

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**ODILENE DE SOUZA TEIXEIRA**

**IDADE AO DESMAME EM BEZERROS: RESPOSTAS COMPORTAMENTAIS,  
IMUNOLÓGICAS E DE DESEMPENHO**

**Porto Alegre  
2020**

**ODILENE DE SOUZA TEIXEIRA**

**IDADE AO DESMAME EM BEZERROS: RESPOSTAS COMPORTAMENTAIS,  
IMUNOLÓGICAS E DE DESEMPENHO**

Tese apresentada como requisito para obtenção do Grau de Doutora em Zootecnia, na Faculdade de Agronomia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

**Orientador:** Prof. Dr. Júlio Otávio Jardim Barcellos  
**Coorientadora:** Dra. Maria Eugênia Andrighetto Canozzi

**Porto Alegre**  
**2020**

### CIP - Catalogação na Publicação

de Souza Teixeira, Odilene  
Idade ao desmame em bezerros: respostas  
comportamentais, imunológicas e de desempenho /  
Odilene de Souza Teixeira. -- 2020.  
133 f.  
Orientador: Júlio Otávio Jardim Barcellos.

Coorientador: Maria Eugênia Andrighetto Canozzi.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de  
Pós-Graduação em Zootecnia, Porto Alegre, BR-RS, 2020.

1. Bovinos de corte. 2. Estresse. 3. Separação  
materna. 4. Células de defesa. 5.  $\beta$ -hidroxibutirato.  
I. Jardim Barcellos, Júlio Otávio, orient. II.  
Andrighetto Canozzi, Maria Eugênia, coorient. III.  
Título.

Odilene de Souza Teixeira  
Mestra em Zootecnia

## TESE

Submetida como parte dos requisitos  
para obtenção do Grau de

### DOCTORA EM ZOOTECNIA

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia  
Faculdade de Agronomia  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovada em: 20.03.2020  
Pela Banca Examinadora



Júlio Otávio Jardim Barcellos  
PPG Zootecnia/UFRGS  
Orientador

Homologado em: 13/04/2020  
Por



DANILO PEDRO STREIT JR.  
Coordenador do Programa de  
Pós-Graduação em Zootecnia



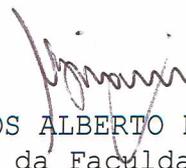
Philippe Moriel  
Universidade da Flórida



Adroaldo José Zanella  
USP



Maria José Hötzel  
UFSC



CARLOS ALBERTO BISSANI  
Diretor da Faculdade de Agronomia

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por traçar o meu caminho e às pessoas que nele encontro. À minha família que fez o impossível para que eu pudesse alcançar os meus objetivos, à minha mãe Maria, a meu pai Odilon e aos meus irmãos, Jair, Jairo e Jader. À minha família de coração, meus sogros e cunhada, que sempre me apoiaram e incentivaram nas minhas escolhas e me presentearam com a pessoa mais incrível que já conheci, meu noivo, Lucas.

Ao meu mestre e tutor, Júlio Barcellos, por acreditar e investir seu tempo na minha formação. Ao seu lado, tive inúmeras oportunidades e hoje me sinto preparada para enfrentar as próximas “iguanas”, mas agora no “mundo real”, fora da academia. Agradeço à minha coorientadora, Maria Eugênia, pois sempre esteve ao meu lado, exigindo a excelência por menores que fossem as atribuições.

Aos colegas do Núcleo de Estudos em Sistemas de Produção de Bovinos de Corte e Cadeia Produtiva (NESPro), que auxiliaram nas infinitas atribuições do experimento de doutorado, em especial à Marcela e à Antônia. Serei eternamente grata à equipe, pois essa conquista não é fruto somente do meu esforço. Ao apoio recebido da direção da Estação Experimental da UFRGS, representada pelo Prof. Dr. Rafael Dionello, juntamente com sua equipe, que nos receberam e abriram as portas para que o experimento fosse realizado com excelência.

Aos órgãos de fomento à pesquisa, a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do RS (FAPERGS) e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), os quais financiaram o nosso projeto de pesquisa, e este último pela concessão da bolsa de doutorado, bem como, à empresa Puro Trato que subsidiou parte dos custos referente à alimentação dos bezerros.

Enfim, muitas pessoas não foram mencionadas, mas elas sabem que ajudaram a construir o meu caminho, seja por meio de uma palavra, de um gesto carinhoso, de uma oração ou através de pensamentos positivos. Por isso, a minha gratidão será eterna a todos que acreditaram em mim e nos pequenos detalhes me auxiliaram a chegar até aqui.

Muito obrigada!

# IDADE AO DESMAME EM BEZERROS: RESPOSTAS COMPORTAMENTAIS, IMUNOLÓGICAS E DE DESEMPENHO<sup>1</sup>

Autora: MSc. Odilene de Souza Teixeira

Orientador: Dr. Júlio Otávio Jardim Barcellos

Coorientadora: Dra. Maria Eugênia Andrighetto Canozzi

## RESUMO

O desmame em bovinos de corte tem sido alvo de preocupação entre os agentes dessa cadeia produtiva, principalmente, quando a técnica é aprimorada para idades mais precoces à separação. Dessa forma, estudaram-se os efeitos do estresse em bezerros de corte, em três idades ao desmame, sob as respostas comportamentais, fisiológicas e de desempenho. Para tanto, 64 bezerros (36 machos e 29 fêmeas) da raça Brangus foram desmamados e submetidos em 1 de 3 momentos de desmame: (i) hiperprecoce (W30) aos  $32 \pm 0,89$  dias de idade (média  $\pm$  EP); (ii) precoce (W75) aos  $77 \pm 0,95$  dias de idade (média  $\pm$  EP), e; (iii) convencional (W180) aos  $183 \pm 0,82$  dias de idade (média  $\pm$  EP). Os comportamentos foram avaliados e os parâmetros fisiológicos foram mensurados nos dias 0, 1, 2 e 7 após os desmames. Além disso, acompanhou-se o desempenho e o crescimento dos bezerros até os 190 dias de idade. Os resultados sustentam que quanto mais cedo ocorrer o desmame, maiores foram as evidências de estresse nos bezerros, as quais estão relacionadas, principalmente, aos primeiros momentos após o desmame (dia 0 e 1). Essas são determinadas pelo aumento de vocalizações, de sucções cruzadas, da frequência em caminhar e das concentrações de fibrinogênio e cortisol ( $P < 0,05$ ). Em termos imunológicos, observaram-se que os animais W30 e W75 apresentaram neutrofilia e linfopenia, que induziram ao aumento da relação de Neutrófilo:Linfócito. Diante das implicações comportamentais e fisiológicas, os bezerros W30 perderam peso nos 10 primeiros dias após o desmame ( $-0,04 \pm 0,06$  kg/d), comparado com W75 ( $0,56 \pm 0,06$  kg/d) e W180 ( $0,50 \pm 0,05$  kg/d). Consequentemente, após seis semanas do desmame, os animais W30 demonstraram o menor desenvolvimento e crescimento. No entanto, essas diferenças foram parcialmente recuperadas entre os 85-190 dias, possivelmente devido à adaptação e eficiência do trato gastrointestinal, demarcados por altos níveis de  $\beta$ -hidroxibutirato. Portanto, a adoção do desmame aos 30 dias de idade deve ser realizada com precaução, pois verifica-se alterações nos aspectos comportamentais e fisiológicos, com consequências negativas no desempenho.

**Palavras-chave:** bovinos de corte, cortisol, separação materna,  $\beta$ -hidroxibutirato

---

<sup>1</sup>Tese de Doutorado em Zootecnia – Produção Animal, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (133 p.) Março, 2020.

## WEANING AGE IN CALVES: BEHAVIORAL, IMMUNOLOGICAL AND PERFORMANCE EFFECTS<sup>2</sup>

Author: MSc. Odilene de Souza Teixeira

Advisor: Dr. Júlio Otávio Jardim Barcellos

Co-Advisor: Dra. Maria Eugênia Andrighetto Canozzi

### ABSTRACT

Weaning in beef cattle has been a concern among for cow-calf systems, especially when the technique is implemented at earlier calf age. Thus, this study evaluated the effects of stress on behavioral, physiological and performance parameters of beef calves weaned at different ages. Therefore, 64 Brangus calves (36 males and 29 females) were weaned and allotted into 1 of 3 treatments: (i) hyper early weaning (W30) at  $32 \pm 0.89$  days of age (mean  $\pm$  SE); (ii) early weaning (W75) at  $77 \pm 0.95$  days of age, and; (iii) conventional weaning (W180) at  $183 \pm 0.82$  days of age. The behaviors were assessed, and physiological parameters were analyzed on days 0, 1, 2 and 7 after weaning. In addition, calf growth performance was evaluated until 190 days of age. Calves weaned at earlier ages showed higher stress levels mainly during the first days after separation (day 0 and 1). Characterized by vocalizations, cross-sucking, walking frequency and plasma concentrations of fibrinogen and cortisol ( $P < 0.05$ ). Calves assigned to W30 and W75 treatments demonstrated neutrophilia and lymphopenia, which induced the ratio of Neutrophil: Lymphocyte. Also, W30 calves lost body weight in the first 10 days after weaning ( $-0.04 \pm 0.06$  kg/d) compared to W75 ( $0.56 \pm 0.06$  kg/d) and W180 calves ( $0.50 \pm 0.05$  kg/d). Consequently, W30 calves showed less growth performance after six weeks of weaning. However, these differences in body weight were partially compensated between 85-190 days, due to the adaptation and efficiency of the gastrointestinal tract, marked by high levels of  $\beta$ -hydroxybutyrate. Therefore, the adoption of calf weaning at 30 days of age should be carried out with caution, as changes to behavioral and physiological aspects and negative consequences to growth were observed.

**Keywords:** beef cattle, cortisol, maternal separation,  $\beta$ -hydroxybutyrate

---

<sup>2</sup>Doctoral thesis in Animal Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (133 p.) March, 2020.

## SUMÁRIO

CAPÍTULO I .....	13
1. INTRODUÇÃO .....	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	16
2.1 Prática de desmame em bovinos .....	16
2.1.1 Desmame hiperprecoce .....	19
2.2 Desmame e comportamento em bezerros .....	21
2.2.1 Estresse do desmame.....	24
2.3 Evolução do sistema imunológico em bezerros .....	25
2.3.1 Transferência de imunidade da vaca para o bezerro .....	25
2.3.2 Imunidade inata e adquirida .....	27
2.4. Desenvolvimento do sistema digestivo em bovinos .....	31
3. HIPÓTESES E OBJETIVOS .....	35
CAPÍTULO II .....	36
Idade ao desmame em bovinos de corte: influências no comportamento e nos parâmetros fisiológicos .....	37
1. Introdução .....	39
2. Material e métodos.....	40
3. Resultados .....	46
4. Discussão.....	57
5. Conclusões .....	63
Referências.....	64
CAPÍTULO III .....	72
Desmame aos 30, 75 e 180 dias: comparação entre respostas imunológicas de bezerros de corte .....	73
1. Introdução .....	75
2. Material e métodos.....	76
3. Resultados .....	80
4. Discussão.....	86
5. Conclusões .....	91
Referências.....	92
CAPÍTULO IV .....	98
Impacto de três idades ao desmame sob o desenvolvimento e crescimento em bezerros de corte .....	99

1. Introdução .....	101
2. Material e métodos.....	101
3. Resultados .....	105
4. Discussão.....	109
5. Conclusões .....	112
Referências.....	113
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	118
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	120
APÊNDICES.....	131
Apêndice 1 – Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) .....	132
6. VITA .....	133

## LISTA DE TABELAS

### **CAPÍTULO I**

Tabela 1 Descrição das atividades comportamentais analisadas e a metodologia utilizada .....44

### **CAPÍTULO IV**

Tabela 1 Composição bromatológica das rações utilizadas no desmame. .... 103

Tabela 2 Média ( $\pm$ EP) das medidas de crescimento (cm) de bezerros desmamados.  
..... 108

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

FIGURA 1: Fatores relacionados com a reprodução em fêmeas bovinas.....	16
FIGURA 2: Indução da resposta de proteínas de fase aguda em animais estressados. .....	30
FIGURA 3: Aspectos do sistema imunológico e digestivo em bezerros. ....	34

### CAPÍTULO II

Fig. 1. Esquema gráfico das instalações experimentais.....	42
Fig. 2. Ordenação de correspondência canônica dos dados comparando os diferentes tratamentos (W30, W75 e W180), a partir da análise dos fatores comportamentais e fisiológicos em todos os dias avaliados (days 0, 1, 2 e 7). ....	47
Fig. 3. Ordenação de correspondência canônica dos dados de cada tratamento (W30, W75, W180) entre os dias observados (0, 1, 2 e 7).. ....	48
Fig. 4. Evolução das atividades comportamentais de bezerros desmamados em diferentes idades (percentagem das observações $\pm$ erro-padrão da média).....	49
Fig. 5. Efeito do tratamento e do dia de avaliação nos tipos de vocalizações por bezerros de corte submetidos a três idades aos desmame.. ....	53
Fig. 6. Efeito da idade ao desmame de bezerros no número de sucções cruzadas. ....	54
Fig. 7. Efeito do tratamento e do dia nos parâmetros fisiológicos de bezerros desmamados com diferentes idades. ....	56
Fig. 8. Evolução dos parâmetros sanguíneos de bezerros desmamados em diferentes idades.....	57

### CAPÍTULO III

Fig. 1. Representação gráfica do confinamento dos bezerros. ....	77
Fig. 2. Manejo nutricional dos bezerros.....	78
Fig. 3. Gráfico do componente principal 1 (PC1) versus 2 (PC2).....	81
Fig. 4. Efeito da idade ao desmame sob os parâmetros fisiológicos em bezerros de corte. ....	82
Fig. 5. Parâmetros hematológicos de bezerros desmamados em diferentes idades ao longo do tempo.....	83
Fig. 6. Efeito do sexo do bezerro na percentagem de linfócitos, neutrófilos e na relação N:L.....	84
Fig. 7. Efeito da idade ao desmame em bezerros de corte sob os parâmetros hematológicos RBC, HGB, MCV, MCHC, WBC e HCT ao longo do tempo. ....	86

## **CAPÍTULO IV**

Fig. 1. Manejo nutricional pré e pós desmame dos bezerros. ....	103
Fig. 2. Peso médio de bezerros de corte desmamados com diferentes idades. ....	106
Fig. 3. Ganho médio diário de peso em bezerros de corte desmamados com diferentes idades.....	107
Fig. 4. Média do $\beta$ -hidroxibutirato em bezerros de corte desmamados com diferentes idades.....	109
Fig. 5. Níveis de cortisol após o desmame ( <i>Day 0</i> = dia do desmame).....	111

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

CCA – Análise de Componentes Canônicos

CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais

CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

D – Dia

EP – Erro-Padrão

FAPERGS – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul

FB – Fibra Bruta

GMD – Ganho Médio Diário

Ha – Hectare

HCT – Hematócrito

HGB – Hemoglobina

ITU – Índice de Temperatura e Umidade

MCHC – Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration

MCV – Mean Corpuscular Volume

MS – Matéria Seca

N:L – Relação de Neutrófilo:Linfócito

NDT – Nutrientes Digestíveis Totais

NESPro – Núcleo de Estudos em Sistemas de Produção de Bovinos de Corte e Cadeia Produtiva

PB – Proteína Bruta

PC – Peso Corporal

PC1 – Componente Principal 1

PC2 – Componente Principal 2

PV – Peso Vivo

RBC – Red Blood Cell

SAA – Soro Amiloide A

UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

W180 – Desmame Convencional

W30 – Desmame Hiperprecoce

W75 – Desmame Precoce

WBC – White Blood Cell

$\beta$ HBA –  $\beta$ -hidroxibutirato

## **CAPÍTULO I**

## 1. INTRODUÇÃO

Em bovinos de corte, a eficiência reprodutiva no sistema de cria é um indicador de produção essencial, que pode ser mensurado pela taxa de prenhez (Burns et al., 2010). No entanto, apresenta-se baixo no Brasil, correspondendo a cerca de 60% (Anualpec, 2015). Nesse contexto, o desmame, momento em que os animais são separados de suas progenitoras (Latham; Mason, 2008), é considerado como uma das principais tecnologias de manejo, utilizada para melhorar a eficiência em rebanhos com deficiências nutricionais. Isso se justifica porque através da interrupção da produção de leite, a vaca recupera a condição corporal e prepara-se para a próxima gestação (Rovira, 1973; Vaz; Lobato, 2010a).

Entre as idades ao desmame em bezerros de corte, tem-se a convencional, realizada entre seis a sete meses de vida do animal (Enríquez et al., 2010). No entanto, em sistemas mais intensivos adotam-se desmames em idades mais antecipadas, como a separação da vaca e do bezerro aos 90 dias após o nascimento. Essa prática é conhecida como desmame precoce, comparada ao desmame convencional, resulta em incremento na taxa de prenhez (Restle et al., 2001). Na Argentina, pesquisadores estudaram o desmame hiperprecoce, no qual a separação ocorre aos 30 dias de idade do bezerro (Monje et al., 2004; Otero et al., 2008), tecnologia que não é utilizada no Brasil. A idade ao desmame influencia a dependência nutricional e social do bezerro pela mãe. Assim animais desmamados aos quatro meses de idade demonstram piores condições de bem-estar quando comparados aqueles desmamados aos sete meses (Smith et al., 2003), visto que, além da separação, passam pela transição do alimento líquido para o sólido e são submetidos a troca de ambiente (Enríquez et al., 2011).

O desmame envolve vários estressores para os bezerros, podendo ocasionar alterações comportamentais, fisiológicas e nutricionais, que constituem uma preocupação para o bem-estar (Weary et al., 2008; Lynch et al., 2010; Pérez-Torres et al., 2016). Desse modo, as alterações imunológicas decorrentes do estresse pós-desmame podem resultar em modificações nas células de defesa (O'Loughlin et al., 2014). Já as mudanças do sistema gastrointestinal dos bezerros ocorrem no momento de troca do alimento líquido para o sólido (Meale et al., 2016), sobretudo considerando o desmame em bezerros jovens.

A separação precoce entre vaca e bezerro, na bovinocultura leiteira, gera

controvérsias na percepção de cidadãos norte-americanos (Ventura et al., 2013), e apresenta baixas pontuações para o bem-estar animal, principalmente, quando não existe conhecimento prévio das pessoas sobre a realização dessa prática (Ventura et al., 2016a). Assim, a temática de bem-estar animal está sendo criteriosamente analisada por especialistas em produção animal (Ventura et al., 2016b). Nesse sentido, a adoção da técnica de desmame em idades muito jovens (hiperprecoce) na pecuária de corte, igualmente tende enfrentar desafios quanto a sua aplicação, tanto técnico quanto de aceitação pelos consumidores, haja visto que ocorre em um momento crítico da vida do bezerro. Diante disso, existe a necessidade de uma investigação integrando os aspectos comportamentais, o sistema imunológico e o desenvolvimento de bezerros desmamados aos 30 dias de idade em comparação com o desmame precoce (75 dias) e o convencional (180 dias).

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Prática de desmame em bovinos

A produção de bovinos no Brasil é caracterizada pelo sistema extensivo, com uso de grandes extensões de terras, na qual os bovinos permanecem em pastagem natural o ano todo, com pouca ou nenhuma suplementação (Dick et al., 2015). No entanto, esse sistema de produção está passando por uma forte pressão, pois, entre 1975 a 2005, no Rio Grande do Sul, houve uma queda de 26% na área de pastagens naturais devido a conversão para a exploração de outras atividades agrícolas (Oliveira et al., 2017). Dessa forma, as áreas menos favoráveis, que não são apropriadas para a agricultura, estão sendo destinadas à pecuária de corte, principalmente aos sistemas de cria.

Nesse cenário, a produção de bovinos, em especial o rebanho de cria, poderá ser prejudicada (Calegare et al., 2010). Para contornar essa adversidade, os incrementos nas taxas reprodutivas podem ser alcançados por meio da aplicação de práticas de manejos mais eficientes (Gottschall et al., 2007). As características reprodutivas possuem baixa herdabilidade, logo os fatores ambientais podem melhorar a eficiência biológica da vaca (Figura 1), como a adoção da técnica de desmame, caracterizada como o momento de separação entre o par vaca-bezerro (Latham; Mason, 2008).

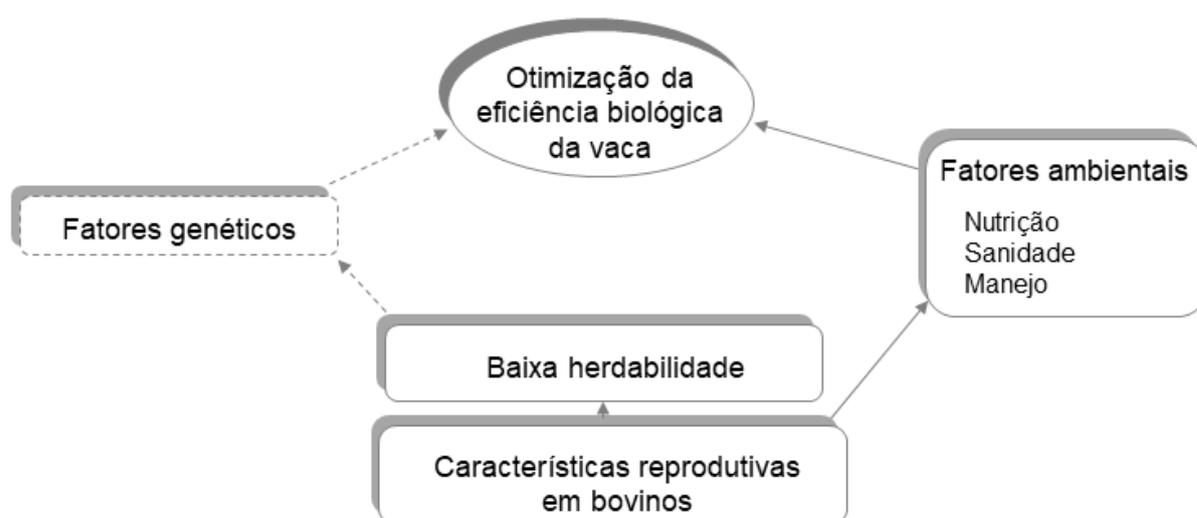


FIGURA 1: Fatores relacionados com a reprodução em fêmeas bovinas.

Fonte: Adaptada de Haddad e Mendes (2010).

O desmame busca otimizar a eficiência biológica das vacas, pois o anestro pós-parto é influenciado, essencialmente, pela amamentação e nutrição (Short et al., 1990). Em termos nutricionais, o uso de energia pelo organismo da vaca obedece uma ordem de importância, a qual primeiro atende as condições vitalícias e posteriormente aos aspectos reprodutivos (Short; Adams, 1988). Desse modo, vacas em condições nutricionais deficitárias, podem apresentar um prolongamento superior a 100 dias de anestro (Williams, 1990). Além da questão nutricional, a amamentação ocasiona falhas dos impulsos do hormônio luteinizante, que é responsável pela ovulação. Isso ocorre através de sinalizações negativas do estradiol-17 $\beta$  ao hormônio liberador de gonadotrofina e, conseqüentemente, promove o prolongamento do anestro pós-parto (Yavas; Walton, 2000). Outros hormônios também são responsáveis pela preservação do vínculo materno, como ocitocina, prolactina e dopamina, por exemplo (Newberry; Swanson, 2008).

Nessa perspectiva, o desmame dos bezerros pode evitar os efeitos negativos e incrementar a eficiência reprodutiva de vacas. Portanto, a idade ao desmame deve ser avaliado: geralmente, quanto mais cedo o bezerro é retirado da vaca, maiores são as melhorias nas variáveis reprodutivas (Rovira, 1973). No Brasil, o desmame convencional é realizado em bezerros com, aproximadamente, sete meses de idade (Vaz; Lobato, 2010a). Esse tipo de desmame é recomendado para vacas com excelentes condições nutricionais (Gottschall, 2002), visto que nessas circunstâncias, a alimentação deixa de se configurar como limitadora de novas concepções. Já o desmame intermediário é realizado entre cinco a seis meses de idade, com o objetivo de fornecer ao bezerro e à vaca alimento de melhor qualidade antes de período críticos nutricionalmente, como o inverno ou a estação seca, por exemplo (Gottschall, 2009).

As diferentes idades ao desmame mencionadas influenciam as taxas reprodutivas das fêmeas bovinas na estação de monta subsequente, visto que os bezerros são separados das vacas após a retirada dos touros do rebanho de cria. Já os outros tipos de desmames, que serão citados, ocorrem durante a estação de monta, o que possibilita que influenciem nas taxas reprodutivas da referida estação. Para exemplificar, tem-se o desmame precoce realizado quando o bezerro apresenta cerca de dois meses de idade. Logo, esse desmame ocorre ainda durante a estação reprodutiva, o que oportuniza um período mais longo à recuperação da vaca para uma nova concepção (Bonatti et al., 1995; Bavera et al., 1997; Restle et al., 2001;

Gottschall, 2002; Monje, 2003; Cattelam, 2014).

Segundo Fagundes et al. (2003), as vacas primíparas expostas ao desmame precoce aos três meses de idade tiveram maior peso e condição corporal que aquelas submetidas ao desmame convencional aos sete meses. Visto que a exigência nutricional de uma vaca não lactante é inferior ao de uma fêmea bovina em lactação (NRC, 1996). Da mesma forma, as vacas (3 a 12 anos) que foram suplementadas e desterнейradas aos 42 dias apresentaram diminuição de 17 dias (367,5 *versus* 384,7 dias, respectivamente) no intervalo de partos, quando comparadas às não suplementadas e desmamadas aos 63 dias (Cerdótes et al., 2004).

Em termos de ganho de peso, os pesquisadores avaliaram que, vacas (primíparas e múltiparas) submetidas ao desmame precoce (80 dias) e expostas à monta natural, obtiveram ganho de peso de 0,13 kg/dia, enquanto as vacas do desmame convencional (aproximadamente aos 210 dias) perderam em média 0,43 kg/dia durante os 133 dias (diferença de dias entre o desmame precoce e o convencional), o que refletiu no aumento de uma unidade no escore de condição corporal das vacas do desmame precoce (Waterman et al., 2012a). Portanto, fica evidenciado que uma das vantagens que promove o interesse pela prática do desmame antecipado dos bezerros consiste na recuperação da condição corporal da fêmea bovina.

Outro benefício do desmame refere-se ao bezerro, para o qual a oferta de um alimento diferenciado no período pós-desmame prepara-o para a recria. Nesse sentido, o leite proporciona a quantidade de energia para as exigências de manutenção e o ganho de peso dos bezerros, nos dois primeiros meses do lactente e, fornece energia para manutenção até o quarto mês de vida (Pimentel et al., 2006). Se esse bezerro continuar junto com a vaca nos meses subsequentes, será necessário adicionar uma suplementação proveniente de alimentos de excelente qualidade nutricional, como o uso da técnica de *creep feeding*, para otimizar o crescimento animal (Carvalho et al., 2019). A nutrição de bezerros em idades jovens se concentra na provisão de energia e proteína adequada, principalmente para o desenvolvimento do sistema ósseo e muscular, sendo que falhas, nesse momento, podem comprometer o crescimento do animal (Drackley, 2008).

Para as bezerras da raça Braford, mantidas em pastagem cultivada de verão e depois de inverno, o desenvolvimento reprodutivo não é prejudicado com o desmame antecipado, pois, quando desmamadas aos 77 dias de idade, não diferem

em peso e condição corporal daquelas desmamadas aos 147 dias, o que torna possível o acasalamento entre os 13 e 15 meses de idade (Vaz; Lobato, 2010b). Waterman et al. (2012b) analisaram o desempenho de bezerras, submetidas ao desmame convencional (aproximadamente aos 213 dias) e desmame precoce (aproximadamente aos 80 dias), sendo este último grupo designado a dois tipos de dietas (68,7% ou 57,3% de proteína degradável no rúmen). No entanto, a nutrição não ocasionou mudanças no ganho de peso, mas os dois grupos do desmame precoce obtiveram aumento de 14 kg, durante o período de 133 dias (diferença de idades entre os desmame precoce e convencional). Já para os bezerros machos submetidos ao mesmo protocolo de desmame e nutrição, observou-se ganho de peso de 18,9 kg para os animais desmamados precocemente em comparação com a prática convencional, no intervalo dos 133 dias de idade, com aumento no peso de carcaça quente (354,0 kg versus 362,5 kg, respectivamente) (Waterman et al., 2012c).

Além da técnica do desmame precoce em bezerros, existe outra prática de manejo utilizada na Argentina, a qual consiste na separação mais precoce da vaca e do bezerro, aos 30 dias de idade (Fornieles; Gil, 2012). Essa técnica é conhecida como desmame hiperprecoce e as vantagens e desafios serão descritas no próximo tópico.

### **2.1.1 Desmame hiperprecoce**

Os pesquisadores argentinos indicam que a prática do desmame antecipado deve ser incluída no manejo de produção de bovinos, como ferramenta para melhorar a eficiência reprodutiva da vaca (Otero et al., 2008), principalmente para vacas primíparas ou vacas que vão parir no final da estação de parição (Monje; Vittone, 2005). Esse manejo é recomendado devido aos baixos índices reprodutivos, pois a taxa de natalidade é baixa (60%) (Conti et al., 2007) e os campos possuem alta lotação, o que reduz a oferta forrageira e, conseqüentemente, prolonga o anestro pós-parto (Kugler et al., 2008). Ainda, pode proporcionar aumento de 50% na taxa de lotação em pastagem natural (Monje, 2003).

O desmame precoce (geralmente, entre 60 e 90 dias de idade) não é uma técnica nova na Argentina. O primeiro experimento conduzido no país ocorreu em 1971, com o desmame aos 60 dias de idade. Na ocasião superou-se uma das principais barreiras a esse tipo de manejo, que se refere a nutrição do bezerro no pós-

desmame (Monje, 2003). No entanto, o desmame hiperprecoce, com separação aos 30 dias, constitui-se uma nova ferramenta de manejo do rebanho de cria (Galli et al., 2005a), sendo uma particularidade da Argentina. Essa técnica, é utilizada para intensificar a produção ou, em casos emergenciais, quando as vacas apresentam baixa condição corporal pós-parto e baixa produção de leite e, por isso, há a necessidade da retirada dos bezerros para garantir a sobrevivência tanto da vaca quanto do próprio bezerro. Para aplicação no Brasil, essa prática de manejo precisa ser estudada de forma sistemática, haja visto que, exige maior conhecimento técnico do que o desmame em idades mais tardias. Práticas de desmame antes ou durante o momento definido como período de monta são escassamente praticadas, sendo consideradas estratégias para a recuperação rápida da vaca (Rasby, 2007). Além disso, essas técnicas mais precoces apresentam altas estimativas de risco quanto a sua adoção para otimizar a taxa de prenhez (Oliveira et al., 2018).

Segundo Otero et al. (2008), o desmame hiperprecoce é um manejo que reduz o período de aciclicidade estral da vaca, pois evita a instabilidade no balanço energético no pós-parto. Também retorna, de forma mais eficiente, a atividade ovariana, otimizando os índices reprodutivos. Essa afirmação foi confirmada por Conti et al. (2007), que verificaram taxa de prenhez de 100% para vacas multíparas submetidas ao desmame hiperprecoce (25 a 44 dias), sendo que 75% dessa taxa foi alcançada no início e no meio do período de monta, ao passo que vacas que permaneceram com os bezerros demonstraram taxa de prenhez de 59% e concentrações de prenhez no final do período. Da mesma forma, Bavera et al. (1997) avaliaram, por três anos, a influência do desmame precoce e convencional (180 dias de idade) e encontram melhor condição corporal (média dos três anos, 3,52 versus 2,90, respectivamente), maior peso corporal das vacas (406,5 kg versus 376,2 kg, respectivamente) e maior taxa de prenhez (97,7% versus 90,6%) em vacas submetidas ao desmame aos 45 dias, com uma evolução similar no peso dos bezerros.

No entanto, Coppo (2007) comparou o desmame precoce (60 dias) com bezerros não desmamados (desmame convencional) e encontrou ganho médio diário mais baixo para o desmame antecipado (513g/d) do que aqueles que recebiam leite (666 g/d), com diferença de 19,3 kg, ao final de 120 dias de avaliação. O autor concluiu que o desmame precoce não alterou os indicadores de estresse (cortisol e leucócitos, por exemplo) nos bezerros, mas provocou um estado de subnutrição (diminuição nas

concentrações de proteínas e triglicerídeos, por exemplo) em condições de pastagem natural e suplementação com média de oferta entre 0,7 a 1,5% do peso vivo. Diante disso, Rasby (2007) ressalta a importância da nutrição, pois se os bezerros do desmame precoce forem alimentados com uma dieta equilibrada, obterão ganho médio diário igual ou superior aos bezerros que permanecem com a mãe.

Com isso, o desmame deve ser realizado apenas quando for possível investir na oferta de alimentos que atendam às necessidades nutricionais dos bezerros. Caso contrário, deve-se optar pelo desmame seletivo, escolhendo as vacas com baixo escore de condição corporal para serem submetidas a essa técnica (Galli et al., 2005b). Nesse contexto, fica evidente que o desmame em idades muito precoce otimiza os índices reprodutivos, apesar de criar um desafio para o desenvolvimento do bezerro, o que requer uma avaliação criteriosa.

## **2.2 Desmame e comportamento em bezerros**

No desmame natural, sem interferência humana, a separação progride lentamente, com diminuição no consumo de leite e, conseqüentemente, maior independência nutricional do bezerro (Weary et al., 2008). No entanto, em sistemas não naturais, o rompimento do laço afetivo do animal com a mãe ocorre de forma abrupta, antes do tempo de desmame natural, que para bovinos corresponde aos dez meses de idade (Reinhardt; Reinhardt, 1981; Newberry; Swanson, 2008). Além da separação física entre mãe e bezerro, ocorre a transição rápida do alimento líquido para o sólido, as mudanças no ambiente (Price et al., 2003), a exposição ao contato frequente do bezerro com o ser humano (Latham; Manson, 2008) e, ainda, a possível mistura entre animais de diferentes grupos sociais (Lynch et al., 2019).

Em espécies que vivem em rebanho e possuem alta longevidade, como os bovinos, os efeitos da separação e interrupção do contato social podem gerar desafios em termos psicológicos, advindos do sofrimento no pós-desmame (Newberry; Swanson, 2008). Em bezerros de leite, privados dos cuidados maternos nos primeiros quatro dias após o nascimento, observa-se menor atividade de brincadeira e menor peso, o que pressupõe maior comprometimento do bem-estar desses animais quando comparados aos que permaneceram com as mães (Valníčková et al., 2015). Além disso, bezerros de corte mais pesados tendem a sofrer mais no momento do desmame, visto que são mais dependentes de suas mães, pois recebem maior

quantidade de leite (Stěhulová et al., 2017). Corroborando com esse achado, Johnsen et al. (2018), evidenciaram que quando os bezerros de leite são menos dependentes nutricionalmente da mãe, mostram respostas reduzidas de vocalização à separação materna.

O uso do método de desmame em duas etapas, no qual em um primeiro momento o bezerro permanece com a mãe, mas é impedido de mamar e posteriormente há a separação definitiva da mãe, demonstra-se eficiente quanto a diminuição de comportamentos como vocalização e locomoção. Mas, não impactou as respostas em termos de taxa de crescimento ao final do experimento, quando comparado ao desmame abrupto (Haley et al., 2005). Mesmo assim, Lynch et al. (2010) enfatizam que o desmame abrupto é considerado uma fonte altamente estressante para os bezerros. Os estressores podem ser definidos como os fatores que alteram o equilíbrio ou os ritmos regulatórios normais (homeostase) e caracterizam-se por estímulos psicológicos, ambientais e fisiológicos (Peterson et al., 1991).

A resposta ao estresse pode ser dividida: i) reconhecimento de um estressor no qual o sistema nervoso central reconhece possíveis ameaças à homeostase; ii) defesa biológica contra o estressor: o sistema nervoso central percebe uma ameaça e desenvolve uma resposta que consiste na combinação de quatro defesas - resposta comportamental, resposta do sistema neuroendócrino, resposta do sistema nervoso autônomo e resposta do sistema imunológico; iii) consequências da resposta ao estresse: quando a resposta ao estresse altera a função biológica dos mecanismos de controle e torna-se um perigo à saúde do animal (Moberg, 2000). Segundo esse pesquisador, o mesmo estressor pode ser entendido de forma diferente pelo animal, o que vai depender de suas experiências prévias, idade, genética e estado fisiológico.

Dessa forma, as novas situações desafiadoras, vivenciadas pelos bezerros durante o desmame podem implicar alterações comportamentais, principalmente nos primeiros dias do manejo. Nesse sentido, as observações de bezerros Brahman, separados temporariamente por 24h, 48h ou 72h aos 25 ou 45 dias pós-nascimento, demonstraram que o vínculo entre a mãe e o bezerro foi progressivamente enfraquecendo com o tempo (Pérez-Torres, 2016). Uma das alterações observadas constatadas por esses pesquisadores, refere-se à diminuição de vocalizações à medida que o tempo de separação aumentava. A comunicação acústica é considerada como um indicador de angústia e fome durante o desmame de bezerros

(Weary et al., 2008; Stěhulová et al., 2017). Além disso, a comunicação entre a vaca e o bezerro é de grande relevância no reconhecimento entre os pares e como forma de requerer ajuda quando o bezerro se sente ameaçado. Além disso, as respostas às vocalizações são influenciadas pela idade dos bezerros – vacas são mais propensas a responderem a seus bezerros quanto mais jovem eles forem (Padilla de la Torre et al., 2016) – pelo sexo do bezerro – fêmeas vocalizam duas vezes mais que os machos, durante o desmame (Stěhulová et al., 2017).

Orihuela et al. (2004), ao analisarem diferentes manejos de restrição de amamentação em cordeiros, observaram menor vocalização em cordeiros mantidos com suas mães em comparação com animais desmamados. Em bovinos leiteiros, com bezerros desmamados aos 14<sup>o</sup> dias de idade, observou-se um aumento de vocalizações das vacas e bezerros, principalmente, no período inicial, com o pico ocorrendo 18 e 24 horas após o desmame quando comparado a separação no 1<sup>o</sup> dia pós-nascimento (Flower; Weary, 2001). Price et al. (2003) avaliaram estratégias de desmame em bezerros e verificaram maior frequência de vocalização em bezerros mantidos totalmente separados das mães em comparação com os não separados ou separados por uma cerca. Esses resultados corroboram com Budzynska e Weary (2008) que, ao avaliaram bezerros de leite desmamados abruptamente (retirada do sistema de fornecimento do leite) aos 45 dias de idade, constataram aumento no número de vocalização no segundo dia do desmame, com frequência média de 200 vocalizações/hora.

Além disso, são observadas alterações no comportamento ingestivo durante o momento do desmame abrupto no pasto comparado a bezerros não desmamados, no qual houve aumento de caminhada e, em contrapartida, redução do tempo de alimentação e do tempo deitado (Price et al., 2003). As alterações no comportamento ingestivo, conforme Rasby (2007), refletem o estado de saúde dos bezerros, pois animais que começam a ingerir ração após a separação de suas mães têm menores incidências de mortalidade do que os bezerros que não consomem até às 48 horas.

Durante ou após o desmame, também pode-se observar o desenvolvimento de comportamentos estereotipados, que são comportamentos repetitivos e aparentam, não possuir nenhuma finalidade (Mason, 1991). A separação precoce da mãe pode causar o surgimento desse tipo de comportamento devido a motivações frustradas para mamar ou ter contato físico com a mãe, sugerindo possível comprometimento do bem-estar (Latham; Manson, 2008). Fröberg et al. (2008)

avaliaram o comportamento de bezerros de leite, filhos de vacas com aptidão para produção de leite em dois manejos de criação, com aleitamento restrito e artificial, e identificaram que, neste último, houve maior comportamento de sucção cruzada e lambedura de objetos. A sucção cruzada também foi observada por Margerison et al. (2003), que identificaram que bezerros criados artificialmente dirigiam 78% das sucções para a região inguinal de outros bezerros, especialmente ao escroto de bezerros machos e aos tetos posteriores de bezerras.

### **2.2.1 Estresse do desmame**

A prática do desmame em bovinos de corte pode resultar em estresse prolongado e, conseqüentemente, comprometimento do bem-estar desses animais, o que pode ser avaliado por meio de vários indicadores. A maioria das pesquisas desenvolvidas para averiguar o bem-estar dos bezerros durante as práticas de manejo utilizam a concentração de glicocorticoide como indicador (Grupta et al., 2007; Carroll et al., 2009; Veissier et al., 2013). O cortisol modula a resposta ao estresse a nível molecular, inibindo as funções das células inflamatórias predominantemente mediadas pela inibição de citocinas (O'Connor et al., 2000). Os aumentos do cortisol e das catecolaminas associados ao estresse são, geralmente, considerados responsáveis pelas alterações no sistema imunológico (Glaser; Kiecolt-Glaser, 2005; Riondato et al., 2008).

O aumento do nível de cortisol foi averiguado por Pérez-Torres (2016) em bezerros desmamados temporariamente: sendo que houve uma tendência de maior concentração para os bezerros mais jovem. Similarmente, Hickey et al. (2003) identificaram aumento da concentração de noradrenalina em bezerros desmamados de forma abrupta. Os pesquisadores Lefcourt e Elsasser (1995) mediram as concentrações de catecolaminas em vacas e bezerros que foram isolados e, depois de um tempo, voltaram a reunir os animais. Verificaram que, no período de isolamento, a adrenalina aumentou nas vacas e bezerros e, a noradrenalina elevou nos bezerros, porém, após o reencontro, as concentrações diminuíram, comprovando o estresse sofrido pelo par vaca-bezerro. Logo, o desmame também representa uma fonte de estresse para a vaca de corte, sendo que a magnitude pode depender de fatores como: idade do bezerro no desmame, ganho do peso do bezerro e paridade (Stěhulová et al., 2017).

As avaliações do estado emocional dos animais envolvem o entendimento de aspectos biológicos e comportamentais, e mais recentemente, cognitivos (Paul et al., 2005). Os aspectos cognitivos durante a separação entre o par vaca-bezerro foram estudados por Daros et al. (2014), que treinaram os bezerros antes do desmame a se aproximarem de uma tela, onde poderiam aparecer duas cores: quando a cor branca aparecia, os bezerros poderiam se aproximar e recebiam recompensa (alimento); quando a cor vermelha era projetada, caso se aproximassem, recebiam punição (não recebiam o alimento). Após o desmame, aos 42 dias, os pesquisadores observaram que os bezerros mostraram um viés de respostas negativas, o qual é consistente com um pior estado emocional, cuja duração foi de 2,5 dias após a separação.

Com isso, evidencia-se que o desmame é um evento estressante na vida dos animais (Church, 1974b; Arthington et al., 2008; Campbell et al., 2013), podendo manifestar uma variedade de alterações fisiológicas que potencialmente prejudicam a defesa imunológica, como as células leucocitárias (O'Loughlin et al., 2014).

## **2.3 Evolução do sistema imunológico em bezerros**

### **2.3.1 Transferência de imunidade da vaca para o bezerro**

Durante o nascimento de um mamífero, ele passa de um ambiente estéril (útero) para um local onde existem muitos microrganismos. Todavia, ele estará protegido contra infecções pela transferência de imunoglobulinas de sua mãe, via placenta ou pela ingestão do colostro (Tizard, 2008). No caso do bezerro, esse depende totalmente do colostro da mãe para adquirir imunidade inicial (Kertz et al., 2017), visto que a placenta possui várias camadas de epitélio entre as circulações fetal e maternal, o que impossibilita a passagem de anticorpos (Porter, 1976).

Nesse sentido, o colostro, primeira secreção eliminada pela vaca após o parto, é considerado essencial para a sobrevivência do bezerro (Church, 1974b) e consiste em secreções lácteas e componentes do soro sanguíneo, como as imunoglobulinas e outras proteínas séricas. O colostro se difere do leite pela maior quantidade de gordura (6,7% *versus* 3,7%), sólidos totais (23,9% *versus* 12,9%), proteína (14% *versus* 3,1%), IgG (3,2 g/100 mL *versus* 0,06 g/100 mL) e menor teor de lactose (2,7% *versus* 5,0%) (Foley; Otterby, 1978). Nele encontram-se fatores imunitários, como IgA, IgM, IgG, IGF-1, lactoferrina e lisozima (Yang et al., 2015), além de ser fonte de outras proteínas,

energia, vitaminas e minerais (Dang et al., 2009).

Esse mecanismo de defesa pelo qual a vaca transfere imunoglobulinas para o bezerro é chamado de imunidade passiva (USDA, 2008), e é responsável pela proteção inicial contra doenças (Black, 2003), sendo que as imunoglobulinas inativam ou destroem os antígenos que ameaçam a saúde (Logan, 1974). Essa proteção geralmente compreende as duas primeiras semanas após o nascimento do bezerro, até que os outros mecanismos de defesa estejam preparados (Hassig et al., 2007; USDA, 2008).

No entanto, a capacidade da imunidade passiva vai depender da idade do bezerro e da ingestão e absorção do colostro pelo animal, pois no recém-nascido, as imunoglobulinas se ligam no epitélio intestinal e são internalizadas por pinocitose e atingem a corrente sanguínea (Quigley, 2002). Dessa forma, o enterócito neonatal tem condições de absorver as macromoléculas proteicas (Weaver et al., 2000). Contudo, com o aumento da idade do bezerro, decresce o número de células intestinais especializadas na transferência desses constituintes para a circulação, e isso ocorre de forma progressiva após 12 horas de idade, com tempo médio de fechamento total do epitélio próximo às 24 horas pós-parto (Stott et al., 1979; Bush; Staley, 1980).

Essa perda da capacidade de absorção de imunoglobulinas está condicionada ao aparecimento da atividade enzimática no intestino. Assim, essas macromoléculas podem ser degradadas antes de ir para a corrente sanguínea (Quigley, 2002). Em virtude disso, os bezerros devem ingerir o colostro o mais rápido possível após o nascimento para obterem a proteção contra doenças (Church, 1974b). O ideal seria a ingestão nas primeiras 4-6 horas de vida do bezerro, pois após esse período, o colostro já começa a ter função nutricional e não imunizante (Haddad; Mendes, 2010).

As principais imunoglobulinas encontradas no soro sanguíneo dos bezerros são a IgG, contribuindo com 70-75% do *pool* total de imunoglobulinas, seguida da IgA, que representa de 15-20% do total (Roitt et al., 1999). Em quantidades menores (<10%), as IgM são encontradas no soro de bovinos. No caso da IgG, existem duas, IgG1 e IgG2, sendo que ambas são encontradas em quantidades semelhantes no soro, mas IgG1 predomina no colostro. Já a IgA pode existir no soro e no colostro (Logan, 1974). No colostro, são encontradas em torno de 82% da IgG1, 8% da IgM, 7% da IgA e 3% da IgG2 do total de imunoglobulinas (Logan, 1974).

As IgG são os menores e mais comuns anticorpos, e são essenciais na defesa do organismo contra infecções bacterianas e virais; já as IgA resguardam as

superfícies do corpo que ficam expostas a agentes estranhos (Dang et al., 2009). Desse modo, evidenciam-se as funções essenciais das imunoglobulinas, e em meio a falhas na transferência para os animais, pode ocorrer comprometimento da saúde do recém-nascido (Weaver et al., 2000). Nessa perspectiva, a avaliação da concentração de imunoglobulinas do colostro é de grande importância, podendo ser feita de forma rápida e prática pelo uso de colostrômetro (Fleenor; Stott, 1980). No entanto, para avaliar a eficiência da imunidade passiva transmitida para o bezerro, utiliza-se a concentração de IgG no soro, pois, antes do nascimento, essas macromoléculas são impedidas de passar pela placenta bovina (Yang et al., 2015). Logo, as concentrações de IgG no sangue dos bezerros devem ser de 10mg de IgG/mL de 24 a 48 horas após o nascimento para proporcionar proteção adequada (Quigley, 2002; Godden, 2008). Uma concentração sérica de proteína total 5,2 g/dl é equivalente a 1000 mg/dl de IgG sérica (Tyler et al., 1996).

### **2.3.2 Imunidade inata e adquirida**

A defesa contra agentes estranhos é realizada pela imunidade inata e por respostas da imunidade adquirida. A imunidade inata corresponde a principal linha de defesa inicial contra microrganismos, composta por (i) barreiras físicas e químicas como os epitélios; (ii) células fagocitárias, dendríticas e *natural killer*; (iii) proteínas do sangue, e (iv) proteínas denominadas citocinas, que coordenam as atividades das células da imunidade inata (Abbas et al., 2011).

A imunidade inata não apresenta qualquer tipo de memória, sendo cada evento de infecção tratado da mesma forma. Fazem parte dessas defesas as células leucocitárias, que compreendem as células fagocitárias, como os monócitos, macrófagos e neutrófilos, entre outras (Roitt et al., 1999). Destruição de agentes estranhos, liberação de mediadores inflamatórios, ativação de proteínas do sistema complemento e produção de proteínas de fase aguda, citocinas e quimiocinas são mecanismos da imunidade inata (Cruvinel et al., 2010).

Contudo, esses mecanismos inatos, muitas vezes, não são suficientes para a completa defesa do organismo, e, por isso existe outro tipo de resposta do sistema imunológico: a imunidade adaptativa ou adquirida. Esse sistema é responsável pela proteção final do organismo, com dois tipos de defesas, a resposta imune humoral e a resposta imune celular (Tizard, 2008). E, compreende um grupo de leucócitos

conhecidos como linfócitos, os linfócitos T e os linfócitos B (Roitt et al., 1999). Os linfócitos B produzem anticorpos, enquanto os linfócitos T fazem o controle imune e da imunidade citotóxica (Jones; Alisson, 2007). As principais características da resposta adquirida abrangem a especificidade e diversidade de reconhecimento, a memória, a especialização de resposta, a autolimitação e a tolerância à componentes do organismo (Cruvinel et al., 2010).

Na produção de bovinos de corte muitos estressores são inerentes a manejos realizados com frequência nas propriedades rurais, como o momento do desmame dos bezerros (Carroll et al., 2009) ou do transporte. Esses estressores podem ocasionar variações e instabilidade nos componentes do sistema imunológico e comprometer as defesas do organismo (Blecha et al., 1984). Conseqüentemente, podem provocar morbidade em bezerros por doenças respiratórias (Duff; Galyean, 2007) ou diarreia neonatal, um dos principais desafios imunológicos para os animais (Lorenz et al., 2011). Nesse contexto, os pesquisadores O'Loughlin et al. (2014) encontraram efeitos prolongados do estresse de desmame sobre as células de defesa dos bezerros, como no número de leucócitos, incluindo neutrófilos e eosinófilos. O número de neutrófilos e quimiocina CXCL8 (responsável pela movimentação dos leucócitos) foram considerados como biomarcadores para o estresse fisiológico por esses pesquisadores.

Os neutrófilos formam a primeira linha de defesa celular contra doenças (Paape et al., 2003). Os neutrófilos são recrutados e posteriormente, os monócitos e os linfócitos também migram para o local infectado (Roitt et al., 1999). Nesse sentido, Lynch et al. (2010) investigaram a consequência do desmame abrupto e observaram alterações na contagem de leucócitos, neutrófilos e linfócitos. Da mesma forma, mas em outra situação estressante, Riondato et al. (2008) avaliaram a resposta imunológica de bezerros, com seis meses, transportados durante 14 horas (950 km) e encontraram neutrofilia e eosinopenia, bem como diminuição dos linfócitos.

O desequilíbrio do sistema imune provocado pelo estresse surge, principalmente, por meio de modificações na produção de citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina 6 (IL-6), produzida pelas células T e B (Glaser; Kiecolt-Glaser, 2005). A IL-6 induz à expressão das proteínas de fase aguda (Gabay; Kushner, 1999), assim como os hormônios glicocorticoides e catecolaminas (Black; Garbutt, 2002). Essas proteínas estão divididas em proteínas negativas e positivas, que mostram uma diminuição ou um aumento nos níveis, respectivamente. Em resposta ao desafio, as

proteínas negativas incluem a albumina, a proteína plasmática constitutiva mais abundante, e a transferrina; e as proteínas positivas referem-se a haptoglobina, a proteína C reativa, a amiloide A sérica, a ceruloplasmina, o fibrinogênio e a glicoproteína alfa-1 (Black, 2003). Segundo esse autor, as proteínas de fase aguda são produzidas pelo fígado e fazem parte do sistema imunológico de defesa inata, podendo serem sintetizadas devido a lesão tecidual, infecções, distúrbios imunológicos e estresse físico ou psicológico. São reconhecidas como promissoras para avaliar, de forma objetiva, o bem-estar (Murata et al., 2004; Cray et al., 2009), já que a elevação nas concentrações dessas proteínas podem determinar prejuízos ao bem-estar animal (Piñeiro et al., 2007).

O pesquisador Murata (2007) descreve a relação entre o estresse e as proteínas de fase aguda, sugerindo que essa relação integra a rede neuroendócrino-imune. Em resumo, os sinais de órgãos sensoriais em resposta ao estresse são transmitidos por meio de fibras nervosas sensoriais aferentes ao cérebro e ativam os centros neuroendócrinos, como, o eixo simpático-adrenal e o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (Figura 2). Essa ativação leva à secreção de catecolaminas e glicocorticoides, na qual os neurotransmissores ativam a produção e a liberação de proteínas de fase aguda no fígado, ocorrendo o aumento dos níveis periféricos dessas proteínas em animais estressados. Nesse sentido, as proteínas de fase aguda agem na tentativa de reestabelecer a homeostase e conseqüentemente, a saúde do animal (Murata et al., 2004).

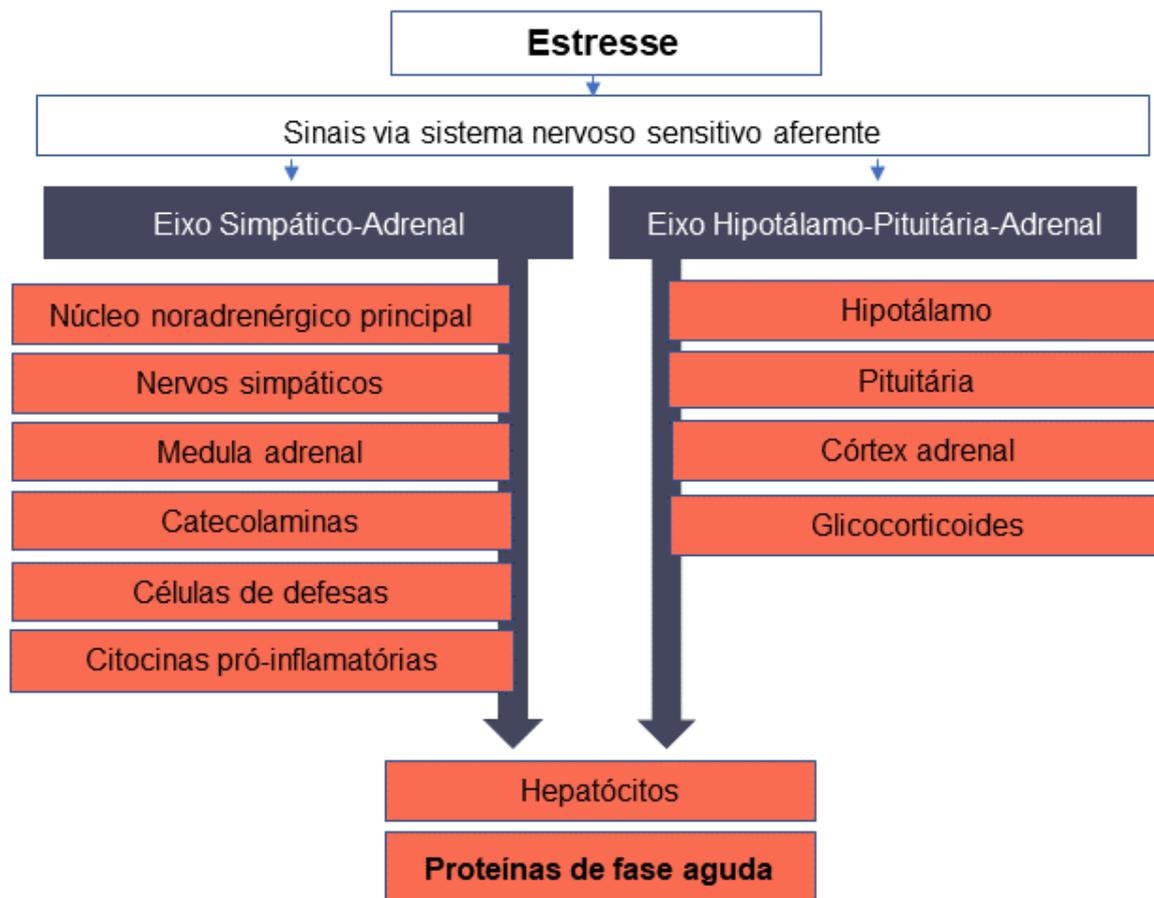


FIGURA 2: Indução da resposta de proteínas de fase aguda em animais estressados.

Fonte: Adaptada de Murata (2007).

A proteína de fase aguda, proteína C reativa, executa a proteção do organismo contra agentes estranhos, elimina tecidos danificados, previne da autoimunização e regula a resposta inflamatória (Mold et al., 2002). A proteína amiloide A sérica é produzida durante processos infecciosos ou inflamatórios e está associada à adaptação do recém-nascido para a vida extrauterina (McDonald et al., 2001). Por sua vez, a haptoglobina pode ser utilizada como indicador de estado de saúde em bovinos e quando estimulada, pode aumentar até 100 vezes a concentração normal (Eckersall, 2000). Em outras espécies, essa proteína também tem sido estudada, como na pesquisa realizada por Piñeiro et al. (2007), que avaliou a influência do transporte de suínos sobre as concentrações de proteínas de fase aguda. Os resultados demonstraram aumento na concentração de haptoglobina, sendo que os valores antes da viagem eram de 0,73 mg/mL e após 1,16 mg/mL, e a soro amiloide A apresentou valor de 6,8 µg/mL antes e 99,1 µg/mL após a viagem.

A análise das proteínas de fase aguda na produção animal tornou-se uma

área promissora na avaliação dos níveis de estresse imunológico como sinalizador do *status* de saúde e bem-estar animal (Eckersall, 2000). A partir dessa análise, fundamenta-se a necessidade de conhecimento da condição imunológica do bezerro após o desmame hiperprecoce, visto que manejos que possam gerar estresse devem ser analisados para identificar as implicações para a saúde e sobrevivência do animal. De acordo com uma revisão que abrangeu 100 anos de pesquisa sobre manejo e nutrição de bezerros, os autores concluíram que uma das perspectivas para novos estudos consiste na avaliação de manejos que possam melhorar a imunidade do bezerro, já que essa temática fomenta preocupação na comunidade científica (Kertz et al., 2017).

#### **2.4. Desenvolvimento do sistema digestivo em bovinos**

O estômago dos ruminantes é composto por três divertículos (o rúmen, o retículo e o omaso), conhecidos como compartimentos gástricos anteriores. Esses são aglandulares, cujo alimento passa pela digestão por microrganismos antes de chegar no estômago glandular dos ruminantes, o abomaso (Frandsen et al., 2011). O desenvolvimento desses compartimentos ocorre em três fases: (i) compreende do nascimento até a terceira semana de idade, quando o bezerro é considerado não ruminante; (ii) engloba a fase de transição dos compartimentos estomacais, da terceira a oitava semana; e, (iii) quando o bezerro está com mais de oito semanas de vida e passa a ser considerado um ruminante (Church, 1974a). Durante essas fases, o trato gastrointestinal do bezerro passa por várias alterações anatômicas e fisiológicas, desde o desenvolvimento do rúmen até sua total funcionalidade (Suárez et al., 2006).

Os bezerros nascem com o rúmen afuncional e, por conta disso, necessitam dos nutrientes do leite, os quais são digeridos pelas enzimas no abomaso e após transferidos para a corrente sanguínea. Desse modo, os bezerros transformam o alimento em energia para as atividades vitais e desenvolvimento (Baldwin et al., 2004; Drackley, 2008). Até a terceira semana de vida do bezerro, as funções enzimáticas são muito limitadas, como a atividade da amilase e maltase, estando apenas a lactase com alta atividade enzimática (Otterby; Linn, 1981). No entanto, esse fenômeno pode ser reflexo da falta de substrato para essas enzimas, já que, nessa idade, o principal alimento é o leite.

Antes de desenvolverem o rúmen, os bezerros esses possuem o trato digestivo similar aos animais monogástricos (Church, 1974b). O desenvolvimento do estômago dos ruminantes está relacionado ao peso corporal, idade e dieta que, quando líquida, retarda o crescimento do retículo-rúmen (Church, 1974a). O desenvolvimento dos tecidos estomacais, incluindo das papilas ruminais, é acelerado quando os bezerros começam a ingerir alimento sólido (Tamate et al., 1962; Suárez et al., 2006). E, quando isso ocorre, a maior parte da alimentação sólida vai diretamente para o rúmen e, inicia-se o processo de colonização por microrganismos, e o produto dessa digestão é absorvido pela parede ruminal, estimulando o desenvolvimento dos tecidos do estômago (Warner et al., 1956).

Em geral, a alimentação sólida é fornecida durante e após o manejo de desmame dos bezerros. Portanto, tem-se o desenvolvimento gradual dos microrganismos ruminal e intestinal nesse momento, e conseqüentemente, o início dos processos fermentativos no rúmen, no qual o bezerro deixa de ser pré-ruminante e passa a ser ruminante (Meale et al., 2016). Nesse momento de transição, ocorre aumento de bactérias, como as amilolíticas, celulolíticas e metanogênicas (Anderson et al., 1987). Já os protozoários e fungos se estabelecem após trinta dias do nascimento, assim com a secreção enzimática é limitada até um mês de idade, restringindo a digestão de carboidratos, proteínas e gordura. No entanto, a introdução de grãos antes de um mês de idade permite rápido desenvolvimento do rúmen, e essa mudança na atividade enzimática auxilia na digestão dos nutrientes (Longenbach; Heinrichs, 1998).

Após a oferta de alimentos sólidos para os bezerros e o subsequente estabelecimento da fermentação ruminal, o rúmen passa por desenvolvimento físico e metabólico, sendo o físico dividido em dois aspectos: aumento da massa ruminal e crescimento das papilas (Baldwin et al., 2004). Por exemplo, o volume do rúmen representa 29% dos compartimentos estomacais totais ao nascer e aumenta para 55% na maturidade (Li et al., 2012), sendo que o rúmen e o abomaso, podem aumentar mais de 20 vezes desde o nascimento até a sexta semana de vida (Bacha, 1999).

Dessa maneira, o bezerro, ao tornar-se um ruminante, passa a depender da fermentação de carboidratos da dieta para sintetizar a maior parte da sua energia na forma de ácidos graxos voláteis, obtendo seus requerimentos nutricionais por meio de aminoácidos de proteínas da biomassa microbiana (Drackley, 2008). No entanto,

existe contradição sobre que tipo de alimento sólido deve ser ofertado nas dietas de bezerros jovens para promover e adiantar o processo de transição para ruminante (Castells et al., 2012). Na pesquisa de Tamate et al. (1962), ao avaliarem bezerros recém-nascidos até 12 semanas de idade, submetidos a diferentes dietas – leite; leite, feno e grão; leite e várias substância inseridas diretamente no rúmen – observaram que o desenvolvimento pós-natal daqueles que receberam leite, feno e grão foi caracterizado por um rápido aumento da capacidade e do peso bruto vazio do rúmen-retículo (quatro semanas), aumento do crescimento papilar do rúmen e do peso do fígado em proporção ao peso corporal.

O efeito do volumoso no desenvolvimento do rúmen foi observado por Khan et al. (2011), de modo que os bezerros que receberam feno (do terceiro dia de vida até a décima semana) tiveram maior peso do rúmen em comparação com os bezerros que não receberam, pois o alimento volumoso fornece estímulos que podem expandir o tamanho do rúmen. Semelhante a esse estudo, Phillips (2004) verificou que bezerros com acesso a azevém picado durante os 53 dias primeiros dias de vida, obtiveram melhor crescimento e reduziram a quantidade de comportamentos estereotipados.

Quanto ao fornecimento de grãos, Suárez et al. (2006) analisaram o desenvolvimento do rúmen de bezerros que recebiam apenas sucedâneo do leite tratados com dietas concentradas (a base de pectina, amido, fibra em detergente neutro e misto) e identificaram que essas dietas, a base de concentrado, ocasionaram maior peso do rúmen nos bezerros. Stobo et al. (1966) constataram, que devido ao aumento nos níveis de concentrado na dieta, as papilas ruminais tendiam a um comprimento maior e formavam uma cobertura densa sobre os sacos ventral e dorsal do rúmen. O fornecimento de concentrado aos bezerros promove a produção de ácidos graxos voláteis, principalmente o butirato, que tem a ação sobre o desenvolvimento das papilas ruminais (Tamate et al., 1962). Sander et al. (1959) administraram algumas soluções (acetato de sódio, propionato de sódio, butirato de sódio, cloreto de sódio e glicose) nos bezerros e concluíram que o butirato e o propionato de sódio proporcionaram marcante desenvolvimento na mucosa ruminal e no crescimento do retículo.

Contudo, deve-se atentar à escolha do alimento, especialmente em desmames mais precoces. Miller-Cushon et al. (2014) realizaram testes de preferências por alimentos sólidos e descobriram que os bezerros preferem o farelo

de trigo ou de sorgo (energia) e farelo de soja (proteína). Ou ainda, em formulações mistas, esses alimentos devem compor em 50% de uma dieta mista. Esses alimentos foram classificados como palatáveis e de boa aceitação pelos bezerros após o desmame, o que estimula o consumo de alimento sólido.

Já o desenvolvimento do intestino em bezerros ocorre no período fetal e perinatal (Baldwin et al., 2004). Até o nascimento, o trato gastrointestinal é estéril e, após o nascimento, os microrganismos intestinais são introduzidos a partir de microbiota fecal, vaginal e ambiental (Soto et al., 2011). Nas primeiras 24 horas, já se verifica a colonização por bactérias (Li et al., 2012). Assim, a microbiota intestinal é estabilizada nas primeiras semanas de vida (Bunešová et al., 2015) e qualquer falha na ingestão de colostro pode ser prejudicial para o equilíbrio do ecossistema intestinal em bezerros. Sendo assim, o colostro de melhor qualidade pode ajudar os bezerros a estabelecerem seu próprio mecanismo de defesa imunológica imediatamente após o nascimento (Yang et al., 2015).

Nesse sentido, para que a sobrevivência seja assegurada ao desmame, os mecanismos imunológicos do intestino devem ter se desenvolvido na vida neonatal para compensar o declínio da resposta imunidade passiva (Porter, 1976). São necessários esclarecimentos dos impactos da transição da microbiota ruminal e intestinal de pré-ruminante para ruminantes pós-desmame, por serem amplamente desconhecidas (Meale et al., 2016). Em virtude disso, a prática de manejo com desmame aos 30 dias de idade em bovinos de corte deve ser rigorosamente avaliada para garantir que o objetivo final seja alcançado com qualidade do bem-estar dos animais. Na Figura 3, apresenta-se um resumo das mudanças nos aspectos imunológicos e do desenvolvimento do trato gastrointestinal de bezerros de corte.

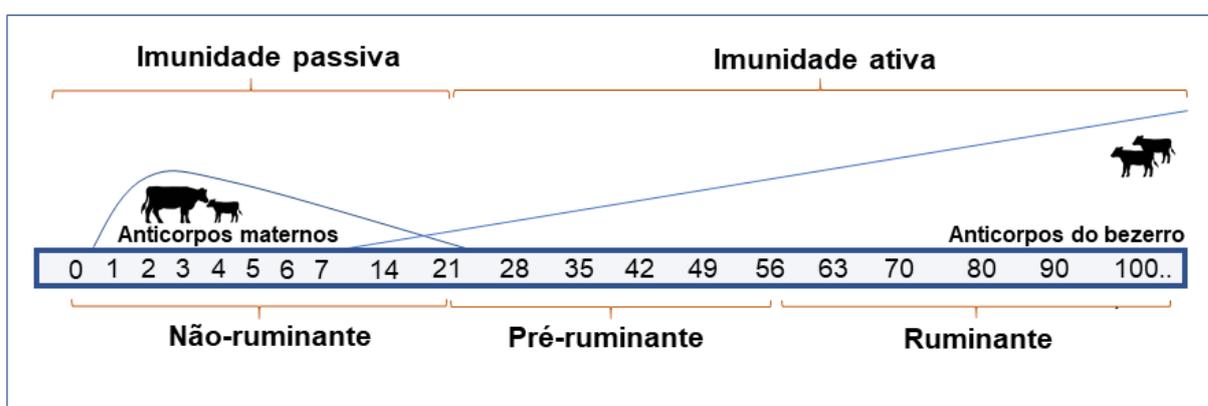


FIGURA 3: Aspectos do sistema imunológico e digestivo em bezerros.

Fonte: Adaptada de Hulbert e Moisés (2016).

### 3. HIPÓTESES E OBJETIVOS

O efeito do estresse, durante o desmame hiperprecoce (30 dias) em bezerros de corte da raça Brangus, pode influenciar negativamente no comportamento, nos mecanismos imunológicos e no desempenho e crescimento corporal, em comparação com bezerros submetidos ao desmame precoce (75 dias) ou convencional (180 dias).

#### OBJETIVO GERAL:

Investigar as respostas comportamentais, fisiológicas e de desempenho de bezerros de corte desmamados em diferentes idades, aos 30, 75 e 180 dias.

#### OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- a) Analisar as respostas de estresse em bezerros de corte em três idades ao desmame (30, 75 e 180 dias) e seus impactos nas medidas comportamentais e fisiológicas.
- b) Investigar a influência da idade ao desmame nas respostas imunológicas de bezerros de corte.
- c) Averiguar o impacto da idade ao desmame no desenvolvimento e crescimento corporal dos bezerros de corte.

## CAPÍTULO II

## **Idade ao desmame em bovinos de corte: influências no comportamento e nos parâmetros fisiológicos**

### Destaques

- 1) São avaliadas três idades ao desmame em bezerros de corte: aos 30, 75 e 180 dias;
- 2) O sexo do bezerro não influencia o comportamento e os parâmetros fisiológicos após o desmame;
- 3) Quanto antes for o desmame, piores padrões de respostas são apresentados pelos bezerros;
- 4) Bezerros mais jovens expressam mais vocalizações do tipo extrema, caminham mais e se alimentam menos;
- 5) Ao sétimo dia após o desmame, as atividades comportamentais passaram a ser semelhantes entre as idades de desmame.

**RESUMO:** O desmame de bezerros em idade jovem pode gerar maior estresse, devido à pouca experiência prévia de vida. Dessa forma, investigaram-se as respostas comportamentais e fisiológicas em bezerros de corte em três idades ao desmame (30, 75 e 180 dias) e a influência do sexo do bezerro nesses aspectos. Para isso, 36 bezerros foram desmamados abruptamente e distribuídos em três tratamentos – desmame hiperprecoce (W30), precoce (W75) e convencional (W180) – com doze animais (machos e fêmeas) por tratamento. Após o desmame, os animais foram alojados em curral de forma coletiva. As atividades comportamentais foram gravadas e os parâmetros fisiológicos foram mensurados nos dias 0, 1, 2 e 7 após os desmames. As variáveis analisadas foram influenciadas pelo tratamento ( $P = 0,007$ ), pelo dia de avaliação ( $P = 0,022$ ) e pela interação entre tratamento  $\times$  dia (D) ( $P = 0,007$ ). O sexo do bezerro não está associado a mudanças nas respostas avaliadas ( $P = 0,574$ ). Bezerros do tratamento W30 mostraram maior semelhança com os animais W75 ( $P = 0,597$ ) e diferiam dos W180 ( $P = 0,0001$ ). Quanto mais jovem o bezerro, maior a intensidade de respostas frente ao estresse do desmame. Essas respostas estão associadas, principalmente, aos D0 e D1 pós-desmame e são caracterizadas pelo aumento de vocalizações ( $P < 0,05$ ), de sucções cruzadas ( $P = 0,006$ ), da frequência em caminhar ( $P < 0,001$ ) e visitar o cocho sem ingerir alimento

( $P = 0,014$ ), na frequência respiratória ( $P < 0,001$ ) e nas concentrações de fibrinogênio e cortisol ( $P < 0,001$ ). Portanto, modificações comportamentais e fisiológicas em idades jovens evidenciam maior sofrimento dos bezerros, o que pode acarretar consequências negativas na vida produtiva.

Palavras-chave: bem-estar animal, bezerros de corte, cortisol, estresse, idade, separação materna

## 1. Introdução

O manejo do desmame em bovinos de corte é justificado pelos benefícios nos aspectos reprodutivos das vacas (Warner et al., 2015; Orihuela and Galina, 2019). Assim como é promissor para o crescimento dos bezerros, visto que o leite materno só atende as exigências nutricionais para o desempenho até os 84 dias de idade (Costa e Silva et al., 2016). Entre as idades de desmame tem-se a tradicional, dos seis aos oito meses (Pate et al., 1985; Rasby, 2007), mas essa prática vem sendo modificada com a separação mais precoce dos bezerros, com idades entre 90-120, 60-90 ou 45-60 dias, técnicas que apresentam elevado risco pela sua complexidade operacional (Oliveira et al., 2018). Em sistemas intensivos de produção ou em situações críticas de alimentação para as vacas, o desmame dos 30 aos 45 dias de idade está sendo adotada em sistemas de cria (Gonzalez et al., 2013).

No entanto, a recomendação de práticas de desmame em idades mais jovens pode influenciar o bem-estar animal, uma vez que o rompimento do vínculo materno-filial irá ocorrer antes mesmo do momento de aprendizado de determinadas atividades que são vitais para a sobrevivência do bezerro (Enríquez et al., 2011). Além disso, sabe-se que o desmame é desafiador, marcado por imediatas mudanças, como a privação da mãe (Pérez et al., 2017), troca da alimentação, alterações de ambiente, contato com seres humanos e manejos frequentes (Lynch et al., 2019). Com isso, os animais passam a realizar atividades que demonstram angústia, como a vocalização, aumento do ato de caminhar, menor tempo deitado (Loberg et al., 2008) e aparecimento de comportamento estereotipado (Latham and Mason, 2008).

Além das mudanças comportamentais, também há efeitos fisiológicos, como alterações na frequência respiratória e cardíaca (Acevedo et al., 2005), nos níveis de cortisol (Pérez-Torres et al., 2016) e nas proteínas de fase aguda (O'Loughlin et al., 2014) após o desmame. Por conta dessas reações negativas, o desmame de bezerros em idades jovens (como ocorre com bovinos de leite) vem sendo tratado como prática contenciosa na percepção da sociedade (Ventura et al., 2013; Busch et al., 2017; Hötzel et al., 2017). Nesse intuito, estudos sobre mecanismos que ajudem a minimizar o sofrimento dos bezerros de corte durante e após o desmame vem sendo discutidos (Lambertz et al., 2015; Campistol et al., 2016; Taylor et al., 2020). Contudo, essas pesquisas se concentram em avaliar animais desmamados em idades tardias, entre 192 e 250 dias, período em que os animais são menos dependentes da mãe (Enríquez

et al., 2011).

Sob essa perspectiva, analisamos o estresse em bezerros de corte desmamados aos 30, 75 e 180 dias de idade por meio dos impactos nas medidas comportamentais e fisiológicas. Em adição, avaliamos também o efeito do sexo do bezerro sobre essas respostas, pois as relações afetivas de proteção materna são maiores nos machos que nas fêmeas (Stěhulová et al., 2013), de modo que, em condições naturais, esses são desmamados cerca de dois meses após as fêmeas (Reinhardt and Reinhardt, 1981).

## **2. Material e métodos**

### *2.1 Nota ética*

Os procedimentos de manejo realizados nos bezerros estiveram de acordo com a licença (33439) concedida pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) vinculada à Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Brasil.

### *2.2 Animais e tratamentos*

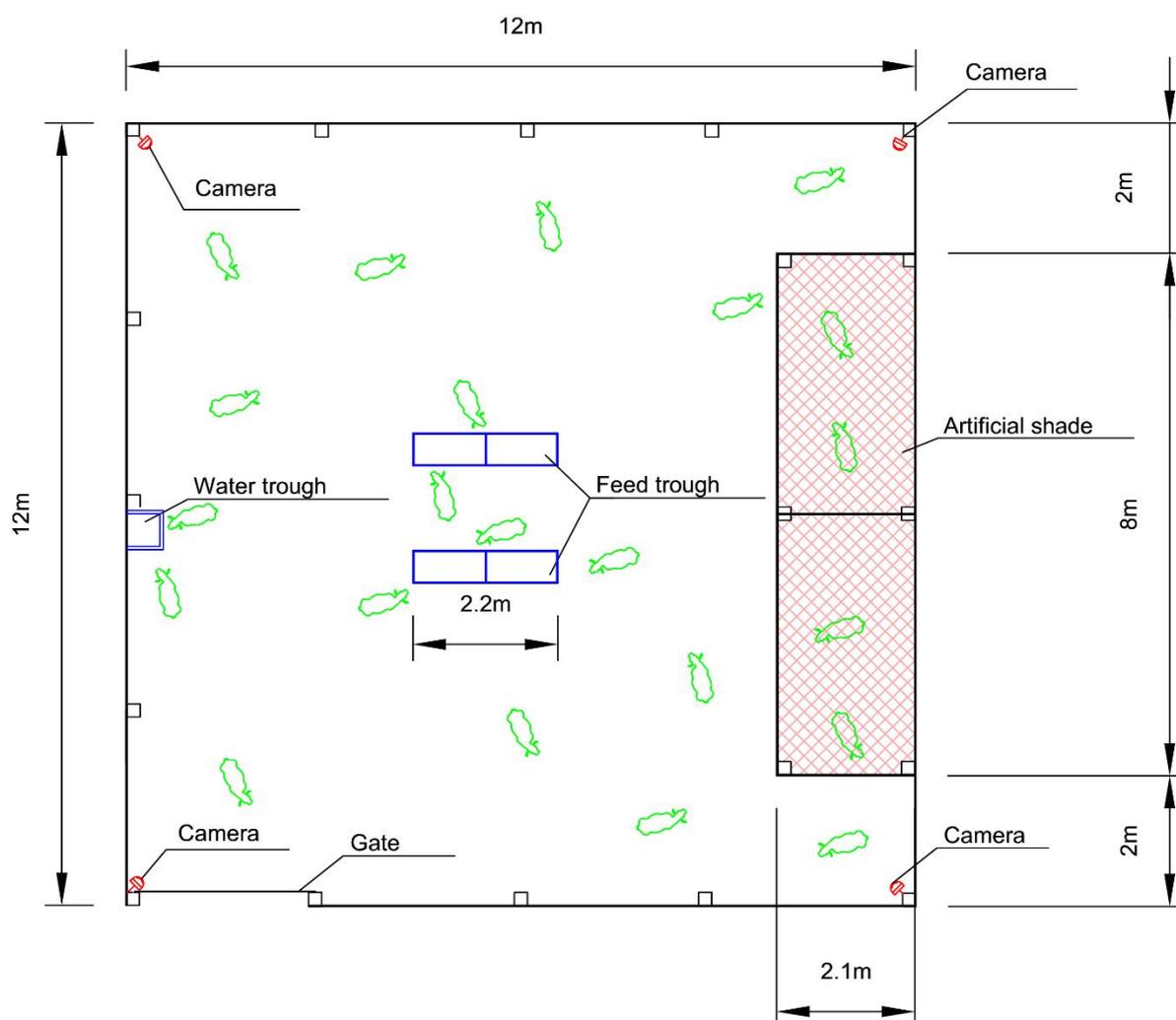
A pesquisa foi conduzida na fazenda experimental da UFRGS, localizada na cidade de Eldorado do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil, entre os meses de outubro de 2018 a junho de 2019. Foram utilizados 36 bezerros da raça Brangus, nascidos na primavera de 2018, os quais foram divididos em três tratamentos: i) bezerros submetidos ao desmame hiperprecoce (W30;  $n = 12$ ) com idade de  $31 \pm 0,584$  (média  $\pm$  EP) dias e peso  $52,8 \pm 0,991$  (média  $\pm$  EP) kg; ii) bezerros submetidos ao desmame precoce (W75;  $n = 12$ ) com idade de  $76 \pm 0,682$  (média  $\pm$  EP) dias e peso de  $79,4 \pm 1,526$  (média  $\pm$  EP) kg, e; iii) bezerros submetidos ao desmame convencional (W180;  $n = 12$ ) com idade de  $183 \pm 0,605$  (média  $\pm$  EP) dias e peso de  $158,5 \pm 2,702$  (média  $\pm$  EP) kg. Cada tratamento continha seis bezerros machos não castrados e seis fêmeas, filhos de vacas com  $4,7 \pm 0,409$  (média  $\pm$  EP) anos.

### *2.3 Desmame, instalações e manejo alimentar*

No dia programado para o desmame, as vacas e os bezerros foram conduzidos

ao centro de manejo e, após a separação física, as vacas foram levadas à um piquete localizado a 2,6 km. O manejo de desmame correspondeu ao mesmo para todos os tratamentos, sendo que W30 e W75 foram realizados no verão (dezembro e fevereiro, respectivamente) e W180, no outono (maio). Embora existisse a possibilidade de programar os nascimentos dos bezerros para que os desmames acontecessem na mesma época, poderiam ocorrer outros vieses de confundimento, os quais julgou-se mais difíceis de controlar, como a mudança no período de gestação da vaca. Desse modo, manteve-se o protocolo de acasalamento, de nascimento e de desmame realizado em grande parte do Brasil e adicionaram-se os elementos climáticos como covariáveis.

Após o desmame, os bezerros foram alocados coletivamente em um curral (Fig. 1). Essa decisão foi tomada, devido aos benefícios do alojamento em grupo, como maior atividade de brincadeiras e aumento no peso corporal, que foram observados em bezerros de leite (Valníčková et al., 2015), o que presume otimizar o bem-estar desses animais, quando comparado aqueles mantidos individualmente após o desmame (Bučková et al., 2019). O curral era equipado com dois comedouros para alimentação e um bebedouro automático instalado próximo à cerca. Os bezerros dispunham de sombra artificial de tela de polipropileno (80% de sombreamento).



**Fig. 1.** Esquema gráfico das instalações experimentais.

A dieta dos bezerros foi composta por ração comercial peletizada (200 g/kg de proteína bruta (PB); 60g/kg de fibra bruta (FB) e 740 g/kg de nutrientes digestíveis totais (NDT)) e feno de alfafa picado a 3 cm de espessura (167 g/kg de PB e 456 g/kg de FDN). A ração utilizada era composta, principalmente, de soro de leite em pó, milho e soja laminados e extrusados e melaço líquido como palatabilizante. Os bezerros tinham acesso *ad libitum* tanto a ração quanto ao feno, com consumo médio de 1,05% PV com base na matéria seca para W30 e W75, nos primeiros 10 dias, e de 1,44% PV para os animais W180. A dieta era fornecida duas vezes ao dia, às 8h e às 14h, evitando qualquer tipo de interação do manejador com os animais para não haver influência na análise de comportamento. Os bezerros não tinham experiência prévia com a suplementação e todos (vaca-bezerro) estavam na mesma condição alimentar antes do desmame.

## 2.4 Avaliações

### 2.4.1 Ambientais

Foram utilizados dois termômetros instalados a 1 m acima do piso do curral para aferição da temperatura ambiente e da umidade relativa do ar, às 8h, 13h e 18h. Foi calculado o índice de temperatura e umidade (ITU), a partir da equação proposta por Tucker et al. (2008).

### 2.4.2 Comportamentais

As avaliações comportamentais foram realizadas durante quatro dias, nos dias 0 (momento do desmame), 1, 2 e 7 pós-desmame nos três tratamentos, entre 13:30 min e 18:00 h, com intervalo de 10 minutos entre as observações. Os bezerros foram identificados por números escritos, com tinta de marcar nos dois lados do corpo do animal. As avaliações foram gravadas por quatro câmeras de vídeo (resolução 1080 *pixels*; marca *Hikivision*) (Fig. 1). Após, as imagens foram analisadas por avaliador treinado que identificava e registrava os comportamentos de interesse (Tabela 1).

**Tabela 1** Descrição das atividades comportamentais analisadas e a metodologia utilizada

Comportamento	Descrição	Metodologia
Visita ao comedouro sem alimentação	Aproximação ao comedouro sem ingerir o alimento	<i>Scan sampling</i>
Alimentando	Alimento na boca seguido de mastigação e deglutição (Loberg et al., 2008)	<i>Scan sampling</i>
Bebendo água	Focinho em contato com a água (Loberg et al., 2008)	<i>Scan sampling</i>
Ruminando	Mastigação após regurgitação (Loberg et al., 2008)	<i>Scan sampling</i>
Caminhando	Os quatro cascos do animal estão em movimento (Loberg et al., 2008)	<i>Scan sampling</i>
Ócio em pé	Animal parado em pé sem caminhar (Mitlöhner et al., 2001)	<i>Scan sampling</i>
Ócio deitado	Corpo em contato com o solo (Mitlöhner et al., 2001)	<i>Scan sampling</i>
Sucção cruzada	Um bezerro realizando o ato de sucção em outro (regiões orelhas, prepúcio, umbigo ou testículos) (de Passillé, 2001)	<i>Continuous sampling</i>
Vocalização	Emitindo som pela boca (Loberg et al., 2008)	<i>Focal sampling</i>

*Scan sampling* (Colgan, 1978); *Focal sampling* (Jensen et al., 1986); *Continuous sampling* (Martin and Bateson, 1993).

Os eventos de sucção cruzada foram observados durante o mesmo período de forma ininterrupta, pois esse comportamento é difícil de ocorrer e observá-lo a cada 10 minutos não representaria fidedignamente o padrão dessa atividade. Por sua vez, o comportamento de vocalização foi gravado por microfone disposto a 1 m acima do piso do curral (Jasper et al., 2008). A quantificação das vocalizações nos grupos foi realizada durante 15 segundos a cada 10 minutos, sendo classificada como ausente (nenhuma vocalização), moderada (até cinco bezerros emitindo som; 20% da amostra) ou extrema (acima de seis animais). No dia do desmame (D0), as vocalizações foram avaliadas por 2h, equivalente a 13 momentos de observação, e

nos dias 1, 2 e 7 por 4: 30 min, total de 28 momentos.

#### *2.4.3 Fisiológicas*

No período da manhã, nos dias 0, 1, 2 e 7 pós-desmame, os bezerros foram conduzidos ao centro de manejo. Inicialmente, verificou-se, durante um minuto, a frequência respiratória e cardíaca dos animais, com o uso de estetoscópio e a temperatura corporal retal, com um termômetro clínico digital.

#### *2.4.4 Coleta e análise de parâmetros sanguíneos*

As coletas de sangue iniciavam às 08:00 h, nos dias 0, 1, 2 e 7 pós-desmame, por meio da punção da veia jugular. Para as análises de cortisol foram utilizados tubos a vácuo de 10 mL (BD, Franklin Lakes, NJ, EUA), com ativador de coágulo. As amostras foram centrifugadas (2.000 × g por 20 min) e congeladas em botijão contendo nitrogênio líquido (-196 °C).

Para as análises de proteínas plasmáticas totais e fibrinogênio, o sangue foi coletado em tubos à vácuo de 4 mL (BD, Franklin Lakes, NJ, EUA), contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA, K2, 7,2 mg por tubo). Após a coleta, as amostras foram congeladas em nitrogênio líquido e encaminhadas ao laboratório. Para as proteínas plasmáticas totais foi utilizado um contador automático (Idexx, Procyte DX), para a concentração de fibrinogênio no plasma sanguíneo, o método de precipitação pelo calor (Willard and Tvedten, 2004), e para o cortisol, o método de quimioluminescência utilizando kit comercial (Beckman Coulter) e a leitura pelo equipamento Access II (Beckman Coulter). Os valores de coeficiente de variação para os dados inter e intra de todas os ensaios laboratoriais foram abaixo de 10%.

#### *2.5 Análise estatística*

As variáveis comportamentais e os parâmetros fisiológicos foram submetidos à análise de componentes canônicos (CCA). O ITU e a idade da vaca em anos (Cow age) foram inseridos como covariáveis. Essa análise estabeleceu a ordenação dos dados, a formação dos grupos e a similaridade entre esses, controlando os fatores associados ao clima e as possíveis diferenças relacionadas com a mãe. A validação

desses grupos foi realizada mediante a análise de variância multivariada permutacional (PERMANOVA) com 9999 repetições. A CCA e a PERMANOVA foram operacionalizadas por meio do software PAST 3.0 (Hammer et al., 2001), considerando 5% o nível de significância. Para avaliar o efeito do ITU nas variáveis comportamentais e fisiológicas foram realizadas regressões lineares simples dentro de cada tratamento.

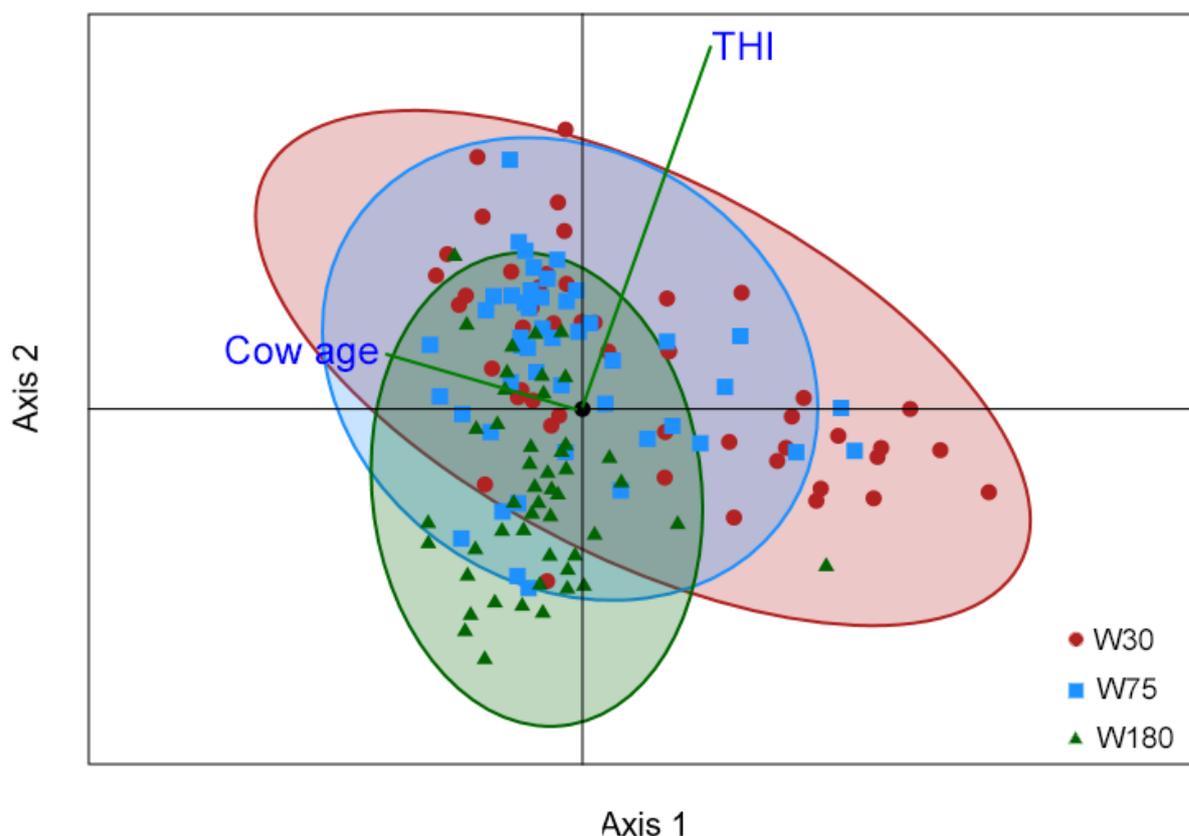
Para avaliar a evolução de cada variável ao longo dos diferentes dias, usou-se um modelo linear geral a partir da análise de variância com medidas repetidas (ANOVA); para determinar a associação entre os comportamentos avaliados, a correlação de Pearson. Como fatores fixos foram considerados o tratamento e o dia, assim como a interação entre eles e como fator aleatório, os animais. Para a comparação das médias utilizou-se o teste de T3 de Dunnett. Os dados de vocalização foram analisados pelo teste Qui-Quadrado e os eventos de sucção cruzada, pelo Modelo Linear Generalizado (GLM), considerando a distribuição linear de Poisson. Para essas análises utilizou-se um intervalo de confiança de 95% e empregou-se o software SPSS 20.0 (IBM, 2011).

### **3. Resultados**

#### *3.1 Efeito geral das idades ao desmame no comportamento e nos parâmetros fisiológicos dos bezerros*

Foram observados padrões de respostas para as três idades ao desmame a partir do grau de similaridade entre os grupos (Fig. 2). Desse modo, bezerros W30 possuíam maior semelhança com W75 no período pós-desmame, o que pode ser geometricamente evidenciado pelos círculos sobrepostos desses dois grupos ( $P = 0,597$ ).

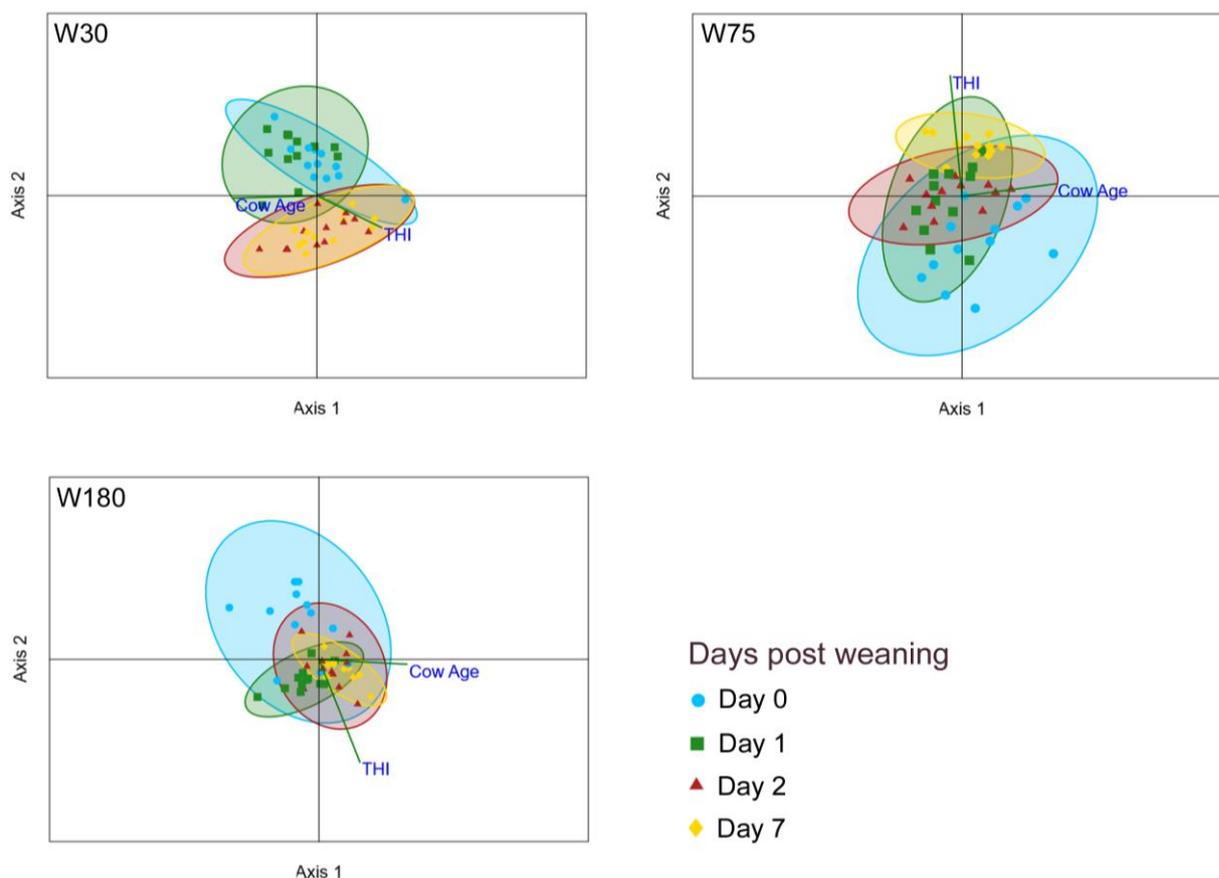
Em contrapartida, os bezerros W30 e W75 foram diferentes dos bezerros W180 ( $P = 0,0001$ ), demarcado pelo distanciamento entre os círculos. Além do efeito por tratamento ( $P = 0,007$ ), destaca-se também a influência dos dias de avaliação ( $P = 0,022$ ). Contudo, o fator sexo do bezerro foi testado e não estava associado a mudanças nas variáveis analisadas ( $P = 0,574$ ). A idade da mãe do bezerro não influenciou a caracterização comportamental e fisiológica ( $P = 0,776$ ). Por outro lado, o ITU ( $P = 0,001$ ), demonstrou maior efeito sobre os dados.



**Fig. 2.** Ordenação de correspondência canônica dos dados comparando os diferentes tratamentos (W30, W75 e W180), a partir da análise dos fatores comportamentais e fisiológicos em todos os dias avaliados (days 0, 1, 2 e 7).

### 3.2 Implicações da idade ao desmame no comportamento e nos parâmetros fisiológicos dos bezerros ao longo dos dias

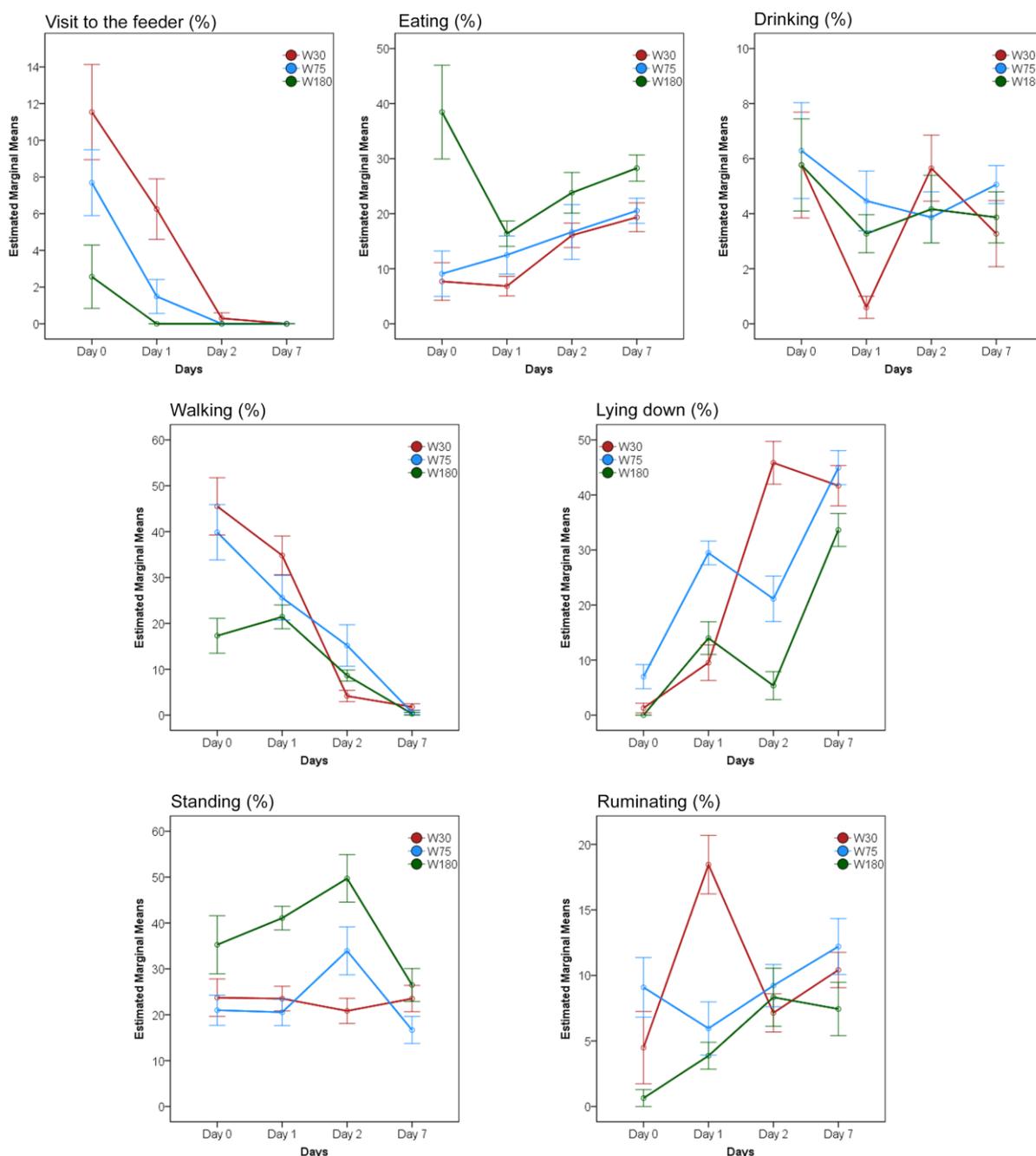
À medida que os dias transcorrem, os indicadores comportamentais e fisiológicos se tornam mais constantes, independente da idade de desmame. Isso pode ser verificado pela maior dispersão e maior expressividade dos círculos nos primeiros dias pós-desmame em comparação com o D7 (Fig. 3). Os bezerros W30 exibem diferenças nos dias 0, 1 e 2 ( $P < 0,001$ ), mas na comparação dos dias 2 e 7 não houve mudança no padrão de resposta ( $P = 0,376$ ). Os bezerros W75 apresentaram alterações nas características avaliadas entre todos os dias ( $P < 0,05$ ). Já para W180, observa-se similares nos dias 0 e 2 ( $P = 0,056$ ) e modificações nos demais dias avaliados ( $P = 0,004$ ). Além disso, o ITU influenciou os tratamentos W75 ( $P = 0,001$ ) e W180 ( $P = 0,005$ ).



**Fig. 3.** Ordenação de correspondência canônica dos dados de cada tratamento (W30, W75, W180) entre os dias observados (0, 1, 2 e 7). Os pontos indicam os bezerras em cada tratamento e seus respectivos dias. Os círculos referenciam os intervalos de confiança (95%) e os eixos (Cow Age: idade da vaca em anos, e; THI: índice de temperatura e umidade) correspondem as covariáveis.

### 3.3 Alterações comportamentais nas diferentes idades de desmame

Observaram-se os efeitos da interação tratamento  $\times$  dia para as atividades de visita ao comedouro sem alimentação ( $P = 0,014$ ), alimentação ( $P = 0,016$ ), caminhando ( $P < 0,001$ ), ócio deitado ( $P < 0,001$ ) e ruminando ( $P < 0,001$ ).



**Fig. 4.** Evolução das atividades comportamentais de bezerros desmamados em diferentes idades (percentagem das observações  $\pm$  erro-padrão da média).

### 3.3.1 Visita ao comedouro sem alimentação

A frequência de visita ao comedouro sem consumir alimento foi maior para os bezerros W30 no D0 ( $11,54 \pm 2,59\%$ ) e 1 ( $6,25 \pm 1,65\%$ ) pós-desmame, quando comparado aos bezerros W180 ( $2,56 \pm 1,73\%$  e  $0,00 \pm 0,00\%$ , respectivamente) ( $P = 0,001$ ). Os bezerros W75 mostraram comportamento intermediário aos demais grupos

no D0 ( $7,69 \pm 1,80\%$ ); no D1 foram semelhantes ao W180. Na evolução dos dias após o desmame, nota-se que as visitas ao comedouro decresceram, dado que nos dias 2 e 7 essa atividade praticamente cessou em todos os tratamentos (Fig. 4).

### 3.3.2 Alimentação

A frequência de animais em atividade de alimentação foi cerca de quatro vezes menor para os bezerros W30 ( $7,69 \pm 3,41\%$ ) e W75 ( $9,09 \pm 4,12\%$ ) no D0 em comparação ao W180 ( $38,46 \pm 8,52\%$ ) ( $P = 0,016$ ). Nesse dia, observou-se que sete bezerros W30 não se alimentaram, assim como cinco animais do W75 e um do desmame W180. No entanto, no D1, os bezerros W180 diminuíram a frequência de visitas ao comedouro em atividade de alimentação ( $16,37 \pm 2,30\%$ ) e se igualaram aos bezerros W75 ( $12,50 \pm 3,48\%$ ), enquanto os animais W30 apresentaram a menor frequência ( $6,84 \pm 1,78\%$ ). Ainda no D1, a alimentação estava associada negativamente com o ato de caminhar ( $r = -0,58$ ;  $P = 0,01$ ) e visitar o comedouro sem ingerir alimento ( $r = -0,50$ ;  $P = 0,01$ ).

A partir do D1, independentemente do tratamento, houve aumento da atividade de alimentação. Contudo, os bezerros W180 atingiram frequência superior no D7 quando equiparados aos W30 (Fig. 4). Além disso, estimou-se que a maior frequência em alimentação dos animais mais velhos está associada ao aumento de 27% no consumo, calculado com base no peso vivo dos bezerros, nos primeiros dez dias após o desmame. A atividade de alimentação também é explicada pelas intercorrências do ITU, em todos os tratamentos ( $P < 0,01$ ), sendo que 8% (W30), 5% (W75) e 18% (W180) da variação é associada ao ITU.

### 3.3.3 Bebendo água

A idade ao desmame dos bezerros não influenciou na atividade de se deslocar até o bebedouro e ingerir água ( $P > 0,05$ ), mas teve efeito sobre o dia de avaliação ( $P = 0,010$ ). No D0, os bezerros frequentaram 53% mais o bebedouro em comparação com o D1. Nos dias seguintes ao desmame, os animais restabeleceram essa atividade e se assemelharam ao D0 (Fig. 4).

### 3.3.4 Caminhando

A atividade de deslocar-se foi a principal ação realizada pelos bezerros dos grupos W30 e W75 no dia do desmame. Esses animais caminharam mais no D0 (W30:  $45,51 \pm 6,21\%$ ; W75:  $39,86 \pm 6,03\%$ ) que os bezerros do grupo W180 ( $17,31 \pm 3,80\%$ ) ( $P < 0,001$ ; Fig. 4). No dia subsequente ao desmame não se observou diferença na idade dos bezerros para essa atividade.

No D2, os bezerros W30 diminuíram a atividade de se locomover ( $4,17 \pm 1,23\%$ ) em comparação com W75 ( $15,18 \pm 4,53\%$ ), e os bezerros W180 foram semelhantes aos dois grupos ( $8,63 \pm 1,20\%$ ). No D7, todos os bezerros expressavam similaridade na frequência de locomoção.

### 3.3.5 Ócio deitado

Os bezerros W75 permaneceram mais tempo em repouso no D0 ( $6,99 \pm 2,19\%$ ) e D1 ( $29,46 \pm 2,16\%$ ) que os bezerros W30 ( $1,28 \pm 0,86\%$  e  $9,52 \pm 3,24\%$ , respectivamente) e W180 ( $0,00 \pm 0,00\%$  e  $13,99 \pm 2,96\%$ , respectivamente) ( $P = 0,001$ ; Fig. 4). No D2, os bezerros do grupo W30 apresentaram maior frequência em ócio deitado (sendo a atividade mais exercida nesse dia para esse tratamento), ao contrário dos bezerros W180, que permaneceram pouco tempo em repouso. Nesse dia e no D7, essa variável estava associada negativamente ao ócio em pé ( $r = -0,70$ ;  $P = 0,01$ ) ( $r = -0,62$ ;  $P = 0,01$ ). No D7, os bezerros W180 mostraram a menor frequência de tempo nessa atividade em comparação com W75. Já os bezerros W30 obtiveram comportamento intermediário aos bezerros W75 e W180.

### 3.3.6 Ócio em pé

A maior frequência nessa atividade foi dos bezerros W180, com média de  $38,39 \pm 2,44\%$ , quando contrastados com W30 ( $22,89 \pm 0,35\%$ ) e W75 ( $23,03 \pm 1,88\%$ ) ( $P = 0,006$ ; Fig. 4). Contudo, 6% da variação dessa atividade se deve a influência do ITU nos bezerros W180 ( $P = 0,038$ ), ou seja, à medida que o ITU aumenta esses permanecem mais tempo em ócio em pé. Apesar de nos D1 e D2 os bezerros permanecerem mais tempo em ócio em pé, no D7 houve decréscimo na duração dessa atividade. Mesmo com a diferença entre os tratamentos W75 e W180, o padrão

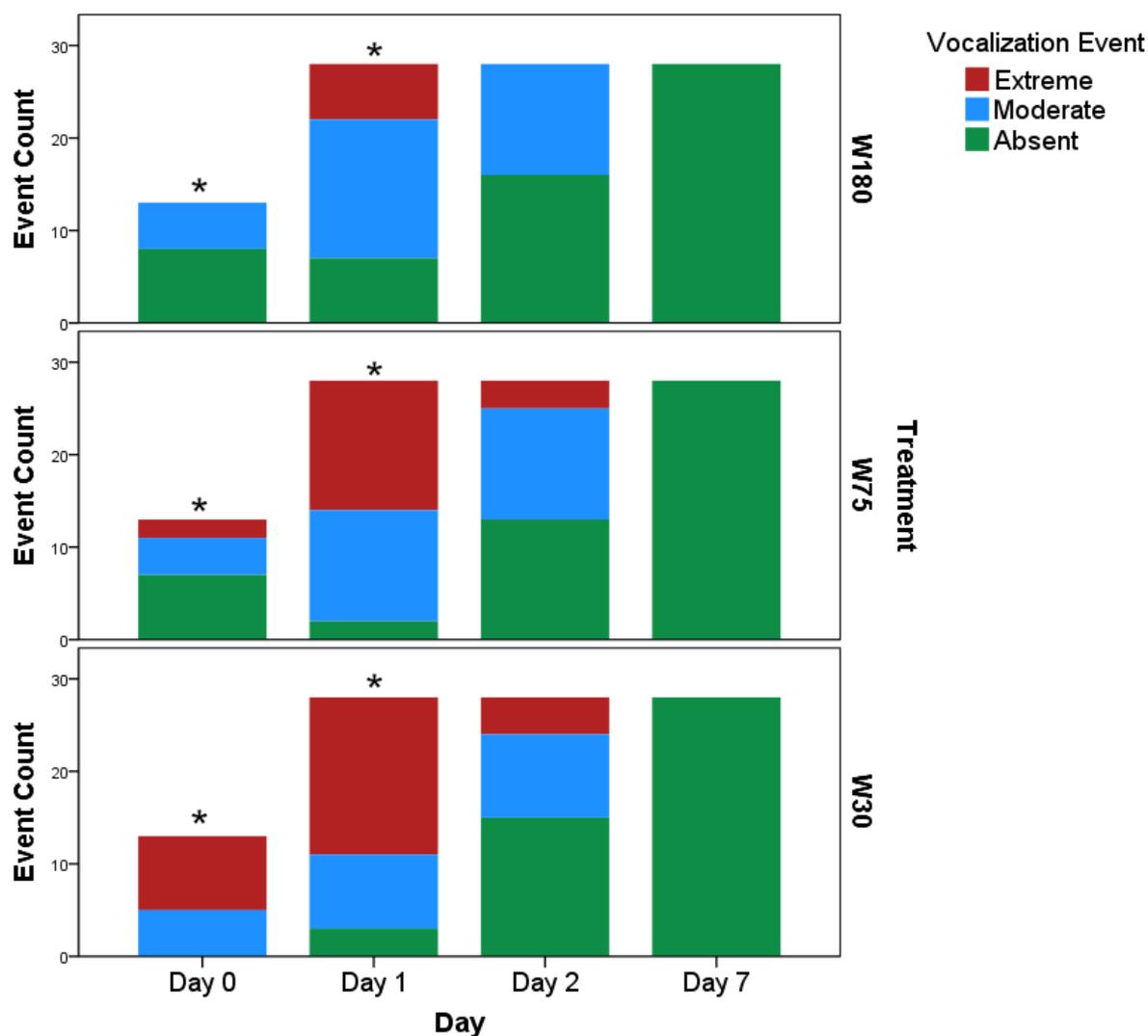
de oscilações foi semelhante entre essas idades ao desmame.

### 3.3.7 Ruminando

A atividade de ruminação foi maior para os bezerros W75 ( $9,09 \pm 2,28\%$ ) no D0 quando comparado aos W180 ( $0,64 \pm 0,64\%$ ), os quais tiveram comportamento semelhante aos W30 ( $4,49 \pm 2,75\%$ ). No D1, houve inversão dessa resposta, dado que os bezerros W30 ruminaram mais ( $18,45 \pm 2,23\%$ ) quando comparado aos bezerros W75 ( $5,95 \pm 2,03\%$ ) e W180 ( $3,87 \pm 1,03\%$ ) ( $P < 0,001$ ). Tais alterações desapareceram nos dias subsequentes ao desmame tanto para os tratamentos quanto na evolução dos dias (Fig. 4).

### 3.3.8 Vocalização

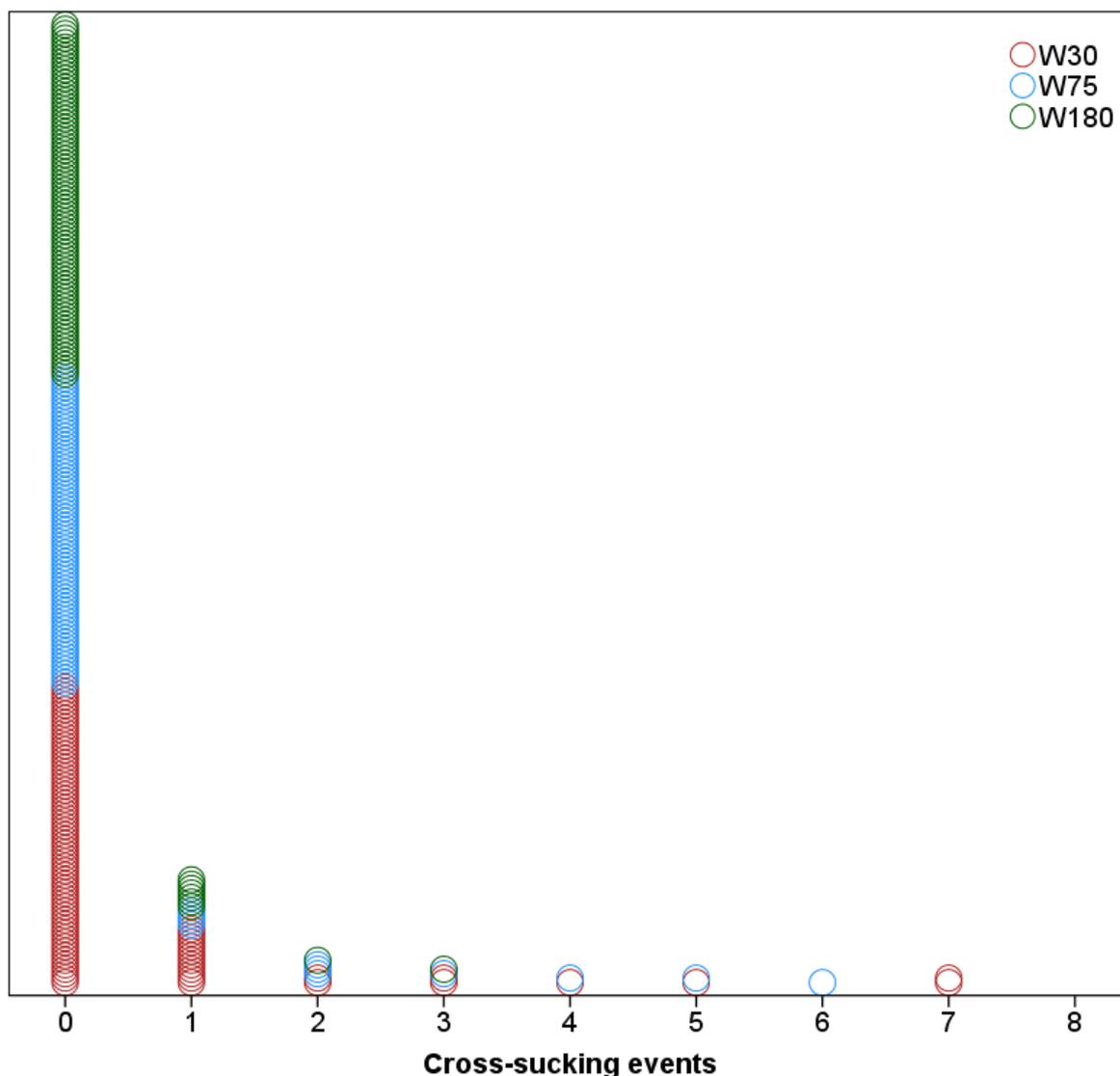
A idade ao desmame influenciou no tipo de vocalização no D0 ( $P = 0,001$ ) e no D1 ( $P = 0,028$ ), sem diferença para os demais dias ( $P > 0,05$ ) (Fig. 5). Desse modo, no D0, os bezerros W30 emitiram mais eventos de vocalização extrema (61%) em comparação com W75 (15%) e W180 (0%). No D1, os bezerros W30 e W75 expressaram mais sons extremos (61% e 50%, respectivamente) que W180 (21%). Esses últimos emitiram mais vocalizações moderadas no D1 (54%) que os bezerros W75 (43%) e W30 (29%). Os bezerros do W180 foram os que menos vocalizaram em relação aos W30. A partir do D2 não se observa diferença entre os grupos ( $P = 0,333$ ), sendo a ausência total, dessa atividade, observada no D7 pós-desmame.



**Fig. 5.** Efeito do tratamento e do dia de avaliação nos tipos de vocalizações por bezerros de corte submetidos a três idades aos desmame. \* $P < 0,05$ .

### 3.3.9 Sucção cruzada

Os eventos de sucção cruzada diferiram para tratamento ( $P = 0,006$ ) (Fig. 6). Os tratamentos W30 e W75 apresentaram maior número de sucções cruzadas, sendo que essa atividade alcançou até sete eventos para os bezerros W30 e seis para W75, mas as frequências mais recorrentes eram de 1, 2 ou 3 eventos de sucções para esses tratamentos.



**Fig. 6.** Efeito da idade ao desmame de bezerros no número de sucções cruzadas.

### 3.4 Parâmetros fisiológicos

Houve interação entre o tratamento e o dia pós-desmame apenas para frequência respiratória, batimentos cardíacos, temperatura corporal retal e cortisol ( $P < 0,001$ ).

#### 3.4.1 Frequência respiratória

A frequência respiratória foi maior para os bezerros do grupo W30 ( $66,30 \pm 2,90$  resp./min) do que para os W75 ( $57,80 \pm 2,30$  resp./min) ou W180 ( $47,30 \pm 2,02$  resp./min) no D0. No D1, os animais W30 ( $63,00 \pm 3,50$  resp./min) tiveram maior

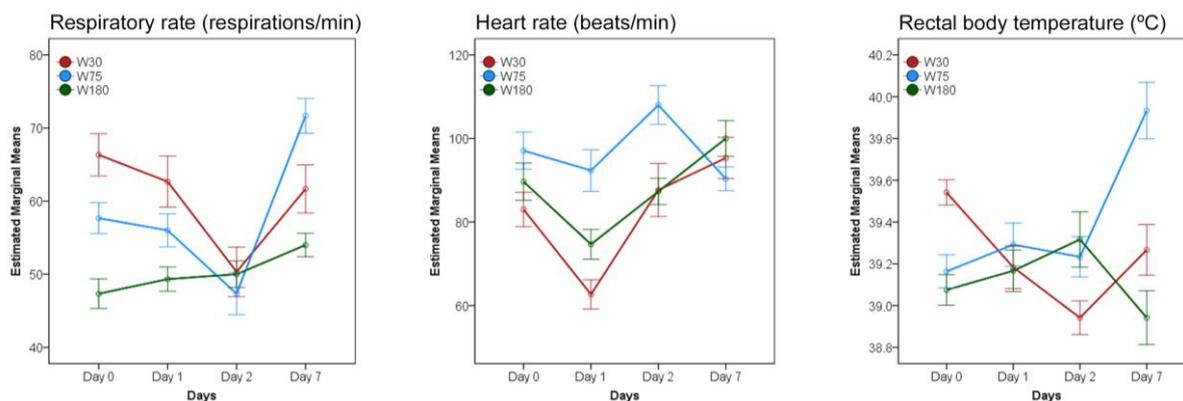
número de respirações por minuto em comparação com os animais W180 ( $49,30 \pm 1,66$  resp./min.) Essas diferenças desapareceram no D 2. No D7, os animais W75 ( $71,60 \pm 2,40$  resp./min) obtiveram as maiores taxas em comparação com W30 ( $61,70 \pm 3,30$  resp./min) W180 ( $54,00 \pm 1,60$  resp./min) (Fig. 7).

#### 3.4.2 *Batimentos cardíacos*

Os batimentos cardíacos não foram alterados no D0 para nenhuma idade ao desmame. Nos D1 e D2, os bezerros W30 ( $62,67 \pm 3,49$  e  $87,67 \pm 6,35$  bat./min, respectivamente) e W180 ( $74,67 \pm 3,56$  e  $87,33 \pm 3,15$  bat./min. respectivamente) foram semelhantes entre si, mas os dois diferiram do W75 ( $92,33 \pm 4,98$  e  $108,00 \pm 4,64$  bat./min, respectivamente). Essas diferenças deixaram de existir no D7 pós-desmame. Verificou-se que 5% (W30;  $P < 0,001$ ) e 9% (W75;  $P = 0,045$ ) da variação dos batimentos cardíacos foram determinados pelo ITU.

#### 3.4.3 *Temperatura corporal retal*

No dia do desmame, os bezerros W30 apresentaram maior temperatura corporal retal ( $39,54 \pm 0,06^{\circ}\text{C}$ ) em comparação com os animais W75 ( $39,16 \pm 0,01^{\circ}\text{C}$ ) e W180 ( $39,08 \pm 0,07^{\circ}\text{C}$ ), esses últimos foram semelhantes (Fig. 7). No D1, tais alterações desapareceram, mas retornaram no D2, sendo que os W180 ( $39,32 \pm 0,13^{\circ}\text{C}$ ) apresentaram maior temperatura corporal retal do que W30 ( $38,94 \pm 0,08^{\circ}\text{C}$ ). No D7, os bezerros W75 apresentaram a maior temperatura em relação aos demais. Essa medida mostrou-se semelhante, no decorrer dos dias, com as respostas da taxa respiratória, principalmente para os bezerros W75 e W180. Para os tratamentos W30 e W75, 37% e 3% da variação da temperatura corporal, respectivamente, se deve aos efeitos do ITU ( $P < 0,001$ ).

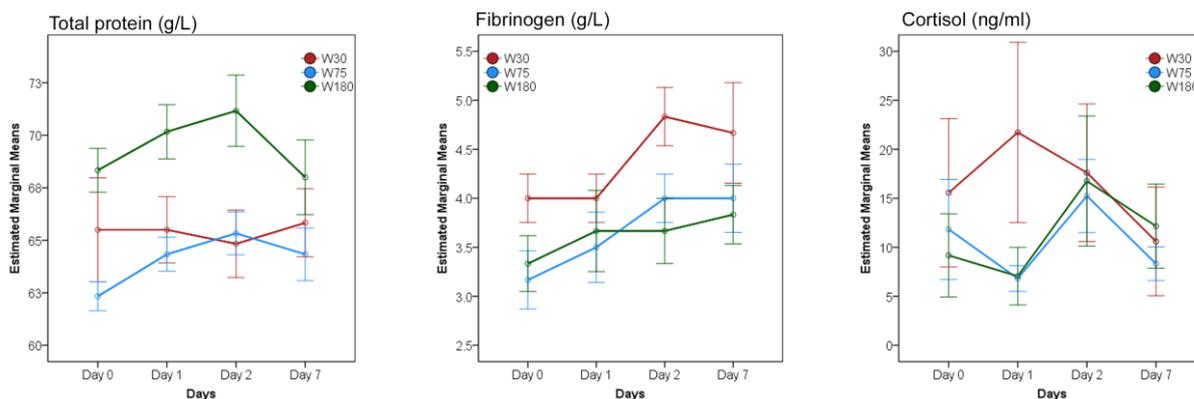


**Fig. 7.** Efeito do tratamento e do dia nos parâmetros fisiológicos de bezerros desmamados com diferentes idades.

#### 3.4.4 Proteínas totais, fibrinogênio plasmático e cortisol

A idade ao desmame alterou as proteínas séricas totais ( $P < 0.05$ ), com níveis maiores para os animais W180 ( $69,41 \pm 0,38$  g/L) e menores para W30 ( $65,41 \pm 0,10$  g/L) e W75 ( $64,13 \pm 0,29$  g/L), sem diferenças entre esses dois grupos. Os níveis de fibrinogênio plasmático modificaram no D2, no qual mostrou-se superior para os bezerros W30 ( $4,83 \pm 0,30$  g/L) quando comparados aos W180 ( $3,67 \pm 0,33$  g/L). Todavia, os animais W75 apresentaram-se semelhantes aos demais grupos nesse dia.

As concentrações de cortisol foram maiores no D0 para os animais W30 ( $15,56 \pm 3,40$  ng/ml) do que W180 ( $9,70 \pm 1,90$  ng/ml), com resultados intermediários para W75 ( $11,83 \pm 2,32$  ng/ml). No D1, os níveis aumentaram para os bezerros W30 ( $21,72 \pm 4,06$  ng/ml), sendo inferior do W75 ( $6,82 \pm 0,59$  ng/ml) e W180 ( $7,06 \pm 1,33$  ng/ml), para os dias subsequentes não foram observadas diferenças. Na evolução dos dias verifica-se que o pico de cortisol ocorreu no D1 para W30 e no D2 para W75 e W180 (Fig. 8).



**Fig. 8.** Evolução dos parâmetros sanguíneos de bezerros desmamados em diferentes idades.

#### 4. Discussão

A partir da comparação de diferentes idades ao desmame de bezerros de corte, foi avaliada a influência da separação precoce e definitiva (30 ou 75 dias) ou tardia (180 dias) sobre as atividades comportamentais e respostas fisiológicas. Nossas hipóteses eram de que os bezerros desmamados em idades jovens sofreriam maior estresse no período imediato ao desmame e, conseqüentemente, maior comprometimento de atividades importantes para a sobrevivência e desenvolvimento. Além disso, com base nos estudos de Reinhardt and Reinhardt (1981) e Stěhulová et al. (2013), presumimos que bezerros machos sofreriam maiores conseqüências do desmame do que as fêmeas. Desse modo, partimos da hipótese de que a idade ao desmame interfere nas expressões comportamentais e nos parâmetros fisiológicos. Entretanto, ao contrário do que se presumia, o sexo do bezerro não indicou interferências nesses parâmetros.

Nossos resultados evidenciaram que quanto mais jovem o bezerro for, maior será a intensidade das respostas frente ao estresse do desmame. Essas reações são caracterizadas, principalmente, pelo aumento de vocalizações do tipo extrema, níveis altos de caminhadas, menor frequência em alimentação, maior percentagem de visitas ao comedouro sem ingerir alimento, maior número de sucções cruzadas, elevação da frequência respiratória, do fibrinogênio e do cortisol. Ainda, salienta-se que as mudanças estão associadas principalmente aos D0 e D1 e a partir do D2 pós-desmame perdem a intensidade, ao passo que no D7 poucas diferenças são percebidas.

As alterações nas vocalizações e a maior frequência em caminhar dos bezerros mais jovens, que excepcionalmente foi de 2 a 3 vezes maiores e ocupou quase 50% do tempo, quando comparado aos mais velhos, sugerem que os jovens enfrentam piores condições de bem-estar após o desmame. Pois, identificaram rapidamente a privação da mãe e então vocalizaram com maior intensidade, ao mesmo tempo em que caminharam pelo curral em busca de encontrar a melhor direção para localizá-la. Esses comportamentos estão associados à separação ou desmame em bovinos (Loberg et al., 2008; Price, 2008), com destaque para o comportamento de vocalização (Stěhulová et al., 2017). A acentuada atividade comportamental de movimentação e vocalização nos primeiros dias parece ter ocasionado o aumento do período em ócio deitado no dia subsequente, como indício de exaustão física. O que pode presumir o início de uma habituação à ausência da mãe. Em concordância, Price et al. (2003) associam o comportamento não reativo de ócio deitado à habituação ao novo ambiente, aos novos convívios sociais e a ausência de cuidados maternos em bezerros desmamados.

Por outro lado, os bezerros mais velhos demoraram mais tempo para perceber a privação da mãe. Na prática, quando se relaciona esse comportamento observado com as condições naturais dos bezerros aos 180 dias de idades tem-se que, com o passar do tempo, o par vaca-bezerro fica mais distante ao longo do dia (Vitale et al., 1986), o que pode ser compreendido como menor ligação afetiva entre eles (Haley et al., 2005). Portanto, entende-se o fato de os bezerros mais velhos terem demorado mais tempo para constatar a supressão do vínculo materno, o que pode ser um indicativo de que o desmame seja menos estressante para bezerros mais velhos (Smith et al., 2003).

Diante disso, a vocalização emitida pelos animais é fundamental, pois trata-se de um indicador de bem-estar (Padilla de la Torre et al., 2015), que pode demonstrar angústia no pós-desmame, possivelmente, motivada pela intenção de encontrar a mãe e receber cuidados maternos (Weary et al., 2008), e saciar a fome (Thomas et al., 2001; Johnsen et al., 2018). Assim, a intensidade da vocalização vai depender das premências dos jovens por esses aspectos (Stěhulová et al., 2017), uma vez que essas necessidades são mais pronunciadas no início da vida do animal, como ocorreu na presente pesquisa, pois à medida que o bezerro cresce diminui o número de mamadas e o tempo total dessa atividade (Walker, 1962; Reinhardt and Reinhardt, 1981). Assim como, evidencia-se que o mesmo ocorre com os cuidados maternos

destinados a proteção do bezerro (von Keyserlingk and Weary, 2007).

Lambertz et al. (2015) também verificaram que bezerros desmamados aos oito meses de idade vocalizavam menos que aqueles desmamados aos seis meses. Em conformidade com esses pesquisadores, ressalta-se que os bezerros mais velhos já possuem ligações sociais com outros animais, e já aprenderam a buscar por outras fontes alimentares diferentes do leite. Além disso, observa-se, em bezerros de leite, que quanto mais independentes eles foram do leite materno no momento da separação total da mãe, menor o comportamento de vocalizações agudas (Johnsen et al., 2018). Essa menor dependência alimentar dos bezerros mais velhos pela mãe foi constatada no presente estudo, pois permaneceram mais tempo no comedouro e tiveram maior ingestão de alimento. Considerando que a regulação do consumo alimentar é realizada pelo sistema neuroendócrino e este é sensível as extensões do estresse, observa-se que o apetite de animais jovens pode ter sido reduzido a partir do reconhecimento de estressores pelo sistema nervoso central (Matteri et al., 2000; Duff and Galyean, 2007). Nesse sentido, tem-se que a baixa taxa de tempo em alimentação é considerada como um indicador de angústia durante o desmame (Price et al., 2003).

Além disso, observou-se que no D1 houve diminuição da frequência de alimentação para os bezerros W30 e W180 e esse comportamento também foi verificado para a frequência de ingestão de água. Segundo Hogan et al. (2007), essas atividades estão associadas positivamente, pois os estímulos para a ingestão de água são motivados pelo consumo de alimento. Esses achados geram desafios à saúde dos bezerros jovens em razão da alimentação ser fundamental para garantir a sobrevivência no pós-desmame, pois as reservas corporais são baixas nessa idade (Silva and Bittar, 2019). Em conformidade com o presente estudo, observa-se que quanto menor a idade de bezerros de leite e leitões ao desmame, menor o tempo que esses animais gastam consumindo alimento sólido, o que resultou em desempenho reduzido (Worobec et al., 1999; Eckert et al., 2015).

Nessa circunstância, recomenda-se monitorar os bezerros após o desmame e avaliar se os animais estão, efetivamente, se aproximando do cocho e ingerindo alimento. O que deve acontecer instantaneamente após o desmame, pois o atraso no início da ingestão resulta em baixo desempenho seja em suínos ou bovinos (Worobec et al., 1999; Orihuela and Galina, 2019) e incidências de mortalidade (Rasby, 2007). Durante essa vistoria é importante ter atenção, pois se constatou que os bezerros

jovens visitaram com mais frequência o comedouro sem ingerirem alimento. Dispositivos de monitorando remoto podem ser utilizados para avaliar o comportamento alimentar e identificar com antecedência bezerros com risco de adoecer (Belaid et al., 2020).

Embora nenhum dos grupos avaliados tenha sido anteriormente adaptado a dietas fornecidas em comedouros, os bezerros mais velhos já estavam mais habituados ao consumo de forragem junto com as mães. Logo, por já conhecerem o alimento volumoso e pela presença de feno de alfafa na dieta ofertada pode ter ocorrido uma estimulação à ingestão de alimento por esses animais. Apesar disso, pesquisadores avaliaram aspectos cognitivos de bezerros de leite separados de suas mães aos 42 dias e demonstraram que, mesmo animais treinados a receber alimento antes do desmame, apresentaram um viés de respostas negativas após a separação, com duração de 2,5 dias (Daros et al., 2014). Com isso, não está claro se o uso de técnicas, como *creep-feeding*, que auxiliaria o bezerro a reconhecer o comedouro como local de alimentação, iria minimizar as visitas ao cocho sem ingestão de alimento durante o desmame. Mais pesquisas precisam ser desenvolvidas com o intuito de mitigar a baixa frequência de alimentação no pós-desmame para animais jovens.

Ainda sobre o comportamento alimentar dos bezerros, observou-se que a idade ao desmame acarretou mudança acentuada na atividade de ruminação para os bezerros W30. Essa expressão não está totalmente compreendida, uma vez que o consumo de alimento diminuiu e, com a troca da alimentação líquida para sólida, esperava-se redução na atividade de ruminação. Assim como verificado por Hötzel et al. (2010), após a inserção da tabuleta nasal houve diminuição da frequência de pastejo e ruminação, em bezerros mais velhos. Provavelmente, o resultado encontrado na presente pesquisa pode estar relacionado com as mudanças fisiológicas do sistema gastrointestinal em bezerros jovens, já que a maior ruminação só foi observada para esse tratamento (W30). Aos trinta dias de idade, os compartimentos estomacais dos bezerros estão em processo de evolução (Church, 1974), apesar de já existir atividade de ruminação desde a segunda semana de vida (Swanson and Harris, 1958), o aumento marcante dos tecidos e do conteúdo ruminal só acontecem entre a quarta e a sexta semana (Kesler et al., 1951). De maneira que a ocorrência de instabilidade no primeiro e segundo mês podem ser resultantes do próprio estado de desenvolvimento animal (Lengemann and Allen, 1955).

A separação dos bezerros (W30 e W75) motivou o aparecimento de sucção

cruzada. Embora seja anormal, tal atividade está associada ao desmame em idades jovens, pois a privação materna em períodos de dependência do leite gera o aparecimento de comportamentos estereotipados, a partir dos estímulos frustrados de mamar ou ter contato físico com a mãe (Margerison et al., 2003; Latham and Mason, 2008). A sucção cruzada é um comportamento intensamente mencionado e estudado em bezerros de leite criados coletivamente, visto que o desmame ocorre em idade precoce (de Passillé, 2001). O desmame em bezerros de leite com seis semanas de idade aumentou 75% o comportamento oral não nutritivo (sucções cruzadas e/ou lambidas) comparado com bezerros desmamados com oito semanas (Eckert et al., 2015). Desse modo, uma das preocupações com a incidência dessa atividade se refere à queda no consumo de energia (de Passillé et al., 2010), o que pode levar a perda de peso, fato totalmente indesejado em sistemas de produção.

Em regra, as expressões comportamentais dos animais estão intimamente correlacionadas com as respostas fisiológicas (Mitlöhner et al., 2001). Nesse contexto, verificou-se que o aumento da frequência em caminhar dos bezerros W30 provocou elevação da taxa respiratória e da temperatura corporal retal. A faixa de temperatura verificada entre os tratamentos variou de 38,9°C a 39,9°C, sendo o limite máximo observado para os animais W75, ao passo que a frequência respiratória acompanhou esse mesmo pico de acréscimo. Em bezerros com seis meses de idade, a temperatura retal mensurada, no verão pelo período da manhã, variou de 39,1°C a 39,6°C (Theurer et al., 2014), valores próximos aos encontrados nessa pesquisa.

Embora os animais do presente estudo estivessem abrigados em curral com sombra artificial e área ao entorno arborizada, as variáveis temperatura corporal e batimentos cardíacos foram influenciadas pelas condições meteorológicas. As mudanças cardíacas são respostas centrais aos estressores físicos (Sapolsky et al., 2000). Essa constatação foi maior para os animais mais jovens (W30 e W75), o que já era esperado, pois as condições climáticas mostravam-se mais severas nesses momentos. Contudo, tal situação poderia ter sido um problema, uma vez que a ritmicidade da temperatura corporal só se estabelece após o segundo mês de vida (Piccione et al., 2003), pois as atividades do hipotálamo sob o controle da temperatura corporal demoram para serem efetivadas. Logo, fisiologicamente, esses animais não estavam preparados para perceber e restabelecer a homeostase após o estresse térmico.

Os níveis totais de proteínas plasmáticas foram superiores para bezerros

desmamados mais velhos. O que já era esperado, pois há um aumento na concentração de proteínas conforme a idade avança (Bueno et al., 2003). Já os bezerros mais jovens (W30 e W75) obtiveram maiores concentrações de cortisol e fibrinogênio plasmático. Esse aumento de cortisol é a representação fisiológica do comportamento exteriorizado pelos bezerros, pois os primeiros dias após o desmame foram caracterizados por inquietação e sofrimento para os jovens. Ao passo que, nos bezerros mais velhos, esse acréscimo ocorreu mais tarde, sendo também percebido sob o aspecto comportamental. Também, foi descrito por Murata (2007) que a relação fisiológica entre o estresse e as proteínas de fase aguda está baseada em um conceito de rede neuroendócrino-imune. Em síntese, os sinais oriundos de órgãos sensoriais em resposta ao estresse ativam os centros neuroendócrinos, com liberação de catecolaminas e glicocorticoides (cortisol), por sua vez, os neurotransmissores direta e/ou indiretamente ativam a produção e a liberação de proteínas de fase aguda no fígado em animais estressados. Anteriormente, já se presumia que a síntese do fibrinogênio poderia ser impulsionado pelo hormônio adrenocorticotrófico em resposta ao estresse (Phillips, 1984).

Desse modo, o fibrinogênio e as demais proteínas de fase aguda estão sendo referenciadas como possíveis marcadores na avaliação de estresse durante o manejo de bovinos (Arthington et al., 2003; Qiu et al., 2007). Assim, as oscilações nas concentrações demonstram a extensão da gravidade no animal (Murata et al., 2004). Semelhante ao encontrado na presente pesquisa, Hickey et al. (2003) constataram maiores concentrações de fibrinogênio para bezerros desmamados em comparação com bezerros não desmamados, com aumento após 48h do desmame em machos e decréscimo as 168h.

Diante do exposto, percebe-se que são necessárias precauções ao estabelecer um novo momento de desmame, aos 30 dias de idade, do par vaca-bezerro. Em idades muito jovens ocorrem sinalizações comportamentais e fisiológicas que expressam momentos de angústia e sofrimento para os animais, o que pode acarretar consequências consideráveis no decorrer da vida produtiva e, portanto, trata-se de um tópico emergente de investigação. Mudanças no pré e pós-manejo de desmame podem ser testadas como alternativas para minimizar o estresse. O fornecimento de alimento concentrado antes do desmame talvez auxilie na redução das visitas ao comedouro sem ingerir alimento, como forma de estimular o comportamento alimentar e aproveitar os benefícios dessa prática (Carvalho et al., 2019). Também é relevante

investigar novos métodos de separação, como procedimentos que permitem a visualização e/ou contato físico entre o par vaca-bezerro (Boland et al., 2008; Enríquez et al., 2010; Taylor et al., 2020).

Por fim, ainda não foi reportado como as fêmeas provindas do desmame W30 irão reagir com as suas futuras progênes, pois como essas foram desmamadas em idades extremamente jovens, determinados aprendizados por imitação, como o ato de pastear e a escolha de forrageiras adequadas ao pastejo não foram repassados por suas mães. Portanto, é de suma importância pesquisar o comportamento materno desses animais, de modo a contribuir no desenvolvimento de uma técnica com mínimos efeitos adversos para os bezerros e com melhorias nos índices produtivos e reprodutivos do rebanho de cria.

## **5. Conclusões**

A idade ao desmame em bezerros de corte implica em alterações comportamentais e fisiológicas. Bezerros desmamados antes dos três meses de idade demonstram aumento de vocalização, procura exacerbada pela mãe, limitada frequência em alimentação, aumento da sucção cruzada e maiores níveis de cortisol em comparação aos bezerros com seis meses, principalmente nos primeiros dias após a separação materno-filial. Esses eventos indicam a necessidade de adaptação nos aspectos de manejo, de nutrição ou de instalações a esta prática de manejo, com o intuito de minimizar os impactos negativos do desmame em idades jovens.

## **Declaração de conflito de interesse**

Os autores declaram não terem nenhum tipo de conflito.

## **Agradecimentos**

Agradecemos aos financiadores do projeto, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS – protocolo 17/2551-0001277-1) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq – protocolo 431277/2018-4). A todos os participantes do Núcleo de Estudos em Sistemas de Produção de Bovinos de Corte e Cadeia Produtiva (NESPro) e à equipe da fazenda

experimental da Universidade Federal do Rio Grande do Sul somos gratos por todo apoio recebido durante a pesquisa.

## Referências

- Acevedo, N., Hernández, C., Orihuela, A., Lidfors, L.M., Berg, C., 2005. Effect of restricted suckling or temporal weaning on some physiological and behavioural stress parameters in zebu cattle (*Bos indicus*). *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 18, 1176-1181. <https://doi.org/10.5713/ajas.2005.1176>.
- Arthington, J.D., Eicher, S.D., Kunkle, W.E., Martin, F.G., 2003. Effect of transportation and commingling on the acute-phase protein response, growth, and feed intake of newly weaned beef calves. *J. Anim. Sci.* 81, 1120-1125. <https://doi.org/10.2527/2003.8151120x>.
- Belaid, M.A., Rodríguez-Prado, M., Rodríguez-Prado, D.V., Chevaux, E., Calsamiglia, S., 2020. Using behavior as an early predictor of sickness in veal calves. *J. Dairy Sci.* 103, 1874-1883. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16887>.
- Boland, H.T., Scaglia, G., Swecker, W.S., Burke, N.C., 2008. Effects of alternate weaning methods on behavior, blood metabolites, and performance of beef calves. *P.A.S.* 24, 539-551. [https://doi.org/10.15232/s1080-7446\(15\)30903-7](https://doi.org/10.15232/s1080-7446(15)30903-7).
- Bučková, K., Špinka, M., Hintze, S., 2019. Pair housing makes calves more optimistic. *Scientific Reports*, 9, 20246. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56798-w>.
- Bueno A.R., Rasby, R., Clemens, E.T., 2003. Age at weaning and the endocrine response to stress. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 55, 1-7. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352003000100001>.
- Busch, G., Weary, D.W., Spiller, A., von Keyserlingk, M.A.G., 2017. American and German attitudes towards cow-calf separation on dairy farms. *PLoS ONE* 12, e0174013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174013>.
- Campistol, C., Kattesh, H.G., Waller, J.C., Rawls, E.L., Arthington, J.D., Carroll, J.A., Pighetti, G.M., Saxton, A.M., 2016. Effects of pre-weaning feed supplementation and total versus fenceline weaning on the physiology and performance of beef steers. *Int. J. Livest. Prod.* 7, 48-54. <https://doi.org/10.5897/IJLP2016.0291>.
- Carvalho, V.V., Paulino, M.F., Detmann, E., Filho, S.C. V., Lopes, S.A., Rennó, L.N., Sampaio, C.B., Silva, A.G., 2019. A meta-analysis of the effects of creep-feeding supplementation on performance and nutritional characteristics by beef calves

- grazing on tropical pastures. *Livest. Sci.* 227, 175-182. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.07.009>.
- Church, D.C., 1974. *Fisiología digestiva y nutrición de los rumiantes: fisiología digestiva*. Zaragoza, España.
- Colgan, P.W., 1978. *Quantitative ethology*. Wiley, New York.
- Costa e Silva, L.F., Valadares Filho, S.C., Rotta, P.P., Lopes, S.A., Paulino, P.V.R., Paulino, M.F., 2016, in: Valadares Filho, S.C., Costa e Silva, L.F., Gionbelli, M.P., Rotta, P.P., Marcondes, M.I., Chizzotti, M.L., Prados, L.F. (Eds.), *Nutrient requirements for lactating beef cows and their calves. Nutrient Requirements of Zebu and Crossbred Cattle – BR-CORTE*. Suprema Gráfica Ltda., Brazil, pp. 273-298.
- Daros, R.R., Costa, J.H.C., von Keyserlingk, M.A.G., Hötzel, M.J., Weary, D.M., 2014. Separation from the dam causes negative judgement bias in dairy calves. *PLoS ONE* 9, e98429. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098429>.
- de Passillé, A.M., 2001. Sucking motivation and related problems in calves. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 72, 175–187. [https://doi.org/10.1016/s0168-1591\(01\)00108-3](https://doi.org/10.1016/s0168-1591(01)00108-3)
- de Passillé, A.M., Sweeney, B., Rushen, J., 2010. Cross-sucking and gradual weaning of dairy calves. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 124, 11-15. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2010.01.007>.
- Duff, G.C., Galyean, M.L., 2007. Board-Invited Review: Recent advances in management of highly stressed, newly received feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 85, 823-840. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-501>.
- Eckert, E., Brown, H.E., Leslie, K.E., DeVries, T.J., Steele, M.A., 2015. Weaning age affects growth, feed intake, gastrointestinal development, and behavior in Holstein calves fed an elevated plane of nutrition during the preweaning stage. *J. Dairy Sci.* 98, 6315–6326. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-9062>.
- Enríquez, D., Hötzel, M.J., Ungerfeld, R., 2011. Minimising the stress of weaning of beef calves: a review. *Acta Vet. Scand.* 53, 1-8. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-53-28>.
- Enríquez, D.H., Ungerfeld, R., Quintans, G., Guidoni, A.L., Hötzel, M.J., 2010. The effects of alternative weaning methods on behaviour in beef calves. *Livest. Sci.* 128, 20-27. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2009.10.007>.
- Gonzalez, D.D., Vittone, J.C., Lado, M., Biolatto, A., Mozgovej, M.V., Ferella, A., Sammarruco, A., Maidana, S., Romera, S.A., Santos, M.C., 2013. Detection of

- antibodies against bovine herpes virus 1, bovine viral diarrhoea virus and bovine respiratory syncytial virus in early and ultra-early weaned beef calves. *Am. J. Anim. Vet. Sci.* 8, 210-219. <https://doi.org/10.3844/ajavssp.2013.210.219>.
- Haley, D.B., Bailey, D.W., Stookey, J.M., 2005. The effects of weaning beef calves in two stages on their behavior and growth rate. *J. Anim. Sci.* 83, 2205-2214. <https://doi.org/10.2527/2005.8392205x>.
- Hammer, O., Harper, D.A.T., Ryan, P.D., 2001. PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. *Palaeontol. Electron.* 4, 1-9.
- Hickey, M.C., Drennan, M., Earley, B., 2003. The effect of abrupt weaning of suckler calves on the plasma concentrations of cortisol, catecholamines, leukocytes, acute-phase proteins and in vitro interferon-gamma production. *J. Anim. Sci.* 81, 2847–2855. <https://doi.org/10.2527/2003.81112847x>.
- Hogan, J.P., Petherick, J.C., Phillips, C.J.C., 2007. The physiological and metabolic impacts on sheep and cattle of feed and water deprivation before and during transport. *Nutr. Res. Rev.* 20, 17-28. <https://doi.org/10.1017/s0954422407745006>.
- Hötzel, M.J., Cardoso, C.S., Roslindo, A., von Keyserlingk, M.A.G., 2017. Citizens' views on the practices of zero-grazing and cow-calf separation in the dairy industry: Does providing information increase acceptability? *J. Dairy Sci.* 100, 1-11. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11933>.
- Hötzel, M.J., Ungerfeld, R., Quintans, G., 2010. Behavioural responses of 6-month-old beef calves prevented from suckling: Influence of dam's milk yield. *Anim. Prod. Sci.* 50, 909-915. <https://doi.org/10.1071/AN09136>.
- IBM Corp. Released, 2011. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, Nova York.
- Johnsen, J.F, Mejdell, C.M., Beaver, A., Passillé, A.M., Rushen, J., Weary, D.M., 2018. Behavioural responses to cow-calf separation: The effect of nutritional dependence. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 201, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2017.12.009>.
- Jasper, J., Budzynska, M., Weary, D.M., 2008. Weaning distress in dairy calves: Acute behavioural responses by limit-fed calves. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 110, 136-143.
- Jensen, P., Algers, B., Ekesbo, I., 1986. *Methods of Sampling and Analysis of Data in Farm Animal Ethology*. Birkhäuser, Basel, Switzerland.
- Kesler, E.M., Ronning, M., Knodt, C.B., 1951. Some physical characteristics of the

- tissue and contents of the rumen, abomasum and intestines in male Holstein calves of various ages. *J. Anim. Sci.* 10, 969–974. <https://doi.org/10.2527/jas1951.104969x>.
- Lambertz, C., Farke-Röver, A., Matthias Gauly, M., 2015. Effects of sex and age on behavior and weight gain in beef calves after abrupt weaning. *Anim. Sci. J.* 86, 345-350. <https://doi.org/10.1111/asj.12285>.
- Latham, N.R., Mason, G.J., 2008. Maternal deprivation and the development of stereotypic behaviour. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 110, 84-108. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2007.03.026>.
- Lengemann, F.W., Allen, N.N., 1955. The Development of Rumen Function in the Dairy Calf - I. Some characteristics of the rumen contents of cattle of various ages. *J. Dairy Sci.* 38, 651-656. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(55\)95019-0](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(55)95019-0).
- Loberg, J.M., Hernandez, C.E., Thierfelder, T., Jensen, M.B., Berg, C., Lidfors, L., 2008. Weaning and separation in two steps: a way to decrease stress in dairy calves suckled by foster cows. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 111, 22-234. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2007.06.011>.
- Lynch, E., McGee, M., Earley, B., 2019. Weaning management of beef calves with implications for animal health and welfare. *J. Appl. Anim. Res.* 47, 167-175. <https://doi.org/10.1080/09712119.2019.1594825>.
- Margerison, J.K., Preston, T.R., Berry, N., Phillips, C.J.C., 2003. Cross-sucking and other oral behaviours in calves, and their relation to cow sucking and food provision. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 80, 277-286. [https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(02\)00231-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(02)00231-9).
- Martin, P., Bateson, P., 1993. *Measuring Behaviour*. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
- Matteri, R.L., Carroll, J.A., Dyer, C.J., 2000. Neuroendocrine responses to stress, in: Moberg, G.P., mench, J.A (Eds.), *The biology of animal stress*. CABI Publishing, United Kingdom, pp. 43-76.
- Mitlöhner, F.M., Morrow-Tesch, J.L., Wilson, S.C., Dailey, J.W., McGlone, J.J., 2001. Behavioral sampling techniques for feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 79, 1189-1193. <https://doi.org/10.2527/2001.7951189x>.
- Murata, H., 2007. Stress and acute phase protein response: An inconspicuous but essential linkage. *Vet. J.* 173, 473-474. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2006.05.008>.
- Murata, H., Shimada, N., Yoshioka, M., 2004. Current research on acute phase

- proteins in veterinary diagnosis: an overview. *Vet. J.* 168, 28-40. [https://doi.org/10.1016/s1090-0233\(03\)00119-9](https://doi.org/10.1016/s1090-0233(03)00119-9).
- O'Loughlin, A., McGee, M., Doyle, S., Earley, B., 2014. Biomarker responses to weaning stress in beef calves. *Res. Vet. Sci.* 97, 459-464. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2014.06.003>.
- Oliveira, T.E., Barcellos, J.O.J., Whittier, J., Teixeira, O.S., Freitas, D. S., Oaigen, R.P., Dill, M.D., McManus, C., 2018. Risks associated to different methods of increasing pregnancy rate of cows in cow-calf systems. *R. Bras. Zootec.* 47:e20180051. <http://dx.doi.org/10.1590/rbz4720180051>.
- Orihuela, A., Galina, C. S., 2019. Effects of separation of cows and calves on reproductive performance and animal welfare in tropical beef cattle. *Animals*, 9, 1-13. <https://doi.org/10.3390/ani9050223>.
- Padilla de la Torre, M., Briefer, E.F., Reader, T., McElligott, A.G., 2015. Acoustic analysis of cattle (*Bos taurus*) mother–offspring contact calls from a source–filter theory perspective. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 163, 58-68. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2014.11.017>.
- Pate, F.M., Crockett, J.R., Phillips, J.D., 1985. Effect of calf weaning age and cow supplementation on cow productivity. *J. Anim. Sci.* 61, 343–348. <https://doi.org/10.2527/jas1985.612343x>.
- Pérez, L.I., Orihuela, A., Galina, C.S., Rubio, I., Corro, M., Cohen, A., Hernández, A., 2017. Effect of different periods of maternal deprivation on behavioral and cortisol responses at weaning and subsequent growth rate in zebu (*Bos indicus*) type cattle. *Livest. Sci.* 197, 17-21. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2016.12.006>.
- Pérez-Torres, L., Orihuela, A., Corro, M., Rubio, I., Alonso, M.A., Galina, C.S., 2016. Effects of separation time on behavioral and physiological characteristics of Brahman cows and their calves. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 92, 4694-4700. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2016.03.010>.
- Phillips, W.A., 1984. The effect of assembly and transit stressors on plasma fibrinogen concentration of beef calves. *Can. J. Comp. Med.* 48, 35-41.
- Piccione, G., Caola, G., Refinetti, R., 2003. Daily and estrous rhythmicity of body temperature in domestic cattle. *BMC Physiol.* 3, 7. <https://doi.org/10.1186/1472-6793-3-7>.
- Price, E.O., 2008. Principles and applications of domestic animal behavior, first ed. Cambridge, United Kingdom.

- Price, E.O., Harris, J.E., Borgwardt, R.E., Sween, M.L. Connor, J.M. 2003. Fenceline contact of beef calves with their dams at weaning reduces the negative effects of separation on behavior and growth rate. *J. Anim. Sci.* 81, 116-121. <https://doi.org/10.2527/2003.811116x>.
- Qiu, X., Arthington, J.D., Riley, D.G., Chase, C.C., Phillips, W.A., Coleman, S.W., Olson, T.A., 2007. Genetic effects on acute phase protein response to the stresses of weaning and transportation in beef calves. *J. Anim. Sci.* 8510, 2367-2374. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-843>.
- Rasby, R., 2007. Early weaning beef calves. *Vet. Clin. N. Am-Food A.* 23, 29-40. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.01.002>.
- Reinhardt, V., Reinhardt, A., 1981. Natural sucking performance and age at weaning in zebu cattle (*Bos indicus*). *J. Agric. Sci.* 96, 309-312. <https://doi.org/10.1017/S0021859600066089>.
- Sapolsky, R.M., Romero, L.M., Munck, A.U., 2000. How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses? Integrating Permissive, Suppressive, Stimulatory, and Preparative Actions. *Endocr. Rev.* 21, 55-89. <https://doi.org/10.1210/er.21.1.55>
- Silva, F.L.M., Bittar, C.M.M., 2019. Thermogenesis and some rearing strategies of dairy calves at low temperature – a review. *J. Appl. Anim. Res.* 47, 115-122. 10. <https://doi.org/1080/09712119.2019.1580199>.
- Smith, D.L., Wiggers, D.L., Wilson, L.L., Comerford, J.W., Harpster, H.W., Cash, E.H., 2003. Postweaning behavior and growth performance of early and conventionally weaned beef calves. *PAS.* 19, 23-29. [https://doi.org/10.15232/s1080-7446\(15\)31370-x](https://doi.org/10.15232/s1080-7446(15)31370-x)
- Stěhulová, I., Spinka, M., Sárová, R., Máchová, L., Knez, R., Firla, P., 2013. Maternal behaviour in beef cows is individually consistent and sensitive to cow body condition, calf sex and weight. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 144, 89-97. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2013.01.003>.
- Stěhulová, I., Valníčková, B., Šárová, R., Špínka, M., 2017. Weaning reactions in beef cattle are adaptively adjusted to the state of the cow and the calf. *J. Anim. Sci.* 95, 1023-1029. <https://doi.org/10.2527/jas.2016.1207>.
- Swanson, E.W., Harris Jr, J.D., 1958. Development of rumination in the young calf. *J. Dairy Sci.* 41, 1768-1776. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(58\)91161-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(58)91161-5).
- Taylor, J.D., Gilliam, J. N., Mourer, G., Stansberry, C., 2020. Comparison of effects of four weaning methods on health and performance of beef calves. *Animal*, 1-10.

<https://doi.org/10.1017/S1751731119001228>.

- Theurer, M.E., Anderson, D.E., White, B.J., Miesner, M.D., Larson, R.L., 2014. Effects of weather variables on thermoregulation of calves during periods of extreme heat. *American J. Vet. Res.* 75, 296-300. <https://doi.org/10.2460/ajvr.75.3.296>.
- Thomas, T.J., Weary, D.M., Appleby, M.C. 2001. Newborn and 5-week-old calves vocalize in response to milk deprivation. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 74, 165-173. [https://doi.org/10.1016/s0168-1591\(01\)00164-2](https://doi.org/10.1016/s0168-1591(01)00164-2).
- Tucker, C.B., Rogers, A.R., Schütz, K.E., 2008. Effect of solar radiation on dairy cattle behaviour, use of shade and body temperature in a pasture-based system. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 109, 141-154. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2007.03.015>.
- Valníčková, B., Stěhulová, I., Šárová, R. Špinka, M., 2015. The effect of age at separation from the dam and presence of social companions on play behavior and weight gain in dairy calves. *J. Dairy Sci.* 98, 5545–5556 <https://doi.org/10.3168/jds.2014-9109>
- Ventura, B.A., von Keyserlingk, M.A.G., Schuppli, C.A., Weary D.M., 2013. Views on contentious practices in dairy farming: The case of early cow-calf separation. *J. Dairy Sci.* 96, 6105-6116. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6040>.
- Vitale, A.F., Tenucci, M., Papini, M., Lovari, S., 1986. Social behaviour of the calves of semi-wild Maremma cattle, *Bos primigenius taurus*. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 16, 217-231. [https://doi.org/10.1016/0168-1591\(86\)90115-2](https://doi.org/10.1016/0168-1591(86)90115-2)
- von Keyserlingk, M.A.G., Weary, D.M., 2007. Maternal behavior in cattle. *Horm. Behav.* 52, 106-113.
- Walker, D.E., 1962. Suckling and grazing behaviour of beef heifers and calves. *New Zeal. J. Agr. Res.* 5, 331-338. <https://doi.org/10.1080/00288233.1962.10419963>.
- Warner, J.M., Jenkins, K.H., Rasby, R.J., Luebbe, M.K., Erickson, G. E., Klopfenstein, T.J., 2015. The effect of calf age at weaning on cow and calf performance and feed utilization by cow-calf pairs. *Prof. Anim. Sci.* 31, 455-461. <https://doi.org/10.15232/pas.2015-01393>.
- Weary, D.M., Jasper, J., Hötzel, M.J., 2008. Understanding weaning distress. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 110, 24-41. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2007.03.025>.
- Willard, M.D., Tvedten, H., 2004. *Small animal clinical diagnosis by laboratory methods fourth ed.* Philadelphia, Pennsylvania. <https://doi.org/10.1016/B0-7216-8903-5/X5001-0>.
- Worobec, E.K., Duncan, I.J.H., Widowski, T.M., 1999. The effects of weaning at 7, 14

and 28 days on piglet behaviour. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 62, 173-182. [https://doi.org/10.1016/s0168-1591\(98\)00225-1](https://doi.org/10.1016/s0168-1591(98)00225-1).

### **CAPÍTULO III**

## **Desmame aos 30, 75 e 180 dias: comparação entre respostas imunológicas de bezerros de corte**

### Destaques

- 1) Neutrofilia e linfopenia são reportadas tardiamente após o desmame em bezerros jovens;
- 2) O sexo do bezerro influencia nos neutrófilos, nos linfócitos e na relação N:L;
- 3) Aumento da percentagem de hematócrito após o desmame para todas as idades testadas;
- 4) Elevação do fibrinogênio e cortisol em bezerros desmamados jovens;
- 5) Novas pesquisas, com foco na resposta imunológica tardia, devem ser consideradas.

RESUMO: Pressupõe-se que a interrupção do vínculo materno-filial em bezerros jovens pode alterar as respostas fisiológicas, em virtude do aumento do estresse sofrido por esses animais. Desse modo, objetivou-se analisar a associação entre a idade ao desmame e as respostas imunológicas de bezerros de corte. Foram desmamados abruptamente 64 bezerros e designados a três tratamentos: desmame hiperprecoce (W30), precoce (W75) e convencional (W180). A fim de oportunizar a comparação entre os tratamentos, foram retiradas amostras sanguíneas de todos os animais independentemente da idade, cujas coletas ocorreram no dia do desmame (dia 0) e no primeiro (dia 1), segundo (dia 2) e sétimo dia (dia 7) pós-desmame. Para análise, consideraram-se os parâmetros hematológicos, proteínas plasmáticas, fibrinogênio, soro amiloide A e cortisol. Nesse sentido, verificou-se que o dia de avaliação influenciou nas características avaliadas ( $P < 0,001$ ), assim como o sexo do bezerro ( $P < 0,05$ ) e a interação entre os fatores tratamento  $\times$  dia ( $P < 0,001$ ). Observou-se, ao longo do período analisado, o predomínio de elevado níveis de cortisol para os bezerros W30. A proteína soro amiloide A apresentou diferença apenas pelo fator dia ( $P < 0,031$ ), com acréscimos nos níveis entre os dias 82 e 187. Quando comparados com os bezerros W180, os animais W30 e W75 tiveram respostas prolongadas no fibrinogênio plasmático, com oscilações aos 187 dias de idade, período máximo avaliado neste estudo. Ainda, apresentaram neutrofilia e linfopenia com respostas tardias, o que provocou acréscimo da relação

Neutr3f3lo:Linf3c3ito (N:L). A porcentagem de hematócrito aumentou após o desmame, em todos os tratamentos ( $P < 0,05$ ). Os resultados apontam também que o sexo dos bezerros resultou em mudanças nas principais células de defesa ( $P < 0,05$ ), sendo que as fêmeas obtiveram maior porcentagem de neutr3f3ilos e maior relação N:L. Essas evidências oportunizam um alerta para desmames em idade precoce, uma vez que diferentes estratégias de manejo devem ser testadas a fim de minimizar as instabilidades fisiológicas em períodos críticos da vida do animal.

Palavras-chave: bovinos de corte, estresse, fibrinogênio, neutr3f3ilos, relação N:L

## 1. Introdução

Com a intensificação da produção no rebanho de cria e, conseqüentemente, o surgimento de novas tecnologias nutricionais, tornou-se possível o aprimoramento de práticas de manejo, como o desmame de bezerros em idades precoces. Essa técnica é justificada pelo incremento nos índices reprodutivos, pois à medida que o vínculo materno-filial é rompido, o organismo da fêmea bovina retorna, de forma mais eficiente, a atividade ovariana (Orihuela and Galina, 2019), bem como, proporciona aos bezerros uma dieta diferenciada para prepará-los à recria. À vista disso, o desmame aos 30 dias de idade (Gonzalez et al., 2013), configura-se como uma das técnicas mais antecipadas em bovinos de corte.

Por outro lado, verifica-se que o desmame é caracterizado por múltiplos fatores estressantes para o bezerro (Weary et al., 2008; Lynch et al., 2010; Lynch et al., 2019). Esses estressores quando reconhecidos pelo sistema nervoso central como ameaçadores à homeostase, resultam em uma combinação de defesa biológica, cuja resposta pode ocorrer por meio do comportamento, do sistema neuroendócrino, do sistema nervoso autônomo e do sistema imunológico (Moberg, 2000). As respostas de defesas mais severas ao estresse realizam-se quando há o envolvimento do sistema neuroendócrino (O'Loughlin et al., 2011). Por meio dos glicocorticoides pode haver mudanças no nível hematológico (O'Loughlin et al., 2014) e nas proteínas de fase aguda, reconhecidas como indicadores fisiológicos de estresse, as quais também são sensíveis a rede neuroendócrino-imune (Murata, 2007).

Nessa circunstância, a idade do bezerro ao desmame pode resultar em alterações ainda mais acentuadas no sistema imunológico, visto que bezerros jovens possuem maior dependência nutricional da mãe (Enríquez et al., 2011). Portanto, podem vivenciar acentuadas condições de estresse no momento do desmame. Entre a terceira e a quarta semana de vida do animal, ocorrem importantes modificações em termos de desenvolvimento do sistema imunológico (Hulbert and Moisés, 2016), configurando-se como um período susceptível a doenças. Diante disso, evidencia-se que existe uma lacuna de investigação científica, pois se desconhece a forma como essas alterações imunológicas ocorrem em bezerros desmamados em idades jovens. Pesquisas que possuem essa abordagem estão fundamentadas em desmames tardios, ou seja, dos 89 aos 250 dias de idade (Blanco et al., 2009; Lynch et al., 2011; Lynch et al., 2012; O'Loughlin et al., 2014). Além disso, efeitos mais prolongados não

foram ainda descritos, pois esses estudos possuem um período analítico limitado a 35 dias após o desmame.

Portanto, nossa investigação parte da hipótese de que bezerros desmamados em idades precoces podem enfrentar piores condições imunológicas decorrentes de respostas fisiológicas ao estresse em virtude do período de desenvolvimento do sistema imunológico. Com isso, objetivamos analisar, a longo prazo, as respostas imunológicas em bezerros de corte desmamados aos 30, 75 e 180 dias de idade.

## **2. Material e métodos**

### *2.1 Nota ética e local experimental*

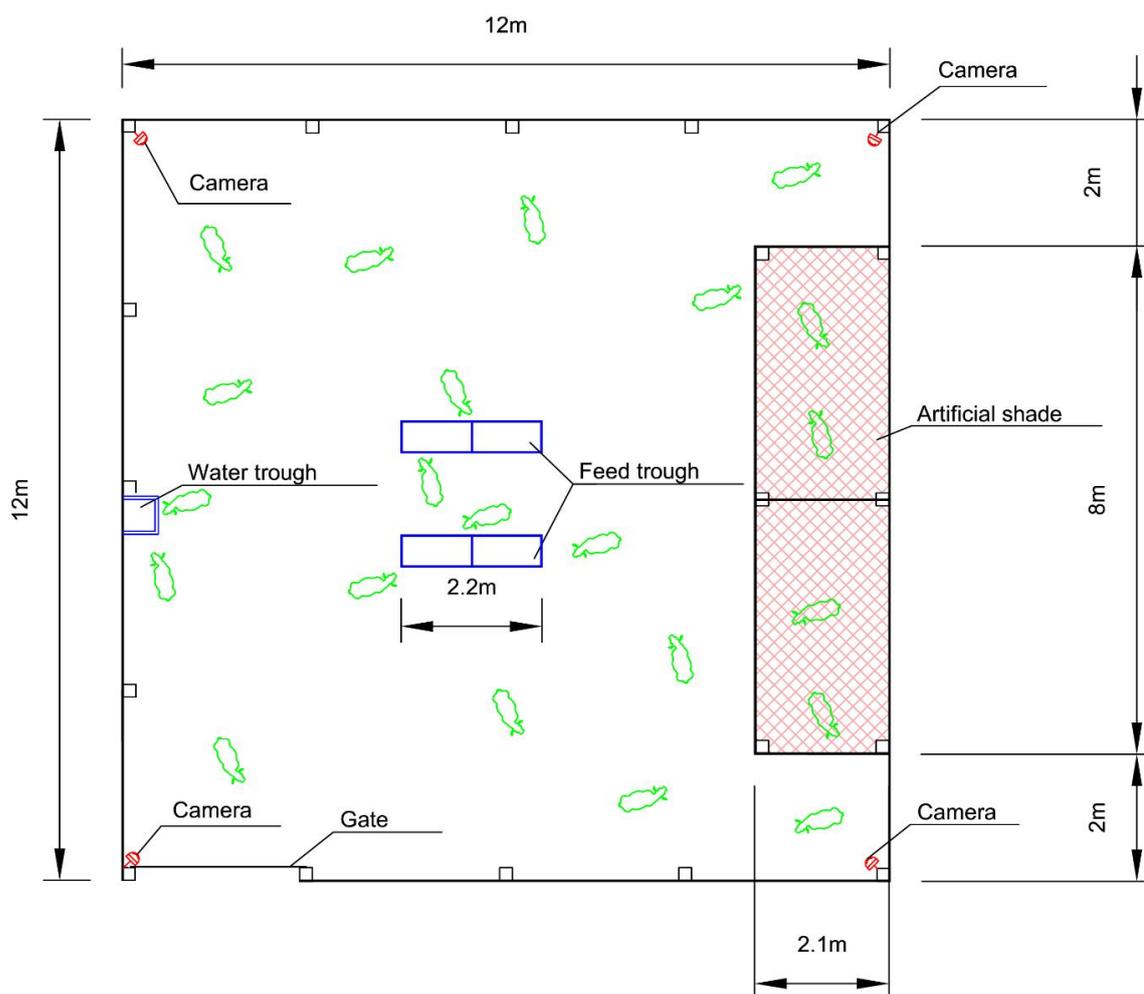
A Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) aprovou todos os procedimentos de manejo realizados nos bezerros durante essa pesquisa (licença nº 33439). O experimento foi desenvolvido na fazenda experimental da UFRGS, situada no município de Eldorado do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil, entre outubro de 2018 e junho de 2019.

### *2.2 Animais, tratamentos e manejo experimental*

Foram utilizados 64 bezerros (machos e fêmeas) da raça Brangus, nascidos na primavera e distribuídos em três grupos, conforme a idade de desmame: i) desmame hiperprecoce (W30;  $n = 22$ ), com peso de  $53,45 \pm 1,10$  kg (média  $\pm$  EP) e idade de  $32 \pm 0,89$  dias; ii) desmame precoce (W75;  $n = 20$ ), com peso de  $84,63 \pm 2,05$  kg e idade de  $77 \pm 0,95$  dias, e; iii) desmame convencional (W180;  $n = 22$ ), com peso de  $157,62 \pm 2,87$  kg e idade de  $183 \pm 0,82$  dias. Os bezerros são filhos de vacas com idade de  $4,3 \pm 0,23$  anos, cujos partos ocorreram em condições normais. Antes do desmame, as vacas e os bezerros foram mantidos nas mesmas condições alimentares, em pastagem nativa com 2.200 kg de MS/ha e pastagem cultivada de milheto (*Penisetum americanum*) com 1.830 kg de MS/ha.

Nos dias programados para os desmames, as vacas e os bezerros foram conduzidos ao centro de manejo. Após a separação, as vacas foram guiadas a uma distância de 2,6 km para evitar que escutassem as vocalizações de suas progênies. Por sua vez, os bezerros foram desmamados abruptamente (separação física total

entre a mãe e a progênie) e confinados de forma coletiva. O manejo de desmame foi o mesmo para todos os tratamentos, sendo que W30 e W75 foi realizado no verão (dezembro e fevereiro, respectivamente) e W180 ocorreu no outono (maio). Dessa forma, foi mantido igual período de acasalamento, de nascimento e de desmame realizado na região Sul do Brasil. Os bezerros foram alocados em um curral com disponibilidade de dois comedouros, um bebedouro automático e sombra artificial (Fig. 1).



**Fig. 1.** Representação gráfica do confinamento dos bezerros.

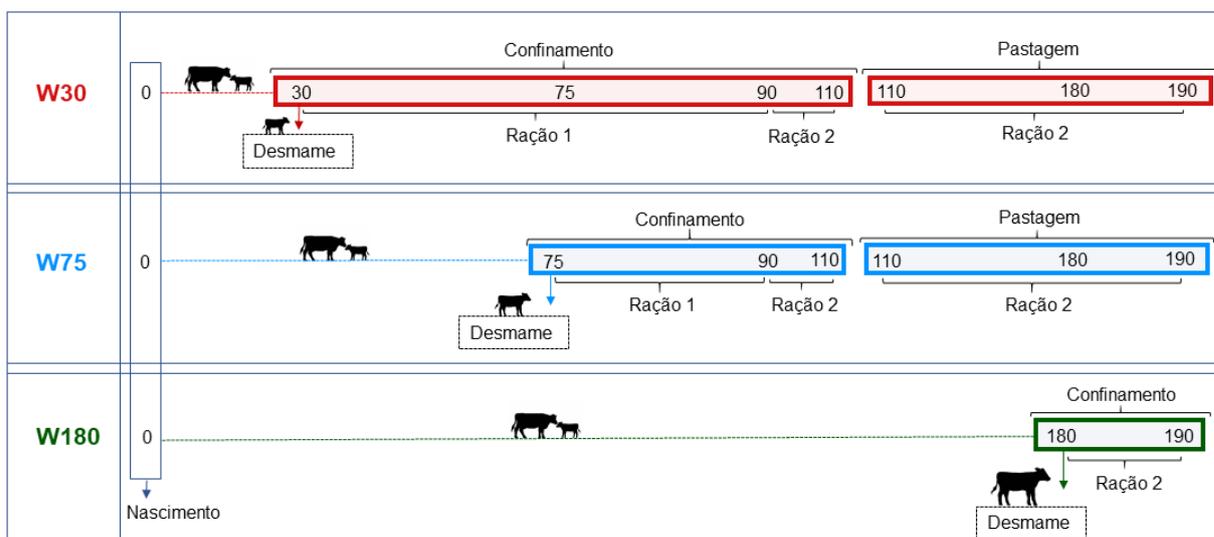
### 2.3 Manejo nutricional e sanitário dos bezerros

Os bezerros do grupo W30 permaneceram dos 30 aos 110 dias de idade confinados (Fig. 2). No período dos 30 aos 90 dias, foram alimentados à vontade com ração inicial peletizada 1 (200 g/kg de proteína bruta (PB); 60g/kg de fibra bruta (FB) e 740 g/kg de nutrientes digestíveis totais (NDT)) e feno de alfafa (167 g/kg de PB e

456 g/kg de FDN), com média de consumo total de 1% do peso vivo (com base na matéria seca) do 30º ao 40º dia e consumo médio total de 2,3% do 41º ao 90º dia de idade. Dos 91 aos 110 dias receberam a ração comercial de crescimento peletizada 2 (180 g/kg de PB; 120 g/kg FB e 720 g/kg de NDT) e feno de alfafa, com média de consumo total de 3,1% do peso vivo. Independente do tratamento, nenhum animal recebeu suplementação antes do desmame. Portanto, a iniciação foi dada com a introdução de feno na dieta (Rasby, 2007; Orihuela and Galina, 2019).

Os bezerros W75 foram desmamados e permaneceram até os 110 dias de idade no confinamento, sendo que do 75º ao 90º dia receberam a ração 1 e feno de alfafa, com média de consumo de 1% do peso vivo; entre 91º e o 110º dia os bezerros receberam a ração 2 e feno, com consumo de 2,2% do peso vivo. Os bezerros de ambos os tratamentos foram alimentados três vezes ao dia (08h00min, 14h00min e 18h00min).

Após os 110 dias de idade, todos os bezerros submetidos ao desmame hiperprecoce e precoce foram conduzidos a pastagem de braquiária (*B. decumbens*, *B. brizantha* e *B. ruziziensis*). A composição bromatológica da pastagem era de 58 g/kg de PB e 665 g/kg de FDN, com área de três hectares e massa de forragem de 2.270 kg de MS/ha, com média de consumo de ração de 1,5% do peso vivo. Os bezerros permaneceram nessa pastagem até os 190 dias de idade e foram suplementados uma vez ao dia, pela manhã. Já os bezerros W180 foram desmamados aos 180 dias e receberam a ração comercial de crescimento peletizada 2 e feno de alfafa, com média de consumo total de 1,4% do peso vivo.



**Fig. 2.** Manejo nutricional dos bezerros.

Os bezerros receberam a vacina preventiva para clostridioses aos 40 dias de idade, com dose de reforço aos 90 dias, além de mensalmente serem medicados contra endo e ectoparasitas. Também, monitorou-se visualmente a incidência de secreção nasal e ocular, diarreia e aferiu-se a temperatura retal, o que contribuiu para não haver mortalidade ao longo do experimento.

#### *2.4 Coleta de sangue*

As coletas de sangue iniciavam às 08h00min, por meio da punção da veia jugular, nos dias 0, 1, 2 e 7 pós-desmame (corresponde aos dias 30, 31, 32 e 37 para W30; 75, 76, 77 e 82 para W75 e; 180, 181, 182 e 187 para W180), de todos os bezerros. As coletas de sangue para as análises de cortisol e de soro amiloide A eram realizadas imediatamente após a imobilização do animal, com o uso do tubo a vácuo de 10 mL (BD, Franklin Lakes, NJ, EUA) com ativador de coágulo. Posteriormente, essas amostras foram centrifugadas (2.000 x g por 20 min) e congeladas em botijão contendo nitrogênio líquido (-196 °C). Para as análises de hemograma e fibrinogênio, coletou-se sangue em tubos de vácuo de 4 mL (BD, Franklin Lakes, NJ, EUA) com ácido etilenodiaminotetracético (EDTA, K2, 7,2 mg por tubo).

#### *2.5 Hemograma completo*

As células vermelhas (RBC) e brancas do sangue (WBC), o volume corpuscular médio (MCH), a hemoglobina (HGB), a concentração de hemoglobina corpuscular média (MCHC) e o hematócrito (HCT) foram processados utilizando um contador automático (Idexx, Procyte DX). Contudo, salienta-se que essas análises foram impedidas de serem processadas nos dias 77 e 82, pois houve formação de fibrina em um dos tratamentos. Utilizou-se o método manual para a diferenciação das células leucocitárias (neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monócitos e linfócitos), por meio da microscopia óptica (1000 x) por esfregaços corados com panótico rápido. A partir dessa análise, calculou-se a relação de neutrófilos:linfócitos (N:L).

#### *2.6 Parâmetros fisiológicos*

Para as proteínas plasmáticas totais foi utilizado um contador automático (Idexx,

Procyte Dx) e para auferir a concentração de fibrinogênio no plasma sanguíneo empregou-se o método de precipitação pelo calor (Willard and Tvedten, 2004). Para a verificação do cortisol utilizou-se o método de quimioluminescência por meio do kit comercial (Beckman Coulter) e a leitura pelo equipamento Access II (Beckman Coulter). Por fim, para a mensuração da proteína soro amiloide A (SAA) aplicou-se o método de Elisa (Kit comercial específico para bovinos – Bioassay Technology Laboratory) e a leitura pelo equipamento Thermo Fischer Scientific. Os valores de coeficiente de variação para os dados inter e intra de todas os ensaios laboratoriais foram abaixo de 10%.

## *2.7 Análise estatística*

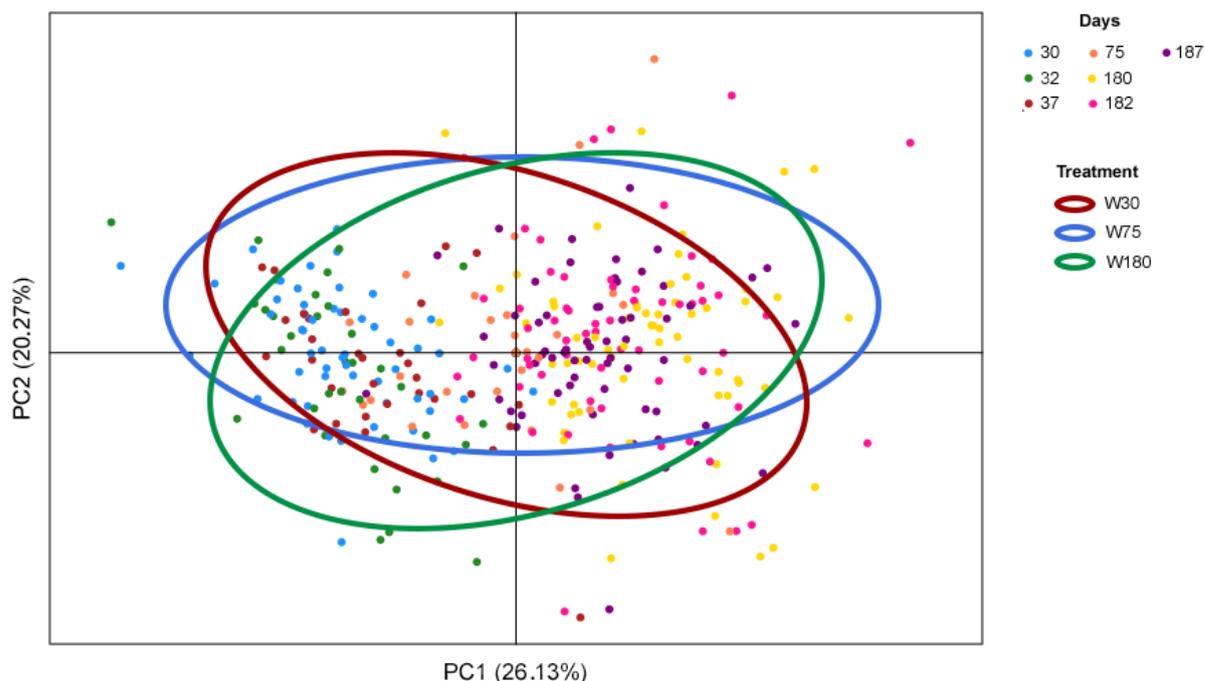
Os dados foram submetidos a análise de componentes principais, utilizando o coeficiente de correlação como medida de similaridade para avaliar as diferenças entre os tratamentos. A comparação foi realizada por meio do teste de PERMANOVA, visando também a comparação entre os dias avaliados. Essas análises consideraram um nível de 5% de significância e foram operacionalizadas no programa PAST 3.0 (Hammer, et al., 2001). Posteriormente, avaliou-se a evolução de cada variável em sua série temporal, do 30<sup>o</sup> ao 187<sup>o</sup> dia de idade dos bezerros. Para isso, empregou-se uma análise de variância com medidas repetidas (ANOVA), considerando o sexo do bezerro e a idade da mãe como covariável. O teste T3 de Dunnet foi utilizado para comparar os efeitos de cada fator. Ainda, quando o sexo do bezerro apresentou diferença, aplicou-se o modelo linear generalizado para determiná-la. Essas análises foram executadas no SPSS 20.0 (IBM, 2011), considerando o nível de significância de 5%.

## **3. Resultados**

### *3.1 Análise dos componentes principais*

A análise dos componentes principais evidenciou que o dia de avaliação influenciou as características avaliadas ( $P < 0,001$ ), assim como a interação entre tratamento x dia de amostragem ( $P < 0,001$ ) (Fig. 3). As duas primeiras variações dos componentes principais somadas contribuíram com 46,4% para os resultados. No

componente principal 1 (PC1), os linfócitos e as células brancas do sangue tiveram maior participação na variação total. E no PC2 a hemoglobina e as células vermelhas do sangue representaram as variáveis com maior contribuição.



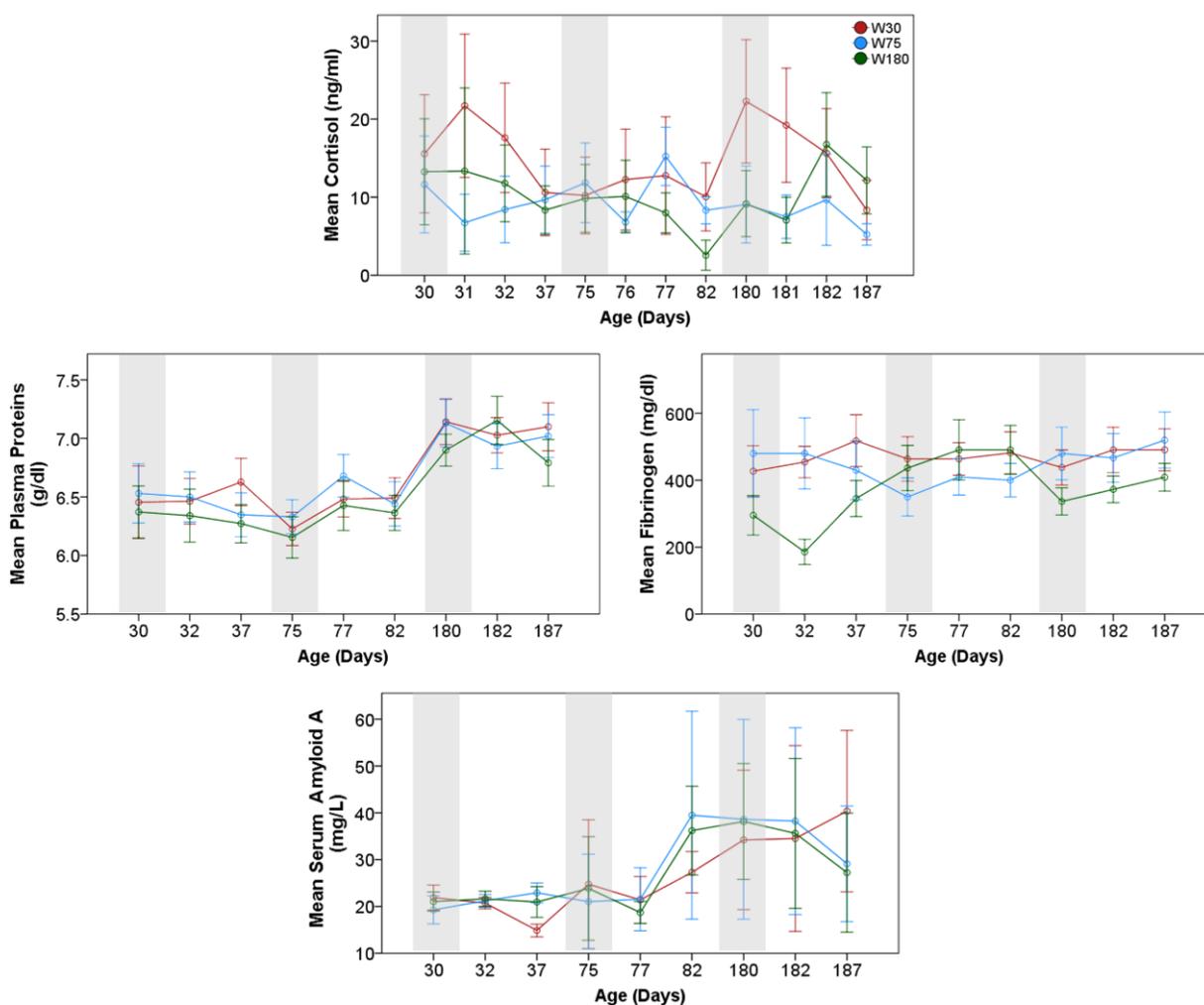
**Fig. 3.** Gráfico do componente principal 1 (PC1) versus 2 (PC2).

### 3.2 Parâmetros fisiológicos

Efeitos de interação entre o tratamento  $\times$  dia ( $P < 0,0001$ ) foram verificados para o cortisol. Os bezerros W30 apresentaram maiores níveis de cortisol nos dias 31, 32, 180 e 181, sendo que no 77º dia esses foram similares ao W75 e no 187º dia apresentaram semelhança com W180 (Fig. 4). As proteínas plasmáticas diferiram apenas pelo fator dia ( $P < 0,0001$ ), apesar de um decréscimo aos 75 dias de idade dos bezerros ( $6,24 \pm 0,07$  g/dl), voltaram a aumentar nos dias subsequentes, com média de  $7,00 \pm 0,13$  g/dl aos 187 dias.

Observa-se o efeito da interação tratamento  $\times$  dia da avaliação ( $P < 0,0001$ ) para o fibrinogênio plasmático, no qual os tratamentos W30 e W75 apresentaram maiores níveis desse parâmetro aos 30, 32, 180 e 182 dias de idade, do que o tratamento W180. Os bezerros W30 demonstraram níveis elevados de fibrinogênio no 75º dia em comparação com W75 ( $463,63 \pm 33,25$  mg/dl vs.  $350,00 \pm 28,56$  mg/dl). Os níveis de soro amiloide A foram alterados apenas pelo fator dia de amostragem ( $P = 0,031$ ),

sendo que os picos de produção foram verificados entre os dias 82 e 187, variando de  $32,01 \pm 3,70$  a  $36,96 \pm 4,30$  mg/L.



**Fig. 4.** Efeito da idade ao desmame sob os parâmetros fisiológicos em bezerros de corte.

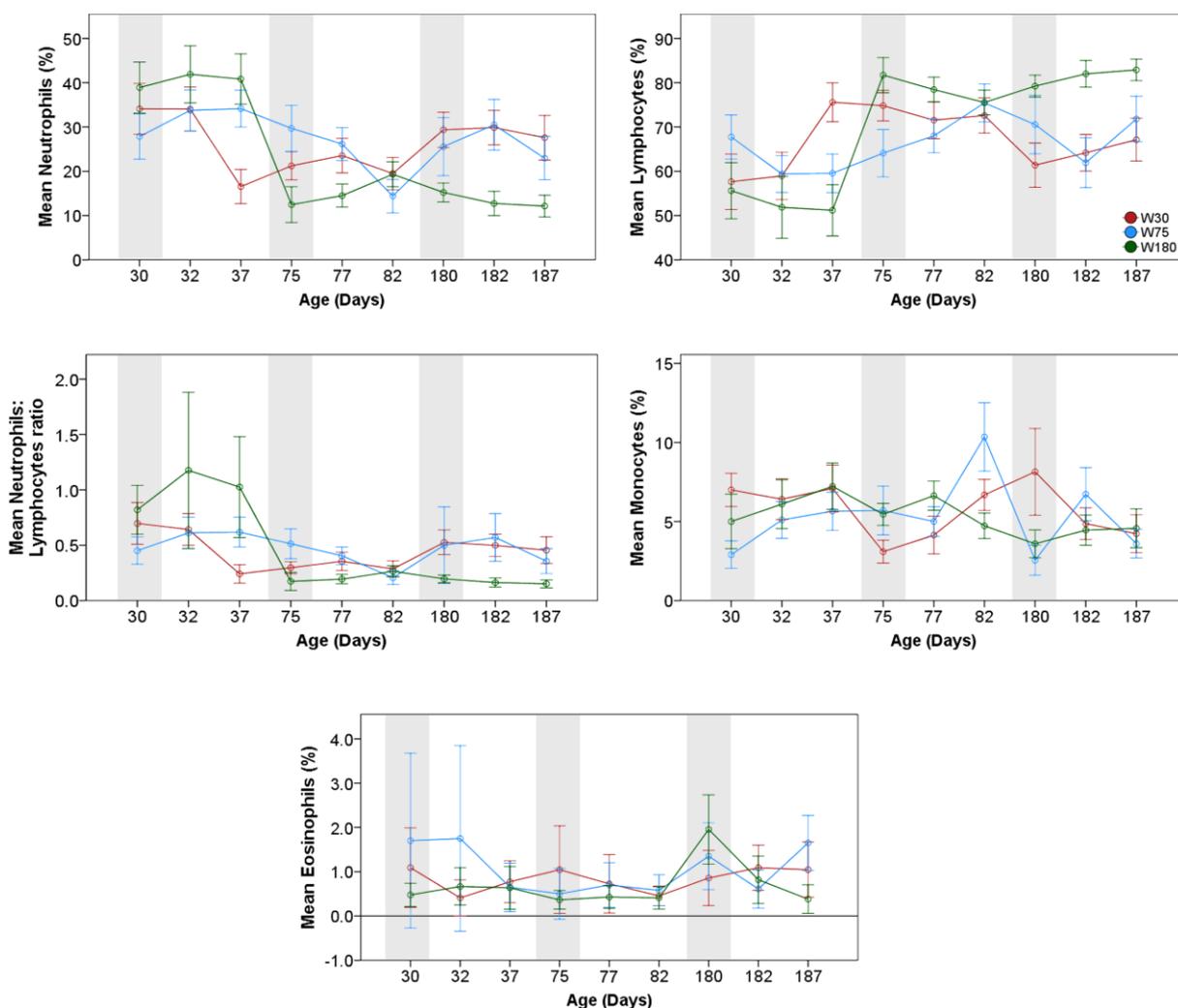
### 3.3 Parâmetros hematológicos

#### 3.3.1 Percentagem de células imunológicas

Foram observados efeitos da interação entre tratamento  $\times$  dia da avaliação ( $P < 0,0001$ ) para os linfócitos (%), neutrófilos (%), relação de N:L e monócitos (%) (Fig. 5). De outra parte, não houve efeito de tratamento, dia ou interação para os eosinófilos ( $P > 0,05$ ). Os bezerros W30 e W75 apresentaram percentagens mais baixas de linfócitos nos dias 180, 182 e 187 em comparação com os bezerros W180.

A percentagem de neutrófilos foi menor para os bezerros do desmame

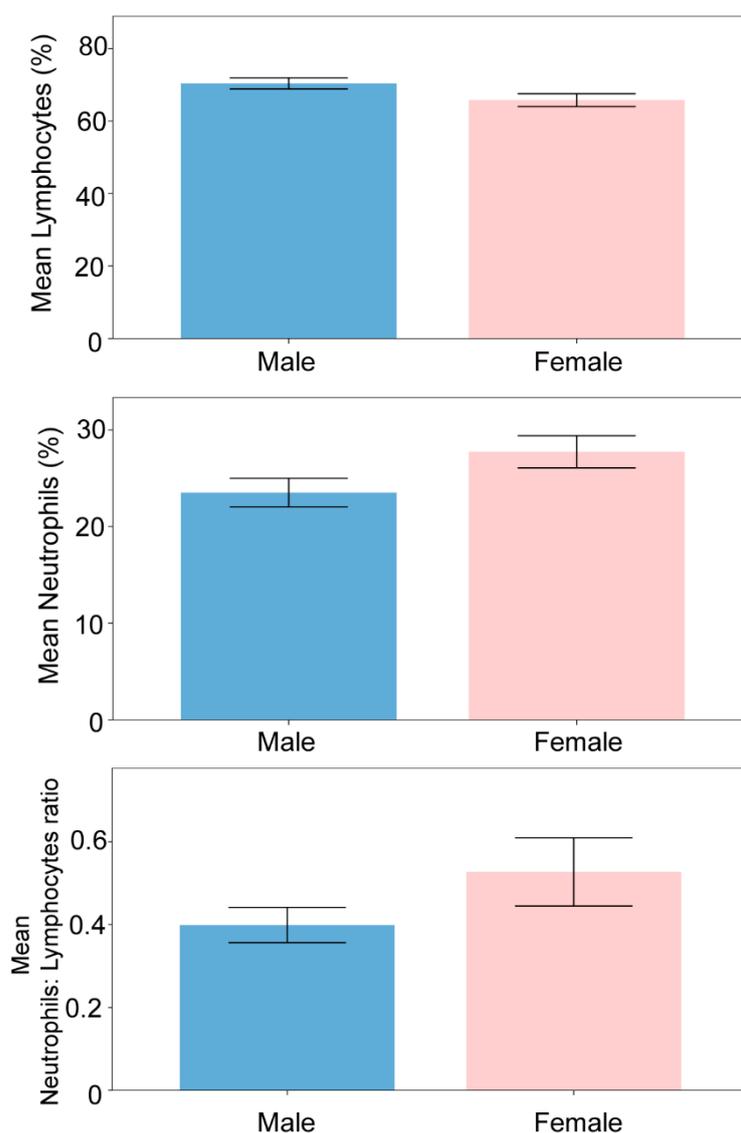
hiperprecoce ( $16,54 \pm 1,95\%$ ) no 37º dia em comparação com o precoce ( $34,15 \pm 2,48\%$ ) e convencional ( $40,81 \pm 2,84\%$ ). Além disso, evidencia-se diminuição dos neutrófilos para os bezerros W180 nos dias 75 ( $12,45 \pm 2,01\%$ ), 77 ( $14,50 \pm 1,31\%$ ), 180 ( $15,22 \pm 1,07\%$ ), 182 ( $12,72 \pm 1,37\%$ ) e 187 ( $12,14 \pm 1,22\%$ ) em comparação com W30 ( $21,22 \pm 1,58\%$ ;  $23,54 \pm 1,94\%$ ;  $29,36 \pm 1,99\%$ ;  $29,86 \pm 1,96\%$ ;  $27,59 \pm 2,52\%$ , respectivamente) e W75 ( $29,70 \pm 2,60\%$ ;  $26,15 \pm 1,85\%$ ;  $25,55 \pm 3,28\%$ ;  $30,50 \pm 2,87\%$ ;  $22,95 \pm 2,44\%$ , respectivamente). Como consequência dessa alteração, verifica-se que o desmame convencional obteve menor relação N:L nos dias 75, 77, 182 e 187. A percentagem de monócitos foi elevada para os bezerros do desmame precoce na amostragem do 82º dia ( $10,35 \pm 1,08\%$ ) em relação ao hiperprecoce ( $6,69 \pm 0,49\%$ ) e convencional ( $4,72 \pm 0,40\%$ ). Além disso, aos 180 dias de idade verificou-se aumento dos monócitos para os bezerros W30 ( $8,14 \pm 1,37\%$ ) em referência ao W75 ( $2,55 \pm 0,48\%$ ) e W180 ( $3,59 \pm 0,44\%$ ).



**Fig. 5.** Parâmetros hematológicos de bezerros desmamados em diferentes idades ao

longo do tempo.

Os bezerros machos apresentaram maior percentagem de linfócitos ( $P = 0,003$ ) do que as fêmeas ( $70,37 \pm 0,76\%$ ;  $65,76 \pm 0,88\%$ , respectivamente) (Fig. 6). Entretanto, as fêmeas demonstraram maior concentração de neutrófilos ( $P = 0,002$ ) do que os machos ( $27,73 \pm 0,83\%$ ;  $23,50 \pm 0,73\%$ , respectivamente) e relação de N:L ( $P = 0,022$ ) ( $0,53 \pm 0,04$ ;  $0,40 \pm 0,02$ , respectivamente) (Fig. 6).

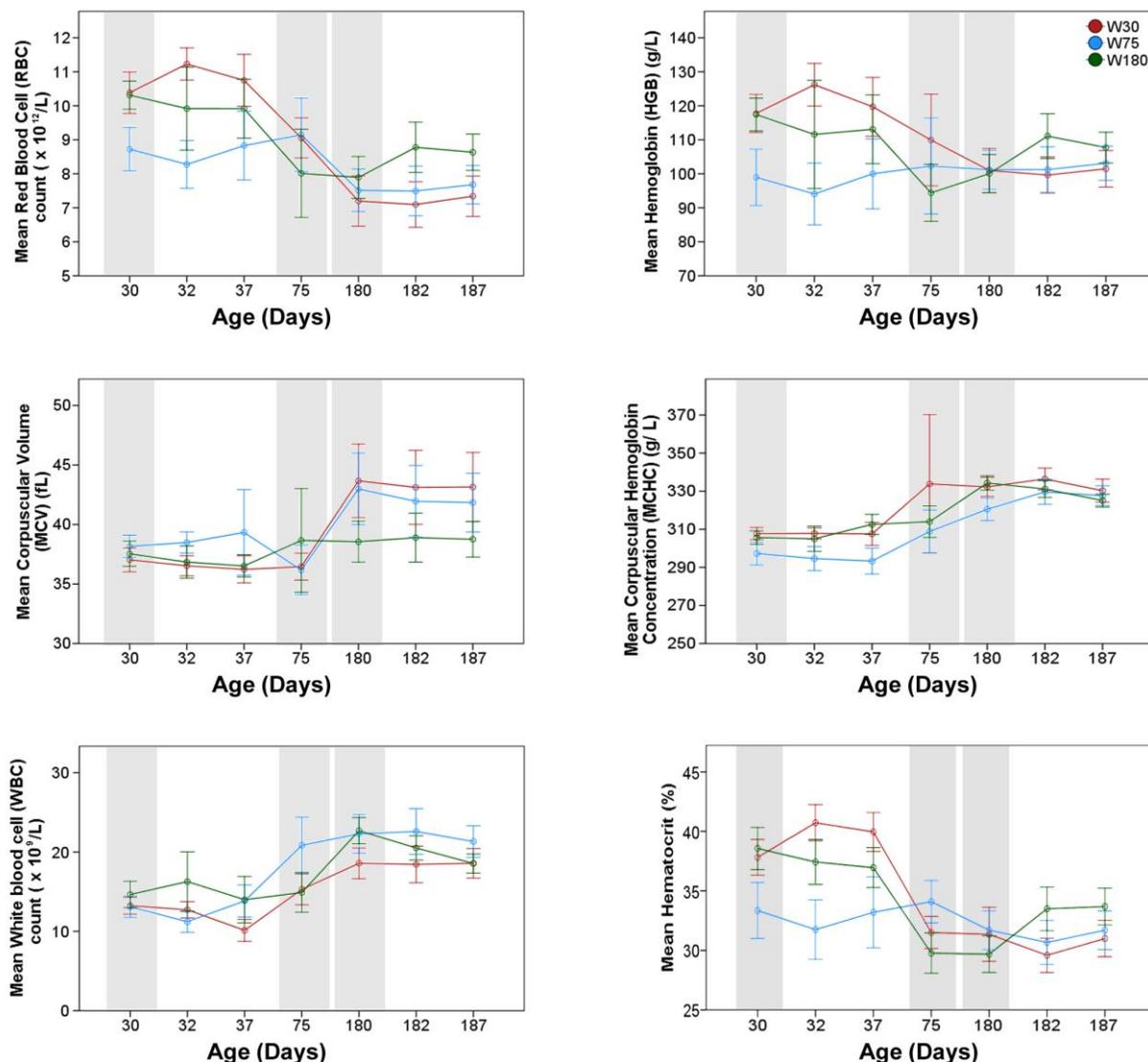


**Fig. 6.** Efeito do sexo do bezerro na percentagem de linfócitos, neutrófilos e na relação N:L.

### 3.3.2 Contagem de células imunológicas

Não houve efeito da idade ao desmame, do dia de coleta ou da interação ( $P >$

0,05) para as células vermelhas do sangue ( $\times 10^{12}/L$ ), hemoglobina (g/L) e volume corpuscular (fL) (Fig. 7). Contudo, ressalta-se que a concentração de hemoglobina (g/L) apresentou elevação para os bezerros W30 nos dias 32, 37 e 75, no pós-desmame ( $P < 0,10$ ), e aumento aos 182 e 187 para o W180. Observam-se efeitos da interação entre tratamento  $\times$  dia da amostragem ( $P < 0,0001$ ) para o hematócrito ( $P < 0,0001$ ), na qual constata-se acréscimo após os desmames. O W30 maiores valores nos dias 32 ( $37,81 \pm 0,75\%$ ) e 37 ( $40,72 \pm 0,75\%$ ) em comparação com W75 ( $33,35 \pm 1,17\%$  e  $31,75 \pm 1,24\%$ ) para os dias 32 e 37, respectivamente. De forma semelhante, após o desmame do W75 houve aumento do hematócrito nos dias 77 ( $35,20 \pm 1,00\%$ ) e 82 ( $35,30 \pm 0,76\%$ ) quando comparado com W30 ( $30,45 \pm 0,75\%$ ;  $32,32 \pm 0,74\%$ , respectivamente) e W180 ( $30,86 \pm 0,84\%$ ;  $30,10 \pm 0,81\%$ , respectivamente). No W180 verificou-se aumento nos dias 182 ( $33,50 \pm 0,92\%$ ) e 187 ( $33,68 \pm 0,77\%$ ) em comparação com W30 ( $29,59\%$ ;  $31,00\%$ , respectivamente) (Fig. 7). Observa-se efeito da interação para as células brancas do sangue ( $P < 0,042$ ), sendo que os bezerros W30 demonstraram menor número dessas células no 180º dia ( $18,58 \pm 0,96\%$ ) em relação ao W180 ( $22,69 \pm 0,83\%$ ).



**Fig. 7.** Efeito da idade ao desmame em bezerros de corte sob os parâmetros hematológicos RBC, HGB, MCV, MCHC, WBC e HCT ao longo do tempo.

#### 4. Discussão

A ruptura do vínculo materno, por ocasião do desmame, gera o estresse psicológico, o qual também vem acompanhado de alterações na alimentação, como um estressor físico (Kim et al., 2011). Esses estressores e os sentimentos negativos que eles causam podem desencadear alterações na capacidade de defesa imunológica (Glaser and Kiecolt-Glaser, 2005), pois modificam os ritmos regulatórios normais (homeostase) (Peterson et al., 1991). Desse modo, as práticas de manejo que desafiam ainda mais o organismo do animal, como o desmame em idade muito precoce (W30), precisam ser amplamente estudadas. Sob o foco hematológico, tal

relevância torna-se mais importante, pois caracteriza o status de saúde do animal e pode apresentar sinais de respostas subclínicas ao estresse (Johnston et al., 2015). Nessa perspectiva, a presente pesquisa avaliou as alterações fisiológicas que ocorrem em bezerros desmamados em idades jovens em comparação com o manejo de desmame convencional. Até o momento, desconhece-se outro estudo que avaliou os efeitos do desmame por um período tão extenso em bovinos.

As concentrações de proteínas plasmáticas totais foram similares às diferentes idades ao desmame, com variações de 6,2 a 7,0 g/dl nos dias avaliados, as quais estão dentro dos limites verificados em bovinos (Panousis et al., 2018; Schwarzkopf et al., 2019). Além disso, observou-se que as concentrações aumentaram dos 75 para os 180 dias de idade, pois a medida que a idade avança, ocorre o incremento da participação das proteínas totais (Bueno et al., 2003), tanto que, em idade adulta, o intervalo ideal varia de 7,0 a 8,5 (g/dl) (Jones and Allison, 2007).

O fibrinogênio plasmático, caracterizado como uma das proteínas séricas de fase aguda, apresentou acréscimo nas concentrações sanguíneas para os bezerros desmamados W30 e W75. Segundo Seppä-Lassila et al. (2017), as oscilações nas concentrações das proteínas de fase aguda podem ser decorrentes da variação individual, presença de infecções subclínicas e manejos como o desmame e o transporte dos animais (Arthington et al., 2003; Arthington et al., 2005; Qiu et al., 2007). Para os bezerros W30, o aumento do fibrinogênio após o desmame está relacionado à ativação da rede neuroendócrino-imune, que induz a síntese dessa proteína no fígado (Murata, 2007). Na literatura, o período máximo de avaliação do fibrinogênio em bezerros, após o desmame, correspondeu a 35 dias, cujos resultados evidenciam respostas aumentadas, demonstrando o prolongamento do estresse (Lynch, 2010).

Os resultados apresentados para a proteína soro amiloide A, foi diferente do esperado, pois como proteína de fase aguda, haveria um aumento por ocasião do desmame, fato que não aconteceu. A imprecisão da SAA foi reportada por O'Loughlin et al. (2014), os quais indicam que essa proteína não é um bom indicador do estresse de bezerros no pós-desmame. No entanto, o aumento tardio dos níveis de SAA, não deve ser desconsiderado no presente estudo, pois, normalmente os picos dessa proteína ocorrem aos 7 dias de idade do bezerro e posteriormente os níveis diminuem até o 24º dia e estabilizam-se até os 59 dias de vida (tempo máximo do estudo), com média em torno de 10 mg/L (Orro et al., 2008). Como isso não ocorreu, supõe-se que

o retorno dos animais à coleta de sangue pode ter ocasionado a elevação dos níveis dessa proteína, pois a SAA é uma das mais sensíveis ao estresse do manuseio dos bezerros (Alsemgeest et al., 1995).

Em termos hematológicos, os neutrófilos constituem a primeira linha de defesa do organismo (Paape et al., 2003) e os linfócitos atuam na imunidade inata, imunidade celular e na produção de anticorpos (Tizard, 2008). Desse modo, modificações nas concentrações dessas células pressupõem uma instabilidade do sistema imunológico. Para os bezerros W30 constata-se diminuição dos neutrófilos ao 37º dia, o que pode estar relacionado a incidência de diarreia observada nesses animais. A ocorrência de neutropenia decorrente do aparecimento de diarreia foi reportada por Novo et al. (2017) durante o desmame em bezerros de leite. A troca de alimentação pode gerar desequilíbrios no trato gastrointestinal e o surgimento de distúrbios alimentares, principalmente em bezerros muito jovens (Fischer et al., 2019). Essa redução no valor absoluto dos neutrófilos também é acompanhada simultaneamente por uma tendência na diminuição das células brancas.

Embora não se tenha identificado diferença entre neutrófilos e linfócitos para as amostragens imediatas no pós-desmame, observa-se que os bezerros separados mais cedo de suas mães indicam um status de alerta imunológica tardia em comparação com o desmame convencional. A neutrofilia e linfopenia estão associadas a manejos estressantes (Kelly, 1980), uma vez que a elevação dos glicocorticoides, como o cortisol, observado no presente experimento, podem induzir aumentos no número de neutrófilos (Burton et al., 2005). A liberação de cortisol e as modificações imunológicas se devem a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal durante o estresse (Blecha, 2000). Do mesmo modo, sob estresse, a ação do hormônio liberador de corticotrofina suprime a proliferação de linfócitos (Jain et al., 1991). Portanto, a diminuição dos linfócitos até 28 dias pós-desmame, demonstra o prolongamento da resposta imune ao estresse provocada por essa prática de manejo (Lynch, 2010). O aumento de neutrófilos após o desmame abrupto comparado com bezerros não desmamados foi detectado em outras pesquisas (Hickey et al., 2003) e está sendo considerado como biomarcador de estresse juntamente com a relação N:L (O'Loughlin et al., 2014).

Blanco et al. (2009) testaram o efeito da idade ao desmame em bezerros de corte separados abruptamente aos 90 e aos 150 dias. Apesar de não terem sido encontradas diferenças quanto as idades, os efeitos do desmame ocasionaram

aumento dos neutrófilos e diminuição dos linfócitos. Em outro estudo, avaliando a influência do desmame aos 120 e 210 dias de idades, os pesquisadores não encontraram diferenças para as subpopulações leucocitárias e nem para a relação N:L (Smith et al., 2003). Já para O'Loughlin et al. (2011), a relação N:L se manteve alterada até 11 dias após o desmame, limite máximo da avaliação do estudo. A percentagem de monócitos esteve acima do limite máximo para os bezerros W75 aos 82 dias, pois variam de 2 a 7% para bovinos (Jones and Allison, 2007). Ademais, os bezerros também apresentaram temperatura corporal retal mais elevada nesse dia (39,9 °C). No entanto, tal sinal clínico foi monitorado e não evoluiu para o diagnóstico de alguma enfermidade. Portanto, o aumento pode ter sido ocasionado pelo estresse do desmame, uma vez que ocorreu sete dias após a separação entre o par vaca-bezerro. Para Johnston et al. (2015), essa expressividade dos monócitos após a prática de manejo sugere maior sensibilidade ao desmame, enquanto momento crítico da vida do bezerro.

No presente estudo encontrou-se resposta biológica diferenciada para o sexo dos bezerros na investigação dos neutrófilos, linfócitos e relação N:L. No entanto, não existe consenso na literatura sobre esse resultado, pois para O'Loughlin et al. (2011) o sexo não alterou o número total de neutrófilos, nem a relação N:L, após o desmame. No entanto, para Hickey et al. (2003) houve maior proporção de neutrófilos e relação N:L para os bezerros machos desmamados do que para as fêmeas, o inverso do encontrado em nossa pesquisa. Contudo, essa falta de clareza também é evidenciada nas investigações sobre comportamento animal no pós-desmame, pois em condições naturais, a vaca desmama os machos cerca de dois meses após as fêmeas (Reinhardt and Reinhardt, 1981), além de receberem maior proteção afetiva da mãe (Stěhulová et al., 2013). Logo, os bezerros machos poderiam sofrer maior estresse no desmame. Contudo, as fêmeas vocalizam mais do que os machos durante a separação, sendo esse comportamento um dos mais sensíveis para caracterizar o estresse pós-desmame (Lambertz et al., 2015; Stěhulová et al., 2017). Desse modo, os achados também indicam que as fêmeas apresentam maior estresse, representado pela maior percentagem de neutrófilos e relação de N:L. Porém, reconhece-se que os mecanismos contidos nas respostas imunes ao estresse variam conforme a idade, a nutrição, a genética e o sexo (Kim et al., 2011), e, portanto, resultados diferentes são passíveis de serem encontrados.

Diante das alterações tardias no fibrinogênio, na proteína soro amiloide A, no

cortisol e nas células leucocitárias para os bezerros em idades mais jovens, levanta-se a hipótese de que a exposição cedo ao estresse pode gerar memórias de sofrimento para os próximos manejos e, conseqüentemente desencadear a complexa rede neuroendócrina com respostas imunológicas. Estudos dessa natureza são realizados em ratos, nos quais a exposição a estressores afeta várias áreas do cérebro e pode levar a distúrbios pós-traumáticos devido as memórias angustiantes ou aversivas (Camp and Johnson, 2015). Ou seja, após os ratos terem vivenciado momento de estresse observam-se memórias contextuais de medo nas subseqüentes exposições, pois os mecanismos que promovem a formação e o armazenamento da memória são mediados por glicocorticoides, com respostas diferenciadas para machos e fêmeas (Kulp et al., 2020).

O aumento da percentagem de hematócrito logo após o desmame para todos os tratamentos é uma resposta importante. Segundo Wright et al. (2000), esse acréscimo é um indicativo de desidratação. Assim, mesmo que a ingestão de água pelos bezerros não tenha sido mensurada no presente estudo, avaliou-se o comportamento ingestivo e dentre as atividades analisadas, as visitas ao bebedouro representaram o menor tempo de ocupação dos animais, independentemente da idade ao desmame. Além disso, independente do tratamento, evidencia-se que no dia subseqüente ao desmame ocorreu decréscimo de 53% da frequência de idas ao bebedouro em comparação com o dia do desmame. Ainda, associado a maior percentagem de hematócrito, tem-se o aumento da concentração de hemoglobina após o desmame, o que também se deve à baixa ingestão de água pelos animais. A desidratação pode causar graves conseqüências principalmente em animais mais jovens, o que denota a importância de monitorá-los e tratar aqueles que apresentarem sinais clínicos, fato que não ocorreu nesse estudo.

Em síntese, o desmame em idades jovens, para alguns períodos analisados, gerou maior potencial de danos ao sistema imunológica, que por vezes, poderia ter sido interpretada como possível diagnóstico de doença, pelas múltiplas variações apresentadas. Nesse sentido, são necessárias mais pesquisas associando os efeitos da idade ao desmame aos aspectos imunológicos de bezerros de corte a longo prazo, uma vez que estes são pouco conhecidos e entendidos, provavelmente, em virtude da limitação à análise instantânea desses parâmetros ao desmame. Em adição a isso, os estudos devem priorizar a comparação dos animais em todas as idades, independente da estratégia de desmame, pois, as flutuações nos parâmetros

imunológicas também estão condicionadas ao crescimento animal. Assim, amostragens sanguíneas em diferentes idades podem não representar fielmente o que está sendo testado. Além disso, resultados contraditórios e inconsistentes perfazem a natureza desse conhecimento, que parcialmente são compreendidos pelas diferentes percepções dos animais aos estressores, pois esses são dependentes das experiências já vivenciadas, da raça, da idade e do estado psicológico (Lefcourt and Elsasser, 1995; Moberg, 2000).

## **5. Conclusões**

O desmame de bezerros em idade precoces, quando comparado com a prática tradicional, leva a alterações nas células imunes, resultando em neutrofilia e linfopenia tardia. Também provocam mudanças na relação N:L e nas respostas fisiológicas de cortisol e fibrinogênio plasmático. Além disso, ocorre diferenciação para o sexo dos bezerros nas principais células de defesa, configurando-se como alterações contraditórias até o momento. Essas evidências oportunizam modificações nas estratégias de manejo ao desmame para evitar instabilidades fisiológicas em períodos críticos na vida do animal. Portanto, as influências do desmame no sistema imunológico em bezerros jovens é um tema emergente e necessário na busca de práticas com menor impacto no bem-estar dos bezerros.

## **Agradecimentos**

Agradecemos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS – protocolo 17/2551-0001277-1), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq – protocolo 431277/2018-4) e a empresa Puro Trato Nutrição Animal, os quais subsidiaram essa pesquisa. A todos os participantes do Núcleo de Estudos em Sistemas de Produção de Bovinos de Corte e Cadeia Produtiva (NESPro) e a equipe da fazenda experimental da Universidade Federal do Rio Grande do Sul somos gratos pelo auxílio recebido para o desenvolvimento desse estudo.

## Declaração de conflito de interesse

Os autores declaram que não existe nenhum conflito de interesse.

## Referências

- Alsemgeest, S.P.M., Lambooy, I.E., Wierenga, H.K., Dieleman, S.J., Meerkerk, B., van Ederen, A.M., Niewold, T.A., 1995. Influence of physical stress on the plasma concentration of serum amyloid-a (SAA) and haptoglobin (HP) in calves. *Vet. Quart.* 17, 9-12. <https://doi.org/10.1080/01652176.1995.9694521>.
- Arthington, J.D., Eicher, S.D., Kunkle, W. E., Martin, F.G., 2003. Effect of transportation and commingling on the acute-phase protein response, growth, and feed intake of newly weaned beef calves. *J. Anim. Sci.* 81, 1120-1125. doi:10.2527/2003.8151120x.
- Arthington, J.D., Spears, J.W., Miller, D.C., 2005. The effect of early weaning on feedlot performance and measures of stress in beef calves. *J. Anim. Sci.* 83, 933-939. <https://doi.org/10.2527/2005.834933x>.
- Blanco, M., Casasús, I., Palacio, J. 2009. Effect of age at weaning on the physiological stress response and temperament of two beef cattle breeds. *Animal* 3, 108-117. <https://doi.org/10.1017/s1751731108002978>.
- Blecha, F., 2000. Immune system response to stress. in: Moberg, G.P., Mench, J.A. (Eds.), *The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare*. CABI Publishing, New York, pp. 111-121.
- Bueno A.R., Rasby, R., Clemens, E.T., 2003. Age at weaning and the endocrine response to stress. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 55, 1-7. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352003000100001>.
- Burton, J.L., Madsen, S.A., Chang, L.C., Weber, P.S.D., Buckham, K.R., van Dorp, R., Hickey, M.C., Earley, B., 2005. Gene expression signatures in neutrophils exposed to glucocorticoids: A new paradigm to help explain "neutrophil dysfunction" in parturient dairy cows. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 105, 197-219. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2005.02.012>.
- Camp, R.M., Johnson, J.D., 2015. Repeated stressor exposure enhances contextual fear memory in a beta-adrenergic receptor-dependent process and increases impulsivity in a non-beta receptor-dependent fashion. *Physiol. Behav.* 150, 64-

68. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.03.008>.
- Enríquez, D., Hötzel, M.J., Ungerfeld, R., 2011. Minimising the stress of weaning of beef calves: a review. *Acta Vet. Scand.* 53, 1-8. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-53-28>.
- Fischer, A.J., Villot, C., van Niekerk, J.K., Yohe, T.T., Renaud, D.L., Steele, M.A., 2019. Invited Review: Nutritional regulation of gut function in dairy calves: From colostrum to weaning. *Appl. Anim. Sci.* 35, 498-510. <https://doi.org/10.15232/aas.2019-01887>.
- Glaser, R., Kiecolt-Glaser, J.K., 2005. Stress-induced immune dysfunction: implications for health. *Nat. Rev. Immunol.* 5, 243-251. <https://doi.org/10.1038/nri1571>.
- Gonzalez, D.D., Vittone, J.C., Lado, M., Biolatto, A., Mozgovej, M.V., Ferella, A., Sammarruco, A., Maidana, S., Romera, S.A., Santos, M.C., 2013. Detection of antibodies against bovine herpes virus 1, bovine viral diarrhoea virus and bovine respiratory syncytial virus in early and ultra-early weaned beef calves. *Am. J. Anim. Vet. Sci.* 8, 210-219. <https://doi.org/10.3844/ajavssp.2013.210.219>.
- Hammer, O., Harper, D.A.T., Ryan, P.D., 2001. PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. *Palaeontol. Electron.* 4, 1-9.
- Hickey, M.C., Drennan, M., Earley, B., 2003. The effect of abrupt weaning of suckler calves on the plasma concentrations of cortisol, catecholamines, leukocytes, acute-phase proteins and in vitro interferon-gamma production. *J. Anim. Sci.* 81, 2847–2855. <https://doi.org/10.2527/2003.81112847x>.
- Hulbert, L.E., Moisés, S.J. 2016. Stress, immunity, and the management of calves. *J. Dairy Sci.* 99, 3199-3216. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10198>.
- IBM Corp. Released, 2011. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, Nova York.
- Jain, R., Zwickler, D., Hollander, C.S., Brand, H., Saperstein, A., Hutchinson, B., Brown, C., Audhya, T. 1991. Corticotropin-releasing factor modulates the immune response to stress in the rat. *Endocrinol.* 128, 1329-1336. <https://doi.org/10.1210/endo-128-3-1329>.
- Johnston, D., Kenny, D.A., Kelly, A.K., McCabe, M.S., McGee, M., Waters, S.M., Earley, B. 2015. Characterisation of haematological profiles and whole blood relative gene expression levels in Holstein-Friesian and Jersey bull calves undergoing gradual weaning. *Animal*, 10, 1547-

1556. <https://doi.org/10.1017/s1751731115002438>.
- Jones, M.L., Allison, R.W. 2007. Evaluation of the ruminant complete blood cell count. *Vet. Clin. N Am-Food Anim. Pract.* 23, 377-402. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.07.002>.
- Kelley, K.W. 1980. Stress and immune function: a bibliographic review. *Ann. Rech. Vét.* 11, 445-478.
- Kim, M.H., Yang, J.Y., Upadhaya, S.D., Lee, H.J., Yun, C.H., Ha, J.K. 2011. The stress of weaning influences serum levels of acute-phase proteins, iron-binding proteins, inflammatory cytokines, cortisol, and leukocyte subsets in Holstein calves. *J. Vet. Sci.* 12, 151-157. <https://doi.org/10.4142/jvs.2011.12.2.151>.
- Kulp, A.C., Lowden, B.M., Chaudhari, S., Ridley, C.A., Krzoska, J.C., Barnard, D.F., Mehta, D.M., Johnson, J.D., 2020. Sensitized corticosterone responses do not mediate the enhanced fear memories in chronically stressed rats. *Behav. Brain Res.* 382, 1-4. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.112480>.
- Lambertz, C., Farke-Röver, A., Matthias Gauly, M., 2015. Effects of sex and age on behavior and weight gain in beef calves after abrupt weaning. *Anim. Sci. J.* 86, 345-350. <https://doi.org/10.1111/asj.12285>.
- Lefcourt, A.M., Elsasser, T.H., 1995. Adrenal responses of Angus x Hereford cattle to the stress of weaning. *J. Anim. Sci.* 73, 2669. <https://doi.org/10.2527/1995.7392669x>.
- Lynch, E. M., McGee, M., Doyle, S., Earley, B., 2012. Effect of pre-weaning concentrate supplementation on peripheral distribution of leukocytes, functional activity of neutrophils, acute phase protein and behavioural responses of abruptly weaned and housed beef calves. *BMC Vet. Res.* 8, 1. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-8-1>.
- Lynch, E., Earley, B., McGee, M., Doyle, S., 2010. Effect of abrupt weaning at housing on leukocyte distribution, functional activity of neutrophils, and acute phase protein response of beef calves. *BMC Vet. Res.* 6, 39. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-6-39>.
- Lynch, E., McGee, M., Earley, B., 2019. Weaning management of beef calves with implications for animal health and welfare. *J. Appl. Anim. Res.* 47, 167-175. <https://doi.org/10.1080/09712119.2019.1594825>.
- Lynch, E.M., 2010. Characterisation of physiological and immune-related biomarkers of weaning stress in beef cattle. Thesis - National

University of Ireland, 366p.

- Lynch, E.M., Earley, B., McGee, M., Doyle, S., 2011. Effect of post-weaning management practices on physiological and immunological responses of weaned beef calves. *Irish J. Agr. Food Res.* 50, 161-174.
- Moberg, G.P., 2000. Biological response to stress: implications for animal welfare. in: Moberg, G.P., Mench, J.A. (Eds.), *The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare*. CABI Publishing, New York, pp. 1-21.
- Murata, H. 2007. Stress and acute phase protein response: An inconspicuous but essential linkage. *Vet. J.* 173, 473-474. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2006.05.008>.
- Novo, S.M.F., Costa, J.F.R., Baccili, C.C., Sobreira, N.M., Silva, B.T., Oliveira, P.L., Hurley, D.J., Gomes, V. 2017. Effect of maternal cells transferred with colostrum on the health of neonate calves. *Res. Vet. Sci.* 112, 97-104. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.01.025>.
- O'Loughlin, A., McGee, M., Doyle, S., Earley, B., 2014. Biomarker responses to weaning stress in beef calves. *Res. Vet. Sci.* 97, 459-464. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2014.06.003>.
- O'Loughlin, A., McGee, M., Waters, S.M., Doyle, S., Earley, B. 2011. Examination of the bovine leukocyte environment using immunogenetic biomarkers to assess immunocompetence following exposure to weaning stress. *BMC Vet. Res.* 7, 45. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-7-45>.
- Orihuela, A., Galina, C. S., 2019. Effects of separation of cows and calves on reproductive performance and animal welfare in tropical beef cattle. *Animals*, 9, 1-13. <https://doi.org/10.3390/ani9050223>.
- Orro, T., Jacobsen, S., LePage, J.P., Niewold, T., Alasuutari, S., Soveri, T., 2008. Temporal changes in serum concentrations of acute phase proteins in newborn dairy calves. *Vet. J.* 176, 182-187. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.02.010>.
- Paape, M.J., Bannerman, D.D., Zhao, X., Lee, J.W., 2003. The bovine neutrophil: Structure and function in blood and milk. *Vet. Res.* 34, 597-627. <https://doi.org/10.1051/vetres:2003024>.
- Panousis, N., Siachos, N., Kitkas, G., Kalaitzakis, E., Kritsepi-Konstantinou, M., Valergakis, G.E., 2018. Hematology reference intervals for neonatal Holstein calves. *Res. Vet. Sci.* 118, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2018.01.002>.

- Peterson, P.K., Chao, C.C., Molitor, T., Murtaugh, M., Strgar, F., Sharp, B.M., 1991. Stress and pathogenesis of infectious disease. *Rev. Infect. Dis.* 13, 710-713. <https://doi.org/10.1093/clinids/13.4.710>.
- Qiu, X., Arthington, J.D., Riley, D.G., Chase, C.C., Phillips, W.A., Coleman, S.W., Olson, T.A. 2007. Genetic effects on acute phase protein response to the stresses of weaning and transportation in beef calves. *J. Anim. Sci.* 85, 2367-2374. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-843>.
- Rasby, R., 2007. Early weaning beef calves. *Vet. Clin. N. Am-Food A.* 23, 29-40. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.01.002>.
- Reinhardt, V., Reinhardt, A., 1981. Natural sucking performance and age at weaning in zebu cattle (*Bos indicus*). *J. Agric. Sci.* 96, 309-312. <https://doi.org/10.1017/S0021859600066089>.
- Schwarzkopf, S., Kinoshita, A., Kluess, J., Kersten, S., Meyer, U., Huber, K., Dänicke, K., Frahm, J., 2019. Weaning Holstein calves at 17 weeks of age enables smooth transition from liquid to solid feed. *Animals*, 9, 1132. <https://doi.org/10.3390/ani9121132>.
- Seppä-Lassila, L., Eerola, U., Orro, T., Härtel, H., Simojoki, H., Autio, T., Pelkonen, S., Soveri, T., 2017. Health and growth of finnish beef calves and the relation to acute phase response. *Livest. Sci.* 196, 7–13. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2016.12.007>.
- Smith, D.L., Wiggers, D.L., Wilson, L.L., Comerford, J.W., Harpster, H.W., Cash, E.H., 2003. Postweaning behavior and growth performance of early and conventionally weaned beef calves. *PAS.* 19, 23-29. [https://doi.org/10.15232/s1080-7446\(15\)31370-x](https://doi.org/10.15232/s1080-7446(15)31370-x).
- Stěhulová, I., Spinka, M., Sárová, R., Máchová, L., Knez, R., Firla, P., 2013. Maternal behaviour in beef cows is individually consistent and sensitive to cow body condition, calf sex and weight. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 144, 89-97. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2013.01.003>.
- Stěhulová, I., Valníčková, B., Šárová, R., Špinka, M., 2017. Weaning reactions in beef cattle are adaptively adjusted to the state of the cow and the calf. *J. Anim. Sci.* 95, 1023-1029. <https://doi.org/10.2527/jas.2016.1207>.
- Tizard, I.R. 2008. *Imunologia Veterinária: uma introdução*. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier.
- Weary, D.M., Jasper, J., Hötzel, M.J., 2008. Understanding weaning distress. *Appl.*

- Anim. Behav. Sci. 110, 24-41. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2007.03.025>
- Willard, M.D., Tvedten, H., 2004. Small animal clinical diagnosis by laboratory methods fourth ed. Philadelphia, Pennsylvania. <https://doi.org/10.1016/B0-7216-8903-5/X5001-0>.
- Wright, C.L., Corah, L.R., Stokka, G., Blecha, F., 2000. Effects of pre-weaning vitamin E, selenium, and copper supplementation on the performance, acute phase protein concentration, and immune function of stressed beef calves. PAS. 16, 111-120. [https://doi.org/10.15232/s1080-7446\(15\)31673-9](https://doi.org/10.15232/s1080-7446(15)31673-9).

## CAPÍTULO IV

## **Impacto de três idades ao desmame sob o desenvolvimento e crescimento em bezerros de corte**

### Destaques

- 1) Análise de três idades ao desmame em bovinos: 30, 75 e 180 dias;
- 2) A perda de peso no desmame, para os bezerros mais jovens, retarda o desenvolvimento até os 75 dias de idade;
- 3) Aumento do  $\beta$ -hidroxibutirato demarca desenvolvimento antecipado do trato gastrointestinal em bezerros jovens;
- 4) Aos 180 dias os bezerros mais jovens ao desmame apresentam menor altura de cernelha e garupa;
- 5) Aos 190 dias os bezerros desmamados aos 30 e 75 dias possuem maior peso.

RESUMO: Investigou-se o impacto do desmame aos 30, 75 e 180 dias de idade sobre o desenvolvimento e crescimento em bezerros de corte. Para isso, utilizou-se 64 bezerros distribuídos em três tratamentos – desmame hiperprecoce (W30), precoce (W75) e convencional (W180). Avaliaram-se as medidas de peso corporal (PC), ganho médio diário (GMD), medidas morfométricas e  $\beta$ -hidroxibutirato ( $\beta$ HBA). As variáveis analisadas foram influenciadas pela interação entre tratamento  $\times$  dia ( $P < 0,05$ ), e não demonstraram diferença para o sexo ( $P > 0,05$ ). Os bezerros W30 perderam peso no período dos 30 aos 40 dias ( $-0,04 \pm 0,06$  kg/d), comparado com W75 ( $0,56 \pm 0,06$  kg/d) e W180 ( $0,50 \pm 0,05$  kg/d). Conseqüentemente, no dia 75, os animais W30 eram mais leves que os bezerros do W75 e W180 e apresentavam menor comprimento corporal, circunferência torácica e altura de cernelha e garupa. No entanto, as diferenças entre os tratamentos para PC desapareceram aos 85 dias de idade. Nesse momento, o GMD foi mais elevado para W30 e esteve correlacionado positivamente com níveis altos do  $\beta$ HBA (praticamente 50% superior). Aos 190 dias os bezerros W30 e W75 ultrapassaram o peso corporal do W180. Os resultados suportam que a idade dos animais impacta negativamente no desempenho até a sexta semana após o desmame para W30. Contudo, posterior à adaptação a dieta, a ausência da mãe e ao ambiente, esses bezerros conseguem recuperar o peso e sobressair àqueles desmamados convencionalmente. Recomenda-se cautela com a aplicação da técnica do desmame em idades jovens, pois a maior perda de desempenho pode colocar em

risco a saúde do animal.

Palavras-chave: bovinos de corte, desempenho animal, crescimento, separação materno-filial,  $\beta$ -hidroxibutirato

## 1. Introdução

A idade ao desmame em sistemas de produção de bovinos de corte abrange uma série de estratégias, variando dos 30 até os 250 dias (Blanco et al., 2009; Gonzalez et al., 2013; Oliveira et al., 2018; Taylor et al., 2020). De particular importância nessa amplitude, é compreender que a capacidade dos bezerros em lidar com eventos estressantes (Lefcourt and Elsasser, 1995; Moberg, 2000), assim como o crescimento animal (Trenkle and Marple, 1983) e o desenvolvimento do trato gastrointestinal (Warner et al., 1956) são dependentes da idade do bezerro à desmama. Nesse sentido, animais jovens podem demorar a se adaptar aos desafios psicológicos, nutricionais e físicos do desmame (Lynch et al., 2019).

Sob o aspecto nutricional, a troca da dieta repentina é um momento crítico para os bezerros jovens (Enríquez et al., 2011). Em condições naturais, o bezerro desenvolve gradativamente os estômagos e a partir da oitava semana de idade torna-se um ruminante (Church, 1974). No entanto, o desmame em idade precoce acelera esse processo, uma vez que o início da ingestão de alimentos sólidos (Tamate et al., 1962) promove o estabelecimento da fermentação ruminal, bem como mudanças físicas e metabólicas no rúmen (Baldwin et al., 2004). Desse modo, torna-se importante acompanhar a evolução do trato gastrointestinal, principalmente na técnica de desmame precoce, justificada pelas condições fisiológicas dos bezerros.

Segundo Taylor et al. (2020), a forma mais consistente de avaliar o estresse do desmame é por meio do desempenho animal. Apesar de já ter sido verificado que bezerros entre 4 e 6 meses perdem mais peso no pós-desmame do que aqueles com 7 e 8 meses (Smith et al., 2003; Lambertz et al., 2015), ainda não foi reportado na literatura sobre o desempenho e o crescimento dos bezerros de corte desmamados em idade muito precoce. Portanto, investigaremos o impacto do desmame aos 30, 75 e 180 dias de idade sobre o desenvolvimento e crescimento em bezerros de corte.

## 2. Material e métodos

### 2.1. Nota ética

Todas as práticas experimentais foram executadas sob a licença da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA – nº 33439) da Universidade Federal do Rio

Grande do Sul (UFRGS), Brasil.

## 2.2. Animais, tratamentos e manejo de desmame

Foram utilizados 64 bezerros da raça Brangus (machos e fêmeas) oriundos do rebanho experimental da UFRGS, nascidos na primavera de 2018 e filhos de vacas com idade de  $4,3 \pm 0,23$  anos (média  $\pm$  EP), distribuídos em três tratamentos de acordo com a idade de desmame: i) hiperprecoce (W30;  $n = 22$ ), com peso de  $53,45 \pm 1,10$  kg (média  $\pm$  EP) e idade de  $32 \pm 0,89$  dias (média  $\pm$  EP); ii) precoce (W75;  $n = 20$ ), com peso de  $84,63 \pm 2,05$  kg e idade de  $77 \pm 0,95$  dias, e; iii) convencional (W180;  $n = 22$ ), com peso de  $157,62 \pm 2,87$  kg (média  $\pm$  EP) e idade de  $183 \pm 0,82$  dias.

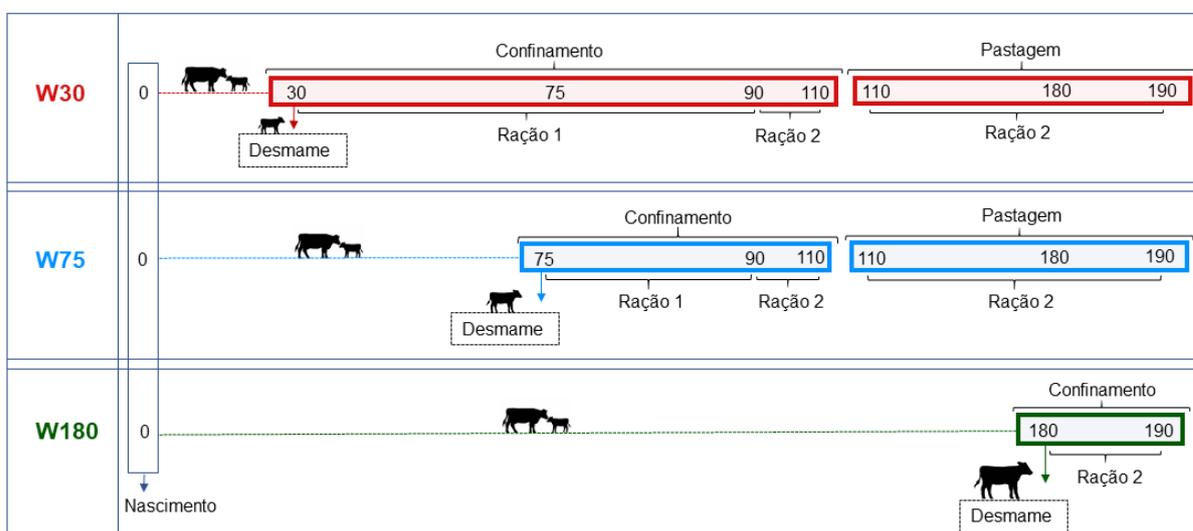
No dia do desmame, as vacas e seus bezerros foram conduzidos ao centro de manejo para realização da separação. Após, as vacas foram afastadas a uma distância de 2,6 km, o que impediu qualquer tipo de interação entre o par vaca-bezerro. Os bezerros desmamados foram mantidos coletivamente em curral (7 m<sup>2</sup> por bezerro), com dois cochos (0,20 m lineares/animal), um bebedouro e sombra artificial. O desmame dos bezerros W30 e W75 realizou-se nos meses de dezembro e fevereiro, respectivamente (verão) e W180 em maio (outono). Ainda que a época do desmame fossem distintas, preferiu-se manter o protocolo de acasalamento, de nascimento e de desmame realizado em grande parte do Brasil, ao invés de programar os nascimentos, pois isso iria trazer outros vieses de confundimento, visto que as gestações iriam ocorrer em momentos diferentes.

## 2.3. Manejo nutricional

A alimentação das vacas com cria ao pé, previamente ao desmame, foi a base de pastagem nativa com 2.200 kg de MS/ha e pastagem cultivada de milho (*Penisetum americanum*) com 1.830 kg de MS/ha. Durante o período de lactação não houve qualquer tipo de alimentação suplementar para os bezerros. Por essa razão introduziu-se o feno na dieta após o desmame (Rasby, 2007; Orihuela and Galina, 2019) para facilitar a iniciação alimentar ao concentrado.

Os bezerros W30 foram alimentados dos 30 aos 110 dias de idade em sistema de confinamento (Fig. 1), sendo que até os 90 dias, receberam à vontade ração inicial peletizada 1 (Tabela 1) e feno de alfafa (167 g/kg de PB e 456 g/kg de FDN). O

consumo de MS foi de 1% do peso vivo dos 30 aos 40 dias e de 2,3% do 41º ao 90º dia de idade. Dos 91 aos 110 dias, os bezerros receberam a ração de crescimento peletizada 2 (Tabela 1) e feno de alfafa, com média de consumo total de 3,1% do peso vivo com base na matéria seca.



**Fig. 1.** Manejo nutricional pré e pós desmame dos bezerros.

**Tabela 1** Composição bromatológica das rações utilizadas no desmame.

Composição bromatológica	Ração 1	Ração 2
Matéria seca (g/kg)	870	870
Matéria mineral (g/kg)	80	100
Proteína bruta (g/kg)	200	180
Extrato etéreo (g/kg)	30	40
Fibra em detergente ácido (g/kg)	80	120
Nutrientes digestíveis totais (g/kg)	740	720

Os bezerros W75 foram desmamados e permaneceram confinados até os 110 dias de idade, sendo que do 75º ao 90º dia receberam a ração 1 e feno de alfafa, com média de consumo de 1% do peso vivo; no período do 91º ao 110º dia receberam a ração 2 e feno, com consumo de 2,2% do peso vivo. Os bezerros de todos os tratamentos foram alimentados duas vezes ao dia nos primeiros 10 dias pós-desmame e três vezes (07h30min, 14h00min e 18h00min) até o final do período confinado a fim de estimular o consumo alimentar. Após os 110 dias de idade, todos os bezerros desmamados (W30 e W75) foram levados à uma área de três hectares com pastagem

de Braquiária (*B. decumbens* x *B. brizantha* x *B. ruziziensis*), cuja a composição bromatológica era de 58 g/kg de PB e 665 g/kg de FDN, com massa de forragem de 2.270 kg de MS/ha, com média de consumo de ração de 1,5% do peso vivo. Os bezerros permaneceram nessa pastagem até os 190 dias de idade e foram suplementados uma vez ao dia, pela manhã. Os bezerros W180 receberam a ração de crescimento peletizada 2 e feno de alfafa dos 180 aos 190 dias, período de desmame (confinamento), com média de consumo total de 1,4% do PV, com base na MS. Nos três tratamentos, foi aferido o consumo alimentar de forma coletiva, por meio da diferença entre a quantidade ofertada e a quantidade de sobras do dia seguinte. Essas eram retiradas e pesadas diariamente para o ajuste da quantidade a ser fornecida, prevendo sobras de 5% da matéria natural.

#### 2.4. Desempenho e crescimento animal

O peso corporal (PC) dos bezerros foi verificado por meio de balança eletrônica, sendo tomadas nove medidas: 24h após o nascimento e aos 30, 40, 75, 85, 110, 150, 180 e 190 dias de idade, realizadas às 8h sem jejum prévio. A partir das pesagens, calculou-se o ganho médio diário (GMD). A taxa de Kleiber ( $TK = GMD \div PC^{0,75}$ ) foi utilizada para avaliar a eficiência alimentar em g/unidade de tamanho metabólico (g/UTM) (Kleiber, 1936). O crescimento dos bezerros foi mensurado por meio das características morfométricas (cm), nos dias correspondentes ao desmame (30, 75 e 180 dias de idade), com o auxílio de régua graduada e fita métrica. Foram aferidos o comprimento do corpo, distância entre a ponta inferior da espádua até a ponta do ísquio; a circunferência torácica, contorno do tórax logo atrás a cernelha; a altura de cernelha, distância da cernelha até a superfície do solo e a altura de garupa, distância do sacro até a superfície do solo (Menezes et al., 2008).

#### 2.5. $\beta$ -hidroxibutirato

O desenvolvimento do trato gastrointestinal foi avaliado pelas concentrações de  $\beta$ -hidroxibutirato (Quigley et al., 1991; Suárez et al., 2006; Eckert et al., 2015). As coletas de  $\beta$ -hidroxibutirato foram realizadas às 8h por meio da punção da veia jugular, nos dias 0 (dia do desmame) e 7 após o desmame (correspondendo aos dias 30 e 37 para o W30; 75 e 82 para os W75 e 180 e 187 para W180). Utilizou-se tubo a vácuo

de 10 mL (BD, Franklin Lakes, NJ, EUA) com ativador de coágulo. Após, o sangue foi centrifugado e congelado em botijão contendo nitrogênio líquido (-196 °C) para a determinação dos níveis de  $\beta$ -hidroxibutirato mediante a reação cinética (Kit comercial - RANDOX Brasil Ltda, SP, Brasil) e para a leitura utilizou-se o equipamento Bioquímico Automático (Lambax-Plenno-Labtest, MG, Brasil). Os valores de coeficiente de variação para os dados inter e intra de todas os ensaios laboratoriais foram abaixo de 10%.

## 2.6. Análise estatística

Todos os dados foram analisados pelo modelo linear generalizado de medidas repetidas, pois cada bezerro significa uma unidade de amostragem dependente no tempo. Foi avaliado o efeito do tratamento (tipo de desmame) e do sexo dos bezerros, considerando a idade da vaca como covariável. O modelo analisou os efeitos individuais e a interação entre ambos (tratamento, dia e tratamento  $\times$  dia), e as comparações de médias foram analisadas pelo teste de *Least Significant Difference* (LSD). A relação entre o GMD e o  $\beta$ HBA foi avaliada ao longo dos dias por correlação de Pearson. Todos os dados foram analisados no programa SPSS 20.0 (IBM, 2011) considerando um índice de significância de 5%.

## 3. Resultados

Os bezerros dos três tratamentos, quando mantidos ao pé da vaca (0-30 dias), apresentaram similar desenvolvimento. Não houve efeitos ( $P > 0,05$ ) da idade da vaca e o sexo do bezerro nesse período. Além disso, ressalta-se que não houve incidência de mortalidade durante o experimento.

### 3.1. Desempenho animal

A evolução do peso e o GMD foram influenciados pela interação tratamento  $\times$  dia ( $P < 0,001$ ) (Fig. 2; Fig. 3). Nos primeiros 10 dias após o desmame houve perda de peso ( $-0,04 \pm 0,06$  kg/d) pelos bezerros W30, enquanto W75 e W180 demonstraram pequenos ganhos ( $0,22 \pm 0,08$  kg/d;  $0,30 \pm 0,10$  kg/d). Esse efeito resultou na manutenção do peso corporal dos bezerros W30 entre os dias 30-40, para os demais

tratamentos houve evolução constante do peso após o desmame.

No intervalo de 40-75 dias os bezerros W30 ( $0,63 \pm 0,04$  kg/d) e W180 ( $0,61 \pm 0,04$  kg/d) obtiveram menor GMD comparado com W75 ( $0,78 \pm 0,04$  kg/d). Com isso, no 75º dia os bezerros W30 eram mais leves ( $75,86 \pm 1,51$  kg) do que W75 ( $85,11 \pm 2,34$  kg) e W180 ( $79,23 \pm 2,13$  kg). Contudo, dos 75-85 dias, período concomitante ao desmame W75, todos os tratamentos diferiram entre si, com maior GMD para W30 ( $1,08 \pm 0,10$  kg/d). Desse modo, as diferenças de peso entre os tratamentos foram compensadas aos 85 dias de idade.

Entre os 110-150 dias o GMD foi menor para W30 ( $0,71 \pm 0,03$  kg/d) e W75 ( $0,67 \pm 0,03$  kg/d) comparado com W180 ( $0,82 \pm 0,03$  kg/d), devido à transferência dos animais do confinamento para a pastagem de Braquiária, mas sem influência sobre o peso. No intervalo dos 10 dias após o desmame do W180 (180-190 dias), esses tiveram menor GMD ( $0,30 \pm 0,10$  kg/d) em relação ao W30 ( $0,98 \pm 0,11$  kg/d) e ao W75 ( $0,84 \pm 0,08$  kg/d). Por conseguinte, aos 190 dias, o peso dos bezerros W30 ( $169,55 \pm 2,67$  kg) e W75 ( $170,30 \pm 2,68$  kg) ultrapassou os animais W180 ( $156,72 \pm 4,54$  kg). O ganho de peso total (30-190 dias) foi maior para o W30 ( $115,48 \pm 2,35$  kg) e W75 ( $117,81 \pm 2,09$  kg) do que para W180 ( $103,87 \pm 3,80$  kg) ( $P = 0,020$ ). Assim como a taxa de Kleiber, essa foi maior para os bezerros W30 ( $20,99 \pm 0,32$  g/UTM) e W75 ( $21,49 \pm 0,28$  g/UTM) quando comparado com W180 ( $19,71 \pm 0,40$  g/UTM).

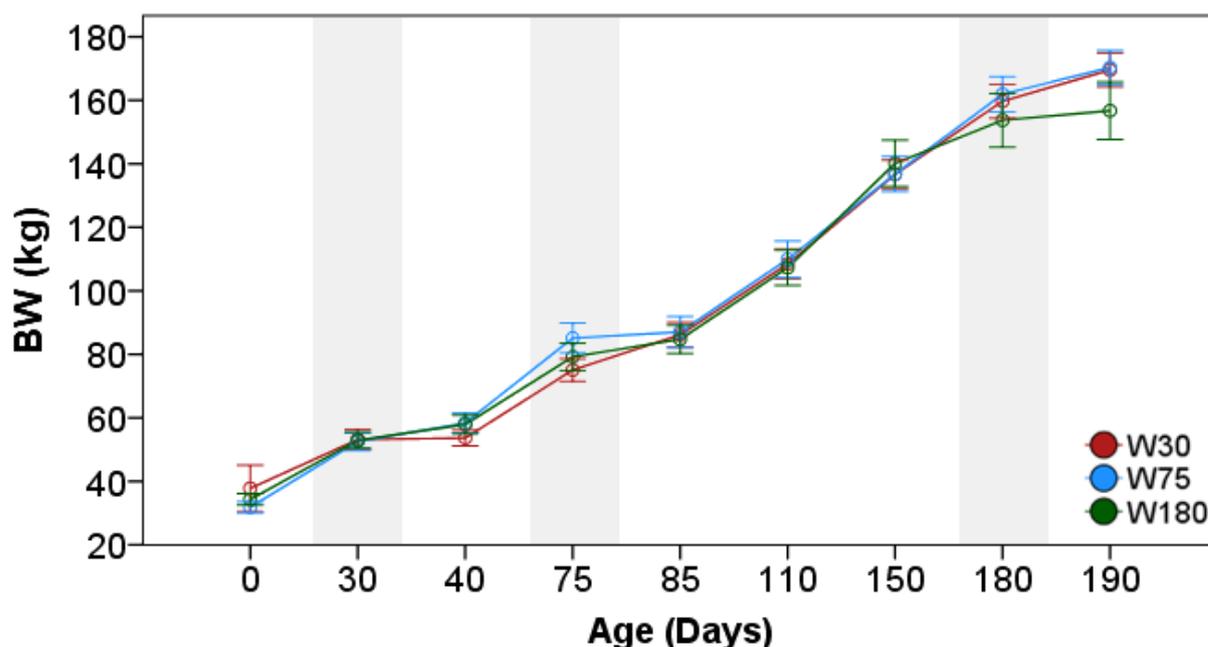
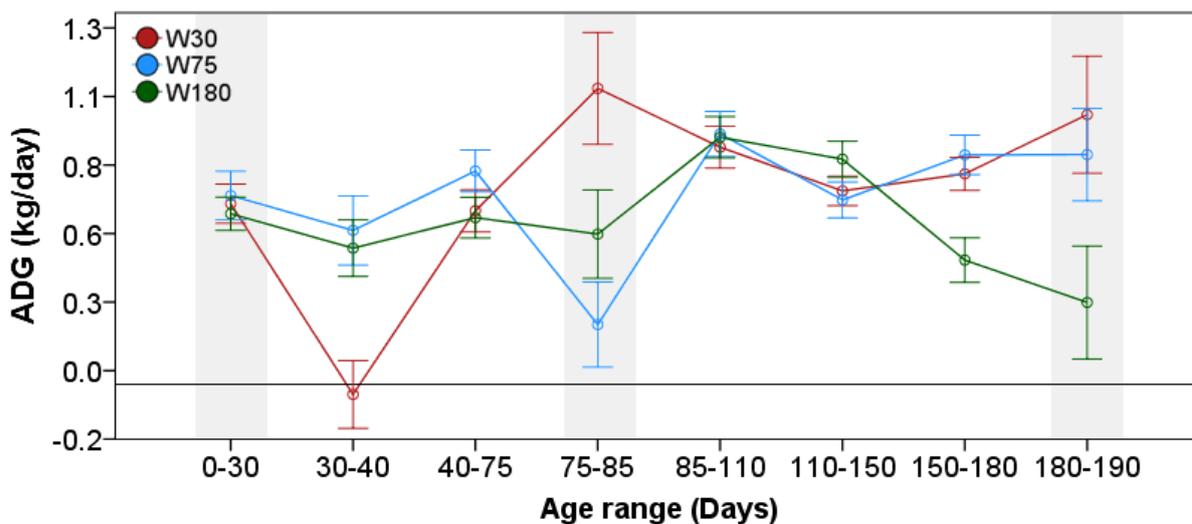


Fig. 2. Peso médio de bezerros de corte desmamados com diferentes idades.



**Fig. 3.** Ganho médio diário de peso em bezerros de corte desmamados com diferentes idades.

### 3.2. Medidas de crescimento animal

O crescimento dos bezerros foi influenciado pela interação entre tratamento  $\times$  dia ( $P = 0,038$ ) (Tabela 2). No dia 30, o comprimento do animal, a circunferência torácica e a altura de cernelha foram semelhantes em todos os tratamentos, mas a altura de garupa foi menor para os bezerros W180. No dia 75, observa-se que o crescimento do W30 foi menor para todas as variáveis analisadas. Aos 180 dias esses bezerros se igualaram aos W75 e W180 nas medidas de comprimento e circunferência torácica, mas com menor crescimento em estatura, evidenciado pela menor altura da cernelha e da garupa.

**Tabela 2** Média ( $\pm$ EP) das medidas de crescimento (cm) de bezerros desmamados.

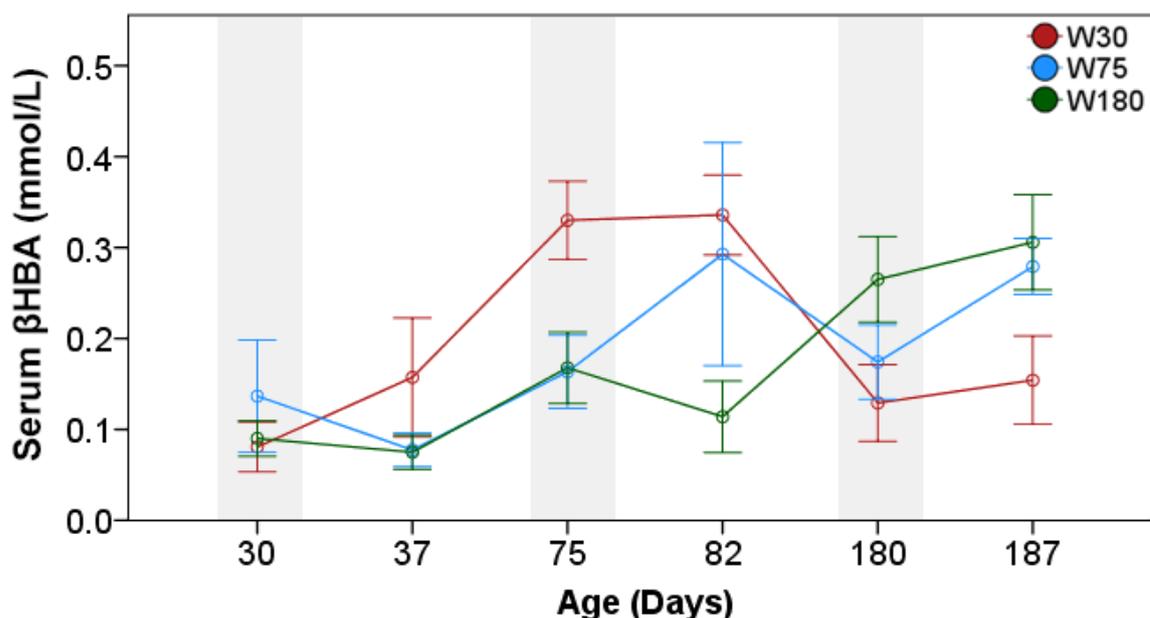
Dia	Tratamentos			P		
	W30	W75	W180	Trat	Dia	Trat*dia
	Comprimento animal					
30	73,32 $\pm$ 1,28Ac	76,95 $\pm$ 0,98Ac	75,09 $\pm$ 1,05Ac			
75	83,73 $\pm$ 0,82Bb	89,55 $\pm$ 0,96Ab	88,14 $\pm$ 1,26Ab	0,053	<0,001	0,038
180	106,59 $\pm$ 0,59Aa	110,05 $\pm$ 1,00Aa	108,20 $\pm$ 1,30Aa			
	Circunferência torácica					
30	88,64 $\pm$ 0,89Ac	89,50 $\pm$ 0,87Ac	88,23 $\pm$ 0,81Ac			
75	97,73 $\pm$ 1,05Bb	103,85 $\pm$ 1,00Ab	102,00 $\pm$ 1,01Ab	0,186	<0,001	0,001
180	123,41 $\pm$ 0,86Aa	125,55 $\pm$ 0,83Aa	123,48 $\pm$ 1,38Aa			
	Altura de cernelha					
30	76,41 $\pm$ 0,64Ac	76,85 $\pm$ 0,41Ac	75,43 $\pm$ 0,72Ac			
75	82,27 $\pm$ 0,58Cb	86,55 $\pm$ 0,43Ab	84,64 $\pm$ 0,75Bb	0,016	<0,001	<0,001
180	96,41 $\pm$ 0,87Ba	99,00 $\pm$ 0,53Aa	99,14 $\pm$ 0,92Aa			
	Altura de garupa					
30	83,32 $\pm$ 0,59Ac	83,15 $\pm$ 0,41Ac	80,23 $\pm$ 0,77Bc			
75	87,86 $\pm$ 0,99Bb	93,30 $\pm$ 0,58Ab	90,64 $\pm$ 0,81Ab	0,063	<0,001	<0,001
180	103,55 $\pm$ 0,88Ba	106,65 $\pm$ 0,60Aa	107,00 $\pm$ 1,02Aa			

A.B Different letters in the lines represent statistical differences ( $P < 0.05$ ) per treatment.

a.b Different letters in the columns represent statistical differences ( $P < 0.05$ ) per day.

### 3.3. Níveis de $\beta$ -hidroxibutirato

Os níveis séricos de  $\beta$ HBA foram modificados pelos efeitos da interação (tratamento  $\times$  dia;  $P < 0,001$ ) (Fig. 4). No dia 37, os níveis de  $\beta$ HBA aumentaram 50% para W30 ( $0,16 \pm 0,03$  mmol/L) comparado com W75 e W180 ( $0,08 \pm 0,01$  mmol/L). No dia 75, os níveis permaneciam altos para W30 ( $0,33 \pm 0,02$  mmol/L) comparado com W75 ( $0,16 \pm 0,02$  mmol/L) e W180 ( $0,17 \pm 0,02$  mmol/L) e estava correlacionado com GMD ( $r = 0,50$ ;  $P = 0,003$ ), sendo que no dia 82, o W30 e W75, se igualaram. E aos 180 dias observa-se incremento para W180, que apresentou elevação contínua até o dia 187.



**Fig. 4.** Média do  $\beta$ -hidroxibutirato em bezerros de corte desmamados com diferentes idades.

#### 4. Discussão

O desenvolvimento animal é mediado por fatores genéticos, fisiológicos, nutricionais e ambientais (Lawrence and Fowler, 2002; Lawrie, 2006). No presente estudo, os aspectos genéticos não foram considerados como causa de variação do ganho de peso dos bezerros, pois os animais eram oriundos do mesmo rebanho e da mesma raça. No entanto, as diferenças observadas no desempenho podem ser parcialmente verificadas sob o enfoque fisiológico e nutricional. Assim, o menor GMD dos animais desmamados mais jovens e o atraso de 45 dias para recuperação do peso estão condicionados a adaptação do trato gastrointestinal à nova dieta. Como bezerros pré-ruminantes ainda não possuem mecanismos fisiológicos desenvolvidos para aproveitar o alimento sólido em sua totalidade (Church, 1974; Van Soest, 1994), baixos ganhos podem ser esperados.

Contudo, após a introdução de concentrado na dieta dos bezerros, observa-se o início das atividades enzimáticas para digestão dos nutrientes (Longenbach and Heinrichs, 1998), seguida da inicialização dos processos fermentativos no rúmen (Baldwin et al., 2004). Dessa maneira, o bezerro, torna-se um ruminante e a partir dos carboidratos dietéticos começa a sintetizar a maior parte da sua energia sob a forma de ácidos graxos voláteis (Drackley, 2008). Um desses ácidos é o butirato, agente

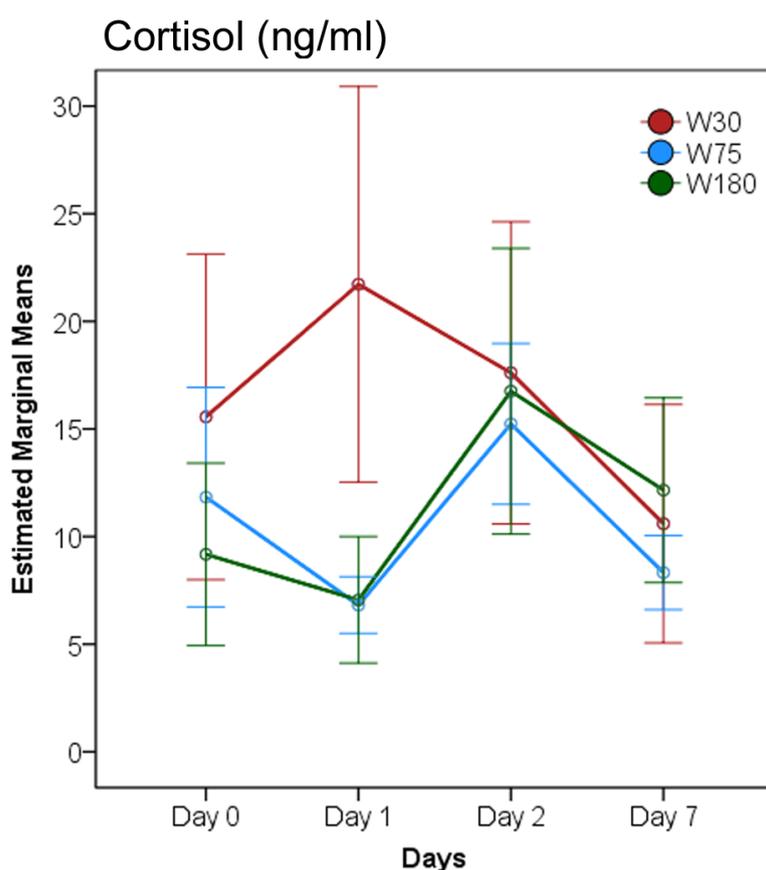
primário no desenvolvimento do trato gastrointestinal (Guilloteau et al., 2010), principalmente, da mucosa ruminal, o qual promove aumento no comprimento das papilas ruminais devido ao aumento da taxa mitótica e a redução da apoptose celular (Mentschel et al., 2001). O butirato é absorvido pela mucosa do rúmen e cerca de 77% é convertido em  $\beta$ HBA (Pennington and Pfander, 1957). Portanto, acréscimos no nível de  $\beta$ HBA sugerem a ativação do trato gastrointestinal dos ruminantes, sendo benéfico para o desenvolvimento do bezerro (Meale et al., 2015). Nesse sentido, o restabelecimento do ganho médio diário, e conseqüentemente do peso corporal dos animais jovens, estava associado ao pico de produção de  $\beta$ HBA. A taxa de Kleiber demonstra que os animais jovens tiveram maior eficiência alimentar, pois o aumento nessa taxa sugere maior desenvolvimento sem aumentar o custo de energia de manutenção (Tedeschi et al., 2006).

Lusby et al. (1981), em experimento semelhante ao manejo nutricional adotado no presente estudo, demonstraram que bezerros de corte desmamados e confinados entre 6 e 8 semanas e posteriormente transferidos para pastagem nativa com suplementação aos 136 dias, perderam 20 kg aos 7 meses de idade, quando comparados com bezerros que permaneceram com a mãe. Nesse sentido, Haley et al. (2005) corroboram com esses pesquisadores ao evidenciarem que a qualidade da forrageira destinada aos animais é fundamental para proporcionar ganhos adequados de peso e compensar a ausência do leite. Além da pastagem, uma dieta equilibrada tende a resultar em ganho médio diário superior aos bezerros não desmamados (Rasby, 2007), pois o leite materno atende as necessidades nutricionais apenas até a décima segunda semana de vida do bezerro (Costa e Silva et al., 2016).

Por outro lado, a variação de peso inicial pode ser justificada também pelos fatores ambientais, nesse caso, inerentes aos estressores do desmame. Embora as respostas comportamentais não tenham sido apresentadas, observou-se que o período imediato ao desmame foi caracterizado por intensa atividade pelos bezerros jovens. O ato de caminhar foi a ação mais duradoura realizada pelo W30 e W75 no dia do desmame, sendo 62% maior para W30 e 56% para W75 em comparação com W180. A frequência de animais em atividade de alimentação foi 80% e 76% menor para os bezerros do W30 e W75 do que para W180. As vocalizações foram classificadas em extrema, moderada ou ausente e no dia do desmame, quando os bezerros W30 emitiram mais eventos de vocalização extrema (61%) em comparação com W75 (15%) e W180 (0%). Essas atividades denotam sofrimento e impactam na

taxa de ganho de peso (Price et al., 2003). O baixo consumo no pós-desmame, possivelmente, causou a liberação de hormônios catabólicos que estimularam a mobilização de aminoácidos das células musculares para a gliconeogênese (Hornick et al., 2000) resultando em menor desempenho produtivo.

Alterações nos níveis de cortisol também foram identificadas em bezerros jovens nos primeiros dias após o desmame (Fig. 5). Eventos estressantes ocasionam aumento dos níveis de cortisol que podem desencadear modificações no metabolismo da glicose, e desse modo, a energia que seria utilizada para as atividades biológicas (crescimento, por exemplo) é desviada para recuperar a homeostase do organismo animal (Moberg, 2000). Além disso, as extensões do estresse pós-desmame podem ocasionar modificações imunológicas (O'Loughlin et al., 2014). No presente estudo, essas alterações apareceram tardiamente, caracterizadas por neutrofilia e linfopenia.



**Fig. 5.** Níveis de cortisol após o desmame (*Day 0*= dia do desmame).

Apesar de o peso ter sido recuperado nos animais desmamados em idade mais precoce, o atraso no restabelecimento do consumo alimentar pós-desmame repercutiu negativamente no crescimento morfométrico. No entanto, Curtis et al.

(2018) verificaram que o baixo consumo alimentar (proveniente da restrição alimentar) em bezerros de leite jovens, influenciou na estatura de forma temporária, com crescimento compensatório aos 287 kg. Pois, o sistema esquelético continua crescendo até que este atinja entre 50 a 60% do peso adulto (Trenkle and Marple, 1983), momento concomitante a desaceleração do crescimento no período pós-adolescência (Owens et al., 1993). Logo, ainda existe uma janela para que os bezerros oriundos do desmame antecipado retomem o ritmo de crescimento dos bezerros W180 e tenham estatura similar em idades posteriores.

Em síntese, a prática do desmame aos 30 dias se caracteriza como uma fonte de estresse capaz de gerar prejuízos no desempenho para as próximas seis semanas após o desmame. Portanto, é necessário aprimorar essa técnica com foco no manejo pré e pós-desmame, para habituar rapidamente os animais à ausência da mãe e a nova dieta. A suplementação com butirato pode ser oportunizada para promover o rápido desenvolvimento do trato gastrointestinal (Górka et al., 2018). Por fim, uma análise da viabilidade econômica deve ser realizada, pois proporcionar uma dieta de qualidade por um longo período representa o maior investimento operacional no sistema de produção do rebanho de cria (Meyer et al., 2008).

## **5. Conclusões**

A antecipação da idade ao desmame para idades muito precoces resulta em imediata e expressiva perda de peso nos primeiros 10 dias após a separação, com inferência negativa no desenvolvimento até os 75 dias de idade. Contudo, a atividade precoce do rúmen e o fornecimento de uma dieta nutricionalmente equilibrada, superior a qualidade do leite, ocasiona recuperação do peso, de modo que os bezerros jovens ultrapassam os bezerros desmamados convencionalmente. Perante as implicações do desmame W30, recomenda-se cautela com a aplicação dessa técnica, em virtude de que a perda de peso resultante do estresse pós-desmame pode colocar em risco a saúde do animal.

## **Declaração de conflito de interesse**

Os autores declaram não terem nenhum tipo de conflito.

## Agradecimentos

Agradecemos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS – protocolo 17/2551-0001277-1), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq – protocolo 431277/2018-4), ao Núcleo de Estudos em Sistemas de Produção de Bovinos de Corte e Cadeia Produtiva (NESPro) e a equipe da fazenda experimental da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

## Referências

- Baldwin, R.L., McLeod, K.R., Klotz, J.L., Heitmann, R.N., 2004. Rumen development, intestinal growth and hepatic metabolism in the pre- and postweaning ruminant. *J. Dairy Sci.* 87, E55-E65. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(04\)70061-2](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(04)70061-2).
- Blanco, M., Casasús, I., Palacio, J., 2009. Effect of age at weaning on the physiological stress response and temperament of two beef cattle breeds. *Animal* 3, 108-117. <https://doi.org/10.1017/s1751731108002978>.
- Church, D.C., 1974. *Fisiología digestiva y nutrición de los rumiantes: fisiología digestiva*, first ed. Zaragoza, Spain.
- Costa e Silva, L.F., Valadares Filho, S.C., Rotta, P.P., Lopes, S.A., Paulino, P.V.R., Paulino, M.F., 2016, in: Valadares Filho, S.C., Costa e Silva, L.F., Gionbelli, M.P., Rotta, P.P., Marcondes, M.I., Chizzotti, M.L., Prados, L.F (Eds.), *Nutrient requirements for lactating beef cows and their calves. Nutrient Requirements of Zebu and Crossbred Cattle – BR-CORTE*. Suprema Gráfica Ltda., Brazil, pp. 273-298.
- Curtis, G., McGregor Argo, C., Jones, D., Grove-White, D., 2018. The impact of early life nutrition and housing on growth and reproduction in dairy cattle. *PLoS ONE* 13, e0191687. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191687>.
- Drackley, J. K., 2008. Calf nutrition from birth to breeding. *Vet Clin N AM:Food A.* 24(1), 55-86. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2008.01.001>.
- Eckert, E., Brown, H.E., Leslie, K.E., DeVries, T.J., Steele, M. A., 2015. Weaning age affects growth, feed intake, gastrointestinal development, and behavior in Holstein calves fed an elevated plane of nutrition during the preweaning stage. *J. Dairy Sci.* 98, 6315-6326. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-9062>.

- Enríquez, D., Hötzel, M.J., Ungerfeld, R., 2011. Minimising the stress of weaning of beef calves: a review. *Acta Vet. Scand.* 53, 1-8. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-53-28>.
- Gonzalez, D.D., Vittone, J.C., Lado, M., Biolatto, A., Mozgovej, M.V., Ferella, A., Sammarruco, A., Maidana, S., Romera, S.A., Santos, M.C., 2013. Detection of antibodies against bovine herpes virus 1, bovine viral diarrhea virus and bovine respiratory syncytial virus in early and ultra-early weaned beef calves. *Am. J. Anim. Vet. Sci.* 8, 210-219. <https://doi.org/10.3844/ajavssp.2013.210.219>.
- Górka, P., Kowalski, Z.M., Zabielski, R., Guilloteau, P., 2018. Invited review: Use of butyrate to promote gastrointestinal tract development in calves. *J. Dairy Sci.* 101, 4785-4800. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14086>.
- Guilloteau, P., Martin, L., Eeckhaut, V., Ducatelle, R., Zabielski, R., Van Immerseel, F., 2010. From the gut to the peripheral tissues: the multiple effects of butyrate. *Nutr. Res. Rev.* 23, 366-384. <https://doi.org/10.1017/s0954422410000247>.
- Haley, D.B., Bailey, D.W., Stookey, J.M., 2005. The effects of weaning beef calves in two stages on their behavior and growth rate. *J. Anim. Sci.* 83, 2205-2214. <https://doi.org/10.2527/2005.8392205x>.
- Hornick, J.L., Van Eenaeme, C., Gérard, O., Dufrasne, I., Istasse, L., 2000. Mechanisms of reduced and compensatory growth. *Domest. Anim. Endocrinol.* 19, 121-132. [https://doi.org/10.1016/s0739-7240\(00\)00072-2](https://doi.org/10.1016/s0739-7240(00)00072-2).
- IBM Corp. Released, 2011. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, Nova York.
- Kleiber, M., 1936. Problems involved in breeding for efficiency of food utilization, *J. Anim. Sci.* 247-258. <https://doi.org/10.2527/jas1936.1936b1247x>.
- Lambertz, C., Farke-Röver, A., Matthias Gauly, M., 2015. Effects of sex and age on behavior and weight gain in beef calves after abrupt weaning. *Anim. Sci. J.* 86, 345-350. <https://doi.org/10.1111/asj.12285>.
- Lawrence, T.L.J., Fowler, V.R., 2002. *Growth of farm animals*, second ed. Wallingford: CAB International, New York.
- Lawrie, R.A., 2006. Factors influencing the growth and development of meat animals, in: Lawrie, R.A., Ledward, D. (Eds.), *Lawrie's Meat Science*. Woodhead Publishing, Cambridge, UK, pp. 15-40. <https://doi.org/10.1533/9781845691615.15>.
- Lefcourt, A.M., Elsasser, T.H. 1995. Adrenal responses of Angus x Hereford cattle to

- the stress of weaning. *J. Anim. Sci.* 73, 2669-2676. <https://doi.org/10.2527/1995.7392669x>.
- Longenbach, J.I., Heinrichs, A.J., 1998. A review of the importance and physiological role of curd formation in the abomasum of young calves. *Anim. Feed Sci. Tech.* 73, 85-97. [https://doi.org/10.1016/s0377-8401\(98\)00130-8](https://doi.org/10.1016/s0377-8401(98)00130-8).
- Lusby, K.S., Wettemann, R.P., Turman, E.J. 1981. Effects of early weaning calves from first-calf heifers on calf and heifer performance. *J. Anim. Sci.* 53, 1193-1197. <https://doi.org/10.2527/jas1981.5351193x>.
- Lynch, E., McGee, M., Earley, B., 2019. Weaning management of beef calves with implications for animal health and welfare. *J. Appl. Anim. Res.* 47, 167-175. <https://doi.org/10.1080/09712119.2019.1594825>.
- Meale, S.J., Leal, L.N., Martín-Tereso, J., Steele, M.A., 2015. Delayed weaning of Holstein bull calves fed an elevated plane of nutrition impacts feed intake, growth and potential markers of gastrointestinal development. *Anim. Feed Sci. Tech.* 209, 268-273. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.08.008>.
- Menezes, L.F.G., Restle, J., Kuss, F., Brondani, I.L., Alves Filho, D.C., Catellam, J., Osmari, M.P., 2008. Body measurements of feedlot finished steers from advanced generations of rotational crossbreeding between Charolais and Nelore breeds. *Cienc. Rural* 38, 771-777.
- Mentschel, J., Leiser, R., Mülling, C., Pfarrer, C., Claus, R., 2001. Butyric acid stimulates rumen mucosa development in the calf mainly by a reduction of apoptosis. *Arch. Tierernaehr.* 55, 85-102. <https://doi.org/10.1080/17450390109386185>.
- Meyer, A.M., Kerley, M.S., Kallenbach, R.L., 2008. The effect of residual feed intake classification on forage intake by grazing beef cows. *J. Anim. Sci.* 86, 2670-2679. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0642>.
- Moberg, G.P., 2000. Biological response to stress: implications for animal welfare. in: Moberg, G.P., Mench, J.A. (Eds.), *The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare*. CABI Publishing, New York, pp. 1-21.
- O'Loughlin, A., McGee, M., Doyle, S., Earley, B., 2014. Biomarker responses to weaning stress in beef calves. *Res. Vet. Sci.* 97, 459-464. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2014.06.003>.
- Oliveira, T.E., Barcellos, J.O.J., Whittier, J., Teixeira, O.S., Freitas, D. S., Oaigen, R.P., Dill, M.D., McManus, C., 2018. Risks associated to different methods of

- increasing pregnancy rate of cows in cow-calf systems. *R. Bras. Zootec.* 47:e20180051. <http://dx.doi.org/10.1590/rbz4720180051>.
- Orihuela, A., Galina, C. S., 2019. Effects of separation of cows and calves on reproductive performance and animal welfare in tropical beef cattle. *Animals*, 9, 1-13. <https://doi.org/10.3390/ani9050223>.
- Owens, F.N., Dubeski, P., Hanson, C.F., 1993. Factors that alter the growth and development of ruminants. *J. Anim. Sci.* 71, 3138-3150. <https://doi.org/10.2527/1993.71113138x>.
- Pennington, R.J., Pfander, W.H., 1957. The metabolism of short-chain fatty acids in the sheep. V. Some interrelationships in the metabolism of fatty acids and glucose by sheep-rumen epithelial tissue. *Biochem J.* 1957; 65, 109-111. <https://doi.org/10.1042/bj0650109>
- Price, E.O., Harris, J.E., Borgwardt, R.E., Sween, M.L. Connor, J.M., 2003. Fenceline contact of beef calves with their dams at weaning reduces the negative effects of separation on behavior and growth rate. *J. Anim. Sci.* 81, 116-121. <https://doi.org/10.2527/2003.811116x>.
- Quigley, J.D., Caldwell, L.A., Sinks, G.D., Heitmann, R.N., 1991. changes in blood glucose, nonesterified fatty acids, and ketones in response to weaning and feed intake in young calves. *J. Dairy Sci.* 74, 250-257. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(91\)78167-8](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(91)78167-8).
- Rasby, R., 2007. Early weaning beef calves. *Vet. Clin. N. Am-Food A.* 23, 29-40. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.01.002>.
- Smith, D.L., Wiggers, D.L., Wilson, L.L., Comerford, J.W., Harpster, H.W., Cash, E.H., 2003. Postweaning behavior and growth performance of early and conventionally weaned beef calves. *P.A.S.* 19, 23-29. [https://doi.org/10.15232/s1080-7446\(15\)31370-x](https://doi.org/10.15232/s1080-7446(15)31370-x).
- Suárez, B.J., Van Reenen, C.G., Gerrits, W.J.J., Stockhofe, N., van Vuuren, A. M., Dijkstra, J., 2006. Effects of supplementing concentrates differing in carbohydrate composition in veal calf diets: II. Rumen development. *J. Dairy Sci.* 89, 4376-4386. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(06\)72484-5](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(06)72484-5).
- Tamate, H., McGilliard, A.D., Jacobson, N.L., Getty, R., 1962. Effect of various dietaries on the anatomical development of the stomach in the calf. *J. Dairy Sci.* 45, 408-420. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(62\)89406-5](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(62)89406-5).
- Taylor, J.D., Gilliam, J.N., Mourer, G., Stansberry, C., 2020. Comparison of effects of

four weaning methods on health and performance of beef calves. *Animal*, 1-10.  
<https://doi.org/10.1017/S1751731119001228>.

Tedeschi, L.O., Fox, D.G., Baker, M.J., Kirschten, D.P., 2006. Identifying differences in feed efficiency among group-fed cattle. *J. Anim. Sci.* 84, 767-776. <https://doi.org/10.2527/2006.843767x>.

Trenkle, A., Marple, D.N., 1983. Growth and development of meat animals. *J. Anim. Sci.* 57, 273-283. [https://doi.org/10.2527/animalsci1983.57Supplement\\_2273x](https://doi.org/10.2527/animalsci1983.57Supplement_2273x).

Van Soest, P.J. 1994. *Nutritional ecology of the ruminant*, second ed. Cornell University Press, New York.

Warner, R.G., Flatt, W.P., Loosli, J.K., 1956. Dietary factors influencing the development of the ruminant stomach. *J. Agric. Food Chem.* 4, 788-792.

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente pesquisa investigou três idades ao desmame em bezerros de corte, aos 30, 75 e 180 dias. Partiu-se da hipótese de que o desmame em idade jovem influencia negativamente nas características comportamentais, nos parâmetros fisiológicos e no desempenho animal. Essas pressuposições foram confirmadas, no entanto, não só os animais W30, como também W75 demonstraram maiores alterações quando foram comparados aos W180.

Sob o enfoque comportamental e fisiológico, os bezerros jovens experimentaram os maiores níveis de estresse, em virtude das expressivas atividades de angústia, demarcadas pelo aumento de cortisol, maior vocalização e ato de caminhar. Logo, tais atividades impactaram na interrupção de comportamentos importantes nos primeiros dias após o desmame, como o ato de se alimentar, por exemplo. Também desencadearam alterações imunológicas desfavoráveis nas células leucocitárias (neutrófilos e linfócitos), assim como na relação neutrófilo:linfócito. No entanto, reconhece-se a necessidade de novas pesquisas nesse campo científico, uma vez que as alterações encontradas foram tardias ao momento do desmame. Esse fenômeno pode estar relacionado a memória de eventos estressantes, pois a exposição subsequente aos estressores pode ter ativado a rede neuro-endócrina-imune.

As mudanças comportamentais e fisiológicas ocasionaram o menor ganho de peso nos primeiros dez dias após o desmame para W30, o que somente foi recuperado após seis semanas. Esse reestabelecimento ocorreu depois que o trato gastrointestinal dos bezerros iniciou sua atividade de forma eficiente. No entanto, apesar de ao final do período experimental, os bezerros desmamados jovens apresentarem peso superior àqueles desmamados convencionalmente, as alterações na estatura do animal não foram totalmente recuperadas até o término dessa pesquisa.

Desse modo, a presente pesquisa caracterizou o desmame aos 30 dias de idade e ressalta-se que é preciso cautela na sua aplicação, pois, embora os bezerros atingissem a idade do desmame convencional com peso mais elevado e sem incidência de mortalidade, é fundamental aprimorar essa técnica, a fim de evitar perdas de peso expressivas no pós-desmame, momento crítico na vida do bezerro. Isso adquire importância, principalmente, naqueles sistemas em que o manejo, nos

primeiros dias pós-desmame, não segue todos os cuidados especiais para animais dessa idade, seja por limitações nas instalações ou dos próprios recursos humanos que operacionalizam esse manejo. Nesse sentido, pesquisas visando modificações no manejo pré e pós-desmame, tais como a inserção de alimento sólido antes da separação física, suplementação com butirato e métodos de desmame diferentes do abrupto são pontos relevantes a serem considerados.

Além disso, é fundamental prospectar a aplicação dessa técnica a longo prazo e, desse modo, o comportamento materno das futuras progenitoras, aquelas provenientes do desmame em idades precoces, precisa ser investigado, uma vez que a antecipação ao desmame pode prejudicar a aprendizagem de comportamentos importantes, os quais deixaram de ser repassados por suas mães. Ainda, a análise da viabilidade econômica desse manejo deverá ser determinada, pois o alto fornecimento de ração de excelente qualidade pode se tornar oneroso ao sistema de produção de bovinos de corte.

Por fim, reconhecem-se limitações nesta pesquisa, como a diferença de um mês entre o nascimento do primeiro e do último bezerro experimental. Além disso, os desmames ocorreram em estações do ano diferente, no verão (hiperprecoce e precoce) e convencional (outono). Embora existisse a possibilidade de programar os nascimentos dos bezerros para que os desmames acontecessem na mesma época, poderiam ocorrer outros vieses de confundimento, os quais julgou-se mais difíceis de controlar, como a mudança no período de gestação da vaca, o que implicaria em distintos recursos forrageiros para as vacas e, conseqüentemente mudanças na programação fetal do bezerro. Desse modo, manteve-se o protocolo de acasalamento, de nascimento e de desmame realizado em grande parte do Brasil e adicionaram-se os elementos climáticos como covariáveis.

Outra limitação referiu-se a longa distância (66 km) entre a sede da fazenda experimental até o laboratório de análises clínicas veterinárias da UFRGS, o que ocasionou a inviabilidade no processamento de algumas amostras, decorrente do tempo gasto com a logística de transporte do sangue coletado. Todas essas circunstâncias foram cuidadosamente estudadas para preservar a excelência da presente pesquisa.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

ANDERSON, K. L. *et al.* Ruminal microbial development in conventionally or early-weaned calves. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 64, n. 4, p. 1215-1226, 1987.

ANUALPEC- ANUÁRIO DA PECUÁRIA BRASILEIRA. São Paulo: FNP, 2015.

ARTHINGTON, J. D. *et al.* Effects of preshipping management on measures of stress and performance of beef steers during feedlot receiving. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 86, n. 8, p. 2016-2023, 2008.

BACHA, F. Nutrición del ternero neonato (nacido). **Sítio Argentino de Producción Animal**, Córdoba, p. 1-13, 1999.

BALDWIN, R. L. *et al.* Rumen development, intestinal growth and hepatic metabolism in the pre- and postweaning ruminant. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, p. E55-E65, 2004.

BAVERA, G. A. *et al.* Destete precoce sobre alfafa. **Sítio Argentino de Producción Animal**, Córdoba, p. 1-3, 1997.

BLACK, P. H. The inflammatory response is an integral part of the stress response: Implications for atherosclerosis, insulin resistance, type II diabetes and metabolic syndrome X. **Brain, Behavior, and Immunity**, Amsterdam, v. 17, n. 5, p. 350-364, 2003.

BLACK, P. H.; GARBUTT, L. D. Stress, inflammation and cardiovascular disease. **Journal of Psychosomatic Research**, Oxford, v. 52, n. 1, p. 1-23, 2002.

BLECHA, F.; BOYLES, S. L.; RILEY J. G. Shipping suppresses lymphocyte blastogenic responses in Angus and Brahaman x Angus feeder calves. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 59, n. 3, p. 576-583, 1984.

BONATTI, R. *et al.* Destete precoce sobre buffel grass. **Sítio Argentino de Producción Animal**, Córdoba, p. 1-8, 1995.

BUDZYNSKA, M.; WEARY, D. M. Weaning distress in dairy calves: Effects of alternative weaning procedures. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 112, n. 1-2, p. 33-39, 2008.

BUNEŠOVÁ, V. *et al.* Effect of rearing systems and diets composition on the survival of probiotic bifidobacteria in the digestive tract of calves. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 178, p. 317-321, 2015.

BURNS, B. M.; FORDYCE, G.; HOLROYD, R. G. A review of factors that impact on the capacity of beef cattle females to conceive, maintain a pregnancy and wean a calf: implications for reproductive efficiency in northern Australia. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 122, n. 1-2, p. 1-22, 2010.

BUSH, L. J.; STALEY, T. E. Absorption of colostral immunoglobulins in newborn calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 63, n. 4, p. 672-680, 1980.

CALEGARE, L.; ALBERTII, T. Z.; LANNA, D. P. D. Eficiência da vaca de cria. *In*: PIRES, A. V. **Bovinocultura de Corte**. Piracicaba: FEALQ, 2010. p. 143-158.

CAMPBELL, J. M.; CRENSHAW, J. D.; POLO, J. The biological stress of early weaned piglets. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, London, v. 4, n. 1, p. 1-4, 2013.

CARROLL, J. A.; ARTHINGTON, J. D.; CHASE JR, C. C. Early weaning alters the acute-phase reaction to an endotoxin challenge in beef calves. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 87, n. 12, p. 4167-4172, 2009.

CARVALHO, V. V. *et al.* A meta-analysis of the effects of creep-feeding supplementation on performance and nutritional characteristics by beef calves grazing on tropical pastures. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 227, p. 175-182, 2019.

CASTELLS, L. *et al.* Effect of different forage sources on performance and feeding behavior of Holstein calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 95, n. 1, p. 286-293, 2012.

CATTELAM, J. Desmame precoce na produção de bovinos de corte. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 13, n. 2, p. 190-198, 2014.

CERDÓTES, L. Desempenho produtivo de vacas de quatro grupos genéticos submetidas a diferentes manejos alimentares desmamadas aos 42 ou 63 dias pós-parto. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 3, p. 585-596, 2004.

CHURCH, D. C. **Fisiología digestiva y nutrición de los rumiantes**: fisiología digestiva. Tradução Pedro Ducar Maluenda, Salvador Clímén París e Joaquín Camón Urgel. Zaragoza, España: ACRIBA, 1974a.

CHURCH, D. C. **Fisiología digestiva y nutrición de los rumiantes**: nutrición práctica. Tradução Pedro Ducar Maluenda. Zaragoza, España: ACRIBA, 1974b.

CONTI, G. *et al.* Impacto de la técnica de destete hiperprecoz y precoz sobre el desempeño reproductivo de vientres com diferentes condiciones corporales. **Sítio Argentino de Producción Animal**, Córdoba, p. 1-6, 2007.

COPPO, J. A. Multivariate analysis about causes of growth delay in early weaned calves. **Revista Veterinaria**, Corrientes, v. 18, n. 1, p. 37-45, 2007.

CRAY, C.; ZAIAS, J.; ALTMAN, N. H. Acute phase response in animals: a review. **Comparative Medicine**, Memphis, v. 59, n. 6, p. 517-526, 2009.

CRUVINEL, W. M. *et al.* Sistema imunitário: Parte I: Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. **Revista Brasileira de Reumatologia**, Campinas, v. 50, n. 4, p. 434-461, 2010.

DANG, A. K.; KAPILA, S.; PUROHIT, M. Changes in colostrum of Murrah buffaloes after calving. **Tropical Animal Health and Production**, Edinburgh, v. 41, n. 7, p. 1213-1217, 2009.

DAROS, R. R. *et al.* Separation from the dam causes negative judgement bias in dairy calves. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 9, n. 5, [art.] e98429, 2014.

DICK, M.; SILVA, M. A.; DEWES, H. Life cycle assessment of beef cattle production in two typical grassland systems of southern Brazil. **Journal of Cleaner Production**, Oxford, v. 96, p. 426-434, 2015.

DRACKLEY, J. K. Calf nutrition from birth to breeding. **The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 24, n. 1, p. 55-86, 2008.

DUFF, G. C.; GALYEAN, M. L. Board-Invited Review: Recent advances in management of highly stressed, newly received feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 85, n. 3, p. 823-840, 2007.

ECKERSALL, P. D. Recent advances and future prospects for the use of acute phase proteins as markers of disease in animals. **Revue de Médecine Vétérinaire**, Toulouse, v. 151, n. 7, p. 577-584, 2000.

ENRÍQUEZ, D. H. *et al.* The effects of alternative weaning methods on behaviour in beef calves. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 128, n. 1-3, p. 20-27, 2010.

ENRÍQUEZ, D.; HÖTZEL, M. J.; UNGERFELD, R. Minimising the stress of weaning of beef calves: a review. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Copenhagen, v. 53, n. 28, p. 1-8, 2011.

FAGUNDES, J. I. B.; SCHENKEL, F. S.; LOBATO, J. F. P. Efeito de duas cargas animais em campo nativo e de duas idades à desmama no desempenho de vacas de corte primíparas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 6, p. 1722-1731, 2003.

FLEENOR, W. A.; STOTT, G. H. Hydrometer test for estimation of immunoglobulin concentration in bovine colostrum. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 63, n. 6, p. 973-977, 1980.

FLOWER, F. C.; WEAY, D. M. Effects of early separation on the dairy cow and calf: 2. Separation at 1 day and 2 weeks after birth. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 70, n. 4, p. 275-284, 2001.

FOLEY, J. A.; OTTERBY, D. E. Availability, storage, treatment, composition, and feeding value of surplus colostrum: a review. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 61, n. 8, p. 1033-1060, 1978.

FORNIELES, A. S; GIL, S. B. **Los números de la cria**. Buenos Aires: Agro-Vet, 2012.

FRANDSON, R. D; WILKE, W. L.; FAILS, A. D. **Anatomia e fisiologia dos animais de fazenda**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

FRÖBERG, S. *et al.* Effect of suckling ('restricted suckling') on dairy cows' udder health and milk let-down and their calves' weight gain, feed intake and behaviour. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 113, n. 1-3, p. 1-14, 2008.

GABAY, C.; KUSHNER, I. Acute phase proteins and other systemic responses to inflammation. **The New England Journal of Medicine**, Boston, v. 340, n. 6, p. 448-454, 1999.

GALLI, I. *et al.* **Destete precoce em cría vacuna**: manual para la toma de decisiones y ejecución de la técnica. Argentina: INTA, 2005a. (Manual de Cria Vacuna, v. 1).

GALLI, I. *et al.* **Destete precoce em cría vacuna**: manual para la toma de decisiones y ejecución de la técnica. Argentina: INTA, 2005b. (Manual de Cria Vacuna, v. 2).

GLASER, R.; KIECOLT-GLASER, J. K. Stress-induced immune dysfunction: implications for health. **Nature Reviews Immunology**, London, v. 5, n. 3, p. 243-251, 2005.

GODDEN, S. Colostrum management for dairy calves. **The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 24, n. 1, p. 19-39, 2008.

GOTTSCHALL, C. S. **Desmame de bezerros de corte**: Como? Quando? Por quê? Guaíba: Agropecuária, 2002.

GOTTSCHALL, C. S. **Desmame de bezerros de corte**: Como? Quando? Por quê? 2. ed. Guaíba: Agropecuária, 2009.

GOTTSCHALL, C. S. *et al.* The reproductive performance of beef cows of different ages with calves weaned at three or seven months. **Animal Reproduction**, Belo Horizonte, v. 4, n. 1-2, p. 42-45, 2007.

GRUPTA, S.; EARLEY, B.; CROWE, M. A. Pituitary, adrenal, immune and performance responses of mature Holstein · Friesian bulls housed on slatted floors at various space allowances. **The Veterinary Journal**, London, v. 173, v. 3, p. 594-604, 2007.

HADDAD, C. M.; MENDES, C. Q. **Manejo da monta das vacas e das crias**. In: PIRES, A. V. Bovinocultura de Corte. Piracicaba: FEALQ, 2010. p. 129-141.

HALEY, D. B. *et al.* The effects of weaning beef calves in two stages on their behavior and growth rate. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 83, n. 9, p. 2205-2214, 2005.

HASSIG, M.; STADBER, T.; LUTZ, H. Transition from maternal to endogenous antibodies in newborn calves. **The Veterinary Record**, London, v. 160, n. 7, p. 234-235, 2007.

HICKEY, M. C.; DRENNAN, M.; EARLY, B. The effect of abrupt weaning of suckler calves on the plasma concentrations of cortisol, catecholamines, leukocytes, acute-phase proteins, and in vitro interferon-gamma production. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 81, n. 11, p. 2847-2855, 2003.

HULBERT, L.; MOISÁ, S. J. Stress, immunity, and the management of calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 99, n. 4, p. 1-18, 2016.

JOHNSEN, J. F. *et al.* Behavioural responses to cow-calf separation: The effect of nutritional dependence. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 201, p. 1-6, 2018.

JONES, M. L.; ALLISON, R. W. Evaluation of the ruminant complete blood cell count. **The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 23, n. 3, p. 377-402, 2007.

KERTZ, A. F. *et al.* A 100-Year Review: Calf nutrition and management. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 100, n. 12, p. 10151-10172, 2017.

KHAN, M. A.; WEARY, D. M.; VON KEYSERLINGK, M. A. G. Hay intake improves performance and rumen development of calves fed higher quantities of milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, n. 7, p. 2547-3553, 2011.

KUGLER, N. *et al.* Cow performance in conventional versus early weaning herds in north Patagonia, Argentina. **Rangelands**, Moscow, v. 30, n. 1, p. 12-16, 2008.

LATHAM, N. R.; MASON, G. J. Maternal deprivation and the development of stereotypic behaviour. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 110, n. 1-2, p. 84-108, 2008.

LEFCOURT, A. M.; ELSASSER, T. H. Adrenal responses of Angus x Hereford cattle to the stress of weaning. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, n. 9, p. 2669-2676, 1995.

LI, R. W. *et al.* Characterization of the rumen microbiota of pre-ruminant calves using metagenomic tools. **Environmental Microbiology**, Oxford, v. 14, n. 1, p. 129-139, 2012.

LOGAN, E. F. Colostral immunity to colibacillosis in the neonatal calf. **The British Veterinary Journal**, London, v. 130, n. 5, p. 405-412, 1974.

- LONGENBACH, J. I.; HEINRICHS, A. J. A review of the importance and physiological role of curd formation in the abomasum of young calves. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 73, n. 1-2, p. 85-97, 1998.
- LORENZ, I.; FAGAN, J.; MORE, J. Calf health from birth to weaning. II. Management of diarrhea in pre-weaned calves. **Irish Veterinary Journal**, Dublin, v. 64, n. 1, p. 1-9, 2011.
- LYNCH, E. M. *et al.* Effect of abrupt weaning at housing on leukocyte distribution, functional activity of neutrophils, and acute phase protein response of beef calves. **BMC Veterinary Research**, London, v. 6, n. 39, p. 1-9, 2010.
- LYNCH, E.; MCGEE, M.; EARLEY, B. Weaning management of beef calves with implications for animal health and welfare. **Journal of Applied Animal Research**, Janakpuri, v. 47, n. 1, p. 167-175, 2019.
- MARGERISON, J. K. *et al.* Cross-sucking and other oral behaviours in calves, and their relation to cow sucking and food provision. **Applied Animal Behavior Science**, Amsterdam, v. 80, n. 4, p. 277-286, 2003.
- MASON, G. J. Stereotypies: a critical review. **Animal Behaviour**, London, v. 41, n. 6, p. 1015-1037, 1991.
- McDONALD, T. L. *et al.* Elevated extrahepatic expression and secretion of mammary-associated serum amyloid A 3 (M-SAA3) into colostrum. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 83, n. 3-4, p. 203-211, 2001.
- MEALE, S. J. *et al.* Development of ruminal and fecal microbiomes are affected by weaning but not weaning strategy in dairy calves. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 7, n. 582, p. 713-718, 2016.
- MILLER-CUSHON, E. K. *et al.* Dietary preference in dairy calves for feed ingredients high in energy and protein. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, n. 3, 1634-1644, 2014.
- MOBERG, G. P. Biological response to stress: implications for animal welfare. *In*: MOBERG, G. P.; MENCH, J. A. **The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare** (Moberg and Mench). New York, CABI Publishing, 2000. p. 1-21.
- MOLD, C. *et al.* C-reactive protein mediates protection from lipopolysaccharide through interactions with Fc-gammaR. **Journal of Immunology**, Bethesda, v. 169, n. 12, p. 7019-7025, 2002.
- MONJE, A. Destete precoz en cría vacuna; conceptos previos a la implementación de la práctica. **Sítio Argentino de Producción Animal**, Córdoba, p. 1-4, 2003.
- MONJE, A. *et al.* ¿Una opción tecnológica únicamente para condiciones de sequía? **Sítio Argentino de Produccion Animal**, Córdoba, p. 1-5, 2004.

MONJE, A.; VITTONI, S. El destete como herramienta de ajuste de carga, **Sítio Argentino de Producción Animal**, Córdoba, p. 1-9, 2005.

MURATA, H. Stress and acute phase protein response: an inconspicuous but essential linkage. **The Veterinary Journal**, London, v. 173, n. 3, p. 473-474, 2007.

MURATA, H.; SHIMADA, N.; YOSHIOKA, M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. **The Veterinary Journal**, London, v. 168, n. 1, p. 28-40, 2004.

NEWBERRY, R. C.; SWANSON, J. C. Implications of breaking mother-young social bonds. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 110, n. 1, p. 3-23, 2008.

NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7 ed. Washington, D.C.: National Academy of Sciences, 1996.

O'CONNOR, T. M.; O'HALLORAN, D. J.; SHANAHAN, F. The stress response and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: from molecule to melancholia. **Quarterly Journal of Medicine**, Oxford, v. 93, n. 6, p. 323-333, 2000.

O'LOUGHLIN, A. *et al.* Biomarker responses to weaning stress in beef calves. **Research in Veterinary Science**, London, v. 97, n. 2, p. 459-464, 2014.

OLIVEIRA, *et al.* Agricultural land use change in the Brazilian Pampa Biome: The reduction of natural grasslands. **Land Use Policy**, Amsterdam, v. 63, p. 394-400, 2017.

OLIVEIRA, T. E. *et al.* Risks associated to different methods of increasing pregnancy rate of cows in cow-calf systems. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 47, e20180051, 2018.

ORIHUELA, A.; SUÁREZ, E.; VÁZQUEZ, R. Effect of restricting suckling on the social bond between ewes and their 10-week-old lambs. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 87, n. 2-3, p. 25-264, 2004.

OTERO, G. *et al.* Comportamiento reproductivo de vientres de cría destetados hiperprecozmente vs destete convencional. **Revista Argentina de Producción Animal**, Córdoba, v. 28, p. 237-302, 2008.

OTTERBY, D. E.; LINN, J. G. Advances in Nutrition and Management of Calves and Heifers. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 64, n. 6, p. 1365-1377, 1981.

PAAPE, M. J. *et al.* The bovine neutrophil: structure and function in blood and milk. **Veterinary Research**, London, v. 34, n. 5, p. 597-627, 2003.

PADILLA DE LA TORRE, M. *et al.* Mother-offspring recognition via contact calls in cattle, *Bos taurus*. **Animal Behaviour**, London, v. 114, p. 147-154, 2016.

PAUL, E. S.; HARDING, E. J.; MENDEL, M. Measuring emotional processes in

animals: the utility of a cognitive approach. **Neuroscience Biobehavioral Reviews**, New York, v. 29, n. 3, p. 469-491, 2005.

PÉREZ-TORRES, L. *et al.* Effects of separation time on behavioral and physiological characteristics of Brahman cows and their calves. **Applied Animal Behavior Science**, Amsterdam, v. 92, p. 4694-4700, 2016.

PETERSON, P. K. *et al.* Stress and pathogenesis of infectious disease. **Reviews of Infectious Diseases**, Chicago, v. 13, n. 4, 710-713, 1991.

PHILLIPS, C. J. C. The effects of forage provision and group size on the behavior of calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, n. 5, 1380-1388, 2004.

PIMENTEL, M. A. *et al.* Características da lactação de vacas Hereford criadas em um sistema de produção extensivo na região da campanha do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 1, p. 159-168, 2006.

PIÑEIRO, M. *et al.* Characterisation of the pig acute phase protein response to road transport. **The Veterinary Journal**, London, v. 173, n. 3, p. 669-674, 2007.

PORTER, P. Immunoglobulin mechanisms in health and nutrition from birth to weaning. **The Proceedings of the Nutrition Society**, Wallingford, v. 35, n. 3, p. 273-282, 1976.

PRICE, E. O. *et al.* Fenceline contact of beef calves with their dams at weaning reduces the negative effects of separation on behavior and growth rate. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 81, n. 1, p. 116-121, 2003.

QUIGLEY, J. Passive immunity in newborn calves. **Advances in Dairy Technology**, v. 14, p. 273-292, 2002.

RASBY, R. Early weaning beef calves. **The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 23, n. 1, p. 29-40, 2007.

REINHARDT, V.; REINHARDT, A. Natural sucking performance and age at weaning in zebu cattle (*Bos indicus*). **The Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 96, n. 2, p. 309-312, 1981.

RESTLE, J. *et al.* Desempenho de vacas Charolês e Nelore desterнейradas aos três e sete meses. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n. 2, p. 499-507, 2001.

RIONDATO, F. *et al.* Effects of road transportation on lymphocyte subsets in calves. **The Veterinary Journal**, London, v. 175, n. 3, p. 364-368, 2008.

ROITT, I.; BROSTOFF, J.; MALE, D. **Imunologia**. 5. ed. Tradução Ida Cristina Gubert. São Paulo: Helvética Editorial Ltda, 1999.

ROVIRA, J. M. **Reproducción y manejo de los rodeos de cria**. 2. ed. Montevideo:

Hemisferio Sur, 1973.

SANDER, E. G. *et al.* The stimulatory effect of sodium butyrate and sodium propionate on the development of rumen mucosa in the young calf. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 42, n. 9, p.1600-1605, 1959.

SHORT, R. E. *et al.* Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 68, n. 3, p. 799-816, 1990.

SHORT, R. E.; ADAMS, D. C. Nutritional and hormonal interrelationships in beef cattle reproduction. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 68, n. 1, p. 29-39, 1988.

SMITH, D. L. *et al.* Postweaning behavior and growth performance of early and conventionally weaned beef calves. **The Professional Animal Scientist**, Champaign, v. 19, n. 1, p. 23-29, 2003.

SOTO, L. P. *et al.* Design of macrocapsules to improve bacterial viability and supplementation with a probiotic for young calves. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 165, n. 3-4, p. 176-183, 2011.

STEHULOVÁ, I. *et al.* Weaning reactions in beef cattle are adaptively adjusted to the state of the cow and the calf. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 95, n. 3, p. 1023-1029, 2017.

STOBO, I. J. F.; ROY, J. H. B.; GASTON, H. J. Rumen development in the calf. 1. The effect of diets containing different proportions of concentrates to hay on rumen development. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 20, n. 2, p. 171-188, 1966.

STOTT, G. H. *et al.* Colostral immunoglobulin transfer in calves. III Amount of absorption. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 62, n. 12, p. 1632-1638, 1979.

SUÁREZ, B. J. *et al.* Effects of supplementing concentrates differing in carbohydrate composition in veal calf diets: II. Rumen development. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 11, p. 4376-4386, 2006.

TAMATE, H. *et al.* Effect of various diets on the anatomical development of the stomach in the calf. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 45, n. 3, 408-420, 1962.

TIZARD, I. R. **Imunologia Veterinária**: uma introdução. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

TYLER, J. W. *et al.* Evaluation of 3 assays for failure of passive transfer in calves. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Malden, v. 10, n. 5, p. 304-307, 1996.

USDA. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE; APHIS- ANIMAL

AND PLANT HEALTH INSPECTION SERVICE. **Colostrum feeding and management on U.S. dairy operations 1991-2007**. Available at: <[https://www.aphis.usda.gov/animal\\_health/nahms/dairy/downloads/dairy07/Dairy07\\_is\\_Colostrum.pdf](https://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/dairy/downloads/dairy07/Dairy07_is_Colostrum.pdf)>. Access in: Mar., 2017.

VALNÍCKOVÁ, B. *et al.* The effect of age at separation from the dam and presence of social companions on play behavior and weight gain in dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 98, n. 8, p. 5545-5556, 2015.

VAZ, R. Z.; LOBATO, J. F. P. Efeito da idade do desmame no desenvolvimento de novilhas e corte até os 14/15 meses de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, n. 2, p. 289-298, 2010b.

VAZ, R. Z.; LOBATO, J. P. Efeito da idade de desmame no desempenho reprodutivo de novilhas de corte expostas à reprodução aos 13/15 meses de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, n. 1, p. 142-150, 2010a.

VEISSIER, I.; CARÉ, S.; POMIÈS, D. Suckling, weaning, and the development of oral behaviours in dairy calves. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 147, n. 1-2, p. 11-18, 2013.

VENTURA, B. A. *et al.* Views on contentious practices in dairy farming: The case of early cow-calf separation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 96, n. 9, p. 6105-6116, 2013.

VENTURA, B. A. *et al.* What difference does a visit make? Changes in animal welfare perceptions after interested citizens tour a dairy farm. **PLoS ONE**, San Francisco, v.11, n. 5, [art.] e0154733, 2016a.

VENTURA, B. A. *et al.* Veterinary perspectives on cattle welfare challenges and solutions. **Livestock Science**, v. 193, p. 95-102, 2016b.

WARNER, R. G.; FLATT, W. P.; LOOSLI, J. K. Dietary factors influencing the development of the ruminant stomach. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 4, n. 9, p. 788-792, 1956.

WATERMAN, R. C. *et al.* Early weaning in Northern Great Plains beef cattle production systems: I. Performance and reproductive response in range beef cows. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 148, n. 1-2, p. 26-35, 2012a.

WATERMAN, R. C. *et al.* Early weaning in Northern Great Plains beef cattle production systems: II. Development of replacement heifers weaned at 80 or 215d of age. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 148, n. 1-2, p. 36-45, 2012b.

WATERMAN, R. C. *et al.* Early weaning in Northern Great Plains beef cattle production systems: III. Steer weaning, finishing and carcass characteristics. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 148, n. 3, p. 282-290, 2012c.

WEARY, D. M.; JASPER, J.; HÖTZEL, M. J. Understanding weaning distress.

**Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 110, n. 1-2, p. 24-41, 2008.

WEAVER, D. M. *et al.* Passive transfer of colostral Immunoglobulins in calves. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Malden, v. 14, n. 6, p. 569-577, 2000.

WILLIAMS, G. L. Suckling as a regulator of postpartum rebreeding in cattle: a review. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 68, n. 3, p. 831-852, 1990.

YANG, M. *et al.* Colostrum quality affects immune system establishment and intestinal development of neonatal calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 98, n. 10, p. 7153-7163, 2015.

YAVAS, Y.; WALTON, J. S. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: a review. **Theriogenology**, Stoneham, v. 54, n. 1, p. 25-55, 2000.

## APÊNDICES

## Apêndice 1 – Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)



**UFRGS**  
UNIVERSIDADE FEDERAL  
DO RIO GRANDE DO SUL

**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA**

Comissão De Ética No Uso De Animais



### **CARTA DE APROVAÇÃO**

Comissão De Ética No Uso De Animais analisou o projeto:

**Número:** 33439

**Título:** Desmame hiperprecoce em bezerros de corte: aspectos comportamentais, alterações no trato gastrointestinal e nos mecanismos imunológicos

**Vigência:** 01/09/2017 à 01/03/2020

**Pesquisadores:**

**Equipe UFRGS:**

JULIO OTAVIO JARDIM BARCELLOS - coordenador desde 01/09/2017  
MARIA EUGÊNIA ANDRIGHETTO CANOZZI - pesquisador desde 01/09/2017  
IZABELA DE PAULA PEREIRA - Outra Função desde 01/09/2017  
Odilene de Souza Teixeira - Aluno de Doutorado desde 01/09/2017

**Comissão De Ética No Uso De Animais aprovou o mesmo, em reunião realizada em 28/08/2017 - SALA 330 DO ANEXO - PRÉDIO DA REITORIA DA UFRGS/CAMPUS CENTRO/UFRGS, em seus aspectos éticos e metodológicos, para a utilização de 40 terneiros raça brangus, sendo 20 fêmeas e 20 machos, originários da Estação Experimental Agronômica da UFRGS; de acordo com os preceitos das Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08 de novembro de 2008, o Decreto 6899 de 15 de julho de 2009, e as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), que disciplinam a produção, manutenção e/ou utilização de animais do filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) em atividade de ensino ou pesquisa.**

Porto Alegre, Sexta-Feira, 8 de Setembro de 2017

MARCELO MELLER ALIEVI  
Coordenador da comissão de ética

## 6. VITA

Odilene de Souza Teixeira é brasileira, nascida em Caçapava do Sul (RS), no dia 19 de julho de 1991, filha de Maria Ervandina de Souza Ribeiro e Pedro Odilon Teixeira. Em Caçapava do Sul cursou o ensino fundamental na Escola Estadual de Ensino Fundamental Cônego Ortiz (1998-2005) e o ensino médio na Escola Estadual de Ensino Médio Nossa Senhora da Assunção (2006-2008).

Em 2009 ingressou no curso de Bacharelado em Zootecnia na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). No ano de 2013 concluiu a graduação em Zootecnia e ingressou no Programa Especial de Graduação de Professores para a Educação Profissional na UFSM, conferindo o grau de Licenciatura Plena em Zootecnia. Entre 2014 e 2016 cursou o mestrado em Zootecnia na UFSM, na área de concentração de Produção Animal, sob orientação do Prof. Dr. Ivan Luiz Brondani, sendo bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Em 2016 ingressou no curso de doutorado em Zootecnia no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, vinculado à Faculdade de Agronomia da UFRGS, sob orientação do Prof. Dr. Júlio Otávio Jardim Barcellos com bolsa concedida pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Seu projeto de pesquisa foi aprovado e financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do RS (FAPERGS) e pelo CNPq.