

Desenvolvimento do trato digestivo de bezerros leiteiros criados em sistema de aleitamento fracionado¹

Rafael A. Azevedo^{2*}, Leonardo Araújo², Douglas V.L. Duarte², Maiara S. Cruz³, Suely F. Costa³, Neide J.F. Oliveira², Eduardo R. Duarte² e Luciana C. Geraseev²

ABSTRACT- Azevedo R.A., Araújo L., Duarte D.V.L., Cruz M.S., Costa S.F., Oliveira N.J.F., Duarte E.R. & Geraseev L.C. 2013. [**Development of the digestive tract of dairy calves reared in a fractionated nursing system.**] Desenvolvimento do trato digestivo de bezerros leiteiros criados em sistema de aleitamento fracionado. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 33(7):931-936. Departamento de Zootecnia, Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, Avenida Universitária 1000, Montes Claros, MG 39404-547, Brazil. E-mail: rafaelzooufmg@gmail.com

To evaluate the effect of the fractionated nursing system in rumen development were used 12 Holstein calves, with an initial body weight average of 37.0 kg, individually maintained in holding pens. Conventional treatment was made with four liters of milk daily, during 60 days and fractionated nursing was composed by six liters from the 6th until 25th day, four liters of 26 to 45 and two liters from 46 to 59 days of life. Besides that liquid diet, *Cynodon* sp. hay, water and mineral supplement were freely offered. Food consumption was monitored daily. The animals were weighted weekly at morning, after the delivery of liquid diet. At 60 days, the calves were euthanized and the digestive system was weighted and rumen papillae were microscopically measured. The nursing system did not interfere significantly in concentrate, hay and total dry matter intake. In contrast, fractionated nursing resulted in higher body weight at 60 days and significant increase in absolute weight of digestive tract, rumen-reticulum, omasum and intestines, so as relative weight of omasum, intestines and mitotic index of ruminal papillae. The fractionated nursing system may be a feeding alternative to improve the rumen development and of calves.

INDEX TERMS: Fractionated nursing system, cattle, digestive tract, mitotic index, omasum, papillae, rumen.

RESUMO.- Para avaliar o efeito do sistema de aleitamento fracionado no desenvolvimento ruminal de bezerros leiteiros holandeses, foram utilizados 12 animais, com peso corporal inicial médio de 37,0 kg, alojados individualmente em baias. O tratamento convencional constituiu-se de quatro litros de leite diários durante 60 dias e o fracionado, de seis litros do 6^o ao 25^o dia; quatro litros dos dias 26 a 45 e dois litros de 46 a 59 dias de vida, além de concentrado, feno de *Cynodon* sp., água e suplemento mineral, oferecidos livremente. O consumo dos alimentos foi monitorado diariamente e os animais, pesados semanalmente, após o

fornecimento da dieta líquida, pela manhã. Aos 60 dias de vida, os animais foram abatidos e realizaram-se pesagens do trato digestivo e medidas histológicas das papilas ruminiais. O sistema de aleitamento não interferiu significativamente no consumo de concentrado, de feno, de matéria seca total e no peso corporal final vazio. O aleitamento fracionado resultou em maior peso corporal final, pesos absolutos do trato digestivo, do ruminorretículo, do omaso e dos intestinos, de pesos relativos do omaso e dos intestinos e maior índice mitótico das papilas ruminiais. O sistema de aleitamento fracionado pode ser alternativa para melhorar o desenvolvimento ruminal e o desempenho de bezerros.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Aleitamento fracionado, bovinos, índice mitótico, leite, omaso, papilas, rúmen, trato digestivo.

INTRODUÇÃO

Ao nascerem, os bezerros apresentam características anatômicas e fisiológicas que não os caracterizam como rumi-

¹ Recebido em 18 de setembro de 2012.

Aceito para publicação em 22 de abril de 2013.

² Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Avenida Universitária 1000, Montes Claros, MG 39404-547, Brasil. *Autor para correspondência: rafaelzooufmg@gmail.com

³ Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Cx. Postal 3037, Lavras, MG 37200-000, Brasil.

nantes propriamente ditos, sendo o leite integral a principal fonte de nutrientes para esses animais nas primeiras semanas de vida, pois o consumo de alimentos sólidos na fase inicial é insignificante (Jasper & Weark 2002).

Durante o aleitamento ocorre o desenvolvimento funcional dos compartimentos do trato digestivo (Mancio et al. 2005) e as maiores mudanças acontecem no ruminoretículo, o qual será colonizado por microrganismos e desenvolverá sua musculatura e mucosa (Nussio et al. 2003). Segundo Lucci (1989), o plano nutricional adotado influencia a velocidade de desenvolvimento dos compartimentos estomacais.

O aleitamento convencional, adotado em grande parte das propriedades leiteiras nacionais consiste na restrição constante da quantidade de leite diária fornecida aos animais em 10% do seu peso corporal ao nascimento, durante 60 dias. De acordo com Van Amburgh & Drackley (2005), as práticas convencionais de aleitamento geralmente não atendem às exigências nutricionais de bezerros leiteiros para o crescimento e desenvolvimento.

Adotar o aleitamento acelerado inicialmente, com restrições gradativas até a desmama, pode permitir que os bezerros se alimentem com quantidades de leite mais próximas das condições em que os bezerros teriam acesso *ad libitum* ao leite (Stamey et al. 2005). O aleitamento em volumes crescentes nas primeiras semanas de vida, seguido pela redução gradual até o desaleitamento vem sendo indicado, pois o fornecimento de grande quantidade de leite, durante todo o período, resulta em menor consumo de concentrado nas fases iniciais, tendo, como consequência, menor desenvolvimento do rúmen ao desaleitamento (Davis & Drackley 1998).

Ao fracionar a dieta fornece-se maior quantidade de leite nas primeiras semanas de vida e este volume é reduzido progressivamente, sendo esperado aumento linear do consumo de sólidos, proporcionalmente à diminuição gradual na ingestão líquida, influenciando o desenvolvimento do trato digestivo dos animais, pois a nutrição pode modificar as taxas de desenvolvimento e a estrutura do trato gastrointestinal (Velayudhan et al. 2008).

Objetivou-se avaliar o consumo, o desempenho e o desenvolvimento do trato digestivo de bezerros leiteiros da raça Holandesa, aos 60 dias de vida, criados em sistema de aleitamento convencional e fracionado.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no setor de Nutrição de Ruminantes do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais (ICA/UFMG), Montes Claros, Minas Gerais, Brasil, e as análises histológicas foram realizadas no Laboratório de Histologia da Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brasil. O experimento foi previamente aprovado pelo comitê local de ética em experimentação animal CETEA (Protocolo 39/2009).

Foram utilizados 12 bezerros da raça Holandesa, com peso inicial médio de 37,04 kg ($\pm 4,21$). Os animais foram alojados em baias individuais (1,20m de largura, 2m de comprimento e 1,30m de altura) com pisos cobertos por areia, equipadas com baldes para fornecimento de água, concentrado, feno e suplemento mineral. Foram avaliados o desenvolvimento corporal e o consumo

de alimentos, do 6º ao 59º dias de idade, totalizando 54 dias de avaliação, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, com dois tratamentos, convencional e fracionado, e seis repetições.

Após o nascimento os bezerros permaneceram com suas mães por 24 horas para ingerirem colostro *ad libitum*. Em seguida foram alojados no galpão experimental, onde foram identificados com brincos. No segundo dia de vida, os animais foram alimentados com dois litros de colostro de suas mães, fornecidos em mamadeiras de plástico. A adaptação dos animais às suas respectivas dietas ocorreu do terceiro ao quinto dia de vida.

Os tratamentos foram compostos por aleitamento convencional, com quatro litros de leite diários, e fracionado, respectivamente com seis, quatro e dois litros de leite diários do 6º ao 25º, do 26º ao 45º e do 46º ao 59º dias de vida. Forneceram-se ambos os tratamentos em duas refeições, de quantidades equivalentes a 50% do total, às 8 h e às 16 h, em mamadeiras com capacidade para dois litros. A água foi retirada 30 minutos antes do fornecimento do leite.

Pela manhã foi trocada a água e à tarde foram trocados o concentrado peletizado e o feno de tifton (*Cynodon spp.*), oferecidos *ad libitum*, em bacias plásticas, cuja quantidade foi ajustada para manter sobras em 20% do oferecido. O suplemento mineral foi fornecido *ad libitum* durante o experimento.

O leite integral utilizado nos tratamentos foi proveniente de vacas holandesas, em diferentes períodos de lactação, apresentando média constitucional de 3% ($\pm 0,23$) de proteína bruta, 4,7% ($\pm 0,32$) de gordura e 12% ($\pm 1,20$) de sólidos totais.

A análise bromatológica (Quadro 1) das amostras do concentrado e do feno foram realizadas de acordo com Silva & Queiroz (2002). As sobras de concentrado, de leite e de feno foram retiradas e pesadas diariamente, para determinação do consumo diário e consumo total de matéria seca.

Com 59 dias de idade os animais foram pesados individualmente para obtenção do peso corporal final (PCF). Ao completarem 60 dias de idade, os animais foram pesados novamente, individualmente, após jejum alimentício de 16 h, com livre acesso a água, para a obtenção do peso corporal final após o jejum (PCFJ). Para eutanásia administrou-se medicação pré-anestésica (Cloridrato de xilazina a 2%, Roumpun® - 1,5mg/kg de peso corporal) e anestésica geral (Pentorabital sódico Tiopental®, 10mg/kg de peso corporal), seguida por sangria da jugular.

Imediatamente, procedeu-se à ligadura da porção caudal do esfago próximo ao cárdia, na extremidade cranial do duodeno, caudalmente ao piloro, da transição retículo-omasal e da transição omaso-abomasal. Posteriormente, o trato gastrointestinal cheio foi removido e pesado, e posteriormente esvaziado e lavado, sendo novamente pesado.

Deduzindo-se o peso do trato digestivo cheio do seu peso vazio, obtinha-se o peso do conteúdo do trato gastrointestinal, que, subtraindo-se do PCFJ, além do conteúdo presente na vesícula bi-

Quadro 1. Composição bromatológica do concentrado peletizado e do feno utilizados no arraçamento de bezerros submetidos a diferentes sistemas de aleitamento

Parâmetro	Concentrado ^{a,b}	Feno de <i>Cynodon sp.</i> ^b
Matéria seca (% da matéria natural)	87,00	93,00
Matéria mineral (% da MS)	6,95	5,35
Proteína bruta (% da MS)	19,00	12,10
Extrato etéreo (% da MS)	3,00	1,85

^a Concentrado comercial peletizado, TECNUTRI BEZERRO ELITE, Empresa Tecnutri®, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil. ^b Análises realizadas no laboratório de Bromatologia do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais.

liar e na bexiga, obteve-se o peso corporal vazio (PCVZ) de cada animal.

Os pesos do ruminorretículo, omaso, abomaso, intestino delgado e intestino grosso foram avaliados de forma absoluta e relativo ao peso corporal final vazio (% PCVZ). Os pré-estômagos e o abomaso também foram expressos em porcentagem ao estômago inteiro.

Para a histologia, amostras de aproximadamente três cm² da parede do recesso do rúmen foram fixadas previamente em formalina a 10%, desidratadas em série crescentes de álcool etílico, diafanizados em xilol, infiltradas e incluídas em parafina histológica. Os blocos de parafina foram seccionados em micrótomo manual Olympus CUT 4055, obtendo-se secções de 5µm. Para análise morfológica da altura e área das papilas ruminais e determinação do índice mitótico das células da camada basal do epitélio do rúmen, usou-se a coloração Hematoxilina-Eosina, segundo Luna (1968). Para mensurar as áreas de epitélio total e de queratina, os cortes foram corados com Tricrômico de Masson (Luna 1968).

Para a captura das imagens empregou-se microscópio Olympus CX31, acoplado a câmera fotográfica Olympus OSIS SC30, com o auxílio do software Cell-B (Olympus). As imagens foram analisadas e mensuradas pelo software AxioVision 4.8.2 - 06/2010, da marca Carl Zeiss Imagens Systems.

Para determinar o índice mitótico, utilizou-se microscópio de luz (Olympus), em aumento de 400X, sendo contadas aproximadamente 2000 células da camada basal do epitélio, incluindo aquelas com núcleo apresentando figuras mitóticas. Calculou-se o índice pelo quociente entre o número de núcleos em divisão e o número de núcleos total contado.

Os dados foram submetidos à análise de variância e a teste de comparação de médias. Os efeitos dos diferentes tratamentos sobre cada variável foram comparados pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, com auxílio do programa SAS (SAS Institute, 2002) pelo procedimento GLM, segundo o modelo estatístico: $Y_{ij} = \mu + OP + T_j + E_{ij}$, em que Y_{ij} é a variável dependente; OP é o efeito da covariável peso corporal inicial; T_j é o efeito do j-ésimo tratamento; sendo 1 o sistema convencional e 2 o sistema fracionado; E_{ij} é o efeito aleatório relativo ao i-ésimo bezerro, do j-ésimo tratamento; e i refere-se a 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12 bezerros (unidade experimental).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O sistema de aleitamento não interferiu no consumo médio de concentrado, feno, matéria seca total e no peso corporal final vazio, diferentemente ao observado para o consumo de matéria seca de leite e para o peso corporal final (Quadro 2).

Quadro 2. Médias de consumo de concentrado (CC), consumo de feno (CF), consumo de matéria seca do leite (CMSL), consumo de matéria seca total (CMST), peso corporal final (PCF) e peso corporal final vazio (PCVZ) de bezerros holandeses criados em diferentes sistemas de aleitamento artificial até 60 dias de idade

Parâmetros	Convencional	Fracionado	E.P.M. ^a	P
CC (g/dia)	554,5	639,5	43,35	0,35
CF (g/dia)	82,0	115,0	12,99	0,22
CMSL (g/dia)	26,0	27,3	0,22	0,01
CMST (g/dia)	662,5	782,0	50,96	0,26
PCF (Kg)	79,5	84,0	2,50	0,08
PCVZ (Kg)	71,0	75,0	2,08	0,29

^aE.P.M. = Erro padrão da média. As médias de PCF e PCVZ foram ajustadas para a covariável peso ao nascimento ($p \leq 0,05$).

O consumo de alimentos sólidos, especificamente de concentrado, possui relação direta com o desenvolvimento do rúmen, sendo utilizado como critério para o desaleitamento de bezerros (Bittar et al. 2009). Kristensen et al. (2007), embora sem grandes mudanças no desenvolvimento ruminal, observaram que bezerros, até cinco semanas de idade, alimentados com quatro quantidades diferentes de sucedâneos (3,1; 4,8; 6,6 e 8,3 litros por dia) e com concentrado à vontade, apresentaram maiores consumos de concentrado nos tratamentos com menor ingestão de sucedâneo. Silper (2012) também verificou que bezerros holandeses alimentados com 6 litros de leite até 29 dias e 4 litros de leite dos 30 aos 60 dias apresentaram consumo de concentrado similar aos tratamentos com quantidades fixas de leite durante todo o período experimental. Entretanto, no presente experimento, não ocorreu diferença entre o consumo de concentrado de acordo com os tratamentos, sendo observada média de 597,0 g/dia para ambos os tratamentos.

O consumo de feno (Quadro 2) foi semelhante afetado entre os tratamentos e apresentou médias inferiores ao consumo de concentrado, fato esperado para esta fase da vida dos animais. O consumo médio total de matéria seca similar entre os tratamentos justifica-se pelos consumos similares de concentrado e de feno entre os tratamentos. Mesmo sendo verificado maior consumo de matéria seca advinda do leite pelos animais no tratamento fracionado, o mesmo não foi capaz de proporcionar aumento significativo no consumo total de matéria seca pelos animais.

O peso corporal final ao desaleitamento apresentou tendência de superioridade para os animais tratados de forma fracionada, com superioridade de 7,0% quando comparados aos bezerros mantidos no sistema convencional (Quadro 2).

O peso de bezerros aos 60 dias de vida deve corresponder ao dobro do peso ao nascimento (Soberon et al. 2012). No presente trabalho essa meta foi atingida em ambos os grupos, sendo verificados valores superiores ao dobro do peso inicial em 6,0 e 9,5 kg, respectivamente para o aleitamento convencional e fracionado.

Os PCF encontrados são superiores aos verificados por Silper (2012), 52,2; 55,8 e 60,2 kg, respectivamente com volumes diários de sucedâneo de quatro litros por 60 dias; seis litros nos primeiros 30 dias e quatro de 31 a 60 dias e seis litros por 60 dias.

Apesar da tendência de diferença no peso final dos animais, o peso corporal final vazio foi similar entre os tratamentos, podendo ser relacionado ao maior enchimento do trato gastrointestinal nos bezerros alimentados no sistema fracionado (Quadro 3) e a menor ingestão de leite no período final do experimento.

Normalmente, em animais alimentados com maiores quantidades de leite nas semanas iniciais de vida, a ingestão de concentrado é inferior se comparada com a de bezerros mantidos em sistemas convencionais. Entretanto, o consumo aumenta quando o volume de leite fornecido é reduzido ou cessado (Stamey et al. 2005, Hill et al. 2006, 2007), sendo essa relação inversa entre o leite e o consumo de ração sólida (Khan et al. 2007, Terré et al. 2007, Raeth-Knight et al. 2009).

Quadro 3. Médias de peso absoluto (g) e relativos, em % do peso corporal vazio (PCVZ), dos compartimentos do trato digestivo e peso do conteúdo gastrointestinal de bezerros holandeses mantidos em diferentes sistemas de aleitamento artificial até os 60 dias de idade

Parâmetro	Convencional	Fracionado	E.P.M. ^a	P
Trato digestivo (g)	4360,5	5210,5	182,35	0,01
Trato digestivo (% PCVZ)	6,0	7,0	0,17	0,16
Ruminorretículo (g)	1124,0	1393,0	67,65	0,04
Ruminorretículo (% PCVZ)	1,6	1,8	0,06	0,10
Omaso (g)	246,0	351,0	23,74	0,02
Omaso (% PCVZ)	0,3	0,4	0,02	0,03
Abomaso (g)	348,5	375,6	16,88	0,45
Abomaso (% PCVZ)	0,5	0,5	0,02	0,63
Intestino delgado (g)	1969,0	2264,5	85,64	0,08
Intestino delgado (% PCVZ)	2,8	1,1	0,28	0,01
Intestino grosso (g)	671,5	825,5	31,89	0,01
Intestino grosso (% PCVZ)	0,9	1,1	0,04	0,02
Conteúdo gastrointestinal (g)	5508,0	7496,0	554,61	0,02

^aE.P.M. = Erro padrão da média. As médias de Intestino grosso (%PCVZ) e do Conteúdo Gastrointestinal foram ajustadas para a covariável peso ao nascimento ($p \leq 0,05$).

Os pesos absolutos do trato digestivo, ruminorretículo, omaso e dos intestinos foram influenciados pelo sistema de aleitamento, sendo verificadas médias superiores nos bezerros do sistema de aleitamento fracionado (Quadro 3).

Como observado para a tendência de aumento do peso corporal final (Quadro 2), os resultados obtidos para os pesos absolutos podem ser justificados, provavelmente, pelo aumento no consumo de alimentos sólidos no último fracionamento da dieta, pois nesse momento os bezerros receberam somente dois litros de leite ao dia, comparados aos quatro litros diários do tratamento convencional.

A quantidade de digesta foi superior nos animais do sistema fracionado, comprovando o maior consumo desses durante o último período de aleitamento, sendo uma alternativa dos animais, visando complementar as exigências nutricionais pelo aumento no consumo da dieta sólida.

Os bezerros foram alojados em cama de areia para minimizar ingestão de material potencialmente fermentável, porém, quantidades variáveis da mesma foram encontradas no trato digestivo de alguns animais. Bartlett et al. (2006), também verificaram ingestão voluntária em bovinos jovens criados com esse tipo de cama.

As variáveis expressas como porcentagem do peso corporal vazio dos animais não demonstraram diferenças estatísticas entre os sistemas de aleitamento, com exceção do omaso e dos intestinos. Esses dados corroboram, em partes, ao encontrado por Khan et al. (2007), os quais relataram que bezerros aleitados com redução gradual de sucedâneos lácteos apresentaram o trato digestivo metabolicamente mais ativo e mais pesado, comparados àqueles alimentados convencionalmente.

Diferenças entre os pesos dos compartimentos do trato digestivo dos ruminantes geralmente refletem as variações observadas no consumo alimentar e no padrão fermentativo (Nussio et al. 2003). Segundo Baldwin et al. (2004), o desenvolvimento do rúmen associa-se ao consumo de dieta sólida e à produção de ácidos graxos voláteis (AGV) de cadeia curta. A similaridade para a maioria dos pesos

percentuais dos compartimentos entre os dois tratamentos relaciona-se aos resultados semelhantes nos consumos de matéria seca total (Quadro 2).

Silper (2012) não verificou efeito da estratégia de aleitamento sobre o peso do ruminorretículo e do omaso vazios, sendo justificados, pela ausência de diferença na ingestão de concentrado entre os tratamentos.

Bezerros alimentados com concentrado à base de cevada e diferentes quantidades diárias de leite, 3,1 *versus* 8,3 litros, apresentaram diferenças no trato digestivo (em % do PCVZ). Independentemente do subsídio de leite, o ambiente ruminal caracterizou-se por pH baixo e concentrações de AGV elevadas, e o maior peso do trato digestivo ocorreu nos animais alimentados com menores quantidades de leite, associando-se ao maior consumo de alimentos sólidos (Kristensen et al. 2007).

Apesar das similaridades de consumos médios de concentrado, feno e matéria seca total (Quadro 2), observou-se no tratamento fracionado maior peso absoluto e percentual do omaso e dos intestinos. Possivelmente, a redução da quantidade de leite fornecida a esses animais nos 14 dias finais do experimento pode ter forçado o maior consumo de alimentos sólidos, aumentando o fluxo de partículas para o omaso e intestinos, justificando-se assim, os seus maiores tamanhos.

Segundo Beharka et al. (1998), o peso omasal pode ser diretamente proporcional ao aumento do fluxo de partículas ruminais, estimulando o desenvolvimento desse órgão. De acordo com Costa et al. (2008), infusões intra ruminais de propionato e butirato induziram aumento na massa do omaso em bezerros alimentados com dieta exclusivamente líquida, demonstrando que animais que consomem maiores quantidades de alimentos sólidos, possivelmente, terão maiores estímulos para o desenvolvimento do mesmo.

O omaso já foi considerado insignificante na fermentação microbiana (Nickel et al. 1981). Entretanto, Daniel et al. (2006) indicaram sua maior importância, pois a relação da superfície com a digesta tende a ser maior no mesmo em comparação ao ruminorretículo, possuindo área superficial 83,3% superior por unidade de digesta, mantendo-o como órgão relevante na absorção de AGV. Além disso, Daniel & Resende Júnior (2012), trabalhando *in vitro* com a mucosa de rúmen e omaso, encontraram taxa fracional de absorção no omaso 11 vezes maior do que no rúmen, por unidade de área.

As diferentes proporções dos compartimentos do estômago dos bezerros não foram influenciadas pelos sistemas de aleitamento, com exceção do omaso. Presume-se que a similaridade no consumo de concentrado e de feno exerceram efeitos semelhantes no crescimento do ruminorretículo, entretanto, a tendência de maior porcentagem para o omaso dos animais em sistema fracionado, demonstra, que com a redução de leite no período final de avaliação proporcionou aos os animais, possivelmente, estímulo para ingerirem maiores quantidade de dieta sólida nessa fase, como forma de atendimento das exigências nutricionais (Quadro 2).

Com o avanço da idade e do consumo de alimento sólido, o rúmen começa a se desenvolver e as proporções dos

quatro compartimentos gástricos em relação ao trato total sofrem mudanças (Nussio et al., 2003). Entretanto, as taxas de crescimento são diferenciadas entre os compartimentos, ocorre aceleração do crescimento ruminal e retração abomasal, sendo que em bezerros desaleitados precocemente a inversão nas proporções desses compartimentos estomacais ocorre antes dos 50 dias (Carvalho et al. 2003).

Resultados convergentes foram descritos por Silper (2012). O mesmo autor verificou diferença na proporção de cada estômago nas três idades avaliadas, sendo observado que aos 30, 60 e 90 dias o ruminorretículo corresponde à maior parte.

As médias obtidas aos 60 dias foram 66% para o ruminorretículo, 15% para o omaso e 19% para o abomaso. A maior proporção de abomaso em relação ao omaso relaciona-se ao fato dos animais ainda estarem sendo alimentados com leite até os 59 dias de vida, em sistema de desaleitamento abrupto, sendo esperado que no pós desmame essa proporção seja alterada.

Davis & Drackley (1998) relataram que a proporção do ruminorretículo, omaso e abomaso, em bezerros de 12-16 semanas de idade, são de 67, 18 e 15%, respectivamente, valores semelhantes aos de animais adultos. Segundo Church (1976), às oito semanas de vida, o retículo-rúmen de bezerros é responsável por 60%, o omaso por 13% e abomaso por 27%, apresentando proporções mais próximas ao observado no presente trabalho (Quadro 4).

A altura das papilas ruminais, área das papilas ruminais, área de epitélio ruminal total e a área de queratina do epitélio das papilas não foram influenciadas pelo sistema de aleitamento. Porém o índice mitótico das células da camada basal do epitélio ruminal foi maior em animais criados no sistema de aleitamento fracionado (Quadro 5).

O desenvolvimento adequado de papilas é resultante da ação de produtos de fermentação ruminal e estímulo físico causado pelo alimento consumido (Bittar et al. 2009).

Quadro 4. Médias de peso relativo, em % do estômago inteiro, de bezerros holandeses mantidos em diferentes sistemas de aleitamento artificial até 60 dias de idade

Parâmetro	Convencional	Fracionado	E.P.M. ^a	P
Ruminorretículo (%)	65,0	65,5	0,89	0,80
Omaso (%)	14,0	16,5	0,66	0,07
Abomaso (%)	20,5	17,5	0,85	0,10

^a E.P.M. = Erro padrão da média.

Quadro 5. Médias de altura das papilas ruminais, área das papilas ruminais, área de epitélio ruminal total, área de queratina do epitélio das papilas e índice mitótico das células da camada basal do epitélio ruminal de bezerros holandeses mantidos em diferentes sistemas de aleitamento artificial até 60 dias de idade

Parâmetro	Convencional	Fracionado	E.P.M. ^a	P
Altura das papilas ruminais (µm)	24,0	27,0	2,78	0,56
Área das papilas ruminais (µm ²)	172,0	210,0	21,77	0,41
Área de epitélio ruminal (µm ²)	173,5	158,0	19,68	0,72
Área de queratina papilar, ruminal (µm ²)	43,0	44,0	4,68	0,91
Índice mitótico (%)	0,5	0,9	0,74	0,01

^a E.P.M. = Erro padrão da média.

Segundo Quigley (1996), esse desenvolvimento depende, principalmente, da presença de alimentos sólidos no rúmen e da produção de AGV de cadeia curta provenientes da fermentação.

No presente trabalho, o tamanho e a área das papilas ruminais foram similares entre os sistemas de aleitamento, novamente associando-se ao consumo de alimentos sólidos semelhante entre os grupos (Quadro 2). Roth et al. (2009) relataram que o comprimento de papilas do rúmen não sofreu interferência pela quantidade de leite fornecida ou variação no consumo de alimento sólido em bezerros.

Diferentemente, Khan et al. (2007), observaram consumo de alimentos sólidos superior desde a redução na quantidade de leite oferecido, resultando em maior desenvolvimento ruminal, sendo verificados maior peso e espessura da parede do rúmen. Os mesmos autores relataram maior comprimento e largura de papilas, além da concentração dessas por área no rúmen em bezerros alimentados com maior quantidade de leite, sendo justificado pelo maior consumo de concentrado no grupo de aleitamento fracionado.

Era esperado que a área de epitélio ruminal aumentasse em espessura para o grupo com animais aleitados de forma fracionada, bem como a área de queratina ruminal, pois, conforme Silper (2012), o aumento do epitélio é coerente com o índice mitótico superior e com o desenvolvimento do epitélio ruminal. Entretanto, a similaridade de consumo de matéria seca total entre os tratamentos pode não ter permitido a diferença para essas variáveis.

Pode ser observada diferença no índice mitótico entre as estratégias de aleitamento e bezerros que receberam leite fracionado apresentaram maiores índices se comparados aos animais aleitados convencionalmente (Quadro 5) indicando maior atividade proliferativa do epitélio ruminal (Costa et al. 2008). Esse aumento pode relacionar-se com a redução da quantidade de leite fornecida no último período experimental para os animais no sistema fracionado, os quais, possivelmente, passaram a ingerir maior quantidade de alimentos sólidos para suprir o déficit de exigências nutricionais, e assim, possivelmente, produziram mais AGV e apresentaram multiplicação celular superior, como relatado por Silper (2012).

No trabalho de Silper (2012) o índice mitótico diferiu entre as estratégias de aleitamento, e assim, bezerros alimentados com maiores quantidade de sucedâneo, apresentaram índices mitóticos superiores aos animais do grupo convencional, indicando a maior proliferação do epitélio ruminal pela presença de AGV no rúmen. Segundo esse autor, provavelmente, o propionato no sistema fracionado, ou ainda o aumento da insulina no aleitamento realizado com maior volume de leite, tenha influenciado o desenvolvimento do epitélio ruminal.

O índice mitótico inferior no grupo convencional pode, possivelmente, em consequência do menor consumo de concentrado nos últimos dias, ser associado à constância de leite fornecido durante todo o experimento.

Substâncias intrínsecas e extrínsecas podem influenciar a proliferação e a diferenciação epitelial, como os hormônios da tireoide, hidrocortisona, insulina e prolactina;

os fatores de crescimento epidérmico e de transformação do crescimento; micronutrientes, vitamina D₃ e ácido retinóico (Staiano-Coico et al. 1990, Pollitt 1996, Suter et al. 1997, Silper 2012). Entretanto, esses parâmetros não fizeram parte do objetivo desse estudo.

CONCLUSÃO

O sistema de aleitamento fracionado constituiu alternativa plausível para o aleitamento de bezerros holandeses até os 60 dias de idade, pois acarretou maior peso corporal final; maior massa absoluta do trato digestivo total, do ruminorretículo, do omaso e dos intestinos; maior peso relativo do omaso e dos intestinos e maior índice mitótico ruminal.

Agradecimentos.- À empresa TECNUTRI pelo patrocínio, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento da Pesquisa (CNPq) e à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro e pelas bolsas de iniciação científica e de pós-graduação.

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 post-weaning ruminant. *J. Dairy Sci.* 87(E. Suppl.):E55-E65.
- Bartlett K.S., McKeith F.K., VandeHaar M.J., Dahl G.E. & Drackley J.K. 2006. Growth and body composition of dairy calves fed milk replacers containing different amounts of protein at two feeding rates. *J. Anim. Sci.* 84:1454-1467.
- Beharka A.A., Nagaraja T.G., Morrill J.L., Kennedy G.A. & Klemm R.D. 1998. Effects of form of the diet on anatomical, microbial, and fermentative development of the rumen of neonatal calves. *J. Dairy Sci.* 81:1946-1955.
- Bittar C.M.M., Ferreira L.S., Santos F.A.P. & Zopollato M. 2009. Desempenho e desenvolvimento do trato digestório superior de bezerros leiteiros alimentados com concentrado de diferentes formas físicas. *R. Bras. Zootec.* 38:1561-1567.
- Church D.C. 1976. Anatomy of the stomach of ruminants and pseudoruminants, p.7-33. In: Church D.C. (Ed.), *Digestive Physiology and Nutrition of Ruminants*. Metropolitan Printing, O.U.S. Bookstores, Oregon.
- Carvalho P.A., Sanchez L.M.B. & Viégas J. 2003. Desenvolvimento de estômago de bezerros holandeses desaleitados precocemente. *R. Bras. Zootec.* 32:1461-1468.
- Costa S.F., Pereira M.N., Melo L.Q., Caliani M.V. & Chaves M.L. 2008. Alterações morfológicas induzidas por butirato, propionato e lactato sobre a mucosa ruminal e a epiderme de bezerros. I. Aspectos histológicos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 60:1-9.
- Daniel J.L.P. & Resende Júnior J.C. 2012. Absorção e metabolismo de ácidos graxos voláteis pelo rúmen e omaso. *Ciênc. Agrotec.* 36:93-99.
- Daniel J.L.P., Resende Júnior J.C. & Cruz F.J. 2006. Participação do ruminorretículo e omaso na superfície absorptiva total do proventrículo de bovinos. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 43:688-694.
- Davis C.L. & Drackley J.K. 1998. *The Development, Nutrition, and Management of Young Calf*. Iowa State University Press, Ames. 339p.
- Hill T.M., Aldrich J.M., Schlotterbeck R.L. & Bateman II H.G. 2006. Effects of feeding rate and concentrations of protein and fat of milk replacers fed to neonatal calves. *Prof. Anim. Sci.* 22:374-381.
- Hill T.M., Aldrich J.M., Schlotterbeck R.L. & Bateman II H.G. 2007. Effects of changing the fat and fatty acid composition of milk replacers fed to neonatal calves. *Prof. Anim. Sci.* 23:135-143.
- Kristensen N.B., Sehested J. & Jensen S.K. 2007. Effect of milk allowance on concentrate intake, ruminal environment, and ruminal development in milk-fed Holstein calves. *J. Dairy Sci.* 90:4346-4355.
- Jasper J. & Weary D.M. 2002. Effects of *ad libitum* intake on dairy calves. *J. Dairy Sci.* 85:3054-3058.
- Khan M.A., Lee H.J., Lee W.S., Kim H.S., Hur T.Y., Suh G.H., Kang S.J. & Choi Y.J. 2007. Structural growth, rumen development, and metabolic and immune responses of Holstein male calves fed milk through step-down and conventional methods. *J. Dairy Sci.* 90:3376-3387.
- Lucci C.S. 1989. *Bovinos Leiteiros Jovens*. Nobel, São Paulo. 296p.
- Luna L.G. 1968. *Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. 3rd ed. McGraw Hills Book, New York. 258p.
- Mancio A.B., Tonissi R.H., Goes B., Castro A.L.M., Cecon P.R. & Silva A.T.S. 2005. Características de Carcaças de Bezerros de Rebanhos Leiteiros Desmamados Precocemente e Alimentados com Diferentes Dietas Líquidas. *R. Bras. Zootec.* 34:1297-1304.
- Nickel R., Schummer A. & Seiferle E. 1981. *The Anatomy of the Domestic Animals*. Paul Parey, Berlin. 499p.
- Nussio C.M.B., Santos F.A.P., Zopollato M., Pires A.V., Morais J.B. & Fernandes J.J.R. 2003. Parâmetros de fermentação e medidas morfométricas dos compartimentos ruminais de bezerros leiteiros suplementados com milho processado (Floculado vs. Laminado a vapor) e monensina. *R. Bras. Zootec.* 32:1021-1031.
- Pollitt C.C. 1996. Basement membrane pathology: a feature of acute equine laminitis. *Equine Vet. J.* 28:38-46.
- Quigley J.D. 1996. Effects of lasalocid in milk replacer and calf starter on growth, intake, and fecal oocyst shedding in calves challenged with *Eimeria*. *J. Dairy Sci.* 79:154.
- Raeth-Knight M., Chester-Jones H., Hayes S., Linn J., Larson R., Ziegler B. & Broadwater N. 2009. Impact of conventional or intensive milk replacer programs on Holstein heifer performance through six months of age and during first lactation. *J. Dairy Sci.* 92:799-809.
- Roth B.A., Keil N.M., Gygas L. & Hillmann E. 2009. Influence of weaning method on health status and rumen development in Dairy calves. *J. Dairy Sci.* 92:645-656.
- SAS Institute 2002. *SAS User's Guide*. Version 9.0. SAS Institute, Cary.
- Silper B.F. 2012. Efeitos de três estratégias de aleitamento sobre ganho de peso, desenvolvimento ruminal e perfil metabólico e hormonal de bezerros Holandeses. Dissertação de Mestrado em Zootecnia, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG. 96p.
- Silva D.J. & Queiroz A.C. 2002. *Análise de Alimentos: métodos químicos e biológicos*. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 235p.
- Soberon F., Raffeano E., Everett R.W. & Van Amburgh M.E. 2012. Pre-weaning milk replacer intake and effects on long-term productivity of dairy calves. *J. Dairy Sci.* 95: 783-793.
- Staiano-Coico L., Khandke K., Krane J.F., Gottlieb B., Krueger J.G., Rigas B. & Higgins P.J. 1990. TGF-alpha and TGF-beta expression during sodium-N-butyrate-induced differentiation of human keratinocytes: evidence for subpopulations-specific up-regulation of TGF-beta mRNA in suprabasal cells. *Exp. Cell Res.* 191:286-291.
- Stamey J.A., Janovick Guretzky N.A. & Drackley J.K. 2005. Influence of starter protein content on growth of dairy calves in an enhanced early nutrition program. *J. Dairy Sci.* 88(Suppl.1):254. (Abstract)
- Suter M.M., Cramer F.M., Olivry T., Mueller E., Tschärner C.V. & Jensen P.J. 1997. Keratinocyte biology and pathology: Review article. *Vet. Dermatol.* 8(2):67-100.
- Terré M., Devant M. & Bach A. 2007. Effect of level of milk replacer fed to Holstein calves on performance during the preweaning period and starter digestibility at weaning. *Livest. Sci.* 110:82-88.
- Van Amburgh M. & Drackley J. 2005. Current perspectives on the energy and protein requirements of the pre-weaned calf, p.67-82. In: Garnsworthy P.C. (Ed.), *Calf and Heifer Rearing: principles of rearing the modern dairy heifer from calf to calving*. Nottingham University Press, Nottingham.
- Velayudhan B.T., Daniels K.M., Horrel D.P., Hill S.R., McGilliard M.L., Corl B.A., Jiang H. & Akers R.M. 2008. Developmental histology, segmental expression, and nutritional regulation of somatotropic axis genes in small intestine of preweaned dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 91:3343-3352.