

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

**Desempenho e desenvolvimento ruminal de bezerros em sistema de
desaleitamento precoce recebendo aditivos alternativos aos
antibióticos**

Jackeline Thaís da Silva

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

**Piracicaba
2010**

Jackeline Thaís da Silva
Zootecnista

Desempenho e desenvolvimento ruminal de bezerros em sistema de desaleitamento precoce recebendo aditivos alternativos aos antibióticos

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

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

Piracicaba
2010

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

Silva, Jackeline Thaís da

Desempenho e desenvolvimento ruminal de bezerros em sistema de desaleitamento precoce recebendo aditivos alternativos aos antibióticos / Jackeline Thaís da Silva. - - Piracicaba, 2010.
86 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2010.
Bibliografia.

1. Ácidos 2. Alimentação animal 3. Antibióticos 4. Bezerros 5. Desmama precoce 6. Húmus
Suplementos concentrados para animais I. Título

CDD 636.2085
S586d

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

Aos meus pais, Sônia e Aparecido, por todo amor e dedicação

Aos meus irmãos, Júnior e Rafael, pela amizade e força

Ao João Antônio Mastrangi, pelo carinho, incentivo e
especialmente pelo companheirismo

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” e ao Departamento de Zootecnia pela oportunidade de realização do curso de Mestrado.

A minha orientadora Prof^a. Dra. Carla Maris Machado Bittar pela dedicação, confiança, paciência e especialmente pela amizade.

Ao Lucas Silveira Ferreira pela aprendizagem, amizade e apoio durante a realização dos experimentos.

Aos funcionários e colegas do Laboratório de Bromatologia do Departamento de Zootecnia, Carlos César Alves e Tânia Aparecida Ferri.

A Cristiane Sitta, José Tiago das Neves Neto, Mariana Arruda Camargo Danés pelo auxílio durante o experimento e demais colegas do curso de pós-graduação.

A Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento do projeto.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudo.

A Alltech Biotech., na pessoa de Marcelo Manella, pela doação do mananoligossacarídeo (Bio-Mos[®]).

A Adriana Figueiredo, representando a Nutron Alimentos, pela oportunidade de realização do segundo experimento e aos funcionários do Centro de Pesquisa de Nutrição Animal (CPNA) pela assistência.

As fazendas Tainá e Campestre pela doação dos bezerros para a realização de parte deste trabalho.

Aos professores da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”/Campus de Ilha Solteira pela formação acadêmica e a todos colegas da I Turma de Zootecnia (UNESP/Ilha Solteira).

Aos meus pais, meus irmãos, demais familiares e aos familiares de João Antônio Mastrangi pelo incentivo e carinho.

As amigas da Rep. Choppensá Maria Izabel Bertacchi, Magda Andréia Tessmer, Fernanda Engels do Nascimento, Cristiane Müller e Juliana Balbinotti e agregados, por todos os momentos compartilhados e por toda dedicação.

A Deus pelas oportunidades e pessoas que Ele coloca em meu caminho.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT	13
1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1 Desaleitamento precoce.....	17
2.2 Desenvolvimento do rúmen.....	19
2.3 Problemas sanitários na fase de aleitamento.....	21
2.4 Aditivos alternativos	23
2.4.1. Mananoligossacarídeos.....	23
2.4.2 Substâncias húmicas.....	27
Referências	30
3 AVALIAÇÃO DA VIA DE FORNECIMENTO DE MANANOLIGOSSACARÍDEOS NA ALIMENTAÇÃO DE BEZERROS EM ALEITAMENTO: DESEMPENHO E DESENVOLVIMENTO RUMINAL	37
Resumo	37
Abstract	37
3.1 Introdução	38
3.2 Material e Métodos.....	40
3.2.1 Animais, instalações e manejo alimentar	40
3.2.2 Análise Bromatológica.....	41
3.2.3 Avaliação do desempenho e desenvolvimento corporal	42
3.2.4 Monitoramento do escore fecal	42
3.2.5 Colheita de sangue e metodologia analítica.....	43

3.2.5.1 Colheita de sangue	43
3.2.5.2 Determinação de glicose plasmática	43
3.2.5.3 Determinação de β -hidroxibutirato (BHBA)	43
3.2.5.4 Determinação de N-uréico	44
3.2.6 Análise estatística	44
3.3 Resultados e discussões	45
3.4 Conclusões	57
Referências.....	57
4 DESEMPENHO E DESENVOLVIMENTO RUMINAL DE BEZERROS EM SISTEMA DE DESALEITAMENTO PRECOCE RECEBENDO SUBSTÂNCIAS HÚMICAS VIA CONCENTRADO INICIAL	61
Resumo	61
Abstract.....	62
4.1 Introdução	63
4.2 Material e métodos	64
4.2.1 Animais, instalações e manejo alimentar	64
4.2.2 Análise bromatológica.....	65
4.2.3 Avaliação do desempenho e desenvolvimento corporal	66
4.2.4 Monitoramento do escore fecal.....	66
4.2.5 Colheita de Sangue e metodologia analítica.....	66
4.2.5.1 Colheita de sangue	66
4.2.5.2 Determinação de glicose plasmática	67
4.2.5.3.Determinação de β -hidroxibutirato	67
4.2.5.4 Determinação de N-uréico	67

4.2.6 Avaliação morfológica do trato digestório superior	67
4.2.7 Análise estatística	68
4.3 Resultados e discussão.....	69
4.4 Conclusões.....	82
Referências	83

RESUMO

Desempenho e desenvolvimento ruminal de bezerros em sistema de desaleitamento precoce recebendo aditivos alternativos aos antibióticos

Foram realizados dois estudos para avaliar aditivos alternativos aos antibióticos na produção de bezerros leiteiros em sistema de desaleitamento precoce. No primeiro experimento, foram avaliados os efeitos de mananoligossacarídeos (Bio-Mos[®]) quanto ao desempenho e parâmetros sanguíneos indicativos de desenvolvimento ruminal, além da via de fornecimento do aditivo. Foram utilizados 24 bezerros da raça Holandês, todos machos inteiros, em delineamento inteiramente casualizado distribuídos nos seguintes tratamentos: 1) controle; 2) mananoligossacarídeo (4 g/d Bio-Mos[®], Alltech Biotech.) fornecido via concentrado inicial; 3) mananoligossacarídeo (4 g/d Bio-Mos[®], Alltech Biotech.) fornecido via sucedâneo lácteo. Os animais foram alocados em abrigos individuais, com livre acesso a água, e passaram a receber 4L/d da dieta líquida, dividida em 2 refeições até o desaleitamento na sexta semana, e concentrado inicial *ad libitum*. Diariamente, foi realizada avaliação do escore fecal. Semanalmente, foram realizadas pesagens, medidas de crescimento corporal e colheitas de sangue, para a determinação de glicose, N-uréico e β -hidroxibutirato (BHBA) até a oitava semana, quando se encerrou o período experimental. Não foi observada diferença significativa ($P>0,05$) entre os tratamentos ou interação Tratamento x Idade para os parâmetros de consumo, ganho de peso, crescimento corporal e parâmetros sanguíneos. Entretanto, foi observado efeito de Idade para todos os parâmetros avaliados ($P<0,0001$). O escore fecal também não foi afetado pelos tratamentos, no entanto, os animais recebendo MOS via sucedâneo lácteo apresentaram médias numericamente menores nas duas primeiras semanas de vida, demonstrando menor ocorrência de diarreia. Não foram observados efeitos significativos ($P>0,05$) de tratamento ou da interação tratamento x Idade nas concentrações plasmáticas de glicose, N-uréico ou BHBA. No entanto, houve efeito de Idade nos parâmetros plasmáticos, sendo observadas concentrações crescentes de N-uréico e BHBA, indicando adequado desenvolvimento ruminal. No segundo experimento, foi avaliada a inclusão de substâncias húmicas no concentrado inicial e seus efeitos no desempenho e desenvolvimento ruminal. Foram utilizados 20 animais, todos machos inteiros, em delineamento experimental blocos completos aleatorizados, distribuídos nos seguintes tratamentos: 1) controle; 2) substâncias húmicas (SH, NutriHume[®]), fornecido via concentrado inicial. O manejo nutricional e os parâmetros avaliados foram os mesmos do primeiro experimento. Entretanto, os animais foram desaleitados na oitava semana de idade e foram abatidos para análise do desenvolvimento do trato digestório superior. Não houve efeito significativo ($P>0,05$) dos tratamentos ou da interação Tratamento x Idade para os parâmetros consumo de concentrado, ganho de peso ou medidas de crescimento corporal, embora tenha ocorrido efeito de Idade ($P<0,0001$). O escore fecal também não foi afetado pela inclusão de substâncias húmicas ($P>0,05$), embora os animais tenham apresentado com grande frequência escores que indicam ocorrência de diarreia. Não houve efeito da inclusão de substâncias húmicas ($p>0,05$) para as medidas morfométricas do trato digestório superior, número, largura ou altura de papilas do epitélio ruminal. Nas condições em que os experimentos foram realizados, os aditivos alternativos não

apresentaram efeitos benéficos no desempenho, no desenvolvimento ruminal ou na saúde geral de bezerros leiteiros em aleitamento.

Palavras-chave: Ácido fúlvico; Ácido húmico; Mananoligossacarídeo; Papilas ruminais

ABSTRACT

Performance and rumen development of calves under early weaning program receiving alternative additives to replace antibiotics

Two studies were conducted to evaluate alternative additives to replace antibiotics on dairy calves production under early-weaning program. On the first trial, the addition of mannanoligosaccharides (MOS) in the diet of dairy calves on performance and plasma parameters indicative of rumen development, as well as the route of administration, milk replacer or starter feed, were evaluated. Twenty-four male Holstein calves were utilized in a completely randomized design. Calves were distributed in the following treatments: 1) control; 2) mannanoligosaccharides (4 g / d Bio-Mos[®], Alltech Biotech.) via starter feed; 3) mannanoligosaccharides (4 g / d Bio-Mos[®], Alltech Biotech.) delivered via milk replacer. The animals were housed in individual hutches, with free access to water, and received 4L / d liquid diet, split into 2 meals, until weaning at six weeks, and starter feed ad libitum. Fecal scores were evaluated daily. Weekly calves were weighted and growth measurements and blood samples for glucose, urea-N and β -hidroxibutyrate (BHBA) were taken until the eighth week of age, when the experimental period ended. There was no significant ($P > 0.05$) effect of treatment or treatment x age interaction for intake, weight gain or body growth. However, there was an age significant effect for all evaluated parameters ($P < 0.0001$). The fecal score was not affected by treatments; however, animals fed MOS via milk replacer presented averages numerically smaller in the first two weeks of life, showing a lower incidence of diarrhea. No significant effects ($P > 0.05$) of treatment or the interaction treatment x age were also observed for plasma concentration of glucose, urea-N or BHBA. However a significant age effect was observed for plasma parameters, with increasing concentrations for urea-N and BHBA, suggesting adequate rumen development. On the second trial, the inclusion of humic substances in the starter and its effects on performance and rumen development were evaluated. Twenty Holstein male calves were used in a completely randomized block design and distributed in two treatments according to inclusion of humic substances in the concentrate starter: 1) Control; 2) Humic substances (Nutrihume[®]). Nutritional management and evaluated parameters were the same as described for the first trial. However, calves were weaned at the eighth week of age and slaughtered for rumen development evaluation. There were significant effect ($P > 0.05$) for treatment or the interaction treatment x age for concentrate intake, weight gain or growth measurements. Fecal scores were also not affected ($P > 0.05$) by the inclusion of humic substances, even though calves presented frequently high fecal scores, indicating high incidence of diarrhea. There were no significant effects ($P > 0.05$) of humic substances inclusion on the rumen morphometrics measures and papillae number, height or width. On the conditions of these studies, the alternative additives presented no beneficial effects on performance, rumen development or general health of milk-fed dairy calves.

Keywords: Fulvic acid; Humic acid; Mannanoligosaccharides; Ruminant papillae

1 INTRODUÇÃO

A criação de bezerras de reposição é essencial para garantir o equilíbrio dentro do sistema de produção leiteiro. As primeiras semanas de vida da bezerra, fase de aleitamento, representam o período de maior custo na criação. Portanto, técnicas de manejo que permitam o desaleitamento precoce apresentam-se como uma importante alternativa para os sistemas de criação de animais de reposição. Esta técnica diminui despesas relacionados ao fornecimento de leite ou sucedâneo, mão de obra especializada e, conseqüentemente, proporciona um menor custo final da bezerra desaleitada. Contudo, para que o desaleitamento precoce ocorra sem comprometer o desempenho dos animais, o rúmen deve estar parcialmente desenvolvido, sendo capaz de absorver os produtos da fermentação (ANDERSON; NAGARAJA; MORRIL et al., 1987).

A alta taxa de mortalidade, ocasionada por diversos fatores tais como tamanho do rebanho, instalações impróprias, época de nascimento, fornecimento de colostro inadequado, e principalmente as diarréias, é outro fator que eleva os custos da criação de bezerras (HEINRICHS; WELLS; LOSINGER, 1995).

A diarréia é a principal doença que acomete bezerras nas primeiras semanas de vida, sendo responsável não apenas pelas altas taxas de mortalidade como também por baixos índices de desempenho animal. Assim, a inclusão de aditivos que tenham efeito no controle de diarréias, como os ionóforos ou outros antibióticos, na dieta líquida ou sólida de bezerras em aleitamento têm aumentado nos sistemas de produção de leite.

A descoberta de que o uso de antibióticos melhora a eficiência alimentar levou ao aumento do seu uso como profilático (VISEK, 1978; HEINRICHS; JONES; HEINRICHS, 2003). A inclusão de antibióticos tem sido realizada mesmo em situações nas quais infecções subclínicas ou sistêmicas, que limitam o crescimento e a eficiência alimentar, não tenham sido diagnosticadas (GUSTAFSON; BOWEN, 1997). Entretanto, este uso generalizado de antibióticos para melhorar a saúde e o crescimento animal tem sido questionado no que se refere à segurança alimentar.

Tradicionalmente, os sucedâneos lácteos tem sido formulados com a inclusão de antibióticos como tratamento preventivo. Porém, como o consumo destes produtos pode aumentar ou resultar no aparecimento de resistência em bactérias, o interesse em suplementações alternativas vem crescendo. Assim, aditivos que resultem na diminuição do uso de antibióticos e reduzam problemas sanitários, além de aumentar consumo de alimento e ganho de peso, são interessantes do ponto de vista econômico e sanitário para sistemas de criação de bezerras.

Dentro deste contexto se enquadram alguns novos aditivos como os prebióticos e a matéria orgânica humificada. Estes produtos são considerados seguros para alimentação animal, e consistem em alternativas ao uso de antibióticos nos sistemas de criação. No entanto, os trabalhos desenvolvidos até o momento com a inclusão destes aditivos mostram resultados variados de acordo com o sistema de produção animal, método de fornecimento e até mesmo de acordo com a raça do animal, indicando a necessidade de mais estudos. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da inclusão de aditivos alternativos aos antibióticos via sucedâneo lácteo ou concentrado inicial em bezerros da raça Holandês em sistema de desaleitamento precoce.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Desaleitamento precoce

A fase de aleitamento é o período de maior custo dentro do sistema de criação de animais de reposição, desta forma técnicas de manejo que permitam o desaleitamento precoce são de grande importância para o sucesso do sistema de criação. Desde que Mead et al. (1924) formularam uma mistura especial de grãos fornecido ao mesmo tempo em que a dieta líquida, denominado concentrado inicial para bezerro, esforços tem sido despendidos com o objetivo de realizar o desaleitamento precoce.

A escolha da época para o desaleitamento pode ser realizada com base no peso vivo (GREENWOOD et al., 1997), no consumo de concentrado (QUIGLEY, 1996) ou com base na idade do animal (HOPKINS, 1997). Greenwood et al. (1997) testaram 3 níveis de consumo de concentrado em porcentagem de peso vivo ao nascer (1; 1,5 e 2%) para realização do desaleitamento. Neste estudo, observaram que quando o consumo de concentrado inicial do bezerro alcança 1% do peso vivo ao nascer, por 3 dias consecutivos, o desaleitamento pode ser realizado sem prejudicar o desempenho animal. Além disso, reduz o número de dias de aleitamento em relação aos níveis 1,5 e 2%.

Por outro lado, Quigley (1996) recomenda realizar o desaleitamento dos animais da raça Holandês quando o consumo de concentrado inicial atingir entre 680 a 700 g/dia, também por 3 dias consecutivos. Applemann e Owen (1975) observaram que bezerros desaleitados com base no consumo de concentrado (450 g/dia) são menores na época do desaleitamento quando comparados a animais desaleitados abruptamente aos 21 dias de vida. Entretanto, os ganhos de peso corporal e altura entre a 6^a e 12^a semanas de idade não são estatisticamente diferentes quando se compara os métodos de desaleitamento.

Já Hopkins (1997) indica o desaleitamento de bezerros leiteiros aos 28 dias de idade, sendo esta recomendação a mais utilizada nos sistemas de produção americanos. Segundo Sandi e Mühlbach (2001) o desaleitamento aos 28 dias de idade

pode ser economicamente vantajoso, principalmente na época de formação de cota de produção de leite ou no aproveitamento dos machos para vitela, sendo uma boa opção para aumentar a rentabilidade do produtor.

Em estudo recente sobre formas de desaleitamento precoce Roth et al. (2009) avaliaram o método convencional (idade) e o desaleitamento dependendo do consumo de concentrado. A saúde, ganho de peso, e desenvolvimento do rúmen não foram afetados pelo método de desaleitamento, mas os bezerros do método de desaleitamento dependendo do consumo de concentrado foram desaleitados com idade mais jovem sem nenhum efeito negativo na produção.

No entanto, a quantidade e o método de fornecimento da dieta líquida para bezerros recém nascidos também possuem grande efeito sobre o desempenho, comportamento e bem-estar dos animais (KHAN et al., 2007). O fornecimento exclusivo de leite integral a bezerros foi um procedimento realizado até 1956, quando outras formas de substituir o leite passaram a ser pesquisadas, e os sucedâneos começaram a entrar no mercado internacional (OTTERBY; LINN, 1981).

Neste sentido, Owen e Larson (1982) avaliaram o desempenho de bezerros leiteiros em diferentes sistemas de aleitamento: o sistema considerado convencional, com fornecimento duas vezes ao dia de 1,59kg de leite integral e desaleitamento abrupto aos 42 dias de idade; e um sistema simplificado de fornecimento da dieta líquida, com o fornecimento de 3,18 kg de colostro resfriado de 1ª a 6ª ordenha, uma vez ao dia, e desaleitamento abrupto aos 21 dias de idade. Foram observados maiores ganhos de peso para os animais do sistema convencional, muito embora os animais do sistema simplificado tenham apresentado maior consumo de concentrado inicial, fator importante para que ocorra o desaleitamento.

Nos sistemas de criação de animais de reposição, o fornecimento de leite descartado é muito utilizado para substituir o leite integral. Entretanto, nos últimos anos, com a evolução na qualidade dos sucedâneos lácteos, este produto vem sendo ministrado logo após o período de fornecimento de colostro, e tem permitido reduzir os custos com a criação, assim como apresentado bons resultados no desempenho dos animais. O crescimento eficiente de bezerros leiteiros jovens é importante para a rentabilidade da exploração leiteira.

Deste modo, os benefícios do manejo alimentar, com vistas ao desaleitamento precoce, ao desenvolvimento do trato digestório superior e as reduções dos custos com o fornecimento de dieta líquida, são suficientes para indicar a adoção do mesmo em sistemas de produção de leite. Entretanto, para que o desaleitamento precoce ocorra sem comprometer o desempenho animal, o rúmen deve estar parcialmente desenvolvido, permitindo adequado processo de fermentação de alimentos sólidos e absorção de produtos finais da fermentação.

2.2 Desenvolvimento do rúmen

Os bovinos nascem com o rúmen não funcional e o desenvolvimento desta funcionalidade envolve uma série de mudanças anatômicas e fisiológicas (BEHARKA et al., 1998). Nas primeiras semanas de vida de um bezerro, os processos de digestão e metabolismo estão em estado de transição, os processos característicos de monogástricos é alterado para processos típicos de ruminantes (HUBER, 1969).

A principal alteração fisiológica neste processo está relacionada à fonte de energia para o organismo. Quando o animal é um ruminante não-funcional, a energia é derivada da absorção de hexose proveniente de fontes lácteas, e quando ruminante funcional os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) oriundos da fermentação ruminal tornam-se a mais importante fonte de energia para o animal (HUBER, 1969). Assim, a nutrição pode ser considerada como um dos principais fatores para este processo de transição, o qual é amplamente influenciado pelo consumo de matéria seca e produtos de degradação no rúmen (ANDERSON et al., 1987).

O fornecimento apenas de dieta líquida limita o desenvolvimento fisiológico do rúmen e retarda a atividade oral como a mastigação e ruminação, que são normalmente exibidas por bezerros que recebem alimentos sólidos (COZZI et al., 2002). O desenvolvimento do trato digestório superior de animais recebendo apenas leite é lento, mas o fornecimento de concentrado inicial (dieta a base de grãos) acelera este processo (TAMATE et al., 1962).

Segundo Huber (1969), bezerros alimentados com concentrado inicial desde o nascimento apresentam o rúmen considerado qualitativamente similar ao adulto por

volta da sexta semana de idade. Entretanto, após esta fase, o órgão continua aumentando em tamanho. Anatomicamente, durante o desenvolvimento do rúmen, o órgão cresce em tamanho, as papilas ruminais aumentam em comprimento, e o revestimento do epitélio do rúmen sofre queratinização (CHURCH, 1983).

Após o nascimento, o abomaso e o omaso pesam mais e ocupam maior espaço que o retículo-rúmen. Entretanto, quando estimulado pelo consumo de concentrado inicial, por volta da quarta semana de idade, o retículo-rúmen dos bezerros passa a ocupar aproximadamente 65% do trato digestório superior, e este valor tende a aumentar para 75% na 12^a semana de idade. Este processo continua até o retículo-rúmen representar cerca de 87% do volume total de um ruminante adulto (HUBER, 1969; QUIGLEY et al., 1996).

As papilas são extremamente importantes para animais ruminantes, uma vez que são responsáveis pelo mecanismo de movimentação da digesta (D'ARCE; FLECHTAMANN, 1980) e aumento da área absorptiva (BANKS, 1991; DUKES, 1993). O desenvolvimento normal das papilas ruminais é resultado da estimulação física de alimentos sólidos e de AGCC, produtos da fermentação microbiana (HARRISON et al., 1960; TAMATE et al., 1962; SANDER et al., 1959). Dentre os principais AGCC responsáveis pelo desenvolvimento das papilas, o ácido butírico é o mais importante, seguido pelo ácido propiônico, tendo o ácido acético pouca importância neste processo (TAMATE et al., 1962; SANDER et al., 1959).

O comprimento médio das papilas do rúmen de um bezerro recém nascido é inferior a 1 mm. No entanto, estas crescem rapidamente com a ingestão de alimentos sólidos e alcançam a altura máxima de 5 a 7 mm até a oitava semana de idade (TAMATE et al., 1962; WARNER et al., 1956). Este desenvolvimento associado ao consumo de alimentos sólidos pode ser observado no estudo realizado por Stobo et al. (1966). Foram testadas diferentes inclusões de concentrado inicial para avaliar o desenvolvimento do rúmen, sendo esta análise realizada na 3^a semana de idade. Os bezerros que receberam apenas leite não apresentaram desenvolvimento das papilas perceptível visualmente, como ocorreu nos bezerros alimentados com dieta contendo concentrado inicial. Por outro lado, os animais suplementados com grandes

quantidades de concentrado apresentaram o rúmen coberto por uma densa camada de papilas.

Desta forma, pode-se concluir que o desenvolvimento do rúmen está fortemente associado à ingestão de alimentos sólidos (grãos), permitindo o início da fermentação e, conseqüentemente, a produção de AGCC. Os AGCC, além de responsáveis pelo crescimento e alongamento das papilas, passam a ser a principal fonte de energia para o animal, permitindo assim a realização do desaleitamento.

2.3 Problemas sanitários na fase de aleitamento

A taxa de mortalidade em bezerros varia consideravelmente de um rebanho para o outro. Altas taxas de mortalidade e morbidade podem comprometer o sucesso da criação de bovinos leiteiros, principalmente, devido ao seu impacto nas planilhas de custo. Ainda, em muitas situações de morbidez, o desenvolvimento e o desempenho do animal ficam comprometidos.

Em geral, índices de mortalidade de até 5% entre o nascimento e os três primeiros meses de idade são considerados aceitáveis (ROY, 1990). No Brasil, dados precisos sobre taxas de mortalidade de bezerros em rebanhos leiteiros são desconhecidos. Entretanto, levantamento recente realizado no rebanho americano indica uma taxa de mortalidade de 7,8% em bezerros na fase de aleitamento (USDA, 2008). Desse modo, considerando o alto nível tecnológico adotado no sistema de criação de rebanhos leiteiros americanos, acredita-se que no Brasil as taxas de mortalidades sejam mais elevadas.

As altas taxas de mortalidade podem ser ocasionadas por diversos fatores tais como tamanho do rebanho, instalações impróprias, época de nascimento, fornecimento de colostro inadequado e as diarréias (HEINRICHS; WELLS; LOSINGER, 1995).

Dentre as causas de mortalidade na fase de aleitamento, a diarréia é considerada como a principal (OWEN et al., 1958; RADOSTITS, 1975), respondendo por cerca de 56% das causas de mortes em rebanhos americanos, seguida por doenças respiratórias (USDA, 2008). Esta moléstia não é apenas o principal fator que contribui para aumentar a taxa mortalidade, mas também por diminuir a taxa de

crescimento, reduzir a eficiência de utilização dos alimentos e, principalmente, por reduzir a resistência do sistema imune do animal a outras doenças (OWEN et al., 1958).

A diarreia é um sinal clínico de uma disfunção do trato digestório, sendo um dos principais mecanismos de reação deste contra bactérias patogênicas, vírus ou dieta com nutrientes indigestíveis. Esta disfunção se traduz em hipersecreção e relativa falta de absorção intestinal que resulta em perda de fluidos, eletrólitos e nutrientes (RADOSTITS, 1975), resultando em fezes com menos que 12% de matéria seca (ROY, 1980).

As diarreias podem ter diferentes causas, com destaque para a ação de enterobactérias como Salmonelas e principalmente *Escherichia coli*, responsável pela “diarreia branca” que acomete bezerros durante a 1ª semana de vida. Bezerros saudáveis apresentam *E. coli* no intestino grosso, contudo em baixa concentração. No entanto, fatores que reduzem a resistência do animal, aliados a presença de estirpes patogênicas, permitem a multiplicação desta bactéria (LUCCI, 1989). A moléstia apresenta-se como uma enterite grave, acompanhada de diarreia, ou ainda quando de forma mais agressiva, como uma toxemia-septicemia (invasão da corrente circulatória por toxinas e bactérias).

A aderência de *E. coli*, está associada a presença de filamentos protéicos, denominados fímbrias (OFEK et al., 1977), compostos de proteínas, que se ligam a enterócitos com D-mannose nas células do intestino (GIAMPAPA et al., 1988). Desta forma, estas estruturas exercem papel fundamental permitindo uma interação direta entre a bactéria e os tecidos alvos. As toxinas liberadas por estes microrganismos desencadeiam a diarreia que, se não identificada e tratada, pode levar o animal a morte.

Segundo Buenau et al. (2005), antes de Alexander Fleming’s descobrir a penicilina, desordens intestinais eram tratadas com bactéria não patogênicas viáveis para mudar ou substituir a microflora intestinal. Hoje, uma das formas mais comuns de tratamento para diarreias com causas bacterianas, é o uso de antibióticos (VISEK, 1978). Entretanto, após a aprovação para a inclusão na dieta animal sem prescrição médica pelo *United States Food and Drug Administration* (FDA) em 1951 (JONES;

RICKE, 2003), os antibióticos passaram também a ser utilizados como promotores de crescimento.

O uso de antibióticos como promotores de crescimento animal vem apresentando bons resultados como a diminuição das diarreias e mortalidade de bezerros, além de efeitos positivos no ganho de peso e aumento no consumo de alimentos (MORRILL; DAYTON; MICKELSEN, 1977; HEINRICHS; WELLS; LOSINGER, 1995). Contudo, o uso generalizado destes produtos na produção animal como subterapêutico passou a preocupar a segurança pública. Muitos dos antibióticos ministrados a animais são os mesmos utilizados para humanos, e devido ao aumento da frequência de resistência em populações bacterianas a estes produtos, seu uso como promotor de crescimento foi proibido pela União Européia em 2006 (1831/2003 EEC). Após esta restrição, desencadeou-se a busca por aditivos alternativos na produção animal que resultem em índices de produtividade semelhantes aos observados com o uso de antibióticos.

2.4 Aditivos alternativos

2.4.1 Mananoligossacarídeos

Os mananoligossacarídeos (MOS) fazem parte da fração carboidrato da parede celular, e são obtidos por meio da centrifugação de fragmentos de *Saccharomyces cerevisiae* (HILL et al., 2009), que são posteriormente lavados e desidratados pelo método spray dry (SPRING et al., 2000). São formados por carboidratos não fermentáveis para alguns grupos de bactérias e apresentam como componente principal a D-mannose. Estes carboidratos atuam bloqueando o sítio de aderência de algumas bactérias, impedindo a colonização do intestino, devido ao aumento da competição por sítios de recepção do enterócito (Heinrichs et al., 2003; MIGUEL et al., 2004). Desta forma, os mananoligossacarídeos são considerados prebióticos que podem ser utilizados na alimentação com o objetivo de melhorar o sistema imune de bezerros.

Os mananoligossacarídeos apresentam alta afinidade ligante às fímbrias Tipo 1, que são filamentos protéicos finos presentes na superfície de enterobactérias, principalmente gram-negativas, e que conferem a estas poder de fixação ao trato gastrointestinal. Ao ocorrer esta ligação, os MOS ocupam tais sítios de aderência evitando, de forma competitiva, que estas bactérias se liguem aos sítios de recepção nas células do intestino (LUCCHI, 1989).

Segundo Spring et al. (2000), bactérias patogênicas como *Salmonella* e *Escherichia coli* que apresentam fímbria Tipo 1 são adsorvidas a mananoligossacarídeos no trato digestório, evitando assim sua adesão à parede do intestino. Estas bactérias, ao se ligarem aos mananoligossacarídeos, movem-se com o bolo fecal, sendo eliminadas pelo organismo (OYOFO et al., 1989).

Estas características funcionais conferem o potencial de uso de MOS como depressores do crescimento de microrganismos patogênicos, uma vez que estes microrganismos não são capazes de fermentar estes carboidratos. Desta forma, no final da década de 70, pesquisadores realizaram um estudo sobre a aderência de *E. coli* na mucosa intestinal de humanos mediado por mananoligossacarídeos, no qual demonstraram que a D-mannose atua como receptor para bloquear a *E. coli* e sua possível colonização no intestino (OFEK et al., 1977).

Para a nutrição animal, este aditivo foi lançado no mercado em meados da década de 90, como modificador biológico da microflora intestinal, e vem sendo estudado como promotor de crescimento e, principalmente, como alternativa aos antibióticos (OYOFO et al., 1989; NEWMAN; JACQUES; BUEDE, 1993). Mananoligossacarídeos estão disponíveis comercialmente para inclusão em dietas de aves, suínos, animais de companhia e ruminantes, mas estudos sobre seu fornecimento mostram resultados variáveis. Na avicultura, as pesquisas com mananoligossacarídeos visam diminuir a colonização do intestino por patógenos entéricos e melhorar o ganho de peso das aves de corte. Spring et al. (2000) estudaram os diferentes tipos de bactérias e a possível aglutinação ao MOS, e o efeito de MOS nos parâmetros de fermentação cecal, microflora cecal, e colonização em intestino de frangos por coliforme e patógenos entéricos, sob condições controladas. O estudo mostrou que

MOS pode diminuir a colonização de 5 das 7 cepas de *Escherichia coli* e 7 das 10 de *Salmonella typhimurium* e *S. enteritidis*.

A substituição de antibiótico por MOS foi realizada com sucesso por Rozeboom et al. (2005) em sistema de criação de suínos (WHITE et al., 2002; DAVIS et al., 2002). Castillo et al. (2008) também observaram melhoras na conversão alimentar e escore fecal e diminuição na concentração de enterobactérias presentes no trato gastrintestinal de leitões que receberam 0,2% mananoligossacarídeos na dieta diariamente até 35 dias após o desmame.

Já na bovinocultura leiteira, os resultados esperados para o fornecimento de MOS a bezerros são melhoras na saúde, decorrente da redução na proliferação de enterobactérias, e conseqüentemente, melhoras no desempenho dos animais. O primeiro trabalho investigando possíveis efeitos de MOS foi realizado por Newman, Jacques e Buede (1993), no qual 2g/dia do aditivo foi incluído ao sucedâneo lácteo de bezerros leiteiros da raça Holandês. Embora fundamentados em diferenças apenas numéricas, os autores sugerem que MOS aumenta o ganho de peso diário de bezerros, mas não afeta a contagem de coliformes fecais. Utilizando-se da mesma forma de fornecimento, Dildey et al. (1997) avaliaram o efeito do aditivo quanto ao desempenho e saúde, porém, com o dobro da quantidade fornecida pelos primeiros autores (4g/dia) do 1º ao 5º dia, e a mesma quantidade (2 g/dia) nos demais dias até o desaleitamento. Neste estudo, entretanto, foi observado maior ganho de peso diário, maior ingestão de matéria seca, redução no número de óbitos, no escore de diarreia, no tratamento com antibiótico e menor custo de tratamento por bezerro.

Do mesmo modo, em sistema de desaleitamento precoce, Terré et al. (2007) avaliaram o fornecimento de MOS (4g de BioMos[®]/dia) para bezerros aleitados com grande quantidade de sucedâneo lácteo. Os animais receberam 4 L/dia de sucedâneo durante a primeira semana, 6 L/dia na segunda, 7 L/dia na terceira, 6 L/dia na quarta e 3L/dia na quinta semana de vida. Os autores não observaram diferenças entre os tratamentos para o peso vivo ou a presença de enterobactérias nas fezes. Entretanto, houve tendência para maior consumo de concentrado, durante todo o período de experimento, para os animais suplementados com MOS, o que indicaria um possível

desenvolvimento do rúmen mais precoce. No entanto, as taxas de ganho de peso foram semelhantes entre os tratamentos nos períodos antes e após o desaleitamento.

Este aditivo também tem sido associado a outros aditivos recomendados para animais em crescimento, a exemplo dos ácidos orgânicos. Os ácidos orgânicos têm sido incluídos em formulações de sucedâneos lácteos com o objetivo de reduzir o pH do trato gastrointestinal e assim reduzir a proliferação de microrganismos patogênicos. Zanetti et al. (1999) avaliaram a inclusão de Ácido-MOS (3 g/d da mistura - 50% Acid-Pak 4-Way[®], 50% Bio-Mos[®]) ou antibiótico (oxitetraciclina - 15 mg/L) no sucedâneo lácteo de bezerros. Neste trabalho, os bezerros suplementados com antibiótico via sucedâneo lácteo apresentaram maior ganho de peso quando comparados ao grupo controle, não sendo diferente do grupo Ácido-MOS, que também apresentaram melhor conversão alimentar comparados com o grupo controle. Por outro lado, quando Heinrichs, Jones e Heinrichs (2003) compararam apenas MOS (4 g de Bio-Mos/ dia) e antibiótico (400 g/440 kg de neomicina + 200 g/440 kg de oxitetraciclina) na dieta líquida de bezerros, não foram observadas diferenças entre os aditivos e a dieta controle para o ganho de peso. Entretanto, MOS foi tão eficiente quanto antibióticos no controle de diarreias quando comparado ao tratamento controle.

Estudos com a inclusão de MOS tem apresentado bons resultados quanto ao desempenho, consumo de concentrado inicial e melhoras no escore de diarreia (KILLEN et al., 1994; SANDI; MÜHLBACH, 2001) para bezerros leiteiros da raça Holandês. Entretanto, em estudo recente, Hill et al. (2009) compararam o efeito da suplementação com mananoligossacarídeos a probiótico (*Saccharomyces cerevisiae*), em bezerros da raça Holandês e Jersey, quanto ao crescimento, ingestão de alimentos, desenvolvimento do rúmen e parâmetros de saúde na fase de aleitamento. Este estudo indicou que a suplementação do leite com MOS ou levedura pode beneficiar bezerros da raça Jersey, em todos os parâmetros avaliados, o que não foi observado em bezerros da raça Holandês.

Ainda que a inclusão de mananoligossacarídeos na dieta, em sua maioria, tenha apresentado bons resultados para diversos sistemas de produção animal, os efeitos sobre a influência no desempenho de bezerros ainda não estão bem caracterizados. Do mesmo modo, a via de fornecimento de MOS em todos os trabalhos da literatura é a

dieta líquida. Frente à ainda pequena adoção do uso de sucedâneos para aleitamento de bezerros no Brasil, uma provável via de fornecimento é o concentrado inicial, o qual é fornecido ao animal desde os primeiros dias de vida. Deste modo, se faz necessário mais estudos sobre a inclusão de mananoligossacarídeos na dieta de bezerros, assim como a via de fornecimento.

2.4.2 Substâncias húmicas

As substâncias húmicas (SH) são formadas pela transformação de biomoléculas, durante o processo de decomposição de resíduos vegetais e animais presentes no ambiente (STEVENSON, 1994), e constituem a principal fração orgânica do solo (AIKEN et al., 1985). Diferente de proteínas puras, as SH são classificadas como macromoléculas polidispersas, ou seja, misturas de moléculas com diferente massa molar e, conseqüentemente, de tamanho variado (SILVA; MENDONÇA, 2001). Estas substâncias podem ser caracterizadas por sua coloração (amarelo a preto), alto peso molecular e por ser refratária; e dividem-se em três classes de acordo com a solubilidade em base forte e extrato tratado com ácido (LESSA, 1994): a) resíduo extraível, denominado humina; b) precipitado escuro, chamado ácido húmico; c) material orgânico que permanece na solução ácida, chamada de ácido fúlvico.

Os principais componentes ativos das substâncias húmicas são os ácidos húmico e fúlvico. Estes componentes são compostos orgânicos com duas grandes moléculas carbônicas, que apresentam grande capacidade de troca de íons e possuem habilidade de formar quelatos com microminerais e aumentar a absorção de nitrogênio e a eficiência do uso de proteína pelos animais. O ácido fúlvico tem alto poder antioxidante e retira radicais livres do sistema (LANDGRAF et al., 1998). Já o ácido húmico, exerce ação protetora na mucosa do intestino, e possui propriedades antiinflamatória, absorvente, atóxica e antimicrobiana (EMEA, 1999). Segundo Ji et al. (2006), o alto peso molecular dos ácidos e minerais das substâncias húmicas podem beneficiar o desempenho dos animais, entretanto seu mecanismo ainda não é bem entendido.

Na literatura, poucos estudos são encontrados sobre o fornecimento de substâncias húmicas para animais. Os primeiros relatos da utilização destas

substâncias como promotores de crescimento na produção animal são do início da década de 90, com pesquisas com aves e suínos. Yasar et al. (2002) concluíram que o ácido húmico resultou em aumento no ganho de peso em ratos, efeito associado ao aumento no consumo, melhor conversão alimentar e um aumento no desenvolvimento da mucosa do intestino.

Estudos com aves mostraram melhora no desempenho, com aumentos de 5 a 7% no ganho de peso diário de aves recebendo ração contendo 0,25% de substâncias húmicas (STEPCHENKO et al., 1991). El-Husseiny et al. (2008), fornecendo dietas com diferentes aditivos e SH, como alternativas aos antibióticos, observaram que frangos alimentados com SH apresentaram resultados semelhantes aos que receberam antibióticos em relação ao peso corporal, conversão alimentar, taxa de mortalidade, característica de carcaça e resposta imune. No entanto, Rath et al. (2006) encontrou efeitos negativos no crescimento e desempenho de frangos testando diferentes inclusões de SH na dieta. Em outro estudo, também realizado com frangos, não foram observados efeitos significativos para o desempenho, peso ao abate e características de carcaça. Entretanto, não foi observada nenhuma morte no grupo de aves que receberam a dieta com SH, enquanto o grupo controle apresentou uma taxa de mortalidade de 1,8% (KARAOGLU et al., 2004).

No caso de suínos, Ji et al. (2006) conduziram cinco experimentos para testar os efeitos de substâncias húmicas (4 compostos com diferentes proporções de ácidos húmico e fúlvico) no crescimento e características de carcaça destes animais. De maneira geral, os resultados indicaram que os efeitos de SH são variáveis, mas podem aumentar a taxa de crescimento durante todo o período ou em algumas fases do programa de alimentação. Neste sentido, Wang et al. (2008) estudaram os efeitos do fornecimento de SH (controle e a adição de 5 ou 10% SH na dieta basal) quanto ao crescimento e parâmetros sanguíneos. A adição de 10% de SH na dieta aumentou significativamente ($P < 0,05$) o ganho de peso diário e a conversão alimentar. Ao final do experimento, a contagem relativa de linfócitos de animais recebendo 10% SH foi maior que aquela de animais controle. Assim, a inclusão de 5 ou 10% de SH na dieta de suínos pode melhorar o desempenho e a saúde destes animais.

Por outro lado, a inclusão destas substâncias na dieta de bovinos ainda é pouco estudada. Os benefícios das substâncias húmicas para ruminantes ainda são questionados; a literatura indica que o efeito antimicrobiano pode causar depressão na síntese de proteína microbiana por reduzir microrganismos ruminais (ISLAN et al., 2005). Entretanto, Agazzi et al. (2006) observaram melhoras no desempenho e crescimento dos animais em estudo com a inclusão de substâncias húmicas na dieta de cabritos recém nascidos.

Em estudo realizado por Cusak (2008) não foram observadas diferenças significativas nos pesos inicial e final, na incidência de doenças ou em características da carne de bovinos em confinamento recebendo um complexo de ácido húmico e ácido fúlvico (FeedMAX 15, 0,055g/ kg PV). Porém, animais recebendo o aditivo apresentaram maior ganho de peso diário, alcançando as especificações de mercado para abate em um menor número de dias, e maior eficiência de conversão alimentar que os animais do grupo controle. Segundo Islam et al. (2005), SH formam um filme no muco epitelial do trato gastrintestinal contra toxinas e agentes infecciosos, assegurando assim melhor utilização de nutrientes da ração pelos animais.

Além desse enfoque, de acordo com Huck et al. (1991) as SH também podem influenciar no metabolismo de proteínas e carboidratos de microrganismos. Isso resulta na devastação direta de células bacterianas e viróticas, o que pode resultar em aumento no desempenho animal. Os ácidos húmico e fúlvico têm ação inibitória direta sobre bactérias e vírus, reduzindo os níveis de micotoxinas. Essas substâncias também melhoram a saúde do intestino, melhorando assim a absorção de nutrientes e, conseqüentemente, o status nutricional dos animais. No trabalho de Huck et al. (1991), o aumento na taxa de crescimento foi observado somente quando analisado no período total do experimento, não sendo observado efeito nos diferentes períodos de avaliação. É provável que o efeito das substâncias húmicas também esteja associado ao tempo de administração, de forma que longos períodos de fornecimento de SH apresentem um efeito mais relevante.

Embora alguns trabalhos demonstrem efeitos positivos do fornecimento de substâncias húmicas, o modo de ação destas ainda não é claro. Mas, a literatura mostra efeitos benéficos de substâncias húmicas no sistema imune de animais e de

humanos (TERRATOL, 2002). De maneira geral, o fornecimento de substâncias húmicas para animais tem apresentado resultados benéficos na função intestinal, resultando no aumento na digestão e utilização da ração, aumento na resistência a doenças e, conseqüentemente, no aumento da saúde geral dos animais. No entanto, estudos sobre os efeitos das SH na criação de bezerros leiteiros são inexistentes, mas necessários e interessantes tendo em vista seu efeito em reduzir problemas de diarreia e aumentar a saúde intestinal.

Referências

AGAZZI, A.; CIGALINO, G.; MANCIN, G.; SAVOINI, G.; DELL'ORTO, V. Effects of dietary humates on growth and an aspect of cell-mediated immune response in newborn kids. **Small ruminant research**, London, v.72, p.242-245, 2006.

AIKEN, G.R.; McKNIGHT, D.M.; WERSHAW, R.L.; McCARTHY, P. **Humic substances in soil, sediment, and water-Geochemistry, isolation, and characterization**. New York: Wiley, 1985. 692p.

ANDERSON, K.L.; NAGARAJA, T.G.; MORRILL, T.G. Ruminal metabolic development in calves weaned conventionally or early. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 70, p. 1000-1005, 1987.

ANDERSON, K.L.; NAGARAJA, T.G.; MORRILL, J.L.; AVERY, T.B.; GALITZER, S.J.; BOYER, J. Ruminal microbial development in conventionally or early-weaned calves. **Journal of Animal Science**, Albany, v.64, p.1215-1226, 1987.

APPLEMANN, R.D.; OWEN, F.G. Breeding, housing, and feeding management. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 58, p. 447-464, 1975.

BANKS, W. **Histologia Veterinária Aplicada**. São Paulo: Editora Manole, 1991. 630p.

BEHARKA, A.A.; NAGARAJA, T.G.; MORRILL, J.L. 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.

BUENAU, R.V.; JAEKEL, L.; SCHWARZ, S.; STROFF, T.; KRUEGER, M. *Escherichia coli* strain nissle 1917: significant reduction of neonatal calf diarrhea. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 88, p. 317-323, 2005.

CASTILLO, M.; MARTIN-ORÚE, S.M.; TAYLOR-PICKARD, J.A.; PÉREZ, J.F.; GASA, J. Use of mannanoligosaccharides and zinc chelate as growth promoters and diarrhea preventative in weaning pigs: Effects on microbiota and gut function. **Journal of Animal Science**, Albany, v.86, p.94-101, 2008.

CHURCH, D.C. **Digestive physiology and nutrition of ruminants**. Covallis: Pretice-Hall, 1983. v.1 316p.

COZZI, G.; GOTTARDO, F.; MATTIELLO, S.; CANALI, E.; SCANZIANI, E.; VERGA, M.; ANDRIGHETTO, I. The provision of solid feeds to veal calves: I. Growth performance, forestomach development, and carcass and meat quality. **Journal of Animal Science**, Albany, v.80, p. 357-366, 2002.

CUSAK, P.M.V. Effects of a dietary complex of humic and fulvic acids (FeedMAX 15 (TM)) on the health and production of feedlot cattle destined for the Australian domestic market. **Australian Veterinary Journal**, Cowra, v.86, n.1/2, p.46-49, 2008.

D'ARCE, R.D.; FLECHTMANN, C.H.W. *Introdução à anatomia e fisiologia animal*. São Paulo : Nobel, 1980. 186p.

DAVIS, M.E.; MAXWELL, C.V.; BROWN, D.C.; RODAS, B.Z.; JOHNSON, Z.B.; KEGLEY, E.B.; HELLWIG, D.H.; DVORAK, R.A. Effect of dietary mannan oligosaccharides and (or) pharmacological additions of copper sulfate on growth performance and immunocompetence of weanling and growing/finishing pigs. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 80, p. 2887-2894, 2002.

DILDEY, D.; SELLARS, K.; BURRILL, M.; TREI, J.; NEWMAN, K.; JACQUES, K. Effect of mannanoligosaccharide supplementation on performance and health of Holstein calves. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.80, p.188, 1997.

DUKES, H.H. **Fisiologia dos animais domésticos**. 11 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan , 1993. 480p.

EL-HUSSEINY, O.M.; ABDALLAH, A.G.; ABDEL-LATIF, K.O. The influence of biological feed additives on broiler performance. **Journal of Poultry Science**, Champaign, v. 9, p. 862-871, 2008.

EMEA, 1999: **Humic acids and their sodium salts, summary report. Committee for Veterinary Medicinal Products**. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, Feb. 1999, EMEA/MRL/554/99-Final.

GIAMPAPA, C.S.; ABRAHAM, S.N.; CHIANG, T.M.; BEACHEY, E.H. Isolation and characterization of a receptor for type 1 fimbriae of *Escherichia coli* from guinea pig erythrocytes. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 263, p. 5362-5367, 1988.

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.

GUSTAFSON, R.H.; BOWEN, R.E. Antibiotic use in animal agriculture. **Journal of Applied Microbiology**, Bethesda, v. 8, p. 531-541, 1997.

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.

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

HEINRICHS, A.J.; JONES, C.M.; HEINRICHS B.S. Effects of mannan oligosaccharide or antibiotics in neonatal diets on health and growth of dairy calves. **Journal Dairy Science**, Lancaster, v. 86, v p. 4064–4069, 2003.

HILL, S.R.; HOPKINS, B.A.; DAVIDSON, S.; BOLT, S. M.; DIAZ, D.E.; BROWNIE, C.; BROWN, T.; HUNTINGTON, G.B.; WHITLOW, L.W. The addition of cottonseed hulls to the starter and supplementation of live yeast or mannanoligosaccharide in the milk for young calves. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.92, p.790-798, 2009.

HOPKINS, B.A. Effects of the method of calf starter delivery and effects of weaning age on starter intake and growth of Holstein calves fed milk once daily. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 80, p. 2200-2203, 1997.

HUBER, J.T. Development of the digestive and metabolic apparatus of the calf. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.52, p. 1303-1315, 1969.

HUCK, T.A.; PORTER, N.; BUSHEL, M.B. Effect of humates on microbial activity. **Journal of General Microbiology**, Amsterdam, v.137, p. 2321-2329, 1991.

ISLAN, K. M. S.; SCHUHMACHER, A.; GROPP, J. M. Humic acid substances in animal agriculture. **Pakistan Journal of Nutrition**, Faisalabad, v.3, p.126-134, 2005.

JI, F.; McGLONE, J. J.; KIM, S. W. Effect of dietary humic substances on pig growth performance, carcass characteristics, and ammonia emission. **Journal of Animal Science**, Albany, v.84, p.2482-2490, 2006.

JONES, F.T.; RICKE, S.C. Observations on the history of the development of antimicrobials and their use in poultry feeds. **Poultry Science**, Champaign, v. 82, p. 613-617, 2003.

KARAOGLU, M.; MACIT, M.; ESENBUGA, N.; DURDAG, H.; TURGUT, L.; BILGIN, O.C. Effect of supplemental humate at different levels on the growth performance, slaughter and carcass traits of broilers. **Journal of Poultry Science**, Champaign, v.6, p.406-410, 2004.

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

KILLEN, J.H.; WAILES, W.; JACQUES, K.A.; KLINKERMAN, A. Use of Bio-Mos to improve dairy calf disease resistance. In: ANNUAL SYMPOSIUM ON BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, 10., 1994. Lexington. **Proceedings...** Lexington, 1994. p.13.

LANDGRAF, M.D.; SILVA, S.C.; REZENDE, M.O.O. Mechanism of metribuzin herbicide sorption by humic acid samples from peat and vermicompost. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 368, p. 155-164, 1998.

LESSA, R.N.T. **Grupos funcionais das substâncias húmicas extraídas da turfa e do carvão**. Pelotas: UFPEL-IQG, 1994.

LUCCI, C.S. **Bovinos leiteiros jovens: nutrição, manejo e doenças**. São Paulo: Nobel/EDUSP, 1989. 371p.

MEAD, S.W.; REGAN, W.M.M.; BARTLETT, J.W. A study of the factors affecting the growth of dairy heifers. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 7, p. 440-459, 1924.

MIGUEL, J.C.; RODRIGUEZ-ZAS, S.L.; PETTIGREW, J.E. Efficacy of mannan oligosaccharide (Bio-Mos®) for improving nurse pig performance. **Journal of Swine Health and Production**, Guelph, v. 12, p. 296-307, 2004.

MORRILL, J.L.; DAYTON, A.D.; MICKELSEN, R. Cultured Milk and antibiotics for Young calves. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 60, p. 1105-1109, 1977.

NEWMAN, K.E.; JACQUES, K.; BUEDE, R. P. Effect of Mannan Oligosaccharide supplementation of milk replacer on grain, performance and fecal bacteria of Holstein calves. **Journal of Animal Science**, Albany, v.71, supl.1, p.271, 1993.

OFEK, I.; MIRELMAN, D.; SHARON, N. Adherence of *Escherichia coli* to human mucosal cells mediated by mannose receptors. **Nature**, London, v.265, p.623- 625, 1977.

OWEN, F.G.; LARSON, L.L. A simplified liquid feeding program for calves. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 65, p. 1350-1356, 1982.

OWEN, F.G.; JACOBSON, N.L.; ALLEN, R.S.; HOMEYER, P.G. Nutritional factors in calf diarrhea. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.41, p. 662-670, 1958.

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

OYOFO, B.A.; DeLOACH, D.E.; NORMAN, J.O.; ZIPRIN, R.I.; MOLLENHAUER, H.H. Prevention of Salmonella typhimurium colonization of broilers with D-mannose. **Poultry Science**, Champaign, v.68, p. 1357-1360, 1989.

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

RADOSTITS, O.M. Treatment and control of neonatal diarrhea in calves. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.58, p. 464-470, 1975.

RATH, N.C.; HUFF, W.E.; HUFF, G.R. Effect of humic acid on broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v.85, p.410-414, 2006.

ROTH, B.A.; KEIL, N.M.; GYGAX, L.; HILLMANN, E. Influence of weaning method on health status and rumen development in dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.92, p.645-656, 2009.

ROY, J.H.B. Factors affecting susceptibility of calves to disease. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 63, p. 650-664, 1980.

ROY, J.H.B. **The Calf: Management of health**. England: Butterworths, 1990. 258 p.

ROZEBOOM, D.W.; SHAW, D.T.; TEMPELMAN, R.J.; MIGUEL, J.C.; PETTIGREW, J.E.; CONNOLLY, A. Effect of mannan oligosaccharide and an antimicrobial product in nursery diets on performance of pigs reared on three different farms. **Journal of Animal Science**, Albany, v.83, p.2637-2644, 2005.

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 mucosa in the calf. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 42, p. 1600, 1959.

SANDI, D.; MÜHLBACH, P.R.F. Desempenho de bezerros da raça Holandesa com desaleitamento aos 28 ou 56 dias de idade, com ou sem aditivo à base de oligossacarídeo de manana. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, p.487-490, 2001.

SILVA, A.C.; MENDONÇA, E.S. Modelo fractal de Substâncias húmicas. **Ciência rural**, Santa Maria, v.31, p.903-908, 2001.

SPRING, P.; WENK, C.; DAWSON, K.A.; NEWMAN, K.E. The effects of dietary mannanoligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in the ceca of Salmonella-challenged broiler chicks. **Poultry Science**, Champaign, v.79, p.205-211, 2000.

STEPCHENKO, L.M; ZHORINA, L.V; KRAVTSOVA, L.V. The effect of sodium humate on metabolism and resistance in highly productive poultry. **Biologicheskije Nauki**, Moscow, v.10, p. 90-95, 1991.

STEVENSON, F.J. **Humus chemistry**: Genesis, composition, reactions. 2nd ed. New York: John Wiley, 1994. 512p.

STOBO, I.J.F.; ROY, J.H.B.; GASTON, J.H. Rumen development in the calf. **British Journal Nutrition**, London, v. 20, p. 171-188, 1966.

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.

TERRATOL, L.L.C., 2002. Effects of Humic Acid on Animals and Humans. Disponível em; www.terratol.com/sitebuildercontent/sitebuilderfiles/EffectsofHumicAcidonAnimalsandHumans.pdf>. Acesso em: 2 abr. 2008.

TERRÉ, M.; CALVO, M.A.; ADELANTADO, C.; KOCHER, A.; BACH, A. Effects of mannan oligosaccharides on performance and microorganism fecal counts of calves following na enhanced-growth feeding program. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.137, p.115-125, 2007.

USDA. 2008. Dairy 2007. Part II: **Changes in the U.S. Dairy Cattle Industry**. Fort Collins: USDA-APHIS-VS, 2007. (CEAH.)

WISEK, W. J. The mode of growth promotion by antibiotics. **Journal of Animal Science**, Albany, v.46, p.1447-1469, 1978.

WANG, Q.; CHEN, Y.J.; YOO, J.S.; KIM, H.J.; CHO, J.H.; KIM, I.H. Effects of supplemental humic substances on growth performance, blood characteristics and meat quality in finishing pigs. **Livestock Science**, Amsterdam, v.117, p. 270-274, 2008.

WARNER, R.G.; FLATT, W.P.; LOOSLI, J.K. Ruminant nutrition, dietary factors influencing development of ruminant stomach. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 9, p. 788-792, 1956.

WHITE, L.A.; NEWMAN, M.C.; CROMWELL, G.L.; LINDEMANN, M.D. Brewers dried yeast as a source of mannan oligosaccharides for weanling pigs. **Journal of Animal Science**, Albany, v.80, p. 2619-2628, 2002.

YASAR, S.; GOKCIMEN, A.; ALTUNTAS, I.; YODEN, Z.;PETEKKAYA, E. Performance and ileal histomorphology of rats treated with humic acid preparations. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v.86, p.257-264, 2002.

ZANETTI, M.A.; SCHALCH, E.; ROSSINI, A.J.; SARAN NETO, A.; OLIVEIRA M.G.; EMORGONI, D.C. **Comparative effects of Acid-Mos and Oxytetracycline for Holstein calves**. 1999. Tese (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 1999.

3 AVALIAÇÃO DA VIA DE FORNECIMENTO DE MANANOLIGOSSACARÍDEOS NA ALIMENTAÇÃO DE BEZERROS EM ALEITAMENTO: DESEMPENHO E DESENVOLVIMENTO RUMINAL

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar a inclusão de Mananoligossacarídeos (MOS) na dieta de bezerros leiteiros quanto ao desempenho e parâmetros sanguíneos indicativos de desenvolvimento ruminal; assim como a via de fornecimento, dieta líquida ou concentrado inicial. Foram utilizados 24 bezerros da raça Holandês, todos machos inteiros, em delineamento inteiramente casualizado distribuídos nos seguintes tratamentos: 1) controle; 2) mananoligossacarídeo (4 g/d Bio-Mos®, Alltech Biotech.) fornecido via concentrado inicial; 3) mananoligossacarídeo (4 g/d Bio-Mos®, Alltech Biotech.) fornecido via sucedâneo lácteo. Os animais foram alocados em abrigos individuais, com livre acesso a água, e passaram a receber 4L/d da dieta líquida, dividida em 2 refeições até o desaleitamento na sexta semana, e concentrado inicial *ad libitum*. Diariamente, foi realizada avaliação do escore fecal. Semanalmente, foram realizadas pesagens, medidas de crescimento corporal e colheitas de sangue, para a determinação de glicose, N-uréico e β -hidroxibutirato (BHBA) até a oitava semana, quando se encerrou o período experimental. Não foi observada diferença significativa ($P>0,05$) entre os tratamentos ou interação tratamento x idade para os parâmetros de consumo, ganho de peso, crescimento corporal e parâmetros sanguíneos. Entretanto, foi observado efeito de idade para todos os parâmetros avaliados ($P<0,0001$). O escore fecal também não foi afetado pelos tratamentos, no entanto, os animais recebendo MOS via sucedâneo lácteo apresentaram médias numericamente menores nas duas primeiras semanas de vida, demonstrando menor ocorrência de diarreia. Não foram observados efeitos significativos ($P>0,05$) de tratamento ou da interação tratamento x idade nas concentrações plasmáticas de glicose, N-uréico ou BHBA. No entanto, houve efeito de idade nos parâmetros plasmáticos, sendo observadas concentrações crescentes de N-uréico e BHBA, indicando adequado desenvolvimento ruminal. Nas condições de manejo nutricionais e de instalações impostas durante o experimento, não houve efeito benéfico do fornecimento de MOS, seja via dieta líquida ou sólida.

Palavras-chave: Aditivos; Desaleitamento precoce; Escore fecal; Mananoligossacarídeo; Parâmetros sanguíneos

EVALUATION OF MANNANOLIGOSACCHARIDES ROUTE OF ADMINISTRATION IN THE DIET OF DAIRY CALVES: PERFORMANCE AND RUMEN DEVELOPMENT

Abstract

The objective of this study was to evaluate the addition of mannanoligosaccharides (MOS) in the diet of dairy calves on performance and plasma parameters, indicative of rumen development, as well as the route of administration, milk replacer or starter feed. Twenty-four male Holstein calves were utilized in a completely randomized design. Calves were distributed in the following treatments: 1) control; 2) mannanoligosaccharides (4 g/d Bio-Mos®, Alltech Biotech.) via starter feed; 3) mannanoligosaccharides (4 g/d Bio-Mos®, Alltech Biotech.) delivered via milk replacer. The animals were housed in individual hutches, with free access to water, and received 4L / d liquid diet, split into 2 meals, until weaning at six weeks, and starter feed ad libitum. Fecal scores were evaluated daily. Weekly calves were weighted and growth measurements and blood samples for glucose, urea-N and β -hidroxibutyrate (BHBA) were taken until the eighth week of age, when the experimental period ended. There was no significant ($P > 0.05$) effect of treatment or treatment x age interaction for intake, weight gain or body growth. However, there was an age significant effect for all evaluated parameters ($P < 0.0001$). The fecal score was not affected by treatments; however, animals fed MOS via milk replacer presented averages numerically smaller in the first two weeks of life, showing a lower incidence of diarrhea. No significant effects ($P > 0.05$) of treatment or the interaction treatment x age were also observed for plasma concentration of glucose, urea-N or BHBA. However a significant age effect was observed for plasma parameters, with increasing concentrations for urea-N and BHBA, suggesting adequate rumen development. For the facilities and nutritional management imposed during the experiment, there were no benefits of providing MOS via liquid or solid diet.

Keywords: Additives; Early weaning; Fecal score; Mannanoligosaccharides; Plasma parameters

3.1 Introdução

A criação de bezerras é essencial para garantir o equilíbrio dentro do sistema de produção leiteiro. O futuro do rebanho leiteiro depende da qualidade das bezerras que substituirão as vacas na reposição do rebanho (HARTMAN et al., 1974). Assim, tradicionalmente a dieta para bezerras tem sido formulada com aditivos que melhorem os índices de desempenho e, principalmente, a saúde dos animais.

A diarreia é a principal doença que acomete bezerras na fase de aleitamento, sendo responsável por baixos índices de desempenho e aumentos no custo final da bezerra desaleitada. Deste modo, o uso de antibiótico na dieta de bezerras com a finalidade de melhorar a eficiência alimentar e prevenir doenças, principalmente as diarreias, tornou-se uma prática comum na produção animal.

No entanto, o uso excessivo de antibióticos pode levar ao surgimento de bactérias resistentes, tornando este produto ineficaz. De tal modo, a União Européia, preocupada com a saúde pública, banuiu o uso subterapêutico de antibiótico nos sistemas de produção animal (1831/2003 EEC). Desde então, vários aditivos que visam melhorar a eficiência dos sistemas de produção tem sido propostos como alternativas aos antibióticos promotores de crescimento.

Dentro do contexto de alternativas, se encaixam os mananoligossacarídeo (MOS) que são constituídos de carboidratos não fermentáveis para alguns grupos de bactérias e apresentam como componente principal a D-mannose. São obtidos por meio da centrifugação de fragmentos de *Saccharomyces cerevisiae* (HILL et al., 2009), que são posteriormente lavados e desidratados pelo método spray dry (SPRING et al., 2000).

O componente principal dos mananoligossacarídeos apresentam alta afinidade ligante a fímbrias Tipo 1, que são filamentos protéicos presentes na superfície das principais enterobactérias causadoras de diarreia nas primeiras semanas de vida, *Escherichia coli* e *Salmonella*. Assim, ao se adsorver as fímbrias, este aditivo atua bloqueando o sítio de aderência das enterobactérias (HEINRICHS et al., 2003; MIGUEL et al., 2004) e desta forma as bactérias são eliminadas com o bolo fecal (OYOFO et al., 1989).

Mananoligossacarídeos vem sendo utilizados na produção animal, principalmente de aves e suínos, e tem apresentado excelentes resultados quanto a conversão alimentar, consumo inicial de ração e melhoras no escore de fezes (SPRING et al., 2000; CASTILLO et al.,2008). Na criação de bezerros leiteiros, a inclusão de MOS na dieta tem apresentado resultados contraditórios. Dildey et al. (1997), Sandi e Mühlbach (2001) observaram bons resultados quanto ao desempenho, consumo de concentrado inicial, escore fecal e redução na taxa de mortalidade. No entanto, Hill et al. (2009) em estudo recente, concluíram que bezerros da raça Holandês não respondem a inclusão de MOS na dieta líquida quanto ao crescimento, ingestão de concentrado inicial, desenvolvimento do rúmen e parâmetros de saúde.

Por outro lado, Newman, Jacques e Buede (1993) fundamentados em diferenças numéricas, sugerem que embora a adição de MOS na dieta líquida aumente o ganho de peso diário de bezerros, o aditivo não afeta a contagem de coliformes fecais. Entretanto, MOS foi tão eficiente quanto antibióticos quando comparado a animais que não receberam aditivos preventivos no controle de diarréias (HEINRICHS et al., 2003).

Assim, mesmo que a inclusão de mananoligossacarídeos na dieta, em sua maioria, tenha apresentado bons resultados, os efeitos sobre a influência no desempenho de bezerros ainda não estão bem caracterizados. Do mesmo modo, a via de fornecimento de MOS, apresentada na literatura, baseia-se apenas na dieta líquida, porém, outra provável via de fornecimento é o concentrado inicial. Deste modo, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos de mananoligossacarídeos (Bio-Mos[®]) quanto ao desempenho e parâmetros sanguíneos indicativos de desenvolvimento ruminal, e a via de fornecimento, dieta líquida ou concentrado inicial, para bezerros em sistema de desaleitamento precoce.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Animais, instalações e manejo alimentar

O experimento foi desenvolvido no bezerreiro experimental do Depto. de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - USP/ESALQ,

Piracicaba, SP. Foram utilizados 24 bezerros provenientes de fazendas comerciais da região, da raça Holandês, todos machos inteiros, com idade entre 1 e 4 dias. Após o nascimento, os animais foram separados da mãe, e receberam colostro de acordo com o manejo da fazenda de origem.

Os bezerros foram alojados em abrigos individuais, sendo contidos por corrente e coleira, e passaram a receber 4L de dieta líquida (Nattimilk[®], Auster Nutrição Animal, 22,5% PB, 18,5% EE) por dia, divididos em duas refeições (07 e 16h), e tiveram livre acesso à água e ao concentrado inicial. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, e os animais foram distribuídos nos seguintes tratamentos: 1) controle (C); 2) mananoligossacarídeo (4 g/d Bio-Mos[®], Alltech Biotech.) fornecido via concentrado inicial (MOSC); 3) mananoligossacarídeo (4 g/d Bio-Mos[®], Alltech Biotech.) fornecido via sucedâneo lácteo (MOSS).

O concentrado comercial peletizado, formulado para atender as exigências destes animais, foi fornecido uma vez ao dia (à tarde), *ad libitum*, até que o animal atingisse o consumo de 2 kg/ dia, pesando-se a sobra do dia anterior para obter o consumo diário de concentrado.

O desaleitamento dos animais foi realizado de forma abrupta quando os animais completaram seis semanas de vida. Após o desaleitamento, os bezerros passaram a receber feno de capim coast-cross *ad libitum*.

3.2.2 Análise Bromatológica

Amostras de concentrado, sucedâneo e feno foram colhidas durante o período experimental e moídas em moinho de facas com peneira com crivos de 1 mm para a determinação de matéria seca (MS) e extrato etéreo de acordo com Campos et al. (2002); proteína bruta (PB) através de combustão, conforme método de Dumas, utilizando-se o analisador de nitrogênio modelo FP-528 (Leco Corporation, St. Joseph, MI, EUA) e fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) pelo método descrito por Van Soest, Robertson e Lewis (1991). Os valores de nutrientes digestíveis totais (NDT) foram calculados de acordo com as equações propostas por Kearl (1982) para cada tipo de alimento. A composição bromatológica do concentrado inicial, sucedâneo lácteo,

feno e também do Bio-Mos[®] utilizados durante o experimento estão apresentadas na Tabela 3.1.

Tabela 3.1- Composição bromatológica do concentrado inicial, sucedâneo lácteo, mananoligossacarídeos e feno de capim-coast-cross

	Concentrado	Sucedâneo	Bio-Mos [®]	Feno
Matéria Seca, %	89,99	94,29	93,81	90,11
Proteína Bruta, %MS	23,25	22,55	38,78	14,16
Extrato Etéreo, %MS	7,23	19,48	0,08	1,33
Fibra Bruta, %MS	9,69	0,54	0,56	29,90
Fibra em detergente neutro, %MS	21,62	0,33	..	66,73
Nutrientes Digestíveis Totais, %MS	78,91	85,05	80,82	52,85
Energia bruta, Mcal/kg	3932,2	4579,1	3771,8	3658,2

3.2.3 Avaliação do desempenho e desenvolvimento corporal

Os animais foram pesados ao nascer e semanalmente, em balança mecânica, sempre antes do fornecimento da dieta do período da manhã, até a 8^a semana de vida quando se encerrou o período experimental. Foram também tomadas semanalmente medidas de altura na cernelha e largura na garupa com o auxílio régua graduada em centímetros; e perímetro torácico com o auxílio de fita flexível, também graduada em centímetros.

3.2.4 Monitoramento do escore fecal

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

3.2.5 Colheita de sangue e metodologia analítica

3.2.5.1 Colheita de sangue

Amostras de sangue foram colhidas semanalmente a partir da segunda semana de vida, sempre duas horas após o fornecimento da dieta da manhã, através de punção da jugular; utilizando-se tubos vacuolizados contendo fluoreto de sódio como antiglicolítico e EDTA de potássio como anticoagulante. As amostras foram centrifugadas a 2000 x *g*, durante 20 minutos, a temperatura de 4^o C para a obtenção do plasma. O plasma foi armazenado em microtubos plásticos mantidos em freezer para posterior determinação de glicose plasmática, β -hidroxibutirato (BHBA) e N-uréico.

3.2.5.2 Determinação de glicose plasmática

As concentrações plasmáticas de glicose foram determinadas através de leitura direta em autoanalisador bioquímico YSI 2700 (Biochemistry Analyser, Yellow Spring, OH, EUA), no Laboratório de Bromatologia, do Departamento de Zootecnia da USP/ESALQ. O equipamento realiza a leitura direta em membrana com enzima glicose oxidase imobilizada, utilizando solução de dextrose com concentração de 2 g/L como calibrador interno.

3.2.5.3 Determinação de β -hidroxibutirato (BHBA)

As concentrações plasmáticas de BHBA foram analisadas utilizando-se ensaios bioquímicos através do teste Ranbut (Randox Laboratories Ltda), no laboratório de Bioquímica e Fisiologia Animal, do Departamento de Nutrição e Produção Animal da USP/FMVZ. O ensaio bioquímico foi realizado em espectrofotômetro com comprimento de onda de 340nm.

3.2.5.4 Determinação de N-uréico

A determinação de N-uréico foi realizada utilizando-se o método descrito por Chaney e Marbach (1962), adaptado para leitura em Leitor de Microplaca (BIO-RAD, Hercules, CA, EUA) utilizando-se filtro de absorvância de 550 nm, no Laboratório de Bromatologia, do Departamento de Zootecnia da USP/ESALQ. Foram utilizadas enzima urease (U-1500, Sigma) e soluções padrões com concentrações de 0; 3,75; 7,5; 15; e 30 mg/dL de N-uréico. Somente foram aceitos resultados provenientes de placas com $r^2 = 0,99$ e coeficiente de variação de 5% entre duplicatas.

3.2.6 Análise estatística

Os dados de consumo de alimento, peso vivo, ganho de peso, medidas de crescimento corporal e parâmetros sanguíneos foram analisados como medidas repetidas no tempo através do PROC MIXED do pacote SAS (1991), conforme o modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + I_j + TI_{ij} + E_{ij}$$

onde,

Y_{ij} = variável resposta

μ = media geral

T_i = efeito de tratamento

I_j = efeito de idade

TI_{ij} = efeito da interação tratamento idade

E_{ij} = resíduo

As médias foram comparadas pelo teste dos quadrados mínimos (LSMEANS), com nível de significância de 5%.

3.3 Resultados e discussões

Os dados de consumo de concentrado inicial, ganho de peso diário e peso vivo estão apresentados na Tabela 3.2. O consumo de concentrado inicial não foi afetado pelos tratamentos ($P>0,05$). Do mesmo modo, não houve diferença significativa para a interação Tratamento x Idade. Entretanto, houve efeito significativo da idade dos animais ($P<0,0001$), sendo observados aumentos no consumo de concentrado inicial com o avanço da idade.

Tabela 3.2- Média dos quadrados mínimos do consumo de concentrado, peso vivo e ganho de peso de bezerros recebendo dieta com mananoligossacarídeo via concentrado inicial ou sucedâneo lácteo

Parâmetro	Tratamento ⁽¹⁾			EPM ⁽²⁾	P< ⁽³⁾		
	Controle	MOSC	MOSS		T	I	T x I
Consumo concentrado, g/d							
ao desaleitamento	835,97	961,98	856,57	92,96
média do período total	737,41	842,61	798,64	45,12	0,34	<0,0001	0,94
Peso Vivo, kg							
inicial	39,51	40,68	40,89	1,74
final	60,35	62,58	62,07	1,71
média do período total	46,43	49,33	49,41	0,92	0,21	<0,0001	0,91
Ganho de peso, g/d							
média do período total	352,2	411,3	409,6	42,82	0,67	<0,0001	0,22

⁽¹⁾MOSC: mananoligossacarídeo via concentrado inicial; MOSS: mananoligossacarídeo via sucedâneo lácteo

⁽²⁾EPM: erro padrão da média

⁽³⁾T: efeito de Tratamento; I: efeito de Idade; TxI: efeito da interação Tratamento x Idade

A ausência de efeito significativo para a adição de MOS na dieta de bezerros na fase de aleitamento também foi observada em outros estudos (SANDI; MÜLBACH, 2001; DILDEY et al, 1997; HILL et al., 2009). Entretanto, nestes estudos foram observados valores numericamente maiores de consumo de concentrado inicial para os animais suplementado com MOS, assim como no presente trabalho. Heinrichs et al.

(2003), observaram efeito significativo ($P < 0,05$) na sexta semana de idade, com maior consumo de concentrado inicial para o grupo de animais que recebeu o aditivo, quando comparado a dieta controle.

Na literatura, os estudos sobre o fornecimento de mananoligossacarídeos na fase de aleitamento apontam apenas a inclusão deste aditivo na dieta líquida. Entretanto, no presente estudo foi observado que o fornecimento de MOS via concentrado inicial apresentou resultados semelhantes ao da via de fornecimento pela dieta líquida, indicando a viabilidade desta via de fornecimento. Embora sem diferença significativa, a média do período total de consumo de concentrado inicial para o grupo do tratamento MOS via concentrado inicial foi maior que os demais tratamentos, principalmente comparado ao grupo controle (Figura 3.1). Após o desaleitamento, a semelhança observada pode ser explicada pelo fornecimento limitado de concentrado inicial (2 kg/d) e pelo aumento na exigência dos animais.

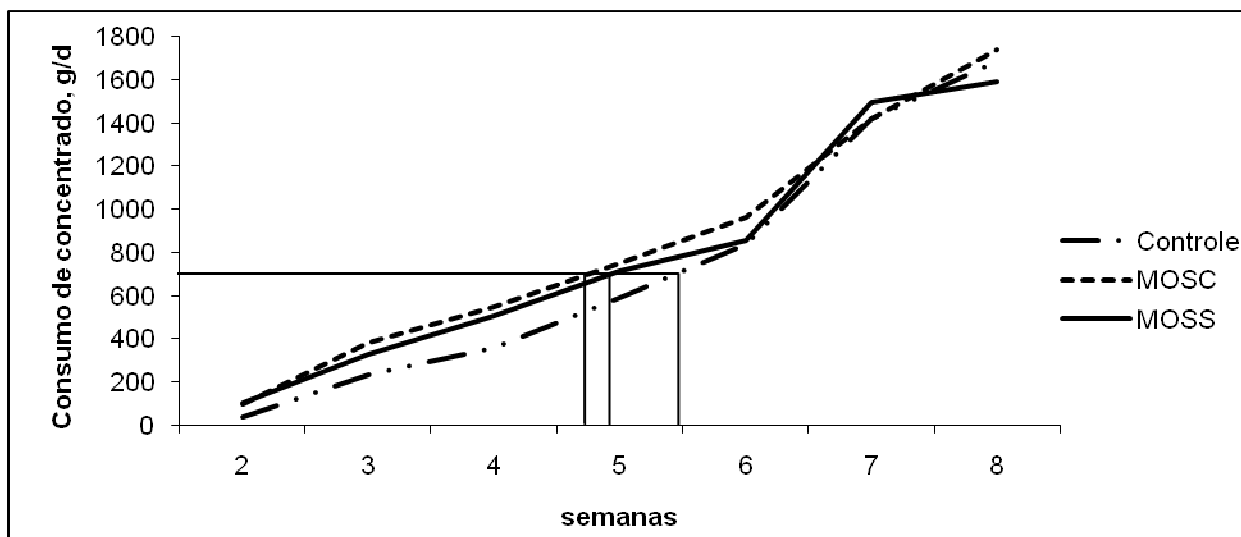


Figura 3.1 - Consumo de concentrado inicial (g/d) de bezerros recebendo dieta controle, MOSC (mananoligossacarídeo via concentrado inicial) ou MOSS (mananoligossacarídeos via sucedâneo lácteo)

O consumo médio de concentrado inicial ao desaleitamento foi maior que o recomendado em sistemas de desaleitamento que adotam o consumo mínimo. Neste sistema, recomenda-se realizar o desaleitamento dos animais quando o consumo atingir 680 a 700 g/d, por 3 dias consecutivos, de forma a permitir bom desempenho animal (QUIGLEY, 1996). Assim, de acordo com este sistema, o desaleitamento

poderia ter sido realizado na quinta semana de idade (Figura 3.1), sem comprometer o desenvolvimento dos animais, e diminuir o custo final do bezerro desaleitado, uma vez que durante a fase de aleitamento o leite representa 70% dos custos com alimentação e manejo dos animais. Foi observado também que os animais dos tratamentos com a inclusão de MOS, independente da via de fornecimento, apresentaram o consumo de concentrado inicial, adequado ao desaleitamento, em idade mais jovem que o grupo de animais do tratamento controle.

Para os parâmetros peso vivo (kg) e ganho de peso diário (g/dia) também não houve diferença significativa entre os tratamentos ou para a interação Tratamento x Idade. No entanto, houve efeito significativo ($P < 0,05$) da Idade (semanas). Os resultados apresentados na literatura são controversos, Heinrichs et al. (2003) e Terré et al. (2007) não observaram diferença significativa entre os tratamentos para estes dois parâmetros, enquanto Sandi e Mülbach (2001) observaram diferenças. Dildey et al. (1997) observaram maior peso vivo final (8 semanas) para os animais suplementados com MOS, e diferença significativa entre os tratamentos para o ganho de peso nos animais recebendo MOS via sucedâneo lácteo.

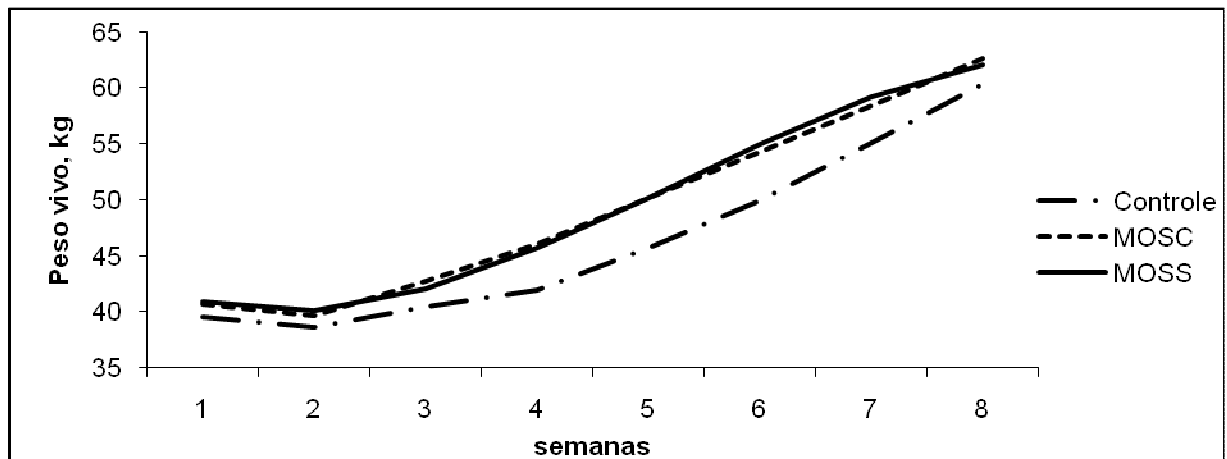


Figura 3.2- Peso vivo (kg) de bezerros recebendo dieta controle, MOSC (mananoligossacarídeo via concentrado inicial) ou MOSS (mananoligossacarídeo via sucedâneo lácteo)

Os valores de peso final observados no estudo de Dildey et al. (1997) são similares aos valores de peso final observados entre os tratamentos controle e MOS via sucedâneo lácteo, entretanto, com maior ganho de peso que no presente trabalho.

Dados sobre o desempenho de bezerros leiteiros recebendo mananoligossacarídeos via concentrado inicial não foram encontrados na literatura. Contudo, em estudos com suínos, a suplementação com MOS resulta em maior ganho de peso diário (ROZEBOOM et al., 2005; DAVIS et al., 2002).

De maneira geral, as taxas de ganho de peso observadas neste estudo estão de acordo com dados da literatura para animais em aleitamento (HOFFMAN, 1997; HEINRICHS; LOSINGER, 1998; KERTZ; CHESTER-JONES, 2004), sendo resultado de adequado consumo de concentrado e aleitamento com sucedâneo de alta qualidade. O peso vivo dos bezerros, independente do tratamento, apresentou-se sempre crescente com o avanço da idade (Figura 3.2). Entretanto, entre a primeira e a segunda semana de idade pode ser observado um leve declínio nos valores de peso vivo em todos os tratamentos. Esta perda de peso ocorreu no período que os animais apresentaram maior frequência de diarreia, fato comum na maior parte dos sistemas de produção.

As médias de altura na cernelha, perímetro torácico e largura da garupa estão apresentadas na Tabela 3.3. Não foram observadas diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os tratamentos e para a interação Tratamento x Idade para os parâmetros avaliados. Embora a média do período total para o perímetro torácico não tenha apresentado diferença entre os tratamentos, foi observada tendência ($P = 0,09$) dos animais do tratamento controle em apresentar menor valor para este parâmetro. Conforme demonstrado por Heinrichs, Rogers e Cooper (1992), o perímetro torácico tem alta relação com o peso vivo dos animais. O menor valor de perímetro torácico acompanha o menor valor numérico de peso vivo médio dos animais do grupo controle. No entanto, como esperado para animais em crescimento, foi observado efeito significativo de Idade ($P < 0,05$), com aumentos nas medidas corporais ao longo das semanas (Figura 3.3).

Tabela 3.3- Média dos quadrados mínimos de medidas corporais de crescimento de bezerros recebendo dieta com mananoligossacarídeos via concentrado inicial ou sucedâneo lácteo

Parâmetro	Tratamento ⁽¹⁾			EPM ⁽²⁾	P< ⁽³⁾		
	Controle	MOSC	MOSS		T	I	TxI
Altura na cernelha, cm							
média do período total	78,74	79,23	79,24	0,25	0,32	<0,0001	0,59
ganho, cm/semana	0,75	1,04	1,13	0,19	0,37	0,27	0,12
Perímetro torácico, cm							
média do período total	82,62	83,55	83,76	0,37	0,09	<0,0001	1,00
ganho, cm/semana	1,63	1,74	1,75	0,23	0,92	<0,0001	0,42
Largura da garupa, cm							
média do período total	22,63	22,00	22,30	0,57	0,74	<0,0001	0,61
ganho, cm/semana	0,43	0,40	0,36	0,11	0,92	0,30	0,93

⁽¹⁾MOSC: mananoligossacarídeo via concentrado inicial; MOSS: mananoligossacarídeo via sucedâneo lácteo

⁽²⁾EPM: erro padrão da média

⁽³⁾T: efeito de Tratamento; I: efeito de Idade; TxI: efeito da interação Tratamento x Idade

Os dados de ganho/semana de altura na cernelha do presente estudo estão abaixo da média recomendada por Hoffman (1997), que indica valores médios entre 1,2-1,4 cm/semana para animais da raça Holandês. Heinrichs et al. (2003) apresentaram valores de ganho/semana de altura na cernelha superiores aos observados no presente trabalho, para bezerros com idade semelhante e suplementados com MOS. Do mesmo modo, Lesmeister et al. (2004) observaram maior ganho/semana em bezerros suplementados com diferentes aditivos, entretanto, valores menores para o perímetro torácico e largura da garupa. No entanto, Hill et al. (2009) encontraram valores semelhantes aos observado no presente estudo para altura na cernelha testando MOS no sucedâneo lácteo. Diferenças observadas entre experimentos podem ser resultado da variação do tipo ou seleção animal, de forma que, mesmo sendo de uma mesma raça, existam diferenças quanto ao peso adulto e, portanto, quanto aos ganhos de crescimento esquelético.

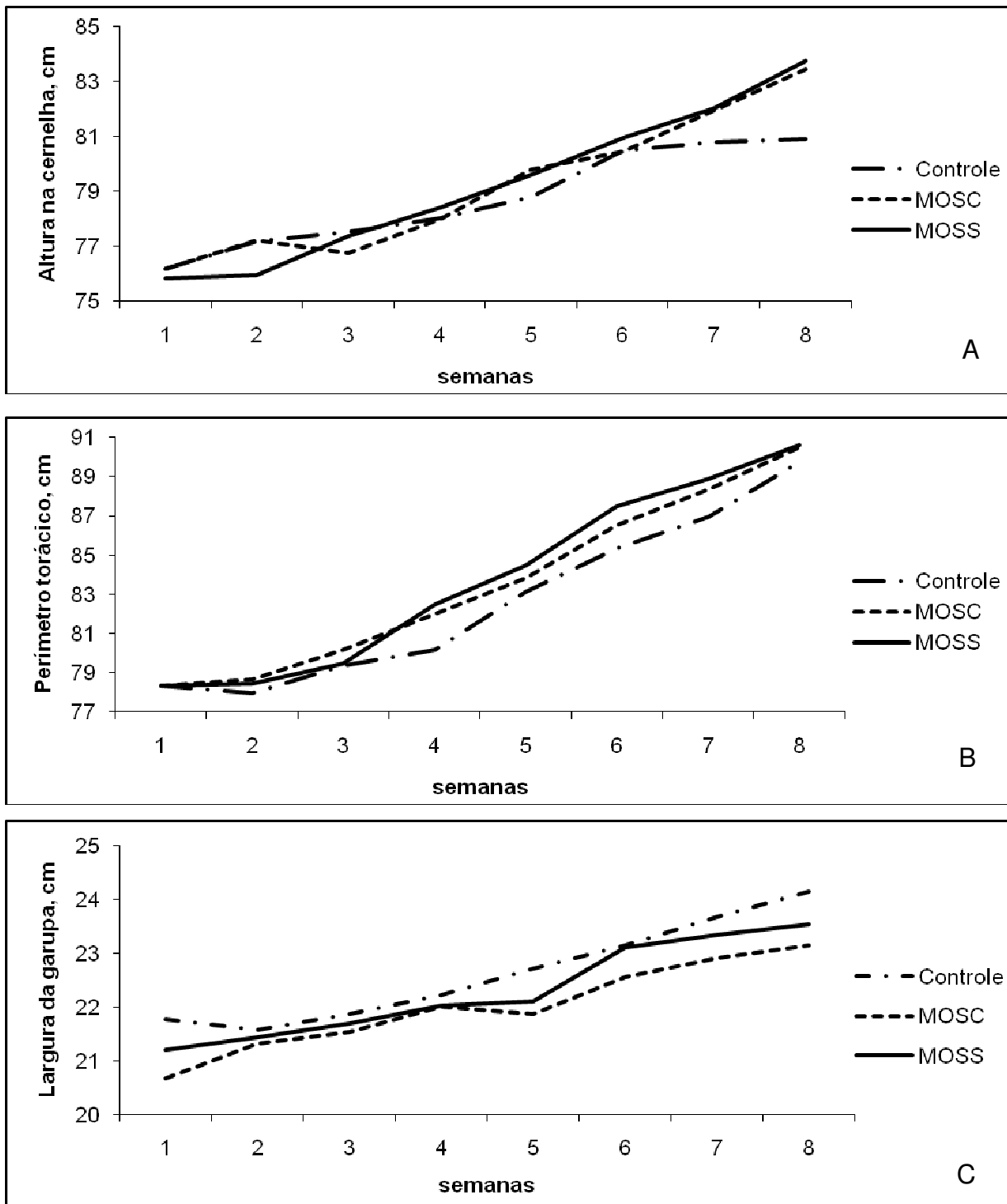


Figura 3.3 - Altura na cernelha (A), perímetro torácico (B) e largura na garupa (C) de bezerros recebendo dieta controle, mananoligossacarídeo via concentrado inicial ou mananoligossacarídeo via sucedâneo lácteo

Na Figura 3.3 são mostrados os aumentos constantes dos valores de altura na cernelha, perímetro torácico e largura da garupa, observados no período experimental. Após o desaleitamento, a taxa de crescimento do grupo controle para o parâmetro altura na cernelha diminuiu, apresentando nas semanas seguintes valores semelhantes ao desaleitamento (Figura 3.3-A). Por outro lado, os animais suplementados com MOS apresentaram o ritmo de crescimento semelhante ao do período de aleitamento. Foi observada também uma diminuição neste parâmetro nas duas primeiras semanas que estão associadas à fase mais crítica para animais em aleitamento, período em que os animais apresentam diarreia e, conseqüentemente, perdem peso.

A distribuição dos dados de escore fecal está apresentada na Figura 3.4. A literatura considera o animal com diarreia quando seu escore fecal está acima de 2 (LARSON et al., 1977). Conforme a Figura 3.4, a maior parte dos dados de escore fecal observadas durante todo período experimental, aproximadamente 80%, esteve abaixo de 2, comprovando o bom manejo sanitário durante o período experimental.

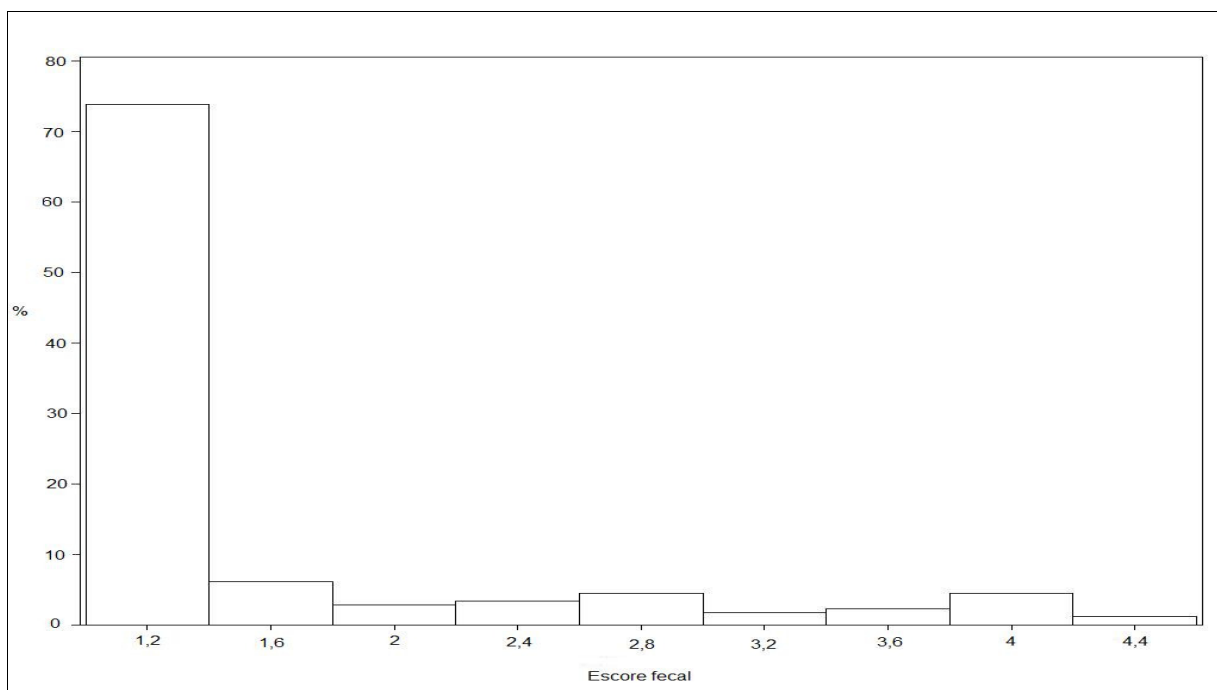


Figura 3.4 - Distribuição dos valores de escore fecal, independente do tratamento, para bezerros até 6 semanas de idade

Os dados de escore fecal por tratamento e ao longo das semanas estão apresentados na Tabela 3.4. Foi observada diferença significativa ($P < 0,05$) entre os tratamentos apenas na 1ª semana com valores superiores para animais do tratamento controle, seguido de MOS via concentrado inicial e MOS via sucedâneo lácteo. No entanto, este tipo de análise de dados não-paramétricos não permite identificar diferenças entre três tratamentos. Dilley et al. (1997) também observaram diferença entre tratamentos, embora não significativa, para bezerros suplementados com MOS. Do mesmo modo, Heinrichs et al. (2003) observaram maior probabilidade de presença de fezes normais em bezerros suplementados com MOS ou antibiótico, que em bezerros sem estes aditivos. Entretanto, vários estudos sobre o efeito de mananoligossacarídeos em bezerros, não observaram melhoras no escore fecal para os animais suplementados com MOS (NEWMAN; JACQUES; BUEDE, 1993; TERRÉ et al., 2007; DONOVAN et al., 2003). Não foram encontrados na literatura resultados sobre o escore fecal de bezerros recebendo MOS via concentrado inicial.

Tabela 3.4 - Escore fecal de bezerros recebendo dieta com mananoligossacarídeo via concentrado inicial ou sucedâneo lácteo

Semanas	Tratamentos ⁽¹⁾			Pr > F ⁽²⁾
	Controle	MOSC	MOSS	
1	1,97	1,41	1,02	0,04
2	3,40	3,34	2,91	0,62
3	1,55	1,76	1,73	0,84
4	1,36	1,23	1,01	0,36
5	1,24	1,19	1,07	0,47
6	1,00	1,00	1,00	1,00
7	1,04	1,00	1,00	0,33
8	1,16	1,00	1,02	0,37

⁽¹⁾MOSC: mananoligossacarídeo via concentrado inicial; MOSS: mananoligossacarídeo via sucedâneo lácteo

⁽²⁾P: médias diferem para $P < 0,05$

No presente estudo, foi observado escore que indica diarreia apenas na segunda semana de vida em todos os tratamentos. Segundo Lucci (1989) é esperado a ocorrência de diarreia nas primeiras semanas de vida do bezerro, principalmente as diarreias causadas por bactérias como *Escherichia coli* e *Salmonella*. Entretanto, também foi observado que os animais do tratamento MOS via sucedâneo apresentaram menor escore fecal nesta semana, muito embora esse efeito não tenha sido significativamente diferente. Segundo Spring et al. (2000), as enterobactérias são adsorvidas a mananoligossacarídeos no trato digestório, evitando assim a colonização do intestino, e conseqüentemente diminuindo os casos de diarreia. Assim, a diferença entre os escores de fezes observada no presente estudo, embora apenas numérica, pode estar associada ao tratamento.

A quantidade fornecida do aditivo foi a mesma para ambos os tratamentos com adição de MOS. No entanto, os bezerros do tratamento MOS via sucedâneo lácteo receberam os 4 g/dia de Bio-Mos[®] desde o primeiro fornecimento da dieta líquida, enquanto os animais do tratamento MOS via concentrado, tinham a ingestão do aditivo dependente do consumo de concentrado inicial que na primeira semana, conforme esperado, é baixo.

Além disso, foi observado que após o desaleitamento os animais permaneceram com o escore próximo de 1, sendo um indicativo de saúde nos animais. Segundo Radostits (1975), a diarreia é o principal sinal clínico de uma disfunção do trato digestório.

Os valores médios das concentrações de glicose, N-uréico e β -hidroxibutirato estão apresentados na Tabela 3.5. A inclusão de mananoligossacarídeos na dieta não afetou de forma significativa ($P > 0,05$) as concentrações plasmáticas de glicose nos bezerros até a oitava semana de vida. Do mesmo modo, não foi observado efeito significativo ($P > 0,05$) para a interação Tratamento x Idade. No entanto, foi observado efeito significativo ($P < 0,0001$) para a idade.

Tabela 3.5- Média dos quadrados mínimos das concentrações plasmáticas de glicose, N-uréico (NUP) e β -hidroxibutirato (BHBA) de bezerro recebendo dieta com mananoligossacarídeo via concentrado inicial ou sucedâneo lácteo

Parâmetro	Tratamento ⁽¹⁾			EPM ⁽²⁾	P< ⁽³⁾		
	Controle	MOSC	MOSS		T	I	TxI
Glicose, mg/dL	81,46	82,69	86,67	2,45	0,30	<0,0001	0,14
NUP, mg/dL	13,74	14,59	14,00	0,639	0,51	0,007	0,64
BHBA mmol/L	0,203	0,177	0,163	0,16	0,18	0,0001	0,25

⁽¹⁾MOSC: mananoligossacarídeo via concentrado inicial; MOSS: mananoligossacarídeo via sucedâneo lácteo

⁽²⁾EPM: erro padrão da média

⁽³⁾T: efeito de Tratamento; I: efeito de Idade; TxI: efeito da interação Tratamento x Idade

Não foram encontrados na literatura dados sobre concentração plasmática de glicose em bezerros recebendo dieta com a adição de mananoligossacarídeo. Estudos com outros aditivos apresentaram dados para este parâmetro semelhante ao observado no presente estudo (QUIGLEY et al., 1994). No entanto, outros autores apresentaram valores de concentração plasmática de glicose inferior e decrescente ao longo das semanas (NUSSIO et al., 2003; KLOTZ; HEITMANN et al., 2006). Contudo, as médias apresentadas na Figura 3.5-A estão dentro do recomendado na literatura que indica concentrações plasmáticas entre 90 a 100 mg/dL até a sexta semana de vida, em bezerros na fase de aleitamento (HUBER, 1969).

Nas primeiras semanas, foram observadas concentrações plasmáticas de glicose crescente até a quinta semana e decrescente após esta semana (Figura 3.5-A). Quigley e Bernard (1992) observaram concentrações plasmáticas de glicose semelhante ao presente estudo em bezerros recebendo outro aditivo. Segundo Huber (1969), são esperados aumentos na concentração de glicose nas primeiras semanas de vida pela ingestão de dieta contendo lactose e declínio rápido após a 4^a semana em decorrência da diminuição da secreção de lactase no intestino. Este declínio na concentração de glicose plasmática durante a fase de aleitamento também pode ser um indicativo de transição do animal de pré-ruminante para ruminante funcional (ATTEBERY et al.; 1963).

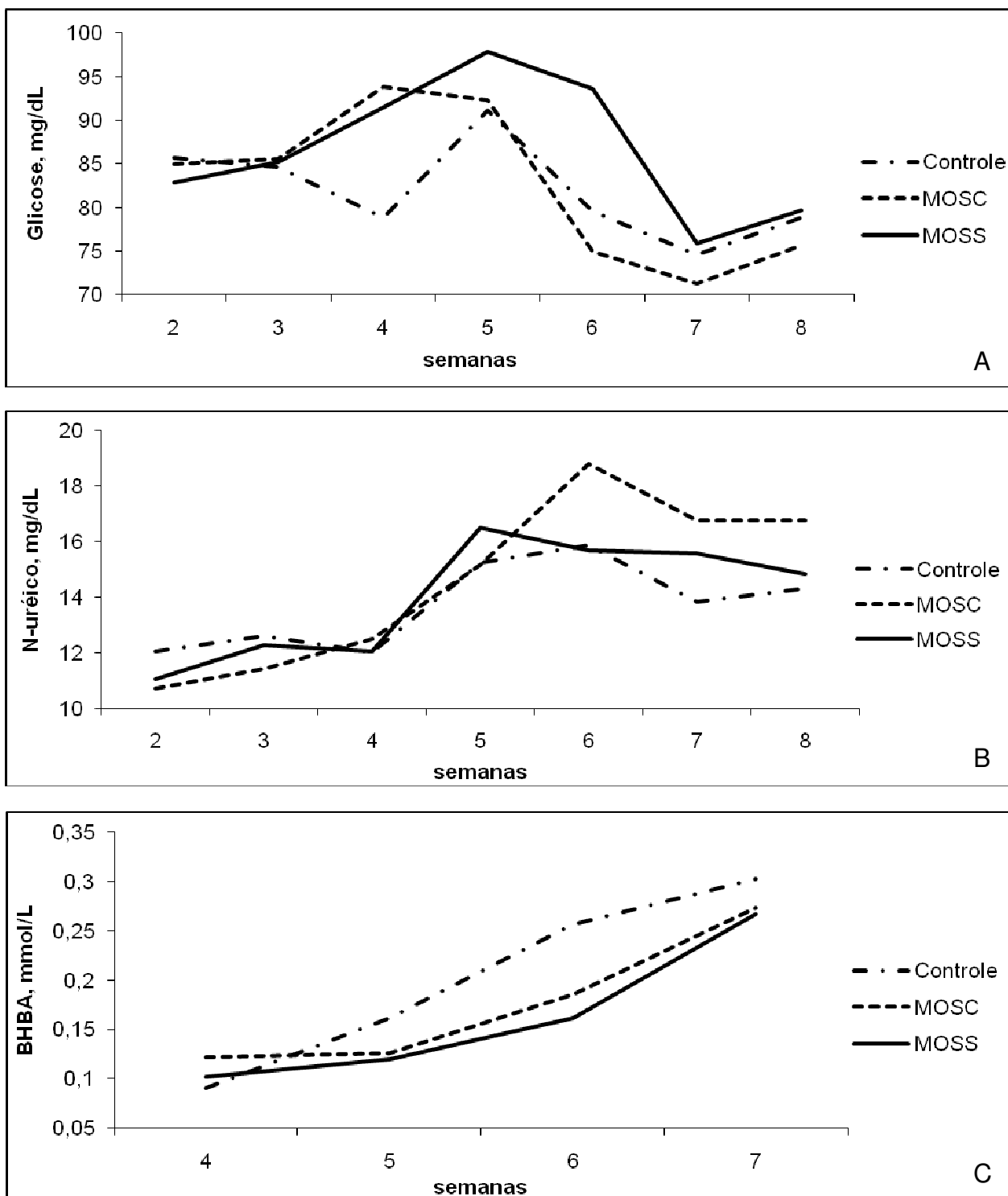


Figura 3.5- Concentrações plasmáticas de glicose (A), N-uréico (B) e BHBA (C) de bezerras recebendo dieta Controle, mananoligossacarídeo via concentrado inicial (MOSC) ou mananoligossacarídeo via sucedâneo lácteo (MOSS)

As concentrações plasmáticas de N-uréico não diferiram em relação ao tratamento ($P>0,05$), antes ou após o desaleitamento. A interação Tratamento x Idade também não apresentou diferença significativa ($P>0,05$). No entanto, houve efeito significativo ($P<0,05$) para a idade, com concentrações crescentes ao longo do período experimental (Figura 3.5-B). Heinrichs et al. (2003) observaram valores de concentração plasmática de N-uréico menores aos observados no presente estudo em bezerros suplementados com MOS durante a fase de aleitamento. Do mesmo modo, estudos com diferentes aditivos apresentaram valores inferiores de N-uréico (NUSSIO et al, 2003; QUIGLEY; BERNARD, 1992).

Em vários estudos foram observados valores crescentes de N-uréico ao longo das semanas (QUIGLEY; BERNARD, 1992; QUIGLEY et al., 1994). As concentrações plasmáticas de N-uréico possuem alta relação com o consumo de concentrado e início da fermentação no rúmen, indicando extensiva degradação ruminal de proteína e carboidratos da dieta (QUIGLEY; BERNARD, 1992). Assim, o aumento na concentração de N-uréico observado ao longo das semanas é indicativo de desenvolvimento ruminal (Figura 3.5-B).

A análise de concentração plasmática de BHBA foi realizada somente a partir da 4ª semana de idade uma vez que é por volta desta época em que os valores começam a ser alterados em resposta ao desenvolvimento do rúmen devido ao consumo de concentrado. Segundo Quigley et al. (1991) as concentrações de BHBA apresentam alta relação com a ingestão de concentrado inicial. As concentrações plasmáticas de BHBA não tiveram efeito de tratamento ($P>0,05$), antes ou após o desaleitamento. No entanto, foi observado aumentos nas concentrações plasmáticas com a idade ($P<0,0001$) do bezerro, independente do tratamento (Figura 3.5-C). As médias do período experimental apresentadas estão acima da média observada em outros estudos com animais em idade semelhante (COVERDALE et al., 2004; GREENWOOD et al., 1997). Magalhães et al. (2008) observaram elevações na concentração circulante de BHBA em bezerros ao longo das semanas recebendo cultura de levedura. Do mesmo modo, outros estudos apresentaram valores de concentração de BHBA crescente na fase de aleitamento em animais recebendo diferentes dietas (QUIGLEY; BERNARD, 1992; GREENWOOD et al., 1997; COVERDALE et al., 2004). Entretanto,

não foram encontrados dados sobre bezerros leiteiros recebendo mananoligossacarídeo.

3.4 Conclusões

Nas condições de manejo nutricional e de instalações impostas durante o experimento, não houve efeito benéfico do fornecimento de mananoligossacarídeos, seja via dieta líquida ou sólida.

Maior número de estudos deve ser realizado para avaliar possíveis benefícios da inclusão de mananoligossacarídeos no concentrado inicial de bezerros leiteiros, tendo em vista a ainda incipiente adoção de sucedâneos nos sistemas de produção nacionais.

Referências

ATTEBERY, J.T.; COLVIN JR., H.W. effect of diet on fasting blood glucose levels in dairy calves 1 to 13 weeks old. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v.18, p.1221-1225, 1963.

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

CASTILLO, M.; MARTIN-ORÚE, S.M.; TAYLOR-PICKARD, J.A.; PÉREZ, J.F.; GASA, J. Use of mannanoligosaccharides and zinc chelate as growth promoters and diarrhea preventative in weaning pigs: Effects on microbiota and gut function. **Journal of Animal Science**, Albany, v.86, p.94-101, 2008.

CHANEY A.L.; MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, Washington, v.8, p.130-132, 1962.

COVERDALE, J.A.; TYLER, H.D.; QUIGLEY III, J.D.; BRUMM, J.D. Effect of various levels of forage and form of diet on rumen development and growth in calves. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 87, p.2554-2562, 2004.

DAVIS, M.E.; MAXWELL, C.V.; BROWN, D.C.; RODAS, B.Z.; JOHNSON, Z.B.; KEGLEY, E.B.; HELLWIG, D.H.; DVORAK, R.A. Effect of dietary mannan oligosaccharides and (or) pharmacological additions of copper sulfate on growth performance and immunocompetence of weanling and growing/finishing pigs. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 80, p. 2887-2894, 2002.

DILDEY, D.; SELLARS, K.; BURRILL, M.; TREI, J.; NEWMAN, K.; JACQUES, K. Effect of mannanoligosaccharide supplementation on performance and health of Holstein calves. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.80, p.188, 1997.

DONOVAN, D.C.; FRANKLIN, S.T.; CHASE, C.C.L.; HIPPEN, A.R. Growth and health of Holstein calves fed milk replacers supplemented with antibiotics or enteroguard. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.85, p. 947-950, 2002.

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.

HARTMAN, D.A.; EVERETT, R.W.; SLACK, S.T.; WARNER, R.G. Calf mortality. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 57, p. 576-578, 1974.

HEINRICHS, A.J.; LOSINGER, W.C. Growth of Holstein dairy heifers in the United States. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 76, p. 1254-1260, 1998.

HEINRICHS, A.J.; JONES, C.M.; HEINRICHS, B.S. Effects of mannan oligosaccharide or antibiotics in neonatal diets on health and growth of dairy calves. **Journal Dairy Science**, Lancaster, v. 86, p. 4064–4069, 2003.

HEINRICHS, A.J.; ROGERS, W.O.; COOPER, J.B. Predicting body weight and wither height in Holstein heifers using body measurements. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 75, p. 3576-3581, 1992.

HILL, S.R.; HOPKINS, B.A.; DAVIDSON, S.; BOLT, S. M.; DIAZ, D.E.; BROWNIE, C.; BROWN, T.; HUNTINGTON, G.B.; WHITLOW, L.W. The addition of cottonseed hulls to the starter and supplementation of live yeast or mannanoligosaccharide in the milk for young calves. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.92, p.790-798, 2009.

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

HUBER, J.T. Development of the digestive and metabolic apparatus of the calf. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.52, p. 1303-1315, 1969.

KEARL, L.C. **Nutrient requirement of ruminants in developing countries**. Logan: International Feedstuffs Institute, Utah State University, 1982. 271p.

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.

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**, Lancaster, v.89, p.3587-3598, 2006.

- 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**, Lancaster, v. 60, n.6, p. 989-991, 1977.
- LESMEISTER, K.E.; TOZER, P.R.; HEINRICH, A. J. Development and analysis of a rumen tissue sampling procedure. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.87, p.1336-1344, 2004.
- LUCCI, C.S. **Bovinos leiteiros jovens: nutrição, manejo e doenças**. São Paulo: Nobel/EDUSP, 1989. 371p.
- MAGALHÃES, V.J.A.; SUSCA, F.; LIMA, F.S.; BRANCO, A.F.; YOON, I.; SANTOS, J.E.P. Effect of feeding yeast culture on performance, health, and immunocompetence of dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.91, p.1497-1509, 2008.
- MIGUEL, J.C.; RODRIGUEZ-ZAS, S.L.; PETTIGREW, J.E. Efficacy of a mannan oligosaccharide (Bio-Mos®) for improving nursery pig performance. **Journal of Swine Health and Production**, Guelph, v. 12, p.296-307, 2004.
- NEWMAN, K.E.; JACQUES, K.; BUEDE, R. P. Effect of Mannan Oligosaccharide supplementation of milk replacer on grain, performance and fecal bacteria of Holstein calves. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 71, p.271, 1993.
- NUSSIO, C.M.B.; SANTOS, F.A.P.; ZOPOLLATTO, M.; PIRES, A.V.; MORAIS, J.B. Processamento de milho (Floculado vs. Laminado a vapor) a adição de monensina para bezerras leiteiras, pré e pós-desmame precoce. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, p. 229-239, 2003.
- OYOFO, B.A.; DeLOACH, D.E.; NORMAN, J.O.; ZIPRIN, R.I.; MOLLENHAUER, H.H. Prevention of Salmonella typhimurium colonization of broilers with D-mannose. **Poultry Science**, Champaign, v.68, p. 1357-1360, 1989.
- QUIGLEY III, J.D. Feeding prior to Weaning. In: CALVES, HEIFERS AND DAIRY PROFITABILITY NATIONAL CONFERENCE, 1996. Pennsylvania. **Proceedings...** Ithaca: Northeast Regional Agricultural Engineering Service Cooperative Extension, 1996.. p. 245-255.
- QUIGLEY III, 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**, Albany, v. 70, p. 1543-1549, 1992.
- QUIGLEY III, J.D.; CALDWELL, L.A.; SINKS, G.D.; HEITMANN, R.N. Changes in blood glucose, non-esterified fatty acids, and ketones in response to weaning and feed intake in young calves. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 74, p. 250-257, 1991.

QUIGLEY III, J.D.; BERNARD, J.K.; TYBERENDT, T.L.; MARTIN, K.R. Intake, growth, and selected blood parameters in calves fed calf starter via bucket or bottle. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 77, p. 354-357, 1994.

RADOSTITS, O.M. Treatment and control of neonatal diarrhea in calves. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.58, p. 464-470, 1975.

ROZEBOOM, D.W.; SHAW, D.T.; TEMPELMAN, R.J.; MIGUEL, J.C.; PETTIGREW, J.E.; CONNOLLY, A. Effect of mannan oligosaccharide and na antimicrobial product in nursery diets on performance of pigs reared on three different farms. **Journal of Animal Science**, Albany, v.83, p.2637-2644, 2005.

SANDI, D.; MÜHLBACH, P.R.F. Desempenho de bezerros da raça Holandesa com desaleitamento aos 28 ou 56 dias de idade, com ou sem aditivo à base de oligossacarídeo de manana. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, p.487-490, 2001.

SAS INSTITUTE. **SAS users guide**: Statistics. version 5. Cary, 1991. 1028p.

SPRING, P.; WENK, C.; DAWSON, K.A.; NEWMAN, K.E. The effects of dietary mannanoligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in the ceca of Salmonella-challenged broiler chicks. **Poultry Science**, Champaign, v.79, p. 205-211, 2000.

TERRÉ, M.; CALVO, M.A.; ADELANTADO, C.; KOCHER, A.; BACH, A. Effects of mannan oligosaccharides on performance and microorganism fecal counts of calves following na enhanced-growth feeding program. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.137, p.115-125, 2007.

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**, Lancaster, v.74, p.3583-3597, 1991.

4 DESEMPENHO E DESENVOLVIMENTO RUMINAL DE BEZERROS EM SISTEMA DE DESALEITAMENTO PRECOCE RECEBENDO SUBSTÂNCIAS HÚMICAS VIA CONCENTRADO INICIAL

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar a inclusão de substâncias húmicas na dieta de bezerros leiteiros da raça Holandês, em sistema de desaleitamento precoce, sobre o desempenho e o desenvolvimento ruminal. Foram utilizados 20 animais, todos machos inteiros, em delineamento experimental blocos completos aleatorizados. Os bezerros foram alocados em abrigos individuais, com livre acesso a água, e foram distribuídos nos seguintes tratamentos: 1) controle; 2) substâncias húmicas (SH), fornecido via concentrado inicial. Os animais foram aleitados com 4L da dieta líquida, divididos em duas refeições; e receberam concentrado inicial *ad libitum*. Semanalmente, foram realizadas pesagens, medidas de crescimento corporal e colheitas de sangue, para a determinação de glicose, N-uréico e β -hidroxibutirato (BHBA). Os animais foram desaleitados na oitava semana de idade e foram abatidos por atordoamento e sangria através de corte da jugular, para análise do desenvolvimento do trato digestório superior. Não houve efeito significativo ($P>0,05$) dos tratamentos ou da interação Tratamento x Idade para os parâmetros consumo de concentrado, ganho de peso ou medidas de crescimento corporal. Entretanto, foi observado efeito de idade ($P<0,0001$) para todos os parâmetros de desempenho avaliados. O escore fecal também não foi afetado pela inclusão de substâncias húmicas ($P>0,05$), embora os animais tenham apresentado com grande frequência escores que indicam ocorrência de diarreia. Não houve efeito da inclusão de substâncias húmicas ($p>0,05$) para as medidas morfométricas do trato digestório superior, número, largura ou altura de papilas do epitélio ruminal. Não houve efeito benéfico da inclusão de substâncias húmicas no concentrado inicial de bezerros com o rúmen em desenvolvimento, seja no desempenho ou na saúde dos animais.

Palavras-chave: Ácido fúlvico; Ácido húmico; Desempenho; Desenvolvimento ruminal, Escore fecal; Papilas ruminais

PERFORMANCE AND FORESTOMACH DEVELOPMENT OF CALVES IN EARLY WEANING SYSTEM RECEIVING HUMIC SUBSTANCES IN THE CONCENTRATE STARTER

Abstract

The objective of this trial was to evaluate the humic substances inclusion in the concentrate starter on milk-fed calves' performance and forestomach development. Twenty Holstein male calves were used in a completely randomized block design. Calves were individually housed, had water free-choice and were distributed in two treatments according to inclusion of humic substances in the concentrate starter: 1) Control; 2) Humic substances (Nutrihume[®]). Animals received concentrate *ad libitum* and 4L of liquid diet, split into two feedings. Weekly calves were weighted and growth measurements and blood samples for glucose, urea-N and β -hidroxibutyrate (BHBA) were taken until the eighth week of age, when the experimental period ended. After the slaughter, animals' forestomach were separated, emptied and washed for individual weighting. There were significant effect ($P>0.05$) for treatment or the interaction treatment x age for concentrate intake, weight gain or growth measurements. Fecal scores were also not affected ($P>0.05$) by the inclusion of humic substances, even though calves presented frequently high fecal scores, indicating high incidence of diarrhea. There were no significant effects ($P>0.05$) of humic substances inclusion on the rumen morphometrics measures and papillae number, height or width. There were no benefits of humic substances inclusion on concentrate starter on performance or rumen development of milk-fed dairy calves.

Keywords: Fecal score; Fulvic acid; Humic acid; Performance; Rumen development; Ruminant papillae

4.1 Introdução

A descoberta de que antibióticos melhoram o crescimento e a eficiência alimentar de animais levou ao seu uso como profilático em diversos sistemas de criação (VISEK, 1978). Desta forma, o fornecimento de dietas com aditivos antimicrobianos passou a ser realizado na maioria dos sistemas de produção animal para melhorar as taxas de crescimento, desempenho, aumentando a conversão alimentar e diminuindo os riscos de doenças, além do custo de produção. Mas, a seleção de populações de bactérias resistentes ou a resistência cruzada a antibiótico de uso veterinário e humano, levou a União Européia a proibir o uso dos antibióticos como promotores de crescimento. Esta restrição originou a busca por aditivos alternativos; porém, que tragam os mesmos benefícios dos antibióticos quanto ao desempenho e desenvolvimento dos animais. Dentro destas alternativas, as substâncias húmicas podem ser destacadas.

Substâncias húmicas são materiais naturais facilmente disponíveis, biologicamente ativos e amplamente utilizados, não apenas na agricultura, mas também na medicina humana e animal. Este aditivo é o resultado da combinação da composição química de plantas em decomposição e microrganismos, e substâncias secundárias produzidas durante o processo de decomposição (BOZKURT et al., 2001). Destacam-se como principais constituintes os ácido húmico e ácido fúlvico (AIKEN, 1985). Os ácidos húmicos são fornecidos para equinos, ruminantes, suínos e aves para o tratamento de diarreia, dispepsia e intoxicação aguda na Europa (YASAR et al., 2002).

Durante o período de aleitamento de bezerros leiteiros, as primeiras semanas são consideradas a fase mais crítica, e seu maior desafio de saúde são as diarreias; responsável pela alta taxa de mortalidade e morbidade nos rebanhos leiteiros. Segundo Islam et al. (2005) as substâncias húmicas formam um filme no muco epitelial do trato gastrointestinal contra toxinas e agentes infecciosos e, conseqüentemente, o status nutricional dos animais.

Segundo Cusak et al. (2008), dietas com substâncias húmicas aumentam a ingestão de matéria seca. A ingestão de concentrado inicial é vital para o desenvolvimento do rúmen do bezerro, realizando a transição do animal da condição de

pré-ruminante para ruminante funcional; por meio da produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), principalmente o butirato, o qual tem papel importante no processo de desenvolvimento das papilas (COVERDALE et al., 2004).

Os poucos estudos com ruminantes adultos, o fornecimento destas substâncias nas rações apresentaram bons resultados no consumo de concentrado e ganho de peso (CUSAK et al., 2008); conversão alimentar, crescimento corporal, e possíveis melhoras no sistema imune (AGAZZI et al., 2006)

Estudos com o uso destas substâncias vem apresentando excelentes resultados, principalmente para aves e suínos, entretanto trabalhos publicados sobre o efeito destas substâncias para animais ruminantes são escassos. Deste modo, o objetivo deste estudo foi determinar o efeito de substâncias húmicas no desempenho e desenvolvimento do trato digestório superior de bezerros leiteiros em sistema de desaleitamento precoce.

4.2 Material e métodos

4.2.1 Animais, instalações e manejo alimentar

O experimento foi conduzido no Centro de Pesquisa de Nutrição Animal (CPNA) da Nutron Alimentos, Mogi Mirim, SP. Foram utilizados 24 bezerros da raça Holandês, todos machos inteiros, com idade média de 05 dias, em delineamento experimental do tipo blocos completos ao acaso, sendo blocados de acordo com o peso ao nascer. Os animais foram adquiridos de fazendas comerciais da região. Após o nascimento, os bezerros foram separados da mãe, e receberam colostro de acordo com o manejo da fazenda de origem. Com aproximadamente 5 dias de vida os animais foram transportados da fazenda de origem para o Centro de Pesquisa em Nutrição Animal (CPNA, Nutron Alimentos, Ltda).

Os bezerros foram alojados em abrigos individuais, com livre acesso à água, e passaram a receber 4L de dieta líquida por dia, divididos em duas refeições (07 e 18h). A dieta líquida dos animais foi composta de leite pasteurizado até o 15º dia de vida e sucedâneo lácteo a partir do 16º dia de vida até o desaleitamento na oitava semana de

vida. Os animais receberam concentrado inicial, formulado de acordo com as recomendações do NRC (2001), para atender suas exigências (18% de PB e 70% NDT) contendo ou não substâncias húmicas através da adição de NutriHume[®]. O aditivo foi adicionado em 5% no núcleo que compreendeu 20% da ração, contribuindo assim, com 1% na ração final. O concentrado comercial foi fornecido toda manhã, *ad libitum*, até que o animal atingisse o consumo de 2 kg/ dia, pesando-se a sobra do dia anterior para obter o consumo diário.

4.2.2 Análise bromatológica

Amostras do concentrado inicial e de NutriHume[®] (Substâncias húmicas) foram colhidas durante o período experimental e moídas em moinho de facas com peneira com crivos de 1 mm para determinação de matéria seca (MS) 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 modelo FP-528 (Leco Corporation, St. Joseph, MI, EUA); fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) pelo método descrito por Van Soest, Robertson e Lewis (1991); e amido conforme descrito por Knudsen (1997). A composição bromatológica das dietas e do NutriHume[®] utilizados durante o experimento estão apresentadas na Tabela 4.1.

Tabela 4.1- Composição bromatológica das dietas e Nutrihume[®]

	Tratamentos		Sucedâneo	NutriHume [®]
	Controle	Substâncias húmicas		
Matéria Seca	88,62	88,50	95,14	91,48
Proteína Bruta, % MS	24,35	24,00	21,74	3,45
Extrato Etéreo, % MS	3,45	3,30	12,43	0,01
Fibra em detergente neutro,% MS	22,00	22,00
Amido, % MS	29,02	32,73	20,15	..
Energia Bruta, Mcal/kg	3769,90	3793,26	4495,77	..

4.2.3 Avaliação do desempenho e desenvolvimento corporal

Os animais foram pesados ao nascer e semanalmente, em balança mecânica, sempre antes do fornecimento da alimentação do período da manhã; até a 8ª semana de vida com o término do período experimental. Foram também mensuradas semanalmente medidas de altura na cernelha e largura na garupa com o auxílio régua graduada em centímetros; e perímetro torácico com o auxílio de fita flexível, também graduada em centímetros.

4.2.4 Monitoramento do escore fecal

O monitoramento do escore fecal foi realizado através de 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).

4.2.5 Colheita de Sangue e metodologia analítica

4.2.5.1 Colheita de sangue

Amostras de sangue foram colhidas semanalmente, a partir da segunda semana de vida, sempre duas horas após o fornecimento da dieta da manhã, através de punção da jugular, com o auxílio de tubos vacuolizados contendo fluoreto de sódio como antiglicolítico e EDTA de potássio como anticoagulante. As amostras foram centrifugadas a $2000 \times g$, durante 20 minutos, a temperatura de 4°C , para a obtenção do plasma. O plasma foi armazenado em microtubos plásticos e mantido em freezer para posterior determinação de glicose plasmática, β -hidroxibutirato (BHBA) e N-uréico.

4.2.5.2 Determinação de glicose plasmática

As concentrações plasmáticas de glicose foram determinadas através de leitura direta em autoanalisador bioquímico YSI 2700 (Biochemistry Analyser, Yellow Spring, OH, EUA), no Laboratório de Bromatologia, do Departamento de Zootecnia da USP/ESALQ. O equipamento realiza a leitura direta em membrana com enzima glicose oxidase imobilizada, utilizando solução de dextrose com concentração de 2 g/L como calibrador interno.

4.2.5.3. Determinação de β -hidroxibutirato

As concentrações plasmáticas de BHBA foram analisadas utilizando-se ensaios bioquímicos através do teste Ranbut (Randox Laboratories Ltda), no laboratório de Bioquímica e Fisiologia Animal, do Departamento de Nutrição e Produção Animal da USP/FMVZ. O ensaio bioquímico foi realizado em espectrofotômetro com comprimento de onda de 340nm.

4.2.5.4 Determinação de N-uréico

O N-uréico foi determinado utilizando-se o método descrito por Chaney & Marbach (1962), adaptado para leitura em Leitor Microplaca (BIO-RAD, Hercules, CA, EUA) utilizando-se filtro de absorvância de 550 nm, no Laboratório de Bromatologia, do Departamento de Zootecnia da USP/ESALQ. Foram utilizadas enzimas urease (U-1500, Sigma), e soluções padrões com concentrações de 0; 3,75; 7,5; 15; e 30 mg/dL de N-uréico. Somente foram aceitos resultados provenientes de placas com $r^2 = 0,99$ e coeficiente de variação de 10% entre duplicatas.

4.2.6 Avaliação morfométrica do trato digestório superior

Os animais foram abatidos em frigorífico comercial na oitava semana de vida por meio de atordoamento e sangria com corte da jugular. Para análise morfométrica do

trato digestório superior, a cavidade abdominal foi aberta, sendo os quatro compartimentos removidos livres de tecido adiposo omental. O conteúdo do trato foi retirado com auxílio de lavagens com água e os compartimentos foram divididos em retículo-rúmen, omaso e abomaso. Após a remoção do excesso de água dos tecidos, foram tomadas medidas de peso do retículo-rúmen, do omaso, do abomaso e dos compartimentos em conjunto.

Amostras do saco dorsal e ventral do rúmen foram retiradas com auxílio de bisturi, preservadas em solução de formaldeído a 10% e posteriormente avaliadas quanto à altura e largura de papilas, além do número de papilas por cm^2 com o auxílio de microscópio estereoscópico e de régua milimetrada. Foram avaliadas 2 amostras por animal, sendo mensuradas 10 papilas por amostra para a determinação de altura e largura médias. Para a determinação do número de papilas por cm^2 , foram contadas todas as papilas existentes em uma amostra de 1 cm^2 , conforme proposto por Leismester (2004).

4.2.7 Análise estatística

Os dados de consumo de alimento, peso vivo, ganho de peso, medidas de crescimento corporal e parâmetros sanguíneos foram analisados como medidas repetidas no tempo através do PROC MIXED do pacote SAS (1991), conforme o modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + I_j + TI_{ij} + E_{ij}$$

onde,

Y_{ij} = variável resposta

μ = média geral

T_i = efeito de tratamento

I_j = efeito de idade

TI_{ij} = efeito da interação tratamento idade

E_{ij} = resíduo

As médias foram comparadas pelo teste dos quadrados mínimos (LSMEANS), com nível de significância de 5%.

4.3 Resultados e discussão

As médias do período experimental de consumo de concentrado inicial (g/d), ganho de peso (g/d) e peso vivo (kg) estão apresentadas na Tabela 4.2. O consumo de concentrado foi similar entre os tratamentos, não sendo observado efeito significativo da inclusão de substâncias húmicas ($P>0,05$) ou para a interação Tratamento x Idade. Conforme esperado, foi observado efeito significativo ($P<0,0001$) de Idade para o consumo de concentrado, que aumentou com o avanço da idade.

Tabela 4.2- Média dos quadrados mínimos do consumo de concentrado, peso vivo e ganho de peso de bezerros recebendo concentrado inicial com ou sem a inclusão de substâncias húmicas

	Tratamento		EPM ⁽¹⁾	P< ⁽²⁾		
	Controle	Substâncias húmicas		T	I	TxI
Consumo concentrado, g/d						
ao desaleitamento	915,4	919,0	118,9
média do período total	444,90	445,2	104,0	1,00	<0,0001	0,16
Peso vivo, kg						
inicial	43,0	41,8	1,99
final	56,5	55,9	1,74
média do período total	47,4	47,1	1,54	0,88	<0,0001	0,74
Ganho de peso diário, g/d						
média do período total	269,3	329,5	61,14	0,50	0,002	0,76

⁽¹⁾EPM: erro padrão da média

⁽²⁾T: efeito de Tratamento; I: efeito de Idade; TxI: efeito da interação Tratamento x Idade

Em estudos realizados com a adição de substâncias húmicas no concentrado inicial também não foram observados efeitos significativos para a ingestão de concentrado. Cusak (2008) em estudo com bovinos de corte na fase de terminação não

encontrou efeito do fornecimento de SH no consumo de concentrado. Não foi encontrado na literatura dados de consumo de concentrado inicial em bezerros suplementados com substâncias húmicas. Mas os dados observados na literatura com outras espécies são controversos, com efeitos positivos em ratos (Yasar et al., 2002) e sem efeito para suínos (WANG et al., 2008).

O consumo de concentrado inicial, independente do tratamento recebido, apresentou um padrão sempre crescente. Os animais que receberam a dieta com a adição de substância húmicas apresentaram nas primeiras semanas consumo de concentrado inicial numericamente maior, entretanto, foi observado queda na ingestão de concentrado entre a 5ª e 6ª semana (Figura 4.1). Este comportamento atípico para animais nesta idade pode ser explicado pela ocorrência de diarréias nestas duas semanas, uma vez que este distúrbio intestinal afeta o consumo de concentrado. Logo, passado o período de diarréia foi observado aumento na ingestão de concentrado.

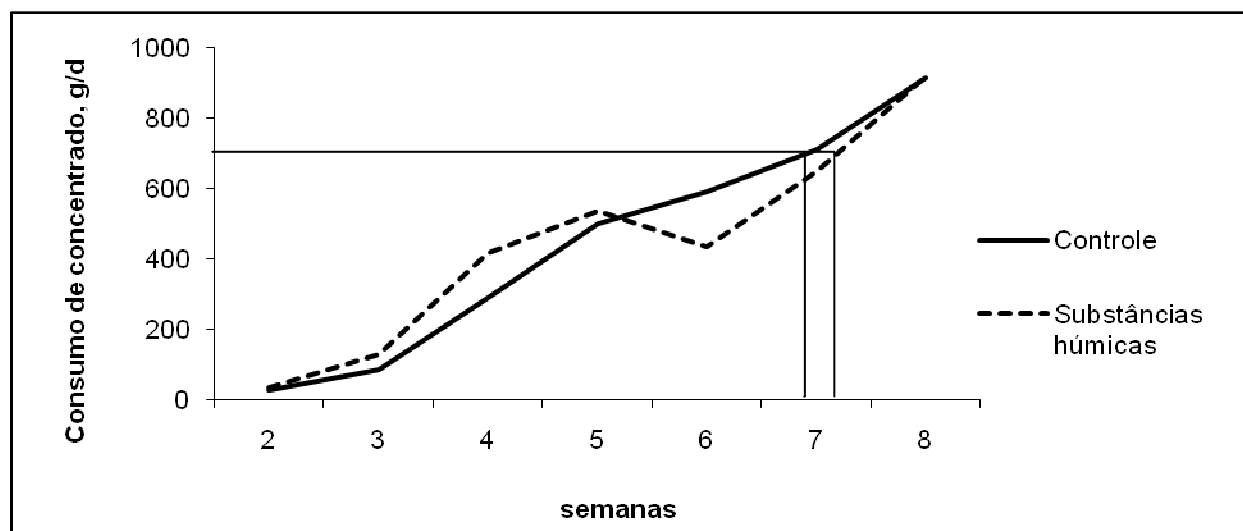


Figura 4.1- Consumo de concentrado (g/d) com ou sem a inclusão de substâncias húmicas de bezerros da raça Holandês

As médias de consumo de concentrado inicial ao longo das semanas observadas no presente estudo estão abaixo da média de consumo de concentrado apresentada em outros trabalhos para animais com a mesma idade recebendo diferentes aditivos, porém, com idade ao desaleitamento mais precoce (HEINRICHS et al., 2003; HILL et al., 2009; GREENWOOD et al., 1997). No entanto, Brown et al. (2005) apresentaram

médias semelhantes de consumo de concentrado durante as 8 primeiras semanas de vida em bezerros.

Por outro lado, os valores de ingestão de concentrado inicial ao desaleitamento (oitava semana) apresentaram-se acima da média recomendada por Quigley (1996). Este autor sugere um consumo de 680 a 700 g/d por três dias consecutivos, para que o desaleitamento ocorra sem prejuízos ao desempenho animal. Desta forma, pode-se observar que o desaleitamento poderia ter ocorrido na sétima semana de vida dos animais, sem prejuízos no desempenho, diminuindo o custo final com o fornecimento de leite, uma vez que o aleitamento tem forte impacto nas planilhas de custo (Figura 4.1). No entanto, mesmo com maior período de aleitamento do que o necessário, o ganho de peso dos animais esteve abaixo do esperado.

O ganho de peso diário e o peso vivo também não foram afetados pela inclusão de substâncias húmicas ($P>0,05$). Conforme esperado, houve efeito significativo de Idade (semana) para peso vivo e também para ganho de peso, devido ao aumento no consumo de concentrado inicial com o avanço da idade (Figura 4.2). Dados sobre desempenho de bezerros leiteiros recebendo substâncias húmicas são inexistentes. No entanto, segundo Cusak (2008), o fornecimento de SH para bovinos de corte em terminação não resultou em diferenças significativas nos pesos inicial e final, mas resultou em aumento no ganho de peso diário de forma que os animais alcançaram as especificações de mercado para abate em um menor número de dias. Yasar (2002) concluiu que substâncias húmicas induzem aumentos no ganho de peso de ratos, e sugere que estas melhoras estão associadas aos aumentos no consumo de alimentos e melhoras na taxa de conversão alimentar. Agazzi et al. (2006) observaram maiores ganhos de peso em cabritos que receberam doses diárias de substâncias húmicas durante a fase de aleitamento, sendo 9,5% ($P>0,001$) e 14,9% ($P>0,001$) maiores em animais que receberam baixa e alta dose SH, respectivamente, que o grupo controle.

O peso vivo apresentou-se sempre crescente ao longo das semanas, entretanto, com um declínio entre a primeira e segunda semana (Figura 4.2). Este declínio pode ser explicado pelo período em que ocorreu o transporte dos animais e as diarréias, fatores que resultam na diminuição do consumo de alimento e perda de peso. Neste estudo, os animais apresentaram ganho de peso insatisfatório para a idade,

provavelmente por apresentarem muitos períodos com diarreia. É provável que a colostragem realizada nas fazendas de origem destes animais tenha sido inadequada. Tradicionalmente, em sistemas de produção de leite, os bezerros machos são negligenciados por serem normalmente sacrificados ao nascer. A avaliação do status de imunidade destes animais, com a determinação das concentrações de IgG, poderia ter auxiliado na escolha dos animais para o presente estudo.

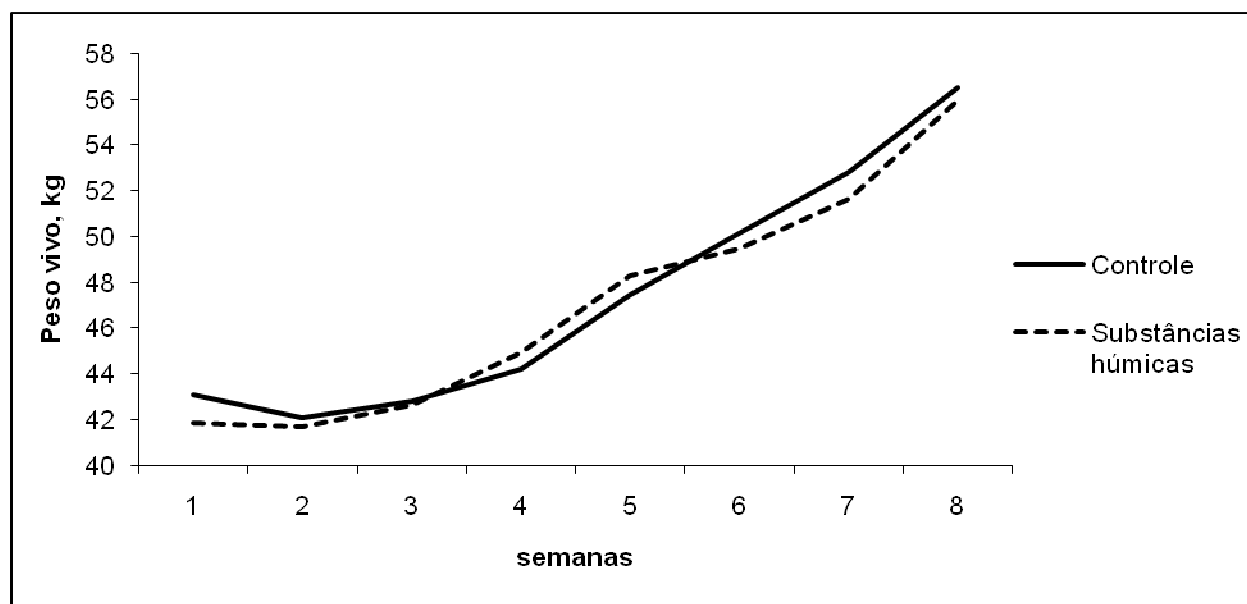


Figura 4.2- Peso vivo (kg) de bezerros da raça Holandês recebendo concentrado inicial com ou sem a inclusão de substâncias húmicas

As médias do período total das mensurações de altura na cernelha, largura da garupa e perímetro torácico estão apresentadas na Tabela 4.3. As medidas de crescimento esquelético não foram afetadas pela inclusão de substâncias húmicas na dieta. Nenhuma diferença significativa ($P > 0,05$) foi observada entre os tratamentos ou interação Tratamento x Idade. No entanto, conforme esperado, foi observado efeito significativo ($P < 0,0001$) para Idade (semanas). Embora a média do período total das medidas dos parâmetros perímetro torácico e largura da garupa para os animais do tratamento substâncias húmicas apresentaram-se numericamente menores comparados ao grupo controle, a média de ganhos (cm/semana) destes mesmos parâmetros foram numericamente maiores para os animais do tratamento substâncias húmicas.

Tabela 4.3- Média dos quadrados mínimos de medidas corporais de crescimento de bezerros recebendo concentrado inicial com ou sem a inclusão de substâncias húmicas

Parâmetro	Tratamento		EPM ⁽¹⁾	P < ⁽²⁾		
	Controle	Substâncias húmicas		T	I	T x I
Altura na cernelha, cm						
média do período total	78,41	77,61	0,76	0,47	<0,0001	0,58
ganho, cm/semana	0,47	0,53	0,18	0,80	0,42	0,57
Perímetro torácico, cm						
média do período total	83,75	83,66	0,76	0,93	<0,0001	0,41
ganho, cm/semana	1,26	1,31	0,23	0,87	0,01	0,32
Largura da garupa, cm						
média do período total	22,45	22,34	0,20	0,71	<0,0001	0,57
ganho, cm/semana	0,16	0,26	2,98	0,98	0,44	0,48

⁽¹⁾EPM: erro padrão da média

⁽²⁾T: efeito de Tratamento; I: efeito de Idade; Txl: efeito da interação Tratamento x Idade

Não foram encontrados na literatura dados sobre medidas corporais de crescimento de bezerros leiteiros recebendo SH. No entanto, os valores observados no presente trabalho para o parâmetro altura na cernelha estão abaixo das médias apresentadas em outros estudos para animais com idade semelhante recebendo diferentes aditivos (BROWN et al., 2005; SHAMAY et al., 2005; KHAN et al., 2007; LESMEISTER et al., 2004). Os dados de ganho/semana de altura na cernelha também estão abaixo do recomendado na literatura que indica valores médios de ganho entre 1,2-1,4 cm/semana (HOFFMAN, 1997). Entretanto, estas diferenças podem ser resultados da variação do tipo ou seleção animal, uma vez que mesmo dentro de uma mesma raça existe diferença entre o peso adulto e, portanto, de ganhos de crescimento esquelético.

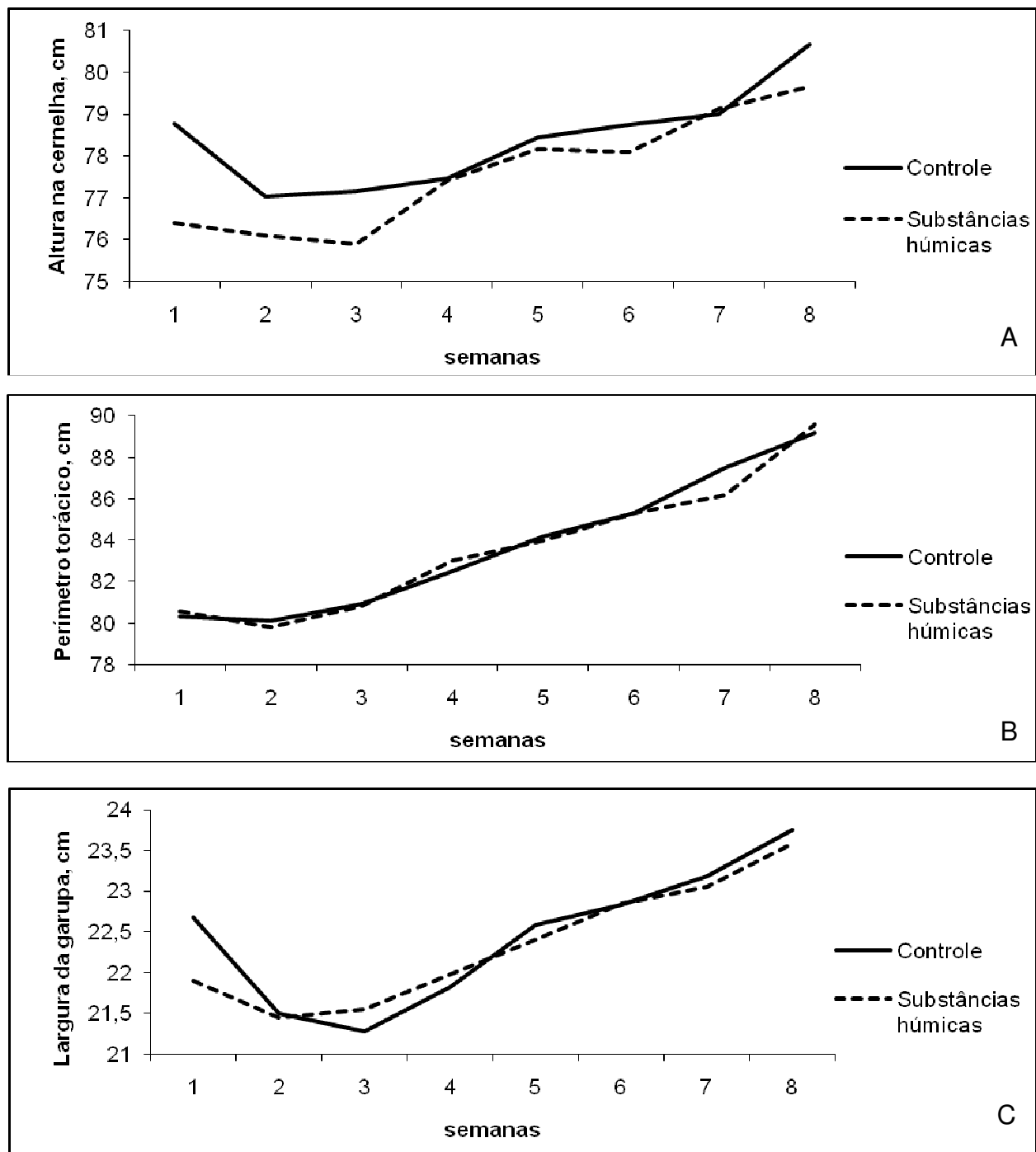


Figura 4.3- Altura na cernelha (A), perímetro torácico (B) e largura da garupa(C) de bezerros recebendo concentrado inicial com ou sem a inclusão de substâncias húmicas

Por outro lado, foi observado aumento constante para todos os parâmetros avaliados, independente do tratamento, a partir da 3ª semana (Figura 4.3). Nas primeiras semanas de idade, as reduções nas medidas de crescimento estão relacionadas ao período que foi realizado o transporte dos animais da fazenda de origem para a área experimental e período que ocorreram as diarreias. Estes fatores aumentam o estresse do animal, diminuindo o consumo de alimento e, conseqüentemente, levando a perda de peso. O declínio na média do parâmetro altura na cernelha na sexta semana de idade também pode ser explicado por ocorrência de diarreia, entretanto, este comportamento foi atípico para animais desta idade (Figura 4.3-A).

No parâmetro perímetro torácico, o crescimento observado ao longo das semanas (Figura 4.3-B) apresentou comportamento semelhante ao ganho de peso vivo. Conforme demonstrado por Heinrichs et al. (1992), o perímetro torácico tem alta relação com o peso vivo dos animais. Esta relação entre os dois parâmetros é importante, principalmente para que o animal não apresente problemas no futuro com a produção de leite, uma vez que altas taxas de ganho sem crescimento esquelético dentro dos padrões podem resultar em desenvolvimento prejudicado da glândula mamária (HEINRICHS et al., 1992).

A distribuição dos dados de escore fecal está apresentada na Figura 4.4. A literatura considera o animal com diarreia quando seu escore fecal está acima de 2 (LARSON et al., 1977). Conforme a Figura 4.4, menos de 50% dos dados de escore fecal observados durante todo período experimental esteve abaixo de 2, indicando que os animais não apresentaram bom estado de saúde.

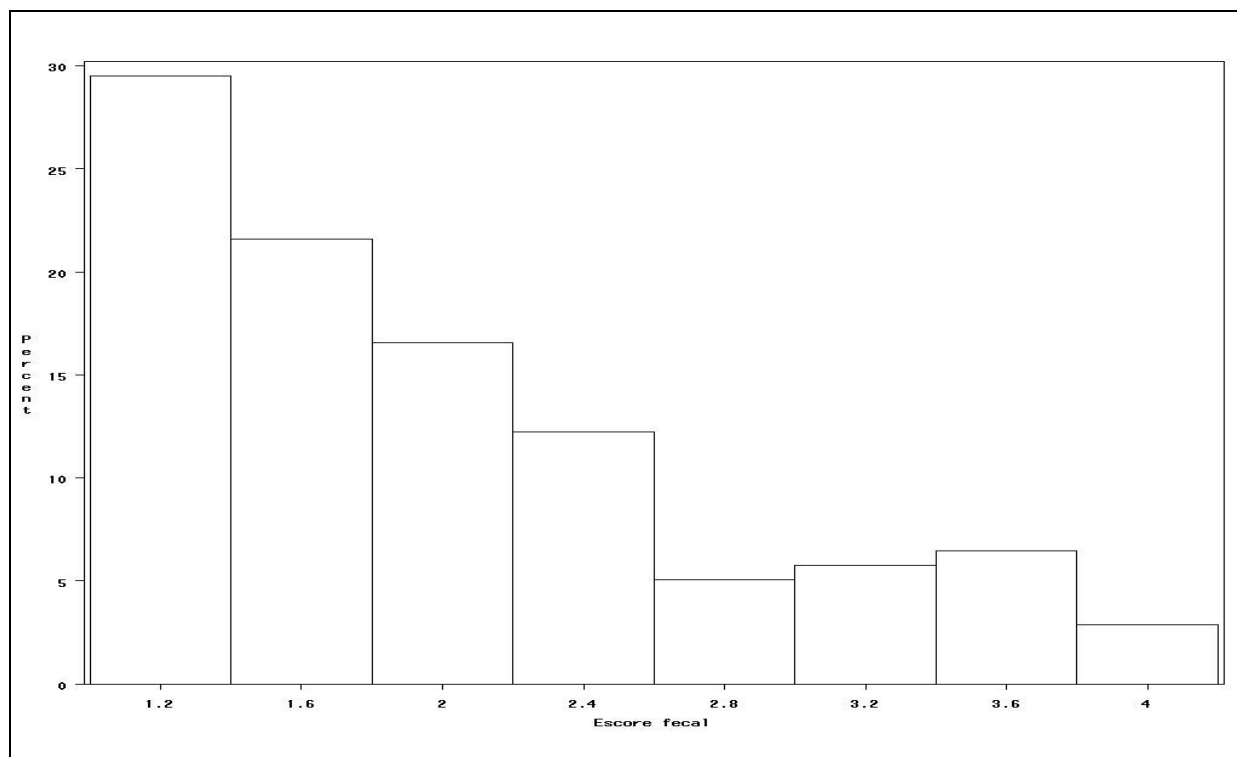


Figura 4.4- Distribuição dos valores de escore fecal, independente do tratamento, para bezerros até 8 semanas de idade

Os dados de escore de fezes por tratamento ao longo do tempo estão apresentados na Figura 4.5. Foi observada diferença significativa ($P < 0,05$) entre os tratamentos na sexta semana de idade, com maior escore de fezes para o grupo do tratamento substâncias húmicas, este escore fecal indica diarreia. Embora nenhum estudo sobre escore fecal de bezerros recebendo substâncias húmicas tenha sido encontrado na literatura, segundo Islam et al. (2005), as SH formam um filme no muco epitelial do trato gastrointestinal contra toxinas e agentes infecciosos, melhorando a saúde do trato intestinal. Foi observado diarreia, independente do tratamento, na segunda e terceira semanas de vida dos animais. Segundo Lucci (1989), é esperada a ocorrência de diarreia nas primeiras semanas de vida de bezerros leiteiros. Foi observado também que neste período os animais do tratamento substâncias húmicas apresentaram escore fecal numericamente menor comparado ao controle. Entretanto, após a quarta semana, o escore fecal dos bezerros apresentou-se crescente, sendo

observada diarreia para o grupo substâncias húmicas na sexta semana vida. Este comportamento não era esperado para animais nesta idade.

As médias de escore fecal após a quarta semana são maiores que o encontrado na literatura em animais com idade semelhante recebendo diferentes aditivos (TERRÉ et al, 2007; DONOVAN et al., 2003; HEINRICHS et al., 2003). Este comportamento pode explicar o baixo desempenho dos animais. Segundo Owen et al. (1958), as diarreias são responsáveis pela diminuição da taxa de crescimento, redução da eficiência de utilização dos alimentos e, principalmente, por reduzir a resistência do sistema imune do animal a outras doenças.

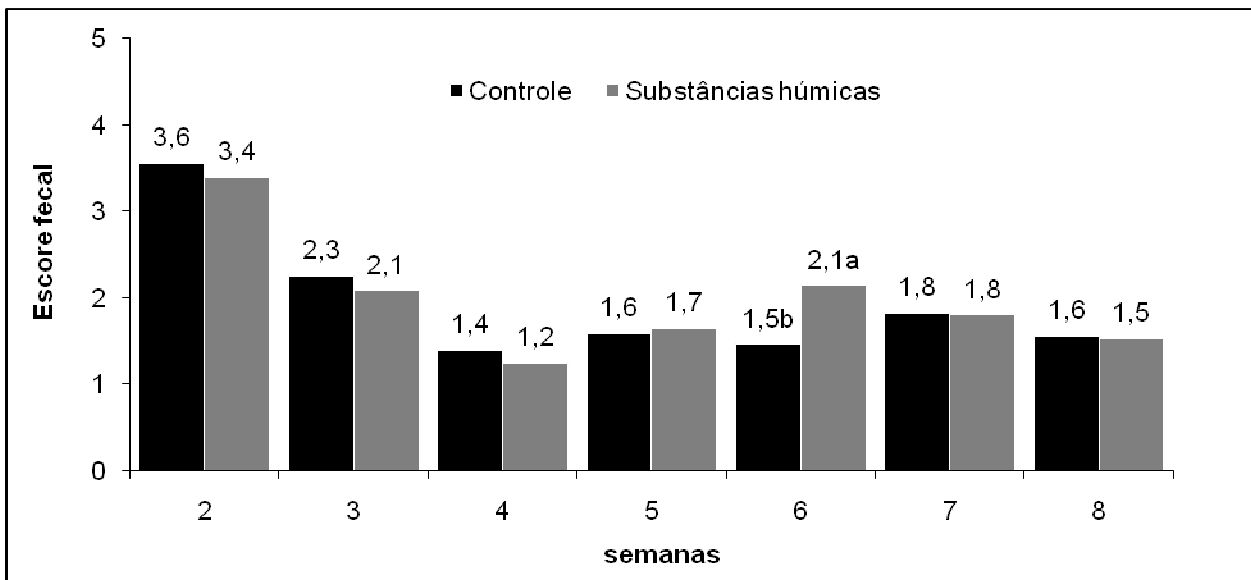


Figura 4.5- Escore fecal de bezerros recebendo concentrado inicial com ou sem a inclusão de substâncias húmicas

As concentrações plasmáticas de glicose, N-uréico (NUP) e β -hidroxibutirato (BHBA) são mostradas na Tabela 4.4. Não foi observado efeito da inclusão de substâncias húmicas ($P > 0,05$) ou da interação Tratamento x Idade para os parâmetros avaliados. No entanto, foi observado efeito de Idade ($P < 0,0001$) para as concentrações plasmáticas de glicose e N-uréico.

Tabela 4.4 - Média dos quadrados mínimos das concentrações plasmáticas de glicose, N-uréico (NUP) e β -hidroxibutirato (BHBA) em bezerros recebendo concentrado inicial com ou sem a inclusão de substâncias húmicas

	Tratamentos		EPM ⁽¹⁾	P< ⁽²⁾		
	Controle	Substâncias húmicas		T	I	TxI
Glicose, mg/dL	87,97	85,50	3,46	0,619	0,0001	0,718
NUP, mg/dL	17,12	17,68	0,81	0,648	0,0001	0,3015
BHBA, mmol/L	0,169	0,183	0,029	0,751	0,764	0,541
7ª semana	0,183	0,178	0,035
8ª semana	0,156	0,187	0,035

⁽¹⁾EPM: erro padrão da média

⁽²⁾T: efeito de Tratamento; I: efeito de Idade; TxI: efeito de interação Tratamento x Idade

A concentração média de glicose durante o período experimental foi semelhante a apresentada no estudo de Quigley e Bernard (1992) com animais desaleitados na oitava semana. No entanto, a concentração plasmática de glicose observada até a quarta semana de vida está abaixo do recomendado na literatura para animais nesta idade (Figura 4.6-A). Segundo Huber (1969), durante a fase de aleitamento os bezerros apresentam concentrações plasmáticas de glicose entre 90 a 100 mg/dL até a sexta semana de vida. As concentrações observadas na segunda semana são similares as concentrações plasmáticas de glicose em bezerros logo após o nascimento, antes da ingestão do colostro. Esta concentração de glicose inferior pode ser resultado de fornecimento inadequado de colostro aos animais, prejudicando desta forma todo o desempenho e aumentando a possibilidade de diarreia nos animais, por estes não apresentarem boa imunidade.

Os animais que receberam substâncias húmicas apresentaram declínio na concentração plasmática de glicose após a 4ª semana de vida (Figura 4.6-A), este declínio era esperado, uma vez que neste período a secreção de lactase diminui, afetando a digestão de produtos derivados de leite. Entretanto, a concentração plasmática de glicose na oitava semana esteve acima do observado por Quigley e Bernard (1992) em estudo com bezerros desaleitados com a mesma idade.

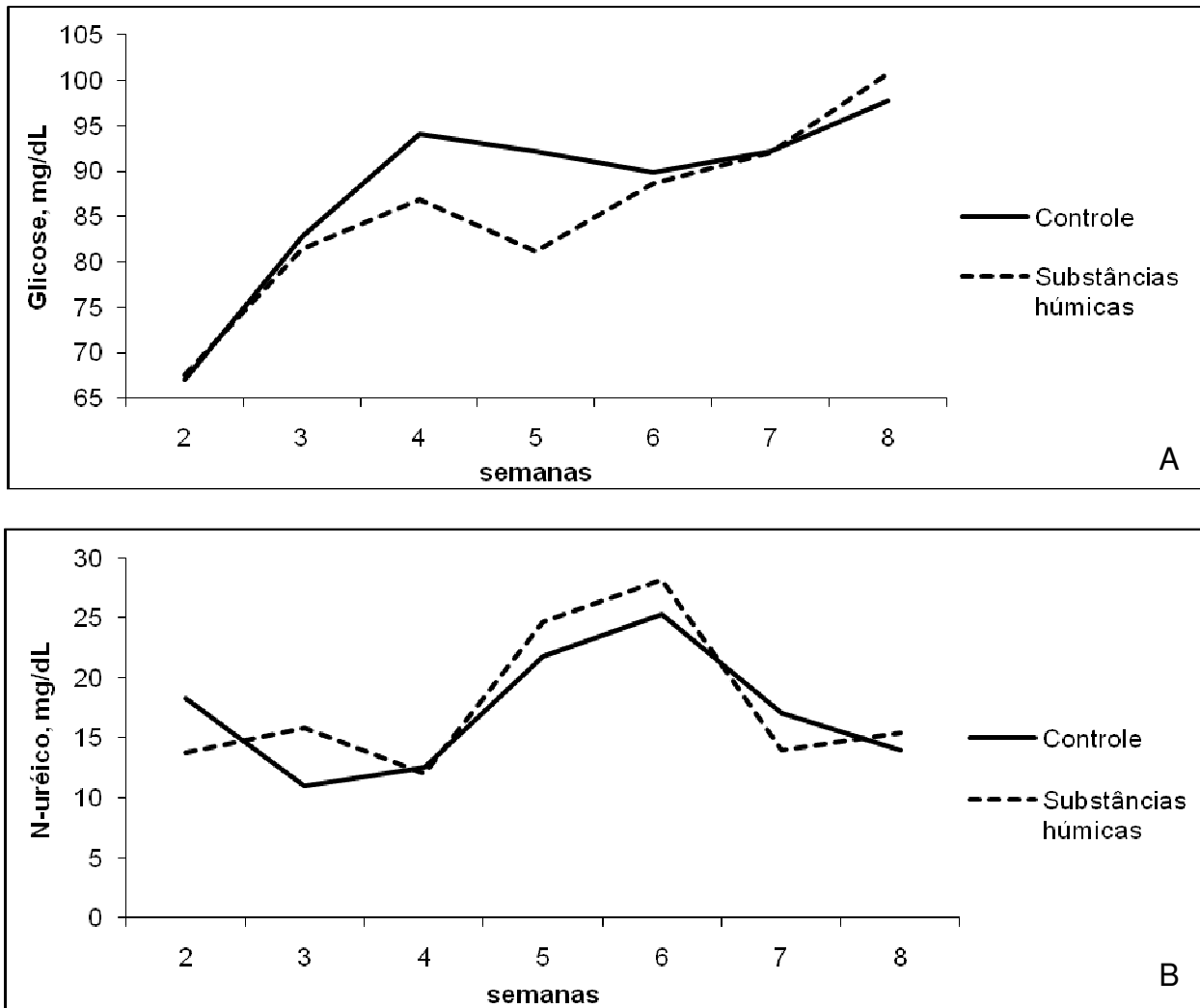


Figura 4.6- Concentrações plasmáticas de glicose (A) e N-urêico (B) ao longo das semanas em bezerros recebendo concentrado inicial com ou sem a inclusão de substâncias hùmicas

A média de concentração plasmática de N-urêico também não foi afetada significativamente pelos tratamentos ($P > 0,05$) ou pela interação Tratamento x Idade ($P > 0,05$). No entanto houve efeito significativo ($P < 0,05$) para a Idade com aumentos na concentração de N-urêico ao longo das semanas. Este efeito também foi observado em outro estudo com diferentes aditivos (QUIGLEY; BERNARD, 1992; QUIGLEY et al., 1994). No entanto, estes estudos apresentaram valores inferiores de concentração plasmática de N-urêico comparados aos valores observados no presente trabalho.

Dados sobre concentração plasmática de N-uréico em bezerros recebendo substância húmicas são inexistentes.

Para as concentrações plasmáticas de BHBA não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos ($P>0,05$), assim como para a interação Tratamento x Idade ($P>0,05$) ou para o efeito Idade ($P>0,05$). A análise de BHBA foi realizada apenas nas duas últimas semanas antes do desaleitamento, período que o consumo de concentrado inicial é significativo. Os valores observados de concentração plasmática de BHBA estão abaixo do esperado para animais com esta idade (MAGALHÃES et al., 2008; COVERDALE et al., 2004; GREENWOOD et al., 1997), indicando que os animais apesar de apresentarem consumo de concentrado adequado ao desaleitamento na oitava semana, não apresentavam o rumem com desenvolvimento adequado. Não foram encontrados dados sobre concentração plasmática de BHBA em bezerros recebendo substâncias húmicas.

Os dados das medidas morfométricas do trato digestório superior e desenvolvimento do epitélio ruminal estão apresentados na Tabela 4.5. Não foram encontradas diferenças entre os tratamentos ($P>0,05$) para o peso do trato digestório superior total, assim como para o peso de cada compartimento quando dividido em retículo-rúmen, abomaso e omaso. No entanto, a proporção dos compartimentos em relação ao trato total apresentou-se de acordo com a literatura para animais desta idade. De acordo com Quigley (1996), o retículo-rúmen de um animal de 4 semanas de vida corresponde a 60% do total dos quatro compartimentos, o abomaso a 27%, e o omaso somente a 13%. Os valores observados para as medidas morfométricas são superiores aos valores observados por Ferreira et al. (2009) fornecendo concentrados com diferentes aditivos para bezerros em fase de aleitamento. Não foram encontrados dados sobre medidas morfométricas de bezerros recebendo substâncias húmicas.

Tabela 4.5- Medidas morfométricas do trato digestório superior e medidas de desenvolvimento do epitélio do rúmen de bezerros recebendo concentrado inicial com ou sem a inclusão de substâncias húmicas

Parâmetro	Tratamento		EPM ⁽¹⁾	P< ⁽²⁾
	Controle	Substâncias húmicas		
Trato digestório Superior Total, g	1.381	1.402	55,4	0,79
retículo-rúmen, g	891,99	951,37	56,4	0,50
retículo-rúmen, %	63,20	66,29	1,45	0,19
omaso, g	199,18	218,70	44,4	0,77
omaso, %	14,30	14,65	1,95	0,91
abomaso, g	293,02	343,10	41,9	0,19
abomaso, %	22,91	24,59	1,38	0,44

⁽¹⁾EPM: erro padrão da média

⁽²⁾P: médias diferem para P<0,05

O desenvolvimento do epitélio ruminal avaliado com medidas de altura, largura e número de papilas por cm² também não foi afetado (P>0,05) pela inclusão de substâncias húmicas no concentrado inicial (Tabela 4.6). Os valores encontrados para o tamanho de papilas encontra-se inferior ao tamanho esperado para animais com 8 semanas recebendo dieta sólida. Segundo Huber (1969), animais que recebem concentrado inicial durante a fase de aleitamento apresentam papilas que atingem entre 5 a 7 mm na oitava semana de vida; entretanto, os valores observados no presente estudo foram inferiores a esta média. Do mesmo modo, Tamate et al. (1962) encontraram valores superiores para altura de papilas em bezerros com idade semelhante, avaliando diferentes dietas. Estes resultados de tamanho de papila inferior ao observado em outros estudos provavelmente se deve ao baixo consumo de concentrado inicial em resposta a alta frequência de casos de diarreia.

O desenvolvimento normal das papilas ruminais é resultado da estimulação física por alimentos sólidos e produtos da fermentação microbiana (HARRISON et al., 1960; TAMATE et al., 1962; SANDER et al., 1959). Segundo Lesmeister et al. (2004), a altura de papila pode ser a principal variável de desenvolvimento do epitélio do rúmen, sendo o fator que melhor representa a influência do tratamento no desenvolvimento ruminal.

O número de papilas por cm^2 observado foi inferior a média encontrada por Tamate et al. (1962) e por Ferreira et al. (2009). No entanto, segundo Lesmeister et al. (2004) o número de papilas por cm^2 não é um bom indicador de efeito de tratamentos, pois está sujeito a uma série de erros desde a amostragem até os métodos de contagem.

Tabela 4.6- Média das medidas morfométricas de altura, largura e número de papilas/ cm^2 de bezeros recebendo concentrado inicial com ou sem a inclusão de substâncias húmicas

Parâmetro	Tratamento		EPM ⁽¹⁾	P< ⁽²⁾
	Controle	Substâncias húmicas		
Altura de papilas, mm				
dorsal	2,64	3,05	0,22	0,547
ventral	2,62	2,94	0,13	0,091
Largura de papilas, mm				
dorsal	1,07	1,03	0,05	0,608
ventral	1,00	1,16	0,07	0,181
Número de papilas, cm^2				
dorsal	52,37	57,85	5,62	0,231
ventral	47,14	58,96	4,22	0,118

⁽¹⁾EPM: erro padrão da média

⁽²⁾P: médias diferem para $P < 0,05$

4.4 Conclusões

Não houve efeito benéfico da inclusão de substâncias húmicas no concentrado inicial de bezeros com o rúmen em desenvolvimento, seja no desempenho ou na saúde dos animais. A alta incidência de diarreias durante o estudo, provavelmente devido à inadequada colostragem, pode ter prejudicado o efeito do aditivo alternativo. Mesmo se utilizando de aditivos para controle de diarreias, a colostragem ainda é o ponto mais importante para seu controle.

Referências

- AGAZZI, A.; CIGALINO, G.; MANCIN, G.; SAVOINI, G.; DELL'ORTO, V. Effects of dietary humates on growth and an aspect of cell-mediated immune response in newborn kids. **Small Ruminant Research**, London, v.72, p. 242-245, 2007.
- AIKEN, G.R.; McKNIGHT, D.M.; WERSHAW, R.L.; McCARTHY, P. **Humic substances in soil, sediment, and water-Geochemistry, isolation, and characterization**. New York;Wiley, 1985. 692p.
- BOZKURT, S.; LUCISANO, M.; MORENO, L.; NERETNIEKS, I. Peat as a potential analogue for the long-term evolution in landfills. **Earth-Science Reviews**, Amsterdam, v. 53, p. 95-147, 2001.
- 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**, Lancaster, v.88, p. 585-594, 2005.
- 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.
- COVERDALE, J.A.; TYLER, H.D.; QUIGLEY III, J.D.; BRUMM, J.D. Effect of various levels of forage and form of diet on rumen development and growth in calves. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 87, p. 2554-2562, 2004.
- CUSAK, P.M.V. Effects of a dietary complex of humic and fulvic acids (FeedMAX 15 (TM)) on the health and production of feedlot cattle destined for the Australian domestic market. **Australian Veterinary Journal**, Cowra, v.86, n.1/2, p.46-49, 2008.
- DONOVAN, D.C.; FRANKLIN, S.T.; CHASE, C.C.L.; HIPPEN, A.R. Growth and health of Holstein calves fed milk replacers supplemented with antibiotics or enteroguard. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.85, p. 947-950, 2002.
- 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, p. 2238-2246, 2009.
- 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.

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.

HEINRICHS, A.J.; JONES, C.M.; HEINRICHS B.S. Effects of mannan oligosaccharide or antibiotics in neonatal diets on health and growth of dairy calves. **Journal Dairy Science**, Lancaster, v. 86, p. 4064-4069, 2003.

HEINRICHS, A.J.; ROGERS, O.W.; COOPER, J.B. Predicting body weight and wither height in Holstein heifers using body measurements. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.75, p.3576-3581, 1992.

HILL, S.R.; HOPKINS, B.A.; DAVIDSON, S.; BOLT, S. M.; DIAZ, D.E.; BROWNIE, C.; BROWN, T.; HUNTINGTON, G.B.; WHITLOW, L.W. The addition of cottonseed hulls to the starter and supplementation of live yeast or mannanoligosaccharide in the milk for young calves. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.92, p.790-798, 2009.

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

HUBER, J.T. Development of the digestive and metabolic apparatus of the calf. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.52, p. 1303-1315, 1969.

HUCK, T.A.; PORTER, N.; BUSHEL, M.B. Effect of humates on microbial activity. **Journal of General Microbiology**, Bethesda, v.137, p. 2321-2329, 1991.

ISLAN, K.M.S.; SCHUHMACHER, A.; GROPP, J.M. Humic acid substances in animal agriculture. **Pakistan Journal of Nutrition**, Faisalabad, v.3, p.126-134, 2005.

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

KNUDSEN, K.E.B. Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. **Animal feed Science technology**, Amsterdam, v. 67, p. 319-338, 1997.

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**, Lancaster, v. 60, n.6, p. 989-991, 1977.

LESMEISTER, K.E.; TOZER, P.R.; HEINRICHS, A.J. Development and analysis of a rumen tissue sampling procedure. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.87, p.1336-1344, 2004.

LUCCI, C.S. **Bovinos leiteiros jovens**: nutrição, manejo e doenças. São Paulo: Nobel/EDUSP, 1989. 371p.

MAGALHÃES, V.J.A.; SUSCA, F.; LIMA, F.S.; BRANCO, A.F.; YOON, I.; SANTOS, J.E.P. Effect of feeding yeast culture on performance, health, and immunocompetence of dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.91, p.1497-1509, 2008.

OWEN, F.G.; JACOBSON, N.L.; ALLEN, R.S.; HOMEYER, P.G. Nutritional factors in calf diarrhea. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.41, p. 662-670, 1958.

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

QUIGLEY III, 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**, Albany, v. 70, p. 1543-1549, 1992.

QUIGLEY III, J.D.; BERNARD, J.K.; TYBERENDT, T.L.; MARTIN, K.R. Intake, growth, and selected blood parameters in calves fed calf starter via bucket or bottle. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 77, p. 354-357, 1994.

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 mucosa in the calf. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 42, p. 1600-1605, 1959.

SAS INSTITUTE. **SAS users guide**: Statistics. version 5. Cary, 1991. 1028p.

SHAMAY, A.; WERNER, D.; MOALLEM, U.; BARASH, H.; BRUCKENTAL, I. Effect of nursing management and skeletal size at weaning on puberty, skeletal growth rate, and milk production during first lactation of dairy heifers. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 88, p.1460-1469, 2005.

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.

TERRÉ, M.; CALVO, M.A.; ADELANTADO, C.; KOCHER, A.; BACH, A. Effects of mannan oligosaccharides on performance and microorganism fecal counts of calves following an enhanced-growth feeding program. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.137, p.115-125, 2007.

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**, Lancaster, v.74, p.3583-3597, 1991.

VISEK, W.J. The mode of growth promotion by antibiotics. **Journal of Animal Science**, Albany, v.46, p.1447-1469, 1978.

WANG, Q.; CHEN, Y.J.; YOO, J.S.; KIM, H.J.; CHO, J.H.; KIM, I.H. Effects of supplemental humic substances on growth performance, blood characteristics and meat quality in finishing pigs. **Livestock Science**, Amsterdam, v.117, p. 270-274, 2008.

YASAR, S.; GOKCIMEN, A.; ALTUNTAS, I.; YODEN, Z.; PETEKKAYA, E. Performance and ileal histomorphology of rats treated with humic acid preparations. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v.86, p.257-264, 2002.