. (1989), a maior produção de propionato no rúmen pode resultar em maiores níveis de glicose plasmática devido a sua intensa produção através da gliconeogênese hepática. Além disso, os valores de glicose plasmática tendem a aumentar no período de aleitamento em função da lactose presente no leite ou substituto do leite fornecido aos animais (Quigley, 1991).

Figura 14 – Concentrações plasmáticas de glicose de acordo com a idade de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial

O glicerol tem seu efeito de aumentar a glicose plasmática comprovado, principalmente por ser utilizado no tratamento de cetose em vacas no período de transição (Johnson, 1954), o que pode justificar também o aumento da glicose circulante nos animais que receberam os tratamentos contendo glicerina bruta. Goff & Horst (2001) relataram um aumento da glicose plasmática quando se administrou glicerol através de sonda esofágica. De acordo com Krehbiel (2008), a quantidade fornecida e a taxa de absorção do glicerol através do epitélio ruminal em relação à quantidade que é fermentada, podem determinar a gliconeogenicidade do glicerol em animais ruminantes.

Contudo, mesmo com o aumento da glicose a partir da sexta semana, a concentração plasmática de glicose observada neste experimento encontra-se de acordo com os valores observados por Huber (1969). Segundo esse autor, durante a fase de aleitamento os bezerros apresentam concentrações plasmáticas de glicose entre 90 a 100 mg/dL por volta da sexta semana de vida. Além disso, a alteração nos níveis de glicose com a idade dos animais é um indicativo de adequado desenvolvimento ruminal.

Os valores médios encontrados para a concentração de β -Hidroxibutirato (BHBA) ao longo do período não foram afetados significativamente pela inclusão de glicerina bruta no concentrado inicial (Tabela 10), não havendo também efeito da interação tratamento x idade ($P > 0,05$). No entanto, houve efeito com o avanço da idade dos animais ($P < 0,05$). Como podem ser observadas na Figura 14, as concentrações plasmáticas de BHBA aumentaram significativamente ao longo do período de avaliações ($P < 0,0001$). Os valores observados apresentam-se dentro dos relatados por outros autores avaliando bezerros em aleitamento com idade semelhante (Quigley et al., 1991; 1992; Klotz et al., 2006).

Os dados de concentração de butirato ruminal com o avanço da idade dos animais para os diferentes tratamentos, se mantêm inalterados (Figura 14), enquanto que os valores de BHBA aumentaram com o avanço da idade, indicando que o butirato pode ter sido utilizado para o metabolismo da parede ruminal. Segundo Lane et al. (2000), o BHBA é uma medida importante do metabolismo epitelial do rúmen e indica atividade de conversão do butirato ruminal em β -hidroxibutirato à medida que passa pela parede ruminal. Dados da literatura mostram que 26 a 33% do butirato absorvido pelas papilas ruminais são convertidas em BHBA (Weigand et al., 1975). Diante disso, entende-se que existe uma estreita relação entre as concentrações de BHBA no plasma e as proporções molares de ácido butírico no fluído ruminal. Sendo assim, ocorre um aumento nas concentrações plasmáticas de BHBA à medida que o animal passa da fase de pré-ruminante para ruminante funcional. Quigley et al. (1992) relataram aumento nas concentrações de BHBA e sua alta correlação com consumo de matéria seca, sugerindo a formação deste a partir de produtos finais de fermentação ruminal. Greenwood et al. (1997) também encontraram aumentos na concentração de BHBA no plasma de bezerros com o avanço da idade e alta correlação com a elevação do metabolismo do epitélio ruminal. Segundo estes autores, as concentrações plasmáticas de BHBA podem refletir o aumento na concentração de butirato no rúmen, além da maturidade do tecido epitelial no que diz respeito ao metabolismo deste AGCC. Nesse sentido, diversos pesquisadores tem destacado o BHBA do plasma como um importante indicador de desenvolvimento ruminal em animais jovens.

A concentração de Proteína total (PT) no plasma ao longo do período de avaliação sofreram alterações significativas com a idade dos animais ($P < 0,0001$)

(Tabela 10). Entretanto, não foram identificadas diferenças entre os tratamentos e efeito da interação tratamento x idade ($P>0,05$). A proteína total no sangue é composta por albumina, fibrinogênio e globulinas. Sua variação ao longo do tempo ocorre em função da transferência passiva de anticorpos no início da vida, catabolismo e anabolismo desses componentes (Machado Neto et al., 1986).

A determinação de proteínas totais presente no plasma de bezerros também pode ser utilizada para avaliar a saúde e nutrição do animal. Os valores de referência em sangue bovino situam-se entre 6,0 e 8,5 g/dL, deste modo, baixos valores séricos são verificados em situações de baixa proteína na dieta, insuficiência hepática; aproveitamento inadequado da proteína ingerida; hemorragias e perda da proteína intestinal ou renal. Por outro lado, quadros de desidratações, doenças crônicas ou agudas podem induzir a concentrações elevadas no sangue (Luca et al., 2002).

Os valores médios de proteína total sérica neste estudo se apresentaram de acordo com o recomendado para bovinos saudáveis e próximo a $5,80 \pm 1,20$ g/dl como encontrado por Susin et al. (1987), avaliando bezerros durante os primeiros 60 dias de vida. Como observado através da Figura 14, os níveis séricos de proteína total diminuíram com o avanço da idade dos animais. Segundo Machado Neto et al. (1986), a queda nas concentrações plasmáticas de proteínas totais ocorridas por volta de 30 dias de idade, podem ser consequência da redução de anticorpos adquiridos passivamente através da ingestão de colostro nos primeiros dias de vida. O autor relata também, que após esse período o animal passa a produzir endogenamente imunoglobulinas e os níveis plasmáticos de proteína total tendem a elevar.

As concentrações plasmáticas de lactato não foram afetadas pelos tratamentos, idade e efeito de interação tratamento x idade ($P>0,05$) (Tabela 10). Entretanto, houve uma tendência em diminuir com o avanço da idade dos animais como pode ser observado na Figura 14. O Lactato na circulação periférica pode se originar a partir da fermentação ruminal, da glicólise endógena e do metabolismo do propionato pela parede ruminal. Segundo Bergman (1990), até 50% do propionato ruminal pode sofrer metabolismo pelo epitélio ruminal e gerar como produtos finais CO_2 , piruvato, lactato, e, em menor grau, aminoácidos. Além disso, o lactato é um metabólico precursor para o processo de gliconeogênese hepática em ruminantes, um processo de extrema importância no metabolismo

energético tanto de neonatos como de ruminantes adultos (Young, 1977). Diante disso, o lactato ao longo do tempo pode ter sido direcionado para a gliconeogênese hepática, o que pode explicar a tendência de sua diminuição com o avanço da idade dos animais e com isso, contribuiu para o aumento da glicose sanguínea a partir da quinta semana demonstrada na Figura 14.

De acordo com Kosloski (2002), quando a dieta é à base de concentrado e o consumo é elevado, o fígado é capaz de absorver apenas uma pequena parte do lactato, deste modo pode haver uma grande quantidade de lactato disponível para os tecidos periféricos. Nesse sentido, os animais deste estudo apresentaram aumento no consumo de concentrado ao longo do período experimental, entretanto como pode ser observado na Tabela 10, não houve diferenças significativas na concentração sanguínea de lactato com o avanço da idade o que pode corroborar também para o direcionamento do lactato para a gliconeogênese hepática.

Não foram encontradas diferenças entre os tratamentos ($P>0,05$) para o peso do trato digestório superior total, para a capacidade do retículo-rúmen, assim como para o peso de cada compartimento quando dividido em retículo-rúmen, omaso e abomaso (Tabela 11). Também não houve diferenças nestes compartimentos quando expressos em porcentagem do trato total. Os valores observados neste estudo são superiores aos encontrados por Nussio et al. (2003b) e Ferreira et al. (2009), provavelmente devido ao menor consumo de concentrado pelos animais obtido por esses autores e comparação a este estudo.

A proporção dos compartimentos em relação ao trato total apresentou-se de acordo com a literatura para animais desta idade (Church, 1988). Segundo Quigley (1996b), o retículo-rúmen de um animal com 4 semanas de vida corresponde a 60% do total dos quatro compartimentos, o abomaso a 27%, e o omaso somente a 13%. As alterações nas proporções entre os compartimentos do trato digestório superior são altamente dependentes do consumo de dieta sólida, mais especificamente de alimento concentrado. Dessa forma, uma vez que o consumo de concentrado não foi afetado pela inclusão de glicerina bruta em substituição ao milho e os animais apresentaram consumo adequado, também não houve efeito negativo da glicerina sobre o desenvolvimento do trato digestório superior e este conseqüentemente obteve crescimento satisfatório.

Tabela 11 –Medidas morfométricas do trato digestório superior de bezerros recebendo 0, 5 ou 10% de glicerina bruta em substituição ao milho no concentrado inicial

	Tratamentos ¹			EPM ²	P< ³
	0%	5%	10%		
Trato total, g	1.873,0	1.650,1	1.661,0	120,00	0,36
Reticulo-rúmen, g	1.261,0	1.112,8	1.112,0	90,00	0,43
% Trato total	67,33	67,10	66,87	1,58	0,98
Capacidade, L	13,80	11,78	12,16	0,83	0,25
Omaso, g	251,0	216,3	214,0	20,00	0,51
% Trato total	13,35	13,33	12,87	1,18	0,95
Abomaso, g	351,0	318,9	333,0	10,00	0,51
% Trato total	18,80	19,52	20,15	0,94	0,57
Número por cm²	84,2	103,72	92,63	11,30	0,52
Altura de papilas, mm	1,75	1,63	1,96	0,031	0,80
Largura de papilas, mm	1,06	1,06	1,16	0,011	0,74

¹Concentrado inicial com substituição do milho por 0, 5 e 10% de glicerina bruta

²EPM = erro padrão da média

³P = efeito do tratamento

De acordo com Davis e Drackley (1998), os ácidos butírico e propiônico são os estimuladores primários do crescimento do tecido, em parte por serem extensivamente metabolizados pelo epitélio ruminal durante a absorção. Este metabolismo fornece energia para o crescimento do tecido epitelial e contrações musculares. Adicionalmente, butirato e propionato apresentam diferentes efeitos na proliferação e diferenciação das células do epitélio ruminal. Diante disso, os valores encontrados para as concentrações médias de propionato e butirato ruminal neste estudo corroboram para o bom crescimento e desenvolvimento ruminal. Segundo Krehbiel (2008), a fermentação ruminal do glicerol corresponde a 44% do glicerol consumido, sendo o propionato e butirato os principais produtos da fermentação deste no rúmen, o que justifica o bom desenvolvimento também para os animais que receberam os tratamentos contendo glicerina bruta.

Outro parâmetro que corrobora para o bom crescimento ruminal encontrado, seria o aumento na concentração sanguínea de BHBA com o avanço da idade dos animais (Figura 14) aliado ao não aumento na concentração ruminal de

butirato (Figura 13). Esse aumento na concentração de BHBA seria um Indicativo que o butirato ruminal estaria sendo metabolizado na parede ruminal desses animais e dessa forma contribuindo para o seu crescimento e desenvolvimento.

Neste estudo, dados relativos às medidas de desenvolvimento do epitélio ruminal com medidas de número de papilas por cm^2 , altura e largura (Tabela 11), não foram afetados pelos tratamentos ($P>0,05$). A altura das papilas do rúmen, não atingiram o crescimento adequado, com valor médio de 1,78 mm; sendo que a literatura recomenda que bezerros com oito semanas de idade apresentem uma altura entre 5 a 7mm (Huber, 1969). No entanto, Coelho (2000), utilizando técnica de mensuração papilar semelhante à utilizada neste trabalho, obteve valores similares de dimensões papilares aos obtidos neste experimento. Já Ferreira et al. (2009); Silva et al. (2011) encontraram valores de dimensões papilares acima do observado neste trabalho, mas abaixo do recomendado pela literatura.

De acordo com estudos realizados por Sander et al. (1959) e Sutton et al. (1963), com bezerros em aleitamento, o butirato juntamente com o propionato seriam os AGCC mais importantes para promover o desenvolvimento papilar. Dessa forma, acreditava-se que o fornecimento da glicerina na dieta dos animais ocorresse um aumento no seu desenvolvimento frente à dieta controle, já que estes ácidos são os principais produtos de sua fermentação (Trabue et al., 2007), entretanto, essa suspeita não se confirmou e os tratamentos apresentaram resultados semelhantes.

Contudo, segundo Lesmeister e Heinrichs (2004), os resultados de mensurações de papilas geralmente apresentam grande variabilidade entre os dados, principalmente por se tratar de um procedimento passível de erros, portanto, devendo ser utilizada com cuidado para inferir sobre o desenvolvimento da mucosa ruminal de bezerros ao desaleitamento. Essa variabilidade e por ser um procedimento passível de erros, provavelmente pode ser a explicação para o baixo desenvolvimento das papilas já que se esperava um melhor desenvolvimento das mesmas.

4.3.3 Experimento 3: *Efeito da substituição do milho por melaço de cana ou xarope de glicose no concentrado inicial sobre o desempenho e alterações no metabolismo energético de bezerros leiteiros*

O consumo de concentrado não foi afetado ($P>0,05$) pela substituição de milho por melaço ou xarope de glicose, assim como pela idade ou pela interação destes fatores (Tabela 12). Todos os tratamentos resultaram em consumo de concentrado superior a 700 g por dia ao desaleitamento, considerado adequado para animais da raça Holandês submetidos ao desaleitamento precoce (Quigley, 1996). Esse nível de consumo de concentrado é preconizado para que o desaleitamento ocorra sem prejuízos ao desempenho animal após o desaleitamento, uma vez que está intimamente ligado à maior ingestão de nutrientes e produção de AGCC, os quais são os principais estimuladores do desenvolvimento do epitélio ruminal.

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

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

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

cana no concentrado de bezerros da primeira a sexta semana de vida e verificaram queda no consumo de concentrado quando a inclusão passou de 5% (509 g/dia) para 12% (396 g/dia). No entanto, não houve diferença ($P>0,05$) para o ganho de peso e o peso vivo final para ambos os tratamentos.

Tabela 12 – Consumo de concentrado, ganho de peso diário e peso corporal de bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0ME), 5% (5ME) ou 10% (10ME) de melaço de cana ou 5% (5XG) de xarope de glicose em substituição ao milho

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

⁽¹⁾ EPM = erro padrão da média

⁽²⁾ T = efeito de tratamento; I = efeito da idade dos animais; T x I = efeito da interação tratamento e idade dos animais

Nota: Sinal convencional utilizado:

.. Não se aplica dado numérico.

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

independentemente da composição do concentrado inicial (Figura 15). Este resultado está em consonância com outros experimentos que testaram diferentes concentrados para bezerros em sistema de aleitamento convencional com vistas ao desaleitamento precoce (Silva et al., 2012; Silva et al., 2011; Ferreira & Bittar, 2010; Hill et al., 2008).

Figura 15 – Consumo de concentrado (g/dia) de bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0ME), 5% (5ME) ou 10% (10ME) de melaço de cana ou 5% (5XG) de xarope de glicose em substituição ao milho

Não houve diferenças ($P>0,05$) entre tratamentos para o ganho de peso diário ao desaleitamento, ganho de peso diário médio e interação tratamento x idade ($P>0,05$). Entretanto, verificou-se aumento ($P<0,01$) no ganho de peso diário médio com o avanço da idade (Figura 16). Observou-se perda de peso em todos os tratamentos entre a primeira e segunda semana, o que pode estar associado ao baixo consumo de concentrado nessa fase (Tabela 15) e a ocorrência de diarreia (Figura 17).

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

contendo 10% de melaço em substituição ao milho (571 g/dia) quando comparados aos que receberam 5% (572 g/dia).

Figura 16 – Ganho de peso (g/dia) e peso corporal (kg) de bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0ME), 5% (5ME) ou 10% (10ME) de melaço de cana ou 5% (5XG) de xarope de glicose em substituição ao milho

A composição do concentrado inicial não afetou ($P>0,05$) o peso vivo inicial, final ou a média do período total (Tabela 15). Entretanto, verificou-se efeito de idade ($P<0,01$), com o peso vivo aumentando com o decorrer das semanas (Figura 16). Esses resultados eram esperados, visto que o consumo de concentrado teve aumento considerável com o passar das semanas e não diferiu entre tratamentos ao longo do período experimental.

Os valores de peso vivo final em todos os tratamentos são similares a outros experimentos realizados no Brasil utilizando bezerros Holandês recebendo concentrado *ad libitum* e submetidos ao desaleitamento precoce (Silva et al, 2011; Ferreira & Bittar, 2010; Nussio et al., 2003). Da mesma forma, Lesmeister &

Heinrichs (2005) relataram valores similares em bezerros da raça Holandês desaleitados à quarta semana, onde os animais que receberam concentrado contendo 5% de melaço de cana apresentaram 53,3 kg de peso vivo ao desaleitamento, enquanto os que receberam concentrado contendo 12% de melaço de cana apresentaram 51,8 kg.

O escore fecal não foi afetado ($P>0,05$) pela composição do concentrado inicial (Figura 17). Da mesma forma, não foi observada interação da composição do concentrado e da idade dos animais ($P>0,05$). No entanto, verificou-se efeito de idade ($P<0,001$), com diminuição do escore fecal com o passar das semanas. Acreditava-se que os tratamentos contendo melaço de cana ou xarope de glicose aumentariam a incidência de escore fecal indicativos de diarreia, uma vez que são compostos por carboidratos de rápida e extensa fermentação ruminal, o que pode aumentar a taxa de passagem da digesta, culminando em fezes fluidas. Além disso, não foi verificada atividade da sacarase em bezerros com até 44 dias de idade (Huber et al., 1961), o que poderia comprometer a utilização de sacarose, com consequente aumento da pressão osmótica no intestino podendo aumentar a ocorrência de diarreia alimentar. No entanto, a substituição do milho por 5 e 10% de melaço de cana ou 5% de xarope de glicose não causou diferenças no escore fecal.

Figura 17 – Escore fecal de bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0ME), 5% (5ME) ou 10% (10ME) de melaço de cana ou 5% (5XG) de xarope de glicose em substituição ao milho

Hill et al. (2008) também não verificaram aumento nos casos de diarreia em animais recebendo 10% de melaço no concentrado inicial quando comparados àqueles que receberam 5%, sendo que o número médio de dias que os animais foram acometidos foi de 4,4 e 3,9, respectivamente. Esses mesmos autores reportaram valores médios de escore fecal da primeira à oitava semana entre 1,7 e 1,6 para os tratamentos citados acima. Lesmeister & Heinrichs (2005), por outro lado, relataram tendência ($P<0,15$) de aumento na incidência de diarreia em animais recebendo 12% de melaço no concentrado em comparação a animais recebendo 5%. Esses autores demonstraram que os dias médios com diarreia foram de 3,35 e 5,00 para os animais recebendo 5 e 12% de melaço de cana no concentrado inicial, respectivamente.

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

Animais recebendo concentrado inicial contendo 5 e 10% de melaço de cana em substituição ao milho tenderam ($P<0,10$) a apresentar pH ruminal inferior aos demais (Tabela 13). Acredita-se que tal resultado seja decorrente da produção acelerada de AGCC nos animais recebendo melaço de cana, uma vez que este ingrediente apresenta rápida fermentação ruminal (Oliveira et al., 2003). Por outro lado, a taxa fermentativa do milho situa-se próximo a 9,4%/hora (Bürger et al., 2000). Dessa forma, dietas contendo melaço de cana podem levar a uma produção mais acelerada de AGCC quando comparado ao milho e, conseqüentemente, diminuição do pH do fluido ruminal. Porém, esperava-se que o tratamento contendo xarope de glicose também apresentasse valores de pH menores do que o tratamento controle, já que glicose e maltose, principais componentes desse ingrediente, apresentam taxa fermentativa superiores ao do milho.

Tabela 13 – Valores médios de parâmetros de fermentação ruminal de bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0ME), 5% (5ME) ou 10% (10ME) de melaço de cana ou 5% (5XG) de xarope de glicose em substituição ao milho

	Tratamentos				EPM ¹	P< ²		
	0ME	5ME	10ME	5XG		T	I	T x I
pH	5,59	5,14	5,14	5,26	0,13	0,09	0,01	0,01
AGCC total, µmol/mL	104,2 ^b	132,3 ^a	127,6 ^{ab}	116,8 ^{ab}	7,17	0,04	0,01	0,08
Acetato, µmol/mL	57,63 ^b	68,00 ^a	63,66 ^{ab}	60,94 ^{ab}	2,51	0,04	0,01	0,17
Propionato, µmol/mL	33,65 ^b	48,07 ^a	44,69 ^{ab}	38,20 ^{ab}	3,58	0,03	0,01	0,40
Butirato, µmol/mL	7,81	10,66	12,77	11,90	1,38	0,07	0,01	0,06
Relação C2:C3³	2,11	1,60	1,53	1,89	0,18	0,11	0,01	0,53
N-amoniacal, mg/dL	18,03	16,18	19,30	16,36	1,88	0,58	0,01	0,39

⁽¹⁾ EPM = erro padrão da média

⁽²⁾ T = efeito de tratamento; I = efeito da idade dos animais; T x I = efeito da interação tratamento e idade dos animais

⁽³⁾ Relação acetato:propionato

Os valores relativamente baixos de pH encontrados no presente estudo podem estar relacionados ao consumo de quantidades consideráveis de concentrado. De acordo com Quigley (1996), o pH ruminal varia em função da taxa em que os AGCC e amônia são produzidos e absorvidos pela parede ruminal ou por outros microrganismos. Como bezerros em aleitamento não apresentam as papilas ruminais totalmente desenvolvidas, a área de absorção é menor e, portanto, pode existir um acúmulo de AGCC no fluído ruminal, resultando em queda no pH (NRC, 2001). Ainda, um dos principais produtos da fermentação de milho é o lactato, o qual, de acordo com o NRC (2001) se caracteriza por ser um ácido mais forte ($Pk_a = 3,86$) que o propionato ($Pk_a = 4,87$), acetato ($Pk_a = 4,76$) e butirato ($Pk_a = 4,82$), podendo ter contribuído para a manutenção do pH abaixo de 6,0 em todos os tratamentos.

Houve diminuição ($P < 0,01$) dos valores de pH com o avanço da idade dos animais (Figura 18) em todos os tratamentos. Esses resultados eram esperados, já que o consumo de concentrado aumentou significativamente da quarta à oitava semana (Figura 15), refletindo maior produção de AGCC (Figura 19) e consequente queda no pH ruminal. A não inclusão de fibra longa à dieta dos animais pode ter contribuído para manutenção do pH ruminal próximo a 5,3, já

que este tipo de alimento estimula a ruminação, salivação e, conseqüentemente, o fluxo de tamponantes ao rúmen (NRC, 2001). No entanto, os concentrados fornecidos aos animais apresentavam teores de FDN dentro das recomendações mínimas (Davis & Drackley, 1998)

Nussio et al. (2003) reportaram valores de pH ruminal superior em bezerros recebendo milho floculado ou laminado (6,67 e 6,68, respectivamente). Entretanto, o consumo de concentrado à oitava semana foi inferior (107 e 187 g, respectivamente) aos do presente estudo (Figura 15), sendo esta a possível explicação para a variação entre os valores. Por outro lado, Khan et al. (2008), em coleta realizada aos 50 dias de vida de bezerros leiteiros, verificaram maior pH ruminal ($P<0,05$) dos animais recebendo concentrado a base de milho (5,79) frente àqueles que receberam concentrado inicial contendo cevada (5,46), aveia (5,68) ou trigo (5,62) em substituição ao milho. Segundo os autores, essa diferença no pH ruminal ocorreu devido à menor taxa fermentativa do milho frente aos demais cereais testados, resultando em menor produção de AGCC e elevação no pH ruminal.

Figura 18 – Valores de pH ruminal de bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0ME), 5% (5ME) ou 10% (10ME) de melaço de cana ou 5% (5XG) de xarope de glicose em substituição ao milho

Como pode ser observado na Tabela 13, animais alimentados com concentrado contendo 5% de melaço de cana em substituição ao milho apresentaram maior ($P<0,05$) concentração molar de AGCC total (soma do

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

Houve aumento ($P < 0,001$) da concentração de AGCC totais presentes no fluído ruminal independentemente da composição do concentrado inicial (Figura 19) com o avanço da idade dos animais, acompanhando o aumento no consumo de concentrado. Aumentos na atividade metabólica do epitélio ruminal e na área absorptiva do rúmen de animais em crescimento são atribuídos ao aumento na concentração de AGCC resultantes da maior fermentação da matéria orgânica (Lesmeister & Heinrichs, 2004). Dessa forma, a maior produção de AGCC com o avanço da idade funciona como indicador de desenvolvimento ruminal adequado. De acordo com Vazquez-anon et al. (1993) e Zitnan et al. (1998), a concentração de AGCC total no rúmen de animais adultos deve ser de aproximadamente 120 e 150 $\mu\text{mol/mL}$, respectivamente. Dessa forma, pode-se inferir que todos os tratamentos apresentaram valores próximos ao recomendado pela literatura quando apresentavam oito semanas de vida.

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

Figura 19 – Concentração molar de ácidos graxos de cadeia curta totais ($\mu\text{mol/mL}$) de bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0ME), 5% (5ME) ou 10% (10ME) de melaço de cana ou 5% (5XG) de xarope de glicose em substituição ao milho

Como pode ser observado na Tabela 13, animais alimentados com o concentrado inicial 5ME apresentaram maior concentração ruminal de acetato ($P < 0,05$) que aqueles recebendo o tratamento 0ME (Tabela 4.4). Os dados encontrados nesse estudo são similares aos encontrados por Suárez et al. (2007), que avaliaram bezerros em aleitamento recebendo apenas concentrado como dieta sólida. De acordo com Lesmeister & Heinrichs (2005), a concentração plasmática de acetato aumentou de 0,381 para 0,629 $\mu\text{mol/mL}$ em bezerros recebendo concentrado inicial contendo 5 ou 12% de melaço de cana, sugerindo maior metabolismo do epitélio ruminal ou aumento na produção de AGCC pela fermentação ruminal.

Embora todos os tratamentos testados nesse estudo tivessem teor de FDN relativamente baixo ($< 19\%$ da MS), a produção de acetato foi superior a relatada por Coverdale et al. (2004), que incluíram 7,5 e 15% de feno de gramínea na dieta de bezerros em aleitamento. Segundo esses autores, a concentração de acetato no fluido ruminal foi de 44,8, 55,1, 47,4 e 43,8 $\mu\text{mol/mL}$ nos animais recebendo milho laminado e aveia inteira; milho e aveia moídos; milho laminado e aveia inteira com adição de 7,5% de feno de gramínea; milho laminado e aveia inteira com adição de 15% de feno de gramínea, respectivamente.

A proporção média de acetato no fluido ruminal foi de 55,3, 51,4, 49,9 e 52,2% para os tratamentos 0ME, 5ME, 10ME e 5XG, respectivamente, sendo similares aos reportados por Kellogg & Owen (1969a). De acordo com esses

autores, a proporção de acetato no fluido ruminal foi 52,3, 53,7, 52,0 e 53,9% com a adição de 0, 3, 6 ou 9% de sacarose em substituição ao milho na dieta de vacas em lactação.

O propionato apresentou o mesmo comportamento que o acetato, tendo o tratamento 5ME maior concentração deste AGCC ($P < 0,05$) quando comparados aos submetidos ao tratamento 0ME (Tabela 13). Esperava-se que os tratamentos 10ME e 5XA apresentassem maior concentração de propionato ruminal que 0ME, uma vez que o melaço de cana e o xarope de glicose têm maiores concentrações de açúcares solúveis quando comparados ao milho, gerando maiores quantidades de propionato. Porém, pode ter havido maior produção de ácido láctico nesses tratamentos (parâmetro não medido), o que explicaria a redução do pH ruminal com o avanço da idade dos animais (Tabela 13). A proporção molar média de propionato no fluido ruminal foi de 32,3, 36,33, 35,0 e 32,7% para os tratamentos 0ME, 5ME, 10ME e 5XG, respectivamente.

Não houve interação entre a composição do concentrado e a idade dos animais ($P > 0,05$) nas concentrações médias de acetato e propionato ruminal (Tabela 13). Porém, observou-se efeito de idade para ambos ácidos graxos de cadeia curta, com aumento na concentração com o avanço da idade dos animais (Figura 20). Da mesma forma que para a concentração total de AGCC, acredita-se que este resultado seja resposta ao maior consumo de concentrado entre a quarta, sexta e oitava semanas de coleta. Resultados semelhantes são normalmente encontrados na literatura, uma vez que os AGCC são gerados a partir da fermentação da matéria orgânica presente no rúmen. Dessa forma, com o aumento no consumo de alimentos sólidos, há maior disponibilidade de nutrientes para fermentação microbiana, resultando em maior quantidade de AGCC gerados.

A concentração de butirato ruminal nos animais recebendo 10% de melaço de cana em substituição ao milho no concentrado inicial tendeu ($P < 0,10$) a ser maior que nos animais submetidos ao tratamento 0ME (Tabela 13). Tal resultado é de grande importância na nutrição de bezerros, uma vez que este AGCC é o principal responsável pelo crescimento das papilas ruminais (Sander et al., 1959). No entanto, a produção de butirato é pouco afetada pelo tipo de dieta (volumosa vs concentrada) e ingredientes normalmente utilizados na formulação de concentrados.

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

Como esperado, a concentração de butirato aumentou ($P<0,01$) com o avanço da idade dos animais, acompanhando a maior ingestão de concentrado e produção total de AGCC (Figura 20). Houve ainda tendência ($P<0,10$) para interação entre a composição do concentrado e a idade dos animais na concentração de butirato ruminal (Tabela 13). No entanto, tal tendência foi verificada apenas entre semanas diferentes, não sendo observados resultados significativos entre tratamentos dentro da mesma semana de coleta.

Figura 20 – Concentração molar dos ácidos acético (1), propiônico (2) e butírico (3) de bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0ME), 5% (5ME) ou 10% (10ME) de melaço de cana ou 5% (5XG) de xarope de glicose em substituição ao milho

A concentração média de N-amoniacal no fluido ruminal não foi afetada ($P>0,05$) pela composição do concentrado, bem como pela interação deste fator com a idade dos animais (Tabela 13). Por outro lado, houve diminuição ($P<0,01$)

da concentração com o avanço da idade dos animais (Figura 21). A concentração de N-amoniacoal manteve-se acima de 5 mg/dL em todas as coletas, sugerindo haver nitrogênio suficiente para adequado crescimento microbiano. De acordo com Satter & Roffler (1979) e Leng & Nolan (1984), 5 mg/dL é a concentração mínima necessária para síntese satisfatória de proteína microbiana.

Figura 21 – Concentração de nitrogênio amoniacoal (N-amoniacoal) no fluido ruminal de bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0ME), 5% (5ME) ou 10% (10ME) de melaço de cana ou 5% (5XG) de xarope de glicose em substituição ao milho

A composição do concentrado não afetou ($P>0,05$) a concentrações de glicose plasmática ao desaleitamento. Da mesma forma, a concentração média de glicose não foi afetada ($P>0,05$) pela composição do concentrado, pela idade dos animais ou pela interação destes dois fatores (Tabela 14; Figura 22).

A concentração de glicose plasmática observada em bezerros na primeira semana de vida é semelhante à concentração observada em monogástricos, estando em torno de 110 mg/dL (Daniels et al., 2008). Com o aumento no consumo de alimentos sólidos e consequente produção de AGCC provenientes da fermentação ruminal, os valores de glicose plasmática diminuem, chegando a valores próximos a 70 mg/dL em animais desaleitados (Ferreira & Bittar, 2010; Quigley & Bernard, 1992). A manutenção de valores relativamente altos de glicose plasmática ao desaleitamento e média do período total (Tabela 14) verificadas no presente estudo corrobora com os reportados por Quigley & Bernard (1992) e Huber (1969). Acredita-se que esses resultados estejam relacionados ao aumento no consumo de concentrado a partir da quarta semana

de vida e consequente elevação na produção de propionato no rúmen (Figura 20). Segundo Sauer et al. (1989), a maior produção de propionato no rúmen pode resultar em maiores concentrações de glicose plasmática devido a sua intensa produção através da gliconeogênese hepática. Porém, com o desenvolvimento do rúmen, parte do propionato absorvido é metabolizado diretamente no epitélio ruminal a fim de gerar energia para manutenção e proliferação do tecido. Dessa forma, nem todo o propionato gerado pela fermentação da matéria orgânica e absorvido pelas papilas ruminais chega ao fígado para geração de glicose a partir da gliconeogênese. Esta explicação pode justificar também a falta de efeito encontrada entre os tratamentos 0ME e 5ME, uma vez que os animais que receberam 5% de melaço de cana apresentaram maior quantidade de propionato presente no fluído ruminal (Tabela 13).

Tabela 14 – Concentrações plasmáticas de glicose, β -hidroxibutirato (β HBA) e lactato de bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0ME), 5% (5ME) ou 10% (10ME) de melaço de cana ou 5% (5XG) de xarope de glicose em substituição ao milho

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

⁽¹⁾ EPM = erro padrão da média

⁽²⁾ T = efeito de tratamento; I = efeito da idade dos animais; T x I = efeito da interação tratamento e idade dos animais

Nota: Sinal convencional utilizado:

.. Não se aplica dado numérico.

A fermentação ruminal de carboidratos não estruturais, como o milho, melaço de cana e xarope de glicose, gera concentrações superiores de propionato quando comparado a alimentos de origem volumosa (NRC, 2001). De

acordo com Khan et al. (2007) e Ferreira & Bittar (2010), as concentrações de glicose plasmática diminuíram com o aumento do consumo de alimentos sólidos por bezerros da raça Holandês. Por outro lado, outros estudos mostram elevação na concentração plasmática de glicose em bezerros em aleitamento com livre acesso ao concentrado inicial (Nápoles, 2012; Quigley & Bernard, 1992). A literatura é consistente em demonstrar que a concentração plasmática de glicose reduz após o desaleitamento. Nessa fase, o fornecimento de lactose, a qual era a principal fonte de glicose nos animais lactentes, é interrompido. Com a ingestão exclusiva de alimentos sólidos, a fermentação ruminal ganha importância, sendo então os AGCC a principal fonte de energia. Nesse sentido, o propionato torna-se o principal precursor da glicose em ruminantes adultos, já que esta é absorvida em baixa quantidade no intestino delgado (Baldwin et al., 2004).

Não houve diferença ($P>0,05$) entre os diferentes concentrados iniciais em relação as concentrações de β -hidroxibutirato plasmático ao desaleitamento e média do período total (Tabela 14). Valores similares são encontrados na literatura com animais da raça Holandês e com idade semelhante aos do presente estudo (Silva et al., 2012; Nápoles, 2012; Coverdale et al., 2004). Da mesma forma, não houve efeito ($P>0,05$) de idade e interação tratamento x idade (Figura 22) para as concentrações plasmáticas de β -hidroxibutirato. Esperava-se aumento na concentração de β -hidroxibutirato com o avanço da idade dos animais, uma vez que houve elevação no consumo de concentrado a partir da quarta semana de vida (Figura 15) e consequente aumento na concentração molar de butirato presente no fluido ruminal. A concentração de BHBA tem alta correlação com o consumo de concentrado (Quigley et al., 1991) e tem sido utilizada como um parâmetro de monitoramento de desenvolvimento ruminal.

O β -hidroxibutirato é uma variável importante quando se deseja avaliar o metabolismo do epitélio ruminal, pois indica atividade de conversão do butirato ruminal em β -hidroxibutirato à medida que é absorvido pelas papilas ruminais (Lane et al., 2000). Dados da literatura mostram que 26 a 33% do butirato absorvido pelas papilas ruminais são convertidas em β -hidroxibutirato (Weigand et al., 1975), existindo, portanto, uma relação direta entre a concentração molar de butirato no rúmen e a concentração plasmática de β -hidroxibutirato. Dessa forma, esperava-se que os animais submetidos ao tratamento 10ME apresentassem maior concentração plasmática de β -hidroxibutirato, quando comparados aos

animais que não receberam adição de melaço de cana e xarope de glicose na formulação do concentrado inicial, uma vez que a concentração molar de butirato do fluido ruminal desses animais apresentou-se superior aos submetidos ao tratamento OME.

Figura 22 – Concentrações plasmáticas de glicose (mg/dL), β-hidroxibutirato (mmol/L) e lactato em bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (OME), 5% (5ME) ou 10% (10ME) de melaço de cana ou 5% (5XG) de xarope de glicose em substituição ao milho

As concentrações plasmáticas ao desaleitamento e média do período total de lactato não foram afetadas ($P>0,05$) pela substituição de milho por melaço de cana ou xarope de milho (Tabela 14). Também não foi verificado ($P>0,05$) efeito de idade ou da interação entre a composição do concentrado e a idade dos animais (Figura 22). Quigley & Bernard (1992) também não verificaram diferenças na concentração plasmática de lactato em animais recebendo quantidades restritas de leite em comparação frente aqueles recebendo maior quantidade de dieta sólida. Porém, estes pesquisadores observaram diminuição na concentração plasmática de lactato em ambos os tratamentos com o avanço da idade dos animais.

O lactato presente no fluido ruminal é gerado principalmente a partir da fermentação de carboidratos não fibrosos, especialmente o amido. Como o nível de inclusão dos co-produtos foi relativamente baixo (5 e 10%) e a composição desses co-produtos também era de carboidratos solúveis, não esperava-se diferença entre tratamentos. Os concentrados experimentais apresentaram mais de 50% de CNF em sua composição, podendo ter levado a uma produção elevada de lactato como produto final da fermentação microbiana. Este lactato pode ter sido o responsável pela manutenção do pH próximo a 5,5 (Tabela 13) e pela concentração relativamente alta de lactato no plasma sanguíneo (Quigley & Bernard, 1992). No entanto, o lactato presente na circulação periférica não origina-se apenas da fermentação de CNF, podendo ser gerado também a partir da glicólise endógena e do metabolismo do propionato pela parede ruminal. Segundo Bergman (1990), até 50% do propionato ruminal pode sofrer metabolismo pelo epitélio ruminal e gerar como produtos finais CO_2 , piruvato e, em menor grau, aminoácidos.

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

Houve tendência ($P < 0,10$) dos animais alimentados com concentrado contendo 5% de melaço (5ME) apresentarem maior peso do trato digestório anterior quando comparados aos que receberam o tratamento 0ME (Tabela 15). Esse resultado pode estar ligado a maior concentração molar de propionato e butirato presentes no fluído ruminal (Tabela 13). Como não houve aumento no consumo de concentrado, acredita-se que a dieta contendo 5% de melaço em substituição ao milho tenha melhorado a fermentação ruminal, refletindo em maior produção de AGCC e, conseqüentemente, maior desenvolvimento ruminal. De acordo com Davis & Drackley (1998), os ácidos propiônico e butírico são os estimuladores primários do crescimento do tecido ruminal, em parte por serem extensivamente metabolizados pelo epitélio ruminal durante a absorção. Este metabolismo fornece energia para o crescimento do tecido epitelial e contrações musculares.

Tabela 15 – Medidas morfométricas do trato digestório superior de bezerros recebendo concentrado inicial contendo 0% (0ME), 5% (5ME) ou 10% (10ME) de melaço de cana ou 5% (5XG) de xarope de glicose em substituição ao milho

	Tratamentos				EPM ¹	P< ²
	0ME	5ME	10ME	5XG		
Trato total, g	1153,86	1433,03	1306,49	1161,09	106,92	0,25
Retículo/Rúmen, g	764,89	973,36	871,70	752,83	84,33	0,26
Trato total, %	65,77	66,34	65,65	64,23	1,97	0,91
Capacidade, L	8,31	9,39	8,50	7,85	0,88	0,68
Omaso, g	167,17	207,04	184,85	144,93	21,32	0,28
Trato total, %	14,40	14,42	13,59	12,55	1,10	0,65
Abomaso, g	226,75	260,22	250,10	263,35	11,80	0,18
Trato total, %	20,26	19,66	20,79	23,12	1,85	0,62
Medidas de papilas						
Nº Papilas/cm²	94,09	75,16	74,25	87,28	7,17	0,18
Altura, mm	1,69	2,03	3,38	1,76	0,56	0,13
Largura, mm	1,00	1,10	1,36	1,10	1,13	0,62
Área, mm²	1,93	2,57	5,25	2,00	1,15	0,21

⁽¹⁾ EPM = erro padrão da média

⁽²⁾ P = efeito de tratamento

Animais que receberam o concentrado 5ME também tenderam ($P<0,10$) a apresentar maior peso do retículo-rúmen que os tratamentos 0ME e 5XA. Por outro lado, o volume do retículo-rúmen não foi alterado pela composição do concentrado, bem como a proporção desses compartimentos frente aos demais ($P>0,05$). Os valores observados são superiores aos encontrados por Nussio et al. (2003) e Ferreira et al. (2009), provavelmente devido ao maior consumo de concentrado dos animais deste estudo.

Segundo Quigley (1996), o retículo-rúmen de um animal de quatro semanas de vida deve corresponder a 60% da massa total dos quatro compartimentos, o omaso 13% e o abomaso 27%. O maior desenvolvimento retículo-ruminal encontrado no presente estudo (Tabela 15) decorreu da maior idade dos animais no momento do abate (oito semanas) aliado a maior ingestão de concentrado nesse período (Tabela 12). Já a proporção do retículo-rúmen, omaso e abomaso em ruminantes adultos é 75%, 6% e 19%, respectivamente (Church, 1988), sendo alcançada em média à décima semana de vida.

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

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

Houve ainda tendência ($P<0,10$) dos animais alimentados com o concentrado 0ME apresentarem maior número de papilas que os dos tratamentos 5ME e 10ME (Tabela 15). Porém, apenas um número elevado de papilas não representa diretamente maior absorção ruminal. Por outro lado, papilas mais altas e largas terão maior área, refletindo em aumento da superfície de contato do

epitélio ruminal com o fluido e, conseqüentemente, maior capacidade absorviva. De acordo com Furlan et al., (2011), as papilas ruminais são recobertas por um epitélio delgado com células superficiais capazes de se dilatarem e retraírem, sendo sua região central composta de um sistema vascular que conduz os AGCC e demais substâncias absorvidas até o sistema porta-hepático.

A largura das papilas ruminais não foi afetada pela composição do concentrado inicial ($P>0,10$). Por outro lado, animais que receberam concentrado inicial contendo 10% de melaço de cana em substituição ao milho apresentaram papilas ruminais mais altas ($P<0,05$) que os submetidos ao tratamento 0ME. Observou-se tendência ($P<0,10$) de maior área papilar dos animais recebendo o tratamento 10ME frente aos recebendo o tratamento 0ME. Outros pesquisadores relataram tendência de maior altura de papilas e largura de bezerras recebendo 12% de melaço no concentrado quando comparados aos que receberam 5% (Lesmeister & Heinrichs, 2005).

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

4.4 Conclusões

A possibilidade de inclusão de co-produtos no concentrado de bezerras sistema de aleitamento convencional, onde a maximização do consumo do mesmo é o principal objetivo, pode resultar em impactos no metabolismo animal. O consumo de diferentes fontes de energia, ingredientes que resultam na produção de AGCC após fermentação, tem relação direta com o desenvolvimento ruminal e a transformação do animal de pré-ruminante para ruminal funcional. Neste estudo alguns efeitos foram observados, sendo os mais importantes aqueles relacionados às alterações no perfil de fermentação ruminal em função

do concentrado fornecido. No entanto, a maior parte das alterações se deve ao aumento no consumo de concentrado com a idade do animal, sugerindo que a composição tem efeito indireto no processo. O entendimento de fatores que determinam consumo de concentrado em bezerros em aleitamento será determinante para melhorias no desempenho animal.

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

O desempenho e o metabolismo energético dos bezerros não foram afetados de forma negativa pela substituição do milho por glicerina bruta no concentrado inicial de bezerros até a taxa de 10%. Desse modo, a glicerina pode ser utilizada como ingrediente energético alternativo no concentrado inicial de bezerros leiteiros no período de aleitamento sem afetar o crescimento, o desenvolvimento ou o metabolismo do animal.

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

4.5 Referências

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTS - AOAC. Official Methods of Analysis. 15 ed. Arlington, V.A., 1990.
- ANDERSON, K.L.; NAGARAJA, T.G.; MORRIL, J.L. Ruminal metabolic development in calves weaned conventionally or early. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 70, p. 1000-1005, 1987.
- ANDERSON, M.J.; KHOYLOO, M.; WALTERS, J.L. Effect of feeding whole cottonseed on intake, body weight, and reticulorumen development of young Holstein calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 65, p. 764-772, 1982.
- BALDWIN, R.L.; JESSE, B.W. Developmental changes in glucose and butyrate metabolism by isolated sheep ruminal cells. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 122, p. 1149-1153, 1992.

- BALDWIN, R.L.; MCLEOD VI, K.R.; KLOTZ, J.L.; HEITMANN, R.N. Rumen development, intestinal growth and hepatic metabolism in the pre- and post-weaning ruminant. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, E-suppl. 1, p. E55–E65, 2004.
- BALDWIN, R.L.; MCLEOD VI, K.R.; KLOTZ, J.L.; HEITMANN, R.N. Rumen development, intestinal growth and hepatic metabolism in the pre- and post-weaning ruminant. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, E-suppl. 1, p. E55–E65, 2004.
- BAMPIDIS, V.A.; ROBINSON, P.H. Citrus by-products as ruminant feeding: A review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 128, p. 175-217, 2006.
- BEHARKA, A.A.; NAGARAJA, T.G.; MORRILL, J.L. Performance and ruminal function development of young calves fed diets with *Aspergillus oryzae* fermentation extract. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, p. 4326-4336, 1991.
- BERGMAN, E.N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. **Physiological Reviews**, Bethesda, v. 70, p. 567-590, 1990.
- BHATTACHARYA, A.N.; HARB, M. Dried citrus pulp as a grain replacement for awasi lambs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 36, p. 1175-1180, 1973.
- BROWN, E.G.; VandeHAAR, M.J.; DANIELS, K.M.; LIESMAN, J.S.; CHAPIN, L.T.; KEISLER, D.H.; NIELSEN, M.S.W. Effect of increasing energy and protein intake on body growth and carcass composition of heifer calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, p. 585–594, 2005.
- BUENO, M.S.; FERRARI JR, E.; BIANCHINI, D.; LEINZ, F.F.; RODRIGUES, C.F.C. Effect of replacing corn with dehydrated citrus pulp in diets of growing kids. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 46, p. 179–185, 2002.
- BÜRGER, P.J.; PEREIRA, J.C.; SILVA, J.F.C.; VALADARES FILHO, S.C.; CECON, C.R.; JORDÃO, C.P.; BRAZ, S.P. Taxas de passagem e cinética da degradação ruminal em bezerros holandeses alimentados com dietas contendo diferentes níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, p. 225-235, 2000.
- CAMPOS, F.P.; NUSSIO, C.M.B.; NUSSIO, L.G. **Métodos de análises de alimentos**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 135p.
- CHANEY, A.L.; MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, Washington, v. 8, p. 130-132, 1962.
- CHURCH, D. C. **The ruminant animal: digestive physiology and nutrition**. New Jersey: Prentice-Hall, 1988. 564 p.
- COELHO, S.G.; SATURNINO, H.M.; CALIARI, M.V.; OLIVEIRA, H.N.; CARVALHO, A.U.; GONÇALVES, G.C.R. pH ruminal, tamanho e área das papilas do saco ventral até os 90 dias de idade de bezerros desmamados aos 30 dias e alimentados com ou sem volumoso até os 60 dias. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37., 2000, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, 2000. 1 CD-ROM.
- COVERDALE, J.A.; TYLER, H.D.; QUIGLEY, J.D.; BRUMM, J.A. Effect of various levels of forage and form of diet on rumen development and growth in calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, n. 8, p. 2554-2562, 2004.
- DANIELS, K.M.; HILL, S.R.; KNOWLTON, K.F.; JAMES, R.E.; MCGILLIARD, M.L.; AKERS, R.M. Effects of milk replacer composition on selected blood metabolites

and hormones in preweaned holstein heifers. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, p. 2628–2640, 2008.

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

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

DEFRAIN, J.M.; HIPPEN, A.R.; KALSCHEUR, K.F.; JARDON, P.W. Feeding glycerol to transition dairy cows: effects on blood metabolites and lactation performance. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, n. 12, p. 4195-4206, 2004.

DONKIN, S.S. Use of glycerin in dairy diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 86, E-suppl. 2, p.393, 2008.

DONKIN, S.S.; KOSER, S.L.; WHITE, H.M.; DOANE, P.H.; CECAVA, M.J. Feeding value of glycerol as a replacement for corn grain in rations fed to lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, p. 5111-5119, 2009.

DROUILLARD, J.S. Glycerin as a feed for ruminants: Using glycerin in high-concentrate diets. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, E-suppl. 1, n. 490, p. 393, 2008.

EBERT, R.A.; DRACKLEY, J.K. **Efficacy of glycerol as a replacement for lactose in calf milk replacer**. In: Illini Dairy Net Papers, Illinois, 2008. Disponível em <<http://www.livestocktrail.uiuc.edu/dairynet>>. Acesso em: 12 maio 2012.

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

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

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

FERREIRA, L.S.; BITTAR, C.M.M.; SANTOS, V.P.; MATTOS, W.R.S.; PIRES, A.V. Efeito da adição de butirato de sódio, propionato de cálcio ou monensina sódica no concentrado inicial sobre parâmetros ruminais e de desenvolvimento do rúmen de bezerros leiteiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, n. 11, p. 2238-2246, 2009.

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

- FURLAN, R.L.; MACARI, M.; FARIA FILHO, D.E. Anatomia e fisiologia do trato gastrointestinal, In. BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2011. 616p.
- GILAVERTE, S.; SUSIN, I.; PIRES, A.V.; FERREIRA, E.M.; MENDES, C.Q.; GENTIL, R.S.; BIEHL, M.V.; RODRIGUES, G.H. Digestibilidade da dieta, parâmetros ruminais e desempenho de ovinos Santa Inês alimentados com polpa cítrica peletizada e resíduo úmido de cervejaria. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 40, p. 639-647, 2011.
- GOFF, J.P.; HORST, R.L. Oral glycerol as an aid in treatment of ketosis/fatty liver complex. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, E-suppl. 1, p. 153, 2001.
- GOLOMBSKI, G.; RAETH-KNIGHT, M.; ZIEGLER, B.; LARSON, D.; CHESTER-JONES, H.; LINN, J. Performance of post-weaned holstein heifer calves fed grain mixes with glycerin as an energy source. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, E-suppl. 1, p. 87, 2009.
- GREENWOOD, R.H.; MORRILL, J.L.; TITGEMEYER, E.C.; KENNEDY, G.A. A New method of measuring diet abrasion and its effect on the development of the forestomach. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, p. 2534-2541, 1997.
- GUNN, P.J.; LEMANAGER, R.P.; BUCKMASTER, D.R.; CLAEYS, M.C.; LAKE, S.L. Effects of dried distiller's grains with solubles on performance, carcass characteristics, and metabolic parameters of early weaned beef calves. **Professional Animal Scientist**, Champaign, v. 27, p. 283-294, 2011.
- HEINRICHS, A.J.; HEINRICHS, B.S. A prospective study of calf factors affecting first-lactation and lifetime milk production and age of cows when removed from the herd. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, p. 336-341, 2011.
- HEINRICHS, A.J.; LOSINGER, W.C. Growth of Holstein dairy heifers in the United States. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 76, p. 1254-1260, 1998.
- HENRIQUE, W.; SAMPAIO, A.A.M.; LEME, P.R.; LANNA, D.P.D.; ALLEONI, G.F.; COUTINHO FILHO, J.L.V. Desempenho e características da carcaça de tourinhos Santa Gertrudes confinados, recebendo dietas com alto concentrado e níveis crescentes de polpa cítrica peletizada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, p. 463-470, 2004.
- HILL, T.M.; BATERMAN, H.G.; ALDRICH, J.M.; SCHLOTHERBECK, R.L. Effects of feeding different carbohydrates sources and amounts to young calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, p. 3128-3137, 2008.
- HOFFMAN, P. Optimum body size of Holstein replacement heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, p. 836-845, 1997.
- HUBER, J.T. Development of the digestive and metabolic apparatus of the calf. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 52, n. 8, p. 1303-1315, 1969.
- HUBER, J.T.; JACOBSON, N.I.; ALLEN, R.S. Digestive enzyme activities in the young calf. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 44, p. 1494-1501, 1961.
- ILSE, B.R.; ANDERSON, V.L. Effect of glycerol in feedlot diets on animal performance. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 1, p. 89, 2009.

- JOHNSON, R.B. The treatment of ketosis with glycerol and propylene glycol. **Cornell Veterinarian**, Ithaca, v. 44, p. 6-21, 1954.
- KELLOGG, D.W.; OWEN, F.G. Relation of ration sucrose level and grain content to lactation performance and rumen fermentation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 62, p. 657–662, 1969a.
- KELLOGG, D.W.; OWEN, F.G.. Alterations of in vitro rumen fermentation patterns with various levels of sucrose and cellulose. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 52, p. 1458–1460, 1969b.
- KERTZ, A.F.; CHESTER-JONES, H. Invited review: guidelines for measuring and reporting calf and heifer experimental data. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, p. 3577-3580, 2004.
- KERTZ, A.F.; PREWITT, L.R.; EVERETT JR., J.P. An early weaning calf program: summarization and review. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 62, p. 1835-1843, 1979.
- KHAN, M.A.; LEE, H.J.; LEE W.S.; KIM, H.S.; KI, K.S.; HUR, T.Y.; SUH, G.H.; KNAG, S.J.; CHOI, Y.J. Structural growth, rumen development, metabolic and immune response of Holstein male calves fed milk through step-down and conventional methods. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 90, p. 3376-3387, 2007.
- KIJORA, C.; BERGNER, H.; GOTZ, K.P.; BARTELT, P.; SZAKACS, J.; SOMMER, A. Research note: investigation on the metabolism of glycerol in the rumen of bulls. **Archives Tierernahrung**, Berlin, v. 51, p. 341-348, 1998.
- KLOTZ, J.L.; HEITMANN, R.N. Effects of weaning and ionophore supplementation on selected blood metabolites and growth in dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, p.3587–3598, 2006.
- KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. Santa Maria: Editora da Universidade Federal de Santa Maria, 2002. 140p.
- KREHBIEL, C.R. Ruminal and physiological metabolism of glycerin. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.86, n. 489, p. 392, E-suppl. 2, 2008.
- KRISTENSEN, N.B.; SEHESTED, J.; JENSEN, S.K.; VESTERGAARD, M. Effect of milk allowance on concentrate intake, ruminal environment, and ruminal development in milk-fed Holstein calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, p. 4346-4355, 2007.
- KRUEGER, N.A.; ANDERSON, R.C.; TEDESCHI, L.O.; KRUEGER, W.K.; NISBET, D.J. Effects of feeding glycerol on fermentation kinetics of alfalfa hay. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, suppl. 1, p. 87, 2009.
- LANE, M.A.; BALDWIN, R.L.; JESSE, B.W. Sheep rumen metabolic development in response to age and dietary treatments. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, p. 1990-1996, 2000.
- LARSON, L.L.; OWEN, F.G.; ALBRIGHT, J.L.; APPLEMAN, R.D.; LAMB, R.C.; MULLER, L.D. Guidelines toward more uniformity in measuring and reporting calf experimental data. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 60, p. 989-991, 1977.

- LENG, R.A.; NOLAN, J.V. Nitrogen metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 67, p. 1072-1089, 1984.
- 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.
- 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.
- MACH, N.; BACH, A.; DEVANT, M. Effects of crude glycerin supplementation on performance and meat quality of Holstein bulls fed high-concentration diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 87, p. 632-638, 2009.
- 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.
- MACIEL, R.P.; OLIVEIRA, R.A.; NEIVA, J.N.M.; RESTLE, J.; BILEGO, U.O.; SOUSA, L.F. Características de carcaça de bezerros mestiços leiteiros alimentados com glicerina bruta e abatidos aos 60 dias de idade In: REUNIAO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 49., 2012, Brasília. **Anais...** Brasília: SBZ, 2012. 1 CD-ROM.
- MARTEL, C.A.; TITGEMEYER, E.C.; MAMEDOVA, L.K.; BRADFORD, B.J. Dietary molasses increases ruminal pH and enhances ruminal biohydrogenation during milk fat depression. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, p. 3995-4004, 2011.
- NÁPOLES, G.G.O. **Desempenho e metabolismo de bezerros leiteiros em aleitamento convencional recebendo concentrado inicial contendo glicerol em substituição ao milho**. 2012. 91p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirement in dairy cattle. 7th ed. Washington: National Academy of Science, 2001. 381p.
- NUSSIO, C.M.B.; SANTOS, F.A.P.; ZOPOLLATTO, M.; PIRES, A.V.; MORAIS, J.B. Processamento de milho (floculado vs. laminado a vapor) e adição de monensina para bezerras leiteiras, pré e pós-desmama precoce. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, p. 229-239, 2003.
- NUSSIO, C.M.B.; SANTOS, F.A.P.; ZOPOLLATTO, M.; PIRES, A.V.; MORAIS, J.B.; FERNANDES, J.J.R. Parâmetros de fermentação e medidas morfométricas dos compartimentos ruminais de bezerros leiteiros suplementados com milho processado (Floculado vs. Laminado a vapor) e monensina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 4, p. 1021-1031, 2003b.
- OWENS, F.N.; GOETSCH, A.L. Ruminal fermentation. In: CHURCH, D.C. (Ed.) **The ruminant animal: digestive physiology and nutrition**. Englewood Cliffs: Waveland Press, 1988. p. 145-171.

- OWENS, F.N.; ZINN, R. Metabolismo de la proteína en los ruminantes. In: CHURCH, D.C. (Ed.) **El ruminante: fisiología digestiva e nutrición**. Zaragoza: Acribia, 1988. p.255-281.
- PARSONS, G.L.; SHELOR, M.K.; DROUILLARD, J.S. Performance and carcass traits of finishing heifers fed crude glycerin. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 87, p. 653-657, 2009.
- PORCIONATO, M.A.F.; BERCHIELLI, T.T.; FRANCO, G.L.; ANDRADE, P.; SILVEIRA, R.N.; SOARES, W.V.B. Digestibilidade, degradabilidade e concentração amoniacal no rúmen de bovinos alimentados com polpa cítrica peletizada normal ou queimada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, p. 258-266, 2004.
- QUIGLEY III, J.D. Effects of lasalocid in milk replacer and calf starter on growth, intake, and fecal oocyst shedding in calves challenged with *Eimeria*. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 79, suppl. 1, p. 154, 1996a.
- QUIGLEY, J.D. Feeding prior to weaning. In: CALVES, HEIFERS AND DAIRY PROFITABILITY NATIONAL CONFERENCE, Pennsylvania, 1996. Ithaca. **Proceedings...** Northeast Regional Agricultural Engineering Service Cooperative Extension, 1996. p. 245-255.
- QUIGLEY, J.D.; BERNARD, J.K. Effects of nutrient source and time of feeding on changes in blood metabolites in young calves. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, p. 1543-1549, 1992.
- QUIGLEY, J.D.; BERNARD, J.K. Effects of nutrient source and time of feeding on changes in blood metabolites in young calves. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, p. 1543-1549, 1992.
- QUIGLEY, J.D.; CALDWELL, L.A.; SINKS, G.D.; HEITMANN, R.N. Changes in blood glucose, nonesterified fatty acids, and ketones in response to weaning and feed intake in young calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, p. 250-257, 1991.
- QUIGLEY, J.D.; MARTIN, K.R.; BEMIS, D.A.; POTGIETER, L.N.D.; REINEMEYER, C.R.; ROHRBACH, B.W.; DOWLEN, H.H.; LAMAR, K.C. Effects of housing and colostrum feeding on serum immunoglobulins, growth, and fecal scores of Jersey calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 78, n. 4, p. 893-901, 1995.
- QUIGLEY, J.D.; MARTIN, K.R.; BEMIS, D.A.; POTGIETER, L.N.D.; REINEMEYER, C.R.; ROHRBACH, B.W.; DOWLEN, H.H.; LAMAR, K.C. Effects of housing and colostrum feeding on serum immunoglobulins, growth, and fecal scores of Jersey calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 78, n. 4, p. 893-901, 1995.
- QUIGLEY, J.D.; SMITH, Z.P.; HEITMANN, R.N. Changes in plasma volatile fatty acids in response to weaning and feed intake in young calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, p. 258-263, 1991.
- RAETH-KNIGHT, M.; LINN, J.; LARSON, R.; SALZER, J. Impact of glycerol in milk replacer on dairy calf performance. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 87, E-suppl. 2, p. 451, 2009.

- ROGER, V.; FONTY, G.; ANDRE, C.; GOUET, P. Effects of glycerol on the growth, adhesion and cellulolytic bacteria and anaerobic fungi. **Current Microbiology**, New York, v. 25, p. 197-201, 1992.
- SANDER, E.G.; WAINER, R.G.; HARRISON, H.N.; LOOSLI, J.K. The stimulatory effect of sodium butyrate and sodium propionate on the development of rumen mucosa in the young calf. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 42, p. 600-605, 1959.
- SANDER, E.G.; WARNER, R.G.; HARRISON, H.N.; LOOSLI, J.K. The stimulatory effect of sodium butyrate and sodium propionate on the development of rumen mucosae in the young calf. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 42, n. 9, p. 1600-1605, 1959.
- SANTOS, J.E.P. Distúrbios metabólicos. In: BERCHILLI, T.T.; PIRES, A.V., OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 583p.
- SATTER, L.D.; ROFFLER, R.E. Nitrogen requirement and utilization in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 58, p. 1212-1237, 1975.
- SAUER, F.D.; KRAMER, J.K.G.; CANTWELL, W.J. Antiketogenic effects of monensin in early lactation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 72, p. 436-442, 1989.
- SCHALCH, F.J.; SCHALCH, E.; ZANETTI, M.A.; BRISOLA, M.L. Substituição do milho em grão moído pela polpa cítrica na desmama precoce de bezerros leiteiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, p. 280-285, 2001.
- SCHRÖDER, A.; SÜDEKUM, K.H. Glycerol as a by-product of biodiesel production in diets for ruminants. In: NEW HORIZONS FOR AN OLD CROP. **Proceedings... Canberra: Internation Rapeseed**, Canberra, v. 10, p. 241, 1999.
- SILVA, J.T.; BITTAR, C. M. M.; SILVEIRA, L. S. Desempenho e desenvolvimento ruminal em resposta ao fornecimento de substâncias húmicas para bezerros leiteiros em sistema de desaleitamento precoce. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 33, n. 4, p. 395-401, 2011.
- SILVA, J.T.; BITTAR, C.M.M.; FERREIRA, L.S. Evaluation of mannan-oligosaccharides offered in milk replacers or calf starters and their effect on performance and rumen development of dairy calves. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 41, p. 746-752, 2012.
- SUÁREZ, B.J.; VAN REENEN, C.G.; BELDMAN, G.; VAN DELEN, J.; DIJKSTRA, J.; GERRITS, W.J.J. Effects of supplementing concentrates differing in carbohydrate composition in veal calf diets: I. animal performance and rumen fermentation characteristics. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, p. 4365-4375, 2006.
- SUSIN, I.; MACHADO NETO, R.; PIRES, A.V.. Imunoglobulina e proteína total séricas em bezerros holandeses e mestiços. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 16, p. 588-592, 1987.
- SUTTON, J.D.; MCGILLIARD, A.D.; RICHARD, M.; JACOBSON, N.L. Funcional development of rumen mucosa. II. Metabolic activity. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 46, p. 530-537, 1963.

- TAMATE, H.; MCGILLIARD, A.D.; JACOBSON, N.L.; GETTY, R. Effect of various dietaries on the anatomical development of the stomach in the calf. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 45, p. 408-420, 1962.
- TRABUE, S.; SCOGGIN, K.; TJANDRAKUSUMA, S.; REILLY, P.J. Ruminal fermentation of propylene glycol and glycerol. **Journal of Agricultural of Food Chemistry**, Davis, v. 55, p. 7043-7051, 2007.
- Van AMBURGH, M.; DRACKLEY, J.K. Current perspectives on the energy and protein requirements of the pre-weaned calf. In: GARNSWORTHY, P.C. **Calf and heifer rearing: principles of rearing the modern dairy heifer from calf to calving**. Nottingham: Nottingham University Press, 2005. chap. 5, p. 67-82.
- Van SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, p. 3583-3597, 1991.
- Van SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, p. 3583-3597, 1991.
- VAZQUEZ-ANON, M.; HEINRICHS, A.J.; ALDRICH, J.M.; VARGA G.A. Postweaning age effects on rumen fermentation end-products and digesta kinetics in calves weaned at 5 weeks of age. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, p. 2742-2748, 1993.
- VAZQUEZ-ANON, M.; HEINRICHS, A.J.; ALDRICH, J.M.; VARGA G.A. Postweaning age effects on rumen fermentation end-products and digesta kinetics in calves weaned at 5 weeks of age. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, p. 2742-2748, 1993.
- WEIGAND, E.; YOUNG J.W.; MCGILLIARD, A.D. Volatile fatty acid metabolism by rumen mucosa from cattle fed hay or grain. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 58, p. 1294-1300, 1975.
- WEIGAND, E.; YOUNG J.W.; MCGILLIARD, A.D. Volatile fatty acid metabolism by rumen mucosa from cattle fed hay or grain. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 58, p. 1294-1300, 1975.
- WEISS, W.P. Predicting energy values of feeds. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, p. 1802-1811, 1993. Apresentado no SYMPOSIUM: PREVAILING CONCEPTS IN ENERGY UTILIZATION BY RUMINANTS.
- WILLIAMS, P.; FALLON, R.J.; INNES, G.M.; GARTHWAITE, P. Effects on food-intake, rumen development and live weight of calves of replacing barley with sugar-beet citrus pulp in a starter diet. **Animal Production**, Penicuik, v. 44, p. 65-73, 1987.
- WILLIAMS, P.E.V.; FROST, A.I. Feeding the young ruminants. In: VARLEY, M.A.; WILLIAMS, P.E.V.; LAWRENCE, T.L.J. **Neonatal survival and growth**. Edinburgh: British Society of Animal Production, 1992. p. 109-118. (Occasional Publication, 15).
- YOUNG, J.W. Gluconeogenesis in cattle: significance and methodology. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 60, p. 1-15, 1977.

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

5 Alterações metabólicas e comportamentais em bezerros leiteiros em função do estresse em resposta ao desaleitamento gradual ou abrupto³

5.1 Objetivos

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de dois métodos de desaleitamento, gradual ou abrupto, e de dois níveis de consumo de concentrado, sobre o desempenho, parâmetros fisiológicos e comportamentais relacionados ao estresse em bezerros leiteiros.

5.2 Materiais métodos

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) e após o período de colostragem passaram a receber 4L/d de sucedâneo lácteo (Sprayfo Violeta - 20PB:16EE, 12,5% sólidos - Sloten do Brasil Ltda.), 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:

³ Auxílio CNPq – Edital Universal 14/2011, Faixa A (474337/2011-1), o qual resultou na dissertação desenvolvida e defendida por Mariana de Pompêo de Camargo Gallo em 22/04/2013.

- a. Desaleitamento abrupto, baixo consumo;
- b. Desaleitamento abrupto, alto consumo;
- c. Desaleitamento gradual, baixo consumo;
- d. 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 PB e 72,9% de 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.

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.). 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.

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.

Periodicamente foram colhidas amostras do sucedâneo, do concentrado e do feno fornecidos para determinação da composição químico-bromatológica (Tabela 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 et al. (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 et al. (1991); nitrogênio insolúvel em FDN (NFDN); nitrogênio insolúvel em FDA (N-FDA) pelo método descrito por Goering & VanSoest (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: $CNF (\%MS) = 100 - (PB + EE + FDN + MM)$; onde, PB, EE, FDN e MM são expressos em % da MS.

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). 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).

Tabela 1 - 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; (2) Rumina 18P, Guabi Nutrição Animal, Campinas, SP, Brasil.

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.

Observações de comportamento animal 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 minutos para o tempo gasto, 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, tomou-se medidas de temperatura retal e frequência respiratória 3 vezes ao dia, às 6h, 12h e 18h.

Foram utilizados kits enzimáticos comerciais para a determinação das concentrações de glicose (LABTEST Diagnóstica S.A.), proteínas totais (LABTEST Diagnóstica S.A.) e β -hidroxibutirato (RANDOX Laboratories), por espectrofotometria de ponto final, utilizando-se o filtro de absorbância de específico para cada protocolo em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA –200 (CELM). A determinação da concentração de cortisol foi realizada através de kit comercial (Assay Designs, EUA), por imunoensaio competitivo. A quantificação da concentração de proteínas solúveis em ácido (PSA) foi realizada em duas etapas utilizando-se os métodos propostos por Nakajima et al. (1982) e Bradford (1976), com leituras de absorbância realizadas em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA-200 (CELM), utilizando-se o filtro de 578nm.

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} = 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

SDII= efeito da interação semana de vida e método de desaleitamento

SCijl= efeito da interação semana de vida e nível de consumo de concentrado

SDCijl= efeito da interação semana de vida, método de desaleitamento e nível de consumo de concentrado

Eijkl = 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%.

5.3 Resultados e discussão

Não houve interação entre os dois fatores estudados (método de desaleitamento e nível de consumo de concentrado), sendo apresentados os resultados destes efeitos de maneira isolada. O consumo de concentrado não diferiu ($P < 0,05$) entre os métodos de desaleitamento abrupto ou gradual (Tabela 2). 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 3).

Tabela 2 - 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.

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.

Tabela 3 - 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.

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 compensar a energia

não consumida devido à redução do leite, prejudicando desta forma o desempenho dos animais.

De acordo com Nielsen et al. (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.

No presente 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 1). 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), 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 2). 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, o que resultou em consumo de energia total semelhante aquela observada nos 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 1. 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 2. 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 4). 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 2 e 3) 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.

Tabela 4 - 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 $P < 0,05$.

Houve diferença significativa ($P < 0,005$) entre os tratamentos Gradual-Alto e Abrupto-Baixo, para o consumo de feno pós desaleitamento (Figura 3). 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.

Figura 3 - 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 ao fornecimento de dieta líquida. O

baixo consumo em idades jovens deve ser uma característica multifatorial, que compreende não só o fornecimento de dieta líquida, mas também aspectos como o vigor do bezerro, sua saúde geral, entre outros. 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.

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 ($P < 0,05$) as variáveis ganho de peso ou peso corporal (Tabela 6), houve diferença significativa para as variáveis em função dos níveis de consumo ($P < 0,05$) (Tabela 5).

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

	Consumo		EPM*	P<**		
	Baixo	Alto		T	I	TxI
Peso corporal, 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.

No presente experimento, bezerros que apresentavam consumo voluntário superior na quinta semana tiveram maiores médias de peso corporal 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.

Tabela 6 - Desempenho de bezerros desaleitados de maneira abrupta ou gradual

	Desaleitamento		EPM*	P<**		
	Gradual	Abrupto		T	I	TxI
Peso corporal, kg						
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.

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 Passilé et al. (2010) observaram que o aumento no consumo de concentrado não foi suficiente para compensar a redução da ingestão de energia após a diminuição do sucedâneo.

Segundo Sweeney et al. (2010), o consumo de energia no momento do desaleitamento é o fator determinante do desempenho animal no período subsequente e a redução gradual do fornecimento da dieta líquida não 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 não foram beneficiados pelo desaleitamento gradual, apresentando menor desempenho no período subsequente, independentemente do método de desaleitamento (Tabela 7).

A redução do ganho de peso, além de reforçar o fato de que estes animais ainda não estavam preparados do ponto de vista fisiológico para serem desaleitados, pode ser relacionado também ao comprometimento do bem estar destes animais. Os animais passaram por uma transição de dieta líquida para sólida, mas ainda não estavam totalmente preparados para obter toda energia necessária ao seu crescimento e desenvolvimento corporal através do consumo de alimentos sólidos, passando, desta forma, por um momento de redução na taxa de ganho. No entanto, se houve uma situação de estresse, este não foi tão severo, já que não houve perda de peso e rapidamente, em decorrência do aumento no consumo de concentrado, estes animais retomaram valores de ganho de peso dentro do esperado.

Tabela 7 - Ganho de peso (Kg/d) de bezerros apresentando alto ou baixo consumo de concentrado na 5ª 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 corporal 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 1 - 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)

Não houve interação significativa ($P < 0,05$) entre os dois fatores estudados para nenhum dos parâmetros sanguíneos. 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 8 e 9).

Tabela 8 - 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.

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 5).

Tabela 9 - Parâmetros sanguíneos de bezerros desaleitados de forma abrupta ou gradual

	Tratamento			P < **		
	Abrupto	Gradual	EPM*	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 esperados para bezerros no início da vida são típicos de animais não ruminantes, por volta de 144 mg/dL (Quigley et al., 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 et al. (1991), que obteve valores de 85 e 90,3 mg/dL.

Os valores de glicose são semelhantes aos apresentados por Nussio & 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 & 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 concentrações plasmáticas 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 5 - 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 plasmáticas de 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 5). Os valores de BHBA apresentaram-se mais altos no tratamento gradual apenas no dia do desaleitamento (Tabela 9).

Os valores médios de BHBA são semelhantes aos valores observados na literatura por Lemeister & Heinrichs (2004). Conforme esperado, as concentrações plasmáticas 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 da raça Holândes 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.

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 16). De acordo com Luca & 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).

Figura 6 - Proteína total plasmática de bezerros

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 (Tabela 10). 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 10), embora os valores de proteína do grupo abrupto não tenham diminuído.

Tabela 10 - 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

As concentrações plasmáticas 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 et al. (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 et al., 1996). Desta forma, os animais deste experimento não manifestaram estresse ao desaleitamento, independente do método utilizado, e mantiveram valores de GSA dentro da normalidade.

Não houve interação entre os dois fatores estudados para as concentrações de cortisol ($P > 0,05$) e nem efeito dos fatores estudados individualmente (Figuras 7 e 8). 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 7 - Concentrações plasmáticas de cortisol da sexta a nona semana de vida dos animais

Figura 82 – 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 7) e nos dias relativos ao desaleitamento (Figura 8), não é possível observar valores que indiquem que os animais sofreram algum tipo de estresse relacionado a interrupção do fornecimento 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.

Houve efeito significativo ($P < 0,05$) para os níveis de consumo de concentrado nas médias de frequência cardíaca dos animais (Tabela 11). 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 9 e 10), 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.

Tabela 11 - 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.

	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; **T = efeito do tratamento; I = efeito da idade; 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 (Tabela 12). 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.

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.

Tabela 12 - 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.

Babu et al. (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).

Figura 9 - 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 10 - 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 et al., 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 et al. (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.

Não houve interação entre os dois fatores estudados (níveis de consumo e método de desaleitamento) ($P < 0,05$), sendo apresentados seus efeitos isoladamente (Tabelas 13, 14 e 15).

O tempo (min) de consumo de concentrado pelos animais aumentou gradualmente ao longo do tempo, conforme esperado. Em experimento realizado por Façanha 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 11), 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 et al., 2004).

Tabela 13 - 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
Mamada não nutritiva	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

De maneira semelhante Muller et al. (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 Façanha 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.

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.

Figura 11 - Tempo consumindo concentrado inicial e ruminando nas 15 horas de observação

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 et al. (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 12 e 13) e, provavelmente por terem se acostumado a nova rotina, não manifestaram atividade e agitação característica da expectativa pelo leite.

Figura 32 - Tempo em pé de cabeça alta observado nos dias relativos ao desaleitamento

Figura 13 - Tempo em pé e deitado de bezerros leiteiros, em dias relativos ao desaleitamento

Muller et al. (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.

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 14). Babu et al. (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.

Tabela 14 - 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
Mamada não nutritiva	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 15 - 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
Mamada não nutritiva	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.

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 4). Muller et al. (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.

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 são 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 et al., 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 16). 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 et al. (2007).

Tabela 16 - 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 (Tabela 15). 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 14). 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 14).

O consumo (alto ou baixo) não teve influência na atividade de vocalização dos animais (Figura 15), 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, apresentaram vocalização semelhante.

Figura 44 - Número médio de vocalizações durante 15 horas de observações nos dias relativos ao desaleitamento de bezerros desaleitados de forma abrupta (A) ou gradual (G)

Thomas et al. (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.

Figura 15 - 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)

Atividades como lambidas e mamadas não nutritivas também são consideradas comportamentos estereotipados de bezerros que são aleitados artificialmente. O tempo de realização de mamadas não nutritivas 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 et al. (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 et al. (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 et al. (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.

5.4 Conclusões

O método de desaleitamento não teve influência no desempenho, metabolismo e bem estar dos animais. No entanto, o nível de consumo teve influência no desempenho e parâmetros sanguíneos dos bezerros, com melhores resultados observados em animais com maior consumo na quinta semana de vida.

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

5.5 Referências

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.
- 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.; FRASER, A. F. Domestic animal behavior and welfare. **CABI**, 2007.
- 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.
- CAMPOS, F.P.; NUSSIO, C.M.B.; NUSSIO, L.G. **Métodos de análises de alimentos**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 135 p.
- 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, Cornel University Press. 1995.p145.
- ECKERSALL, P.D.; SAINI, P.K.; MACCOMB, C. The acute phase responde of acid soluble glycoprotein, α -soluble glycoprotein, ceruloplasmin, haptoglobin and C-reactive protein in the pig. **Veterinary Immunology and Immunophatology**. 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 Brasília**, Mossoró, v.5, p.250-257, 2011.
- GOERING, H.K.; Van SOEST, P.J. **Forage fiber analysis (Apparatus, reagents, procedures and some applications)**. Washington: USDA, 1970. 379 p. (Agricultural Handbook).
- 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.

- 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.
- 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.
- LARSON, L.L.; OWEN, F.G.; ALBRIGHT, J.L.; APPLEMAN, R.D.; LAMB, R.C.; MULLER, L.D. Guidelines toward more uniformity in measuring and reporting calf experimental data. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 60, p. 989-991, 1977.
- LESMEISTER, L.E.; HEINRICHS, A.J. Effects of corn processing on growth characteristics, rumen development, and rumen parameters in neonatal dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, p. 3439-3450, 2004.
- 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.; 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.
- MULLER, M.; SILVA, R.W.S.M.; MIELKE, L.F. Efeito de diferentes instalações sobre o comportamento ingestivo de bezerros da raça holandesa. **Revista da 9ª Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa**. Dom Pedrito, Urcamp, 2011.p17.
- 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 Veterinary 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 cattle. **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 bezerros 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.
- SAS INSTITUTE. **SAS users guide**: statistics. version 5. Cary, 1991. 1028 p.
- 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.
- Van SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, p. 3583-3597, 1991.
- 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.

WEISS, W.P. Predicting energy values of feeds. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, p. 1802-1811, 1993. Apresentado no SYMPOSIUM: PREVAILING CONCEPTS IN ENERGY UTILIZATION BY RUMINANTS.

6 Considerações gerais e perspectivas futuras

O desenvolvimento ruminal de bezerros leiteiros, dependente de consumo de dieta sólida, resulta em progressivas alterações no metabolismo, sendo possível modular a velocidade com que estas alterações ocorrem. Ao nascer estes animais são pré-ruminantes e, como tal, tem maior dependência por glicose como principal fonte de energia circulante. A medida que o rúmen se desenvolve, se desenvolve também um aparato enzimático que participa do metabolismo de produtos finais de fermentação para sua conversão a glicose por gliconeogênese no fígado; ou sua direta utilização como fonte de energia em tecidos periféricos. Além disso, a reciclagem de nitrogênio também ganha espaço, além da utilização de proteína microbiana no atendimento da exigência animal.

O manejo nutricional destes animais durante o período de aleitamento tem efeitos marcantes nas alterações de metabolismo, sendo o consumo de concentrado o aspecto mais importante neste processo. O volume de dieta líquida fornecida tem relação inversa com o consumo de concentrado. Embora se tenha ganhos em taxas de crescimento e possibilidade de aumentar o potencial de produção futura destes animais, os efeitos na velocidade do desenvolvimento ruminal, devido a menor consumo de concentrado, devem ser considerados para o desaleitamento destes animais. Além disso, estes efeitos benéficos só ocorrem quando a composição da dieta líquida atende as exigências de animais com maiores taxas de crescimento, o que não ocorre com a maior parte dos sucedâneos disponíveis no mercado nacional. Assim, o Grupo de Pesquisa em Metabolismo Animal está na fase final de projeto que tem como objetivo avaliar a composição em nutrientes de todos os sucedâneos disponíveis no mercado e avaliar o potencial da suplementação da dieta líquida com lisina e metionina, de forma a atender as exigências de bezerros em aleitamento nestes dois aminoácidos limitantes (Fapesp 2011/21741-3). Neste estudo em andamento as alterações no metabolismo energético, mas também protéico estão sendo avaliadas em animais criados em diferentes sistemas de alimentação.

A manipulação da composição do concentrado também pode afetar a velocidade do desenvolvimento ruminal e conseqüentes alterações no metabolismo animal, seja diretamente por alterações no perfil de fermentação; ou indiretamente por promover maior consumo de concentrado. A adequação em

fibra nos concentrados iniciais ainda é um ponto polêmico na literatura, assim como a necessidade ou não do fornecimento de feno para animais em aleitamento. A inclusão de co-produtos em substituição ao milho pode auxiliar na manutenção da saúde ruminal quando resulta em maior teor de fibra, sem redução no conteúdo energético do concentrado. Outros co-produtos podem alterar o perfil de fermentação de forma a acelerar o desenvolvimento ruminal; ou ainda fornecer mais energia prontamente digestível para animais com o rúmen em desenvolvimento.

No entanto, como dito anteriormente, o consumo de concentrado é o fator mais importante e determinante destas alterações anatômico-fisiológicas e de metabolismo. Embora a quantidade de dieta líquida fornecida esteja inversamente relacionada ao consumo de concentrado, sua composição e também o método de desaleitamento afetam o mesmo. Por outro lado, alguns animais apresentam baixo consumo mesmo quando são aleitados com quantidades restritas de dieta líquida (4L/d) ou são submetidos ao desaleitamento gradual. Assim, o consumo de concentrado deve estar relacionado com aspectos outros além do manejo alimentar durante o período de aleitamento. Fatores como programação fetal, vigor ao nascimento e programas de colostragem também devem afetar o consumo de alimentos na fase inicial. Os trabalhos de pesquisa avaliando diferentes programas de colostragem tem focado na questão da transferência de imunidade passiva, sem se preocupar com o fato de este ser o primeiro aporte de energia e proteína, além de inúmeros fatores de crescimento. Dessa forma, o Grupo de Pesquisa em Metabolismo Animal enviou pedido de Auxílio à Pesquisa para a Fapesp (2014/05614-0) com o objetivo de avaliar as práticas de criação e a qualidade do colostro fornecido para bezerros leiteiros em variados sistemas de produção; estudar o melhor horário de estimar a proteína total no soro de bezerros após a ingestão do colostro; e avaliar o efeito da ingestão de colostro sobre as características termogênicas e metabólicas de bezerros leiteiros criados em diferentes manejos alimentares e submetidos a condições de estresse pelo frio. Associado a este projeto, estudos com suplementos de colostro estão em andamento.

O baixo número de pesquisadores brasileiros que se dedicam ao estudo da interface nutrição-metabolismo de bezerros leiteiros tem resultado em grande demanda do setor privado nacional pela condução de pesquisa principalmente

com aditivos. A maior parte dos aditivos utilizados são aqueles que podem reduzir a frequência ou severidade de diarreias, a principal causa de morbidez e morte em bezerros leiteiros; além de produtos que possam manipular fermentação nestes animais com o rúmen ainda em desenvolvimento, a exemplo dos ionóforos e de óleos essenciais. Muitos trabalhos foram conduzidos neste sentido, mas assim como nos estudos relatados nesta tese, as alterações observadas são mais dependentes da idade dos animais como consequência do desenvolvimento ruminal em resposta ao consumo de concentrado.

Bezerros leiteiros são ótimos modelos animais para o treinamento de alunos de graduação e pós-graduação na interface nutrição-metabolismo, tendo em vista todas as alterações durante curto período de tempo, além da possibilidade de manipulação da velocidade com que estas alterações ocorrem. A condição em que são criados permite grande controle do ambiente e das condições experimentais e permite o desenvolvimento de percepção de alterações no comportamento animal. O grupo de pesquisa tem atraído grande quantidade de alunos de graduação e pós-graduação em busca de treinamento formal, o que tem sido limitado pela disponibilidade de animais do rebanho do Departamento e da infra-estrutura para alojamento de grande número de animais. Espera-se em breve aumentar esta capacidade de alojamento para que seja realizado maior número de experimentos por ano, de acordo com diferentes manejos alimentares.