

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA**

**Efeito do creep-feeding no estresse e imunidade ao desmame de bezerras  
Nelore em pastejo**

Rafaela Oliveira Lessa  
*Magister Scientiae*

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2025**

**RAFAELA OLIVEIRA LESSA**

**Efeito do creep-feeding no estresse e imunidade ao desmame de bezerras  
Nelore em pastejo**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientadora: Luciana Navajas Renno

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2025**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

L638e  
2025

Lessa, Rafaela Oliveira, 1997-  
Efeito do creep-feeding no estresse e imunidade ao  
desmame de bezerras Nelore em pastejo / Rafaela Oliveira  
Lessa. – Viçosa, MG, 2025.  
1 dissertação eletrônica (26 f.): il. (algumas color.).

Inclui apêndice.  
Orientador: Luciana Navajas Rennó.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,  
Departamento de Zootecnia, 2025.  
Referências bibliográficas: f. 19-21.  
DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2025.783>  
Modo de acesso: World Wide Web.

1. Bovinos de corte - Alimentação e rações. 2. Bezerros.  
3. Lactentes - Desmame. 4. Hemograma. 5. Hidrocortisona.  
I. Rennó, Luciana Navajas, 1973-. II. Universidade Federal de  
Viçosa. Departamento de Zootecnia. Programa de  
Pós-Graduação em Zootecnia. III. Título.

CDD 22. ed. 636.20852

**RAFAELA OLIVEIRA LESSA**

**Efeito do creep-feeding no estresse e imunidade ao desmame de bezerras  
Nelore em pastejo**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 25 de fevereiro de 2025.

Assentimento:

---

Rafaela Oliveira Lessa  
Autora

---

Luciana Navajas Renno  
Orientadora

Essa dissertação foi assinada digitalmente pela autora em 28/11/2025 às 08:22:40 e pela orientadora em 28/11/2025 às 15:31:58. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **DRHK.726B.FVQD** e clique no botão 'Validar documento'.

## **AGRADECIMENTOS**

Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes agências de pesquisa brasileiras: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Agradeço também ao INCT-CA pelo financiamento de parte desta pesquisa, e ao Departamento de Zootecnia por todo o apoio.

## RESUMO

LESSA, Rafaela Oliveira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2025. **Efeito do creep-feeding no estresse e imunidade ao desmame de bezerras Nelore em pastejo.** Orientadora: Luciana Navajas Renno.

O desmame é um evento estressante para bezerros de corte, envolvendo múltiplos fatores que impactam seu desempenho e bem-estar. A suplementação pode influenciar a resposta ao estresse nesse período, tornando-se uma estratégia relevante para minimizar seus efeitos negativos. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar a influência do creep-feeding no estresse e imunidade ao desmame de bezerras Nelore em pastejo. Foram conduzidos quatro experimentos em diferentes anos (2017, 2020, 2023 e 2024), realizados na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Bovinocultura de Corte, do Departamento de Zootecnia/UFV. Foram utilizadas 15 bezerras em 2017, 14 em 2020, 13 em 2023 e 19 em 2024, divididas aleatoriamente em suplementadas (CS) e não suplementadas (SS), sendo todas lactentes com idades e pesos médios iniciais de  $\pm 7,5$  meses e  $222 \pm 32$  kg, respectivamente, com suas mães. O período experimental compreendeu os períodos pré-desmame, desmame e pós-desmame. Considerando o desmame como o dia zero, as bezerras foram pesadas (sem jejum) nos dias -5 (pré-desmame), d 0 (5 horas após a separação), d 1, d 3, d 7, d 14 (pós-desmame) às 8h. Simultaneamente foram realizadas coletas de sangue. Foram quantificadas as concentrações de cortisol, ceruloplasmina, haptoglobina, glicose, proteínas totais, albumina, globulinas e as análises hematológicas de contagem de células vermelhas, hematócrito, concentração de hemoglobina e contagem de leucócitos, linfócitos (L), neutrófilos (N) e a relação N:L. Os dados foram analisados utilizando-se o SAS 9.4, adotando-se  $\alpha=0,05$  como nível crítico de probabilidade de ocorrência do erro tipo I. A suplementação pré-desmame e os dias relativos ao desmame afetaram o peso das bezerras ( $p<0,05$ ), de forma que as bezerras CS apresentaram maior peso em todos os dias avaliados. As concentrações de cortisol, ceruloplasmina, haptoglobina, glicose e albumina variaram ao longo do tempo ( $p<0,05$ ), mas sem efeito da suplementação ( $p>0,05$ ). Ocorreu interação suplementação e dias relativos ao desmame para globulinas e contagem de eritrócitos ( $p<0,05$ ). Entretanto, ao desdobrar a interação, não apresentou diferença significativa entre tratamentos. O hematócrito e a concentração de hemoglobina apresentaram interação entre suplementação e dias relativos ao desmame ( $p<0,05$ ), e a contagem de leucócitos, linfócitos, neutrófilos e a relação N/L foram afetadas pelos dias

relativos ao desmame ( $p < 0,05$ ), sem impacto da suplementação. O creep-feeding não minimiza a magnitude do estresse ao desmame, e o período de maior estresse é nos primeiros três dias pós-desmame, além disso, não influencia a imunidade das bezerras Nelore em pastejo.

Palavras-chave: bezerros de corte; cortisol; ganho de peso; hemograma; proteínas de fase aguda

## ABSTRACT

LESSA, Rafaela Oliveira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2025. **Effect of creep-feeding on stress and weaning immunity of Nelore calves on pasture.** Adviser: Luciana Navajas Renno.

Weaning is a stressful event for beef calves, involving multiple factors that affect their performance and welfare. Supplementation may influence the stress response during this period, becoming a relevant strategy to mitigate its negative effects. Thus, the objective of this study was to evaluate the influence of creep-feeding on stress and immunity at weaning in grazing Nelore heifers. Four experiments were conducted in different years (2017, 2020, 2023, and 2024) at the Teaching, Research, and Extension Unit for Beef Cattle of the Department of Animal Science/UFV. Fifteen heifers were used in 2017, 14 in 2020, 13 in 2023, and 19 in 2024, randomly assigned to supplemented (CS) or non-supplemented (SS) groups, all suckling calves with initial average age and body weight of  $\pm 7.5$  months and  $222 \pm 32$  kg, respectively, along with their dams. The experimental period comprised the pre-weaning, weaning, and post-weaning phases. Considering weaning as day zero, heifers were weighed (without fasting) on days -5 (pre-weaning), d 0 (5 hours after separation), d 1, d 3, d 7, and d 14 (post-weaning) at 8 a.m. Blood samples were collected simultaneously. Concentrations of cortisol, ceruloplasmin, haptoglobin, glucose, total proteins, albumin, and globulins were quantified, and hematological analyses of red blood cell count, hematocrit, hemoglobin concentration, and leukocyte, lymphocyte (L), neutrophil (N) counts, and N:L ratio were performed. Data were analyzed using SAS 9.4, adopting  $\alpha = 0.05$  as the critical probability level for type I error. Pre-weaning supplementation and days relative to weaning affected heifer body weight ( $p < 0.05$ ), with CS heifers showing greater weight on all evaluated days. Cortisol, ceruloplasmin, haptoglobin, glucose, and albumin concentrations varied over time ( $p < 0.05$ ), but were not affected by supplementation ( $p > 0.05$ ). A supplementation  $\times$  days relative to weaning interaction occurred for globulins and erythrocyte count ( $p < 0.05$ ). However, when unfolding the interaction, no significant differences were found between treatments. Hematocrit and hemoglobin concentration showed supplementation  $\times$  days relative to weaning interaction ( $p < 0.05$ ), and leukocyte, lymphocyte, neutrophil counts, and the N:L ratio were affected by days relative to weaning ( $p < 0.05$ ), with no effect of supplementation. Creep-feeding does not reduce the magnitude of weaning stress, and the period of greatest stress occurs within the first three days post-weaning. Furthermore, creep-feeding does not influence

the immunity of grazing Nelore heifers.

Keywords: beef calves; cortisol; weight gain; hematology; acute-phase proteins

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>9</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>10</b>
<i>Animais e período experimental .....</i>	<i>10</i>
<i>Coleta de amostras .....</i>	<i>11</i>
<i>Análises laboratoriais .....</i>	<i>12</i>
<i>Análises estatísticas .....</i>	<i>12</i>
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>13</b>
<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>18</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>19</b>
<b>TABELAS E FIGURAS .....</b>	<b>22</b>

## INTRODUÇÃO

Nos sistemas de produção de bovinos de corte, os bezerros são submetidos a diversos estressores durante o desmame. Embora essencial para a produção, essa prática impõe desafios nutricionais, sociais, físicos e psicológicos, desencadeando alterações comportamentais, fisiológicas e imunológicas (Lynch et al., 2012; Ungerfeld et al., 2015; Pérez-Torres et al., 2016; de Paula et al., 2023), e constitui-se em um evento de grande estresse dentro do sistema de produção (Winton et al., 2024)

A resposta ao estresse do desmame inclui alterações fisiológicas significativas, como o aumento da secreção de cortisol, seguido por modificações no padrão de síntese proteica hepática. Esse processo é caracterizado pela elevação das proteínas de fase aguda positivas, como a haptoglobina e a ceruloplasmina (Campistol et al., 2016; Lynch et al., 2019), acompanhada pela redução da síntese de proteínas sanguíneas, como a albumina, uma proteína de fase aguda negativa (Gruys et al., 2005). Consequentemente, o estresse do desmame pode levar a uma redução transitória da função imunológica dos animais (Carroll e Forsberg, 2007), comprometendo seu desenvolvimento (Arthington et al., 2008; Cooke et al., 2009; Enríquez et al., 2011).

Em regiões tropicais, o desmame usualmente ocorre na época seca do ano, caracterizada por redução na qualidade e da quantidade de forragens. Assim, esse período pode ser mais desafiador, visto que o bezerro precisa se adaptar simultaneamente à perda de leite, à separação da mãe, a um novo ambiente físico e social e ainda sofrer estresse nutricional (Weary et al., 2008). Nesse contexto, a suplementação pré-desmame é uma das técnicas de manejo que pode ser uma aliada para redução do estresse por diminuir a dependência nutricional e social da mãe, e aumentar o desempenho desses animais durante a fase de cria (Myers et al., 1999; Arthington et al., 2008; Cooke, 2017; Lynch et al., 2019).

A suplementação no período pré-desmame para bezerros Simental promoveu maior concentração sérica de proteínas totais e porcentagem de subpopulação de linfócitos tipo T em relação aos não suplementados. No entanto, a contagem total de linfócitos e a concentração sérica das proteínas de fase aguda e de glicose não foram influenciados (Lynch et al., 2012). Contudo, Campistol et al. (2016) descreveram maior concentração sérica de cortisol, ceruloplasmina e relação neutrófilos:linfócitos em

bezerros Angus que receberam suplemento com alta fibra, sete dias antes do desmame, em função de maior competição pelo suplemento, evidenciando maior condição de estresse.

Dessa forma, os estudos sobre os efeitos da suplementação nas respostas ao estresse do desmame em bezerros são limitados, escassos e apresentam resultados inconsistentes. Além disso, a maioria das pesquisas foi realizada exclusivamente em regiões temperadas, restringindo a aplicabilidade dos resultados em diferentes condições climáticas. Diante disso, a hipótese do estudo foi que a suplementação pré-desmame (creep-feeding) influencia na magnitude do estresse e na imunidade ao desmame de bezerras Nelore em pastejo, em que, bezerras não suplementadas são mais susceptíveis às mudanças fisiológicas ocasionadas pelo estresse do desmame abrupto. Portanto, o objetivo desse estudo foi avaliar a influência do creep-feeding no estresse e imunidade ao desmame de bezerras Nelore em pastejo, em diferentes anos.

## **MATERIAL E METÓDOS**

Foram conduzidos quatro experimentos ao longo de diferentes anos (2017, 2020, 2023 e 2024), todos realizados na Unidade de Ensino Pesquisa e Extensão em Bovinocultura de Corte do Departamento de Zootecnia/UFV. Todos os procedimentos receberam a aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção da Universidade Federal de Viçosa (CEUAP/UFV), sob protocolos números 30; 46; 49 e 61. Foram utilizadas 61 bezerras Nelore, sendo 15 bezerras em 2017 ( $200 \pm 31\text{kg}$ ), 14 em 2020 ( $208 \pm 36\text{kg}$ ), 13 em 2023 ( $235 \pm 30\text{kg}$ ) e 19 em 2024 ( $230 \pm 27\text{kg}$ ), todas lactentes e com idades iniciais médias de 7,5 meses, com suas mães pluríparas.

### *Animais e período experimental*

Na fase de pré-desmame, cada piquete (3 em 2017; 4 em 2020; 3 em 2023; e 4 em 2024), contendo três ou quatro pares vaca-bezerra, foi distribuído aleatoriamente em grupos de bezerras suplementadas (CS) e não suplementadas (SS) (8 bezerras CS e 7 SS em 2017; 7 CS e 7 SS em 2020; 7 CS e 6 SS 2023; e 13 CS e 6 SS em 2024) em piquetes (área média de 8,6 ha) cobertos com pasto de *Urochloa decumbens*, provido de cocho coberto com acesso privativo para as bezerras (*creep-feeding*) e bebedouros. Cada piquete possuía um cocho com acesso para as vacas, onde foi fornecido mistura mineral *ad libitum*.

A partir dos 100 dias de idade, as bezerras do tratamento CS receberam suplemento energético-proteico, composto por milho, farelo de soja, pró-melaço e mistura mineral, na proporção de 6 g/kg de peso corporal, contendo 200 g de proteína bruta/kg de matéria seca. As bezerras não suplementadas receberam apenas a mistura mineral (composição percentual: fosfato bicálcico, 50,00; cloreto de sódio, 47,25; sulfato de zinco, 1,50; sulfato de cobre, 0,75; sulfato de cobalto, 0,05; iodato de potássio, 0,05 e sulfato de manganês, 0,05) *ad libitum*. Após o desmame, todas as bezerras receberam o mesmo suplemento da fase pré-desmame. O suplemento foi fornecido diariamente para as bezerras em grupo, às 12h. A água foi fornecida *ad libitum* durante todo o experimento.

As avaliações dos experimentos iniciaram cinco dias antes do desmame (-5), na mesma época do ano (final de maio), e foram até fase de pós-desmame com 14 dias de duração. As bezerras foram desmamadas abruptamente (dia 0) e transportadas por caminhão para outra área experimental para o início da fase de pós-desmame, contendo o mesmo número de piquetes (2 ha/piquete) da área da fase de pré-desmame. As bezerras permaneceram no mesmo lote da fase de pré-desmame, mantendo a mesma estrutura social. As vacas foram conduzidas para outra área experimental, de forma a não permitir visualização e audição de vocalizações, realizadas tanto pela vaca quanto pela bezerra.

#### *Coleta de amostras*

Considerando o desmame como o dia zero, as bezerras foram pesadas sem jejum e simultaneamente foram realizadas coletas de sangue nos dias -5 (pré-desmame), dia 0 (5 horas após a separação), dia 1, dia 3, dia 7, dia 14 e (pós-desmame) às 8h. Foram utilizados: tubo BD SST® II Advance®, com ativador de coágulo para quantificação de cortisol, proteínas torais e albumina; tubo contendo fluoreto de sódio com EDTA (BD Vacutainer® Fluoreto/EDTA), para análise de glicose; tubo BD Vacutainer® Plus, com heparina de sódio, para quantificação das proteínas de fase aguda (ceruloplasmina e haptoglobina); e tubo BD Vacutainer®, contendo o EDTA jateado na parede interna do tubo, para análise do hemograma completo. O sangue foi imediatamente centrifugado a  $2200 \times g$  por 20 minutos e o soro ou plasma armazenados a  $-80^{\circ}\text{C}$ , exceto os tubos BD Vacutainer®, contendo o EDTA para a análise do hemograma.

### *Análises laboratoriais*

A concentração de cortisol foi obtida por meio de soro, utilizando kits da Beckman Coulter®, e determinada por quimioluminescência (Access® 2, Beckman Coulter®, 33600) e a concentração de ceruloplasmina plasmática foi determinada no plasma, de acordo com os procedimentos colorimétricos descritos por Demetriou et al. (1974), expressas em mg/dL. A concentração plasmática de haptoglobina foi determinada no plasma, medindo o complexo haptoglobina-hemoglobina pela estimativa das diferenças na atividade da peroxidase (Makimura e Suzuki 1982), e os resultados expressos em densidade óptica resultantes da leitura a 450 nm  $\times$  100 (Cooke e Arthington 2013).

A concentração de glicose (K082), proteínas totais (K031) e albumina (K040) plasmática foram determinadas utilizando kits da Bioclin® (Belo Horizonte, Brasil) e realizadas em analisador bioquímico automático (Mindray BS-200E, China). As globulinas foram calculadas pela diferença entre as proteínas totais e a albumina.

A contagem de células vermelhas e leucócitos, e a concentração de hemoglobina foram quantificadas usando o analisador automático Hematoclin 2.8 Vet (Bioclin®, Belo Horizonte, Brasil). A diferenciação de células leucocitárias (neutrófilos e linfócitos) foi determinada sob microscópio, e as proporções de neutrófilos e linfócitos foram calculadas. O hematócrito foi quantificado em microcentrífuga (Microcentrífuga de microhematócrito MicroSpin, Jaboticabal, Brasil).

### *Análises estatísticas*

Os dados foram analisados segundo esquema de análise conjunta de experimentos considerando-se os experimentos conduzidos nos diferentes anos como repetições experimentais. O modelo utilizado foi composto pelos efeitos de ano ou experimento (aleatório), suplementação em creep-feeding (fixo) e a sua interação (aleatório). Antecipa-se que para todas as variáveis avaliadas, a interação entre experimento e suplementação foi não significativa ( $P > 0,05$ ), sendo portanto, desconsiderada nas análises. As medidas tomadas nos animais (i.e. subjects) ao longo dos dias foram consideradas como medidas repetidas no tempo (efeito fixo). A escolha da estrutura da matriz de (co)variâncias foi realizada com base no critério de informação Akaike com correção. As estruturas foram, em sua maioria, de conformação em simetria composta e, em menor frequência, em simetria composta heterogênea. Todas as análises foram

realizadas por intermédio do procedimento GLIMMIX do SAS 9.4 ( $\alpha = 0,05$ ). Para o caso de interações entre suplementação e dia de avaliação significativas, as mesmas foram estudadas utilizando-se as opções SLICE e SLICEDIFF do procedimento GLIMMIX usando como base a diferença mínima significativa de Fisher, quando necessário.

## RESULTADOS

A suplementação ( $p < 0,05$ ) e os dias relativos ao desmame ( $p < 0,05$ ) afetaram o peso corporal das bezerras, onde as suplementadas apresentaram maior peso em todos os dias avaliados. Com relação aos dias de avaliação, o peso diminuiu no período pós-desmame, com valores mais baixos nos dias 1 e 3, e foi recuperado aos 7 dias pós-desmame (Figura 1).

A concentração sérica de cortisol (Figura 2) foi influenciada apenas pelos dias relativos ao desmame ( $p < 0,05$ ), exibindo as maiores concentrações nos dias 1 e 3 pós-desmame, e retornaram a valores pré-desmame no dia 7.

A concentrações plasmáticas de ceruloplasmina (Figura 3) e haptoglobina (Figura 4) foram influenciadas pelos dias em relação ao desmame ( $p < 0,05$ ), e apresentaram os maiores valores nos dias 1 e 3 pós-desmame e retornaram a valores pré-desmame no dia 14.

A concentração plasmática de glicose foi influenciada pelos dias relativos ao desmame ( $p < 0,05$ ), onde os valores aumentaram no pós-desmame, diminuindo a partir do dia 7, com retorno aos valores pré-desmame no dia 14 (Figura 5).

A concentração de proteínas totais apresentou interação entre suplementação e dias de avaliação ( $p < 0,05$ ; Figura 6 a), e foi superior no dia 3 para os animais CS. Os níveis de proteínas totais variaram ao longo do tempo ( $p < 0,05$ ) para os animais CS, com maiores valores nos dias 1 e 3 pós-desmame, e retorno no dia 7 aos níveis pré-desmame. No entanto, os animais não suplementados não foram afetados pelos dias de avaliação ( $p > 0,05$ ).

As globulinas apresentaram efeito de interação suplementação e dias de avaliação em relação ao desmame ( $p < 0,05$ ). Entretanto, ao desdobrar o efeito da interação não revelou diferenças entre os tratamentos (Figura 6 b). Houve efeito dos dias de avaliação sobre a concentração de globulinas ( $p < 0,05$ ), e nos animais CS houve um aumento do dia

do desmame para o primeiro dia pós-desmame e, nos animais SS, houve diminuição no pós-desmame (dias 1, 3 e 7) em relação ao pré-desmame.

A concentração de albumina foi afetada pelos dias relativos ao desmame ( $p < 0,05$ ; Figura 6 c), e apresentou maiores valores na primeira semana pós-desmame, e retorno aos valores pré-desmame no dia 14.

Para a contagem de eritrócitos, ocorreu interação suplementação e dias relativos ao desmame ( $p < 0,05$ ). Entretanto, ao desdobrar a interação, não apresentou diferença significativa entre tratamentos (Figura 7 a). Para os animais CS a contagem de eritrócitos apresentou um aumento no terceiro dia pós-desmame. Contudo, para os animais SS, não houve influência dos dias relativos ao desmame ( $p > 0,05$ ).

O hematócrito (Figura 7 a) e a concentração de hemoglobina (Figura 7 b) demonstraram interação suplementação e dias relativos ao desmame ( $p < 0,05$ ), em que os animais CS apresentaram níveis mais altos no dia 14 para o hematócrito e no dia 3 para concentração de hemoglobina, em relação aos SS. Para ambas as variáveis, não houve efeito dos dias em função do desmame nos animais SS ( $p > 0,05$ ), no entanto, para os CS, o hematócrito e a concentração de hemoglobina apresentaram um aumento após o desmame, que não retornou aos níveis pré-desmame.

A contagem total de leucócitos (Figura 8 a), linfócitos (Figura 8 b), neutrófilos (Figura 8 c) e a relação neutrófilos:linfócitos (N:L) (Figura 8 d) foram influenciadas pelos dias relativos ao desmame ( $p < 0,05$ ). A contagem total de leucócitos diminuiu no primeiro dia pós-desmame, os linfócitos apresentaram redução no dia do desmame, e ambos, permaneceram estáveis ao longo dos dias avaliados, no entanto, o número de linfócitos não retornou para os valores pré-desmame. A contagem de neutrófilos e a relação N:L mostraram um pico no dia do desmame, e diminuíram ao longo do período pós-desmame, sem restabelecer os níveis pré-desmame.

## **DISCUSSÃO**

A capacidade dos bezerros de lidar com o estresse do desmame pode afetar o seu desempenho subsequente e sua saúde. A suplementação com ração concentrada, para bezerros de corte lactentes é frequentemente utilizada como uma maneira de reduzir o estresse do desmame por meio da familiarização com um alimento palatável (Linch et al., 2012), e é uma prática implementada para compensar a redução na produção de leite e na

disponibilidade de forragem, além de promover melhora no ganho de peso dos bezerros pós-desmame. O maior peso corporal verificado para os animais suplementados, também foi descrito por Myers et al. (1999). Lynch et al. (2012) destacaram que a suplementação pré-desmame ajuda a reduzir o impacto negativo do desmame no desempenho, melhorando a adaptação metabólica.

A perda de peso dos bezerros é característica dos três primeiros dias pós-desmame (Arthington et al., 2005; Campistol et al., 2016; Pérez-Torres et al., 2016), já que os animais apresentam um comportamento atípico de redução do consumo alimentos sólidos e do tempo de pastejo (Winton et al., 2024). Além disso, é verificado comportamento anormal de permanecerem próximos a cercas por longos períodos (Price et al., 2003). Dessa forma, a redução do peso é relacionada com o menor enchimento do trato gastrointestinal. Ademais, durante eventos estressantes, a ingestão e o apetite são suprimidos (Haddad et al., 2002), resultando em uma ingestão de nutrientes frequentemente reduzida e inferior à observada em animais não estressados (Duff e Galyean, 2007).

O maior nível sérico de cortisol, exibido nos animais nos primeiros dias pós-desmame, indica uma resposta ao estresse nesse período (Hickey et al., 2003). Indicadores hormonais de estresse são evidentes em bezerros de corte no pós-desmame (Lynch et al., 2019), e o aumento do cortisol também foi relatado por Kim et al. (2020) e González et al. (2023). A concentração de cortisol variou de 9,8 a 17,7 ng/mL dos cinco dias antes do desmame a 14 dias pós-desmame, assim como os achados de Hickey et al. (2003).

Embora evidenciada a condição de estresse no período de desmame, a suplementação não promoveu redução da concentração de cortisol, conforme hipotetizado. Conforme revisado por Enríquez et al. (2011), Lynch et al. (2019) e Winton et al. (2024), a suplementação no período pré-desmame, com concentrado ou forragem, é utilizada com sucesso para estimular os bezerros a consumir alimentos sólidos e assim reduzir progressivamente a sua dependência nutricional e social da vaca, além de maximizar a eficiência produtiva. No entanto, os estudos que avaliaram a suplementação no pré-desmame (Harvey e Burns, 1988; Myers et al., 1999; Blanco et al., 2008) se concentraram na avaliação de desempenho, sem qualquer avaliação sobre a resposta de estresse desenvolvida pelos bezerros ao desmame. Ainda, Campistol et al. (2016) descreveram maior concentração sérica de cortisol, ceruloplasmina e relação

neutrófilos:linfócitos em bezerros Angus que receberam suplemento com alta fibra, sete dias antes do desmame, em função de maior competição pelo suplemento, evidenciando maior condição de estresse.

A resposta aguda ao estresse produzida por mudanças sociais, nutricionais e ambientais abruptas associadas ao desmame pode prejudicar a homeostase e, assim, comprometer o bem-estar dos bezerros (Lynch et al., 2019). No presente estudo, foi observado aumento das concentrações de proteínas de fase aguda, ceruloplasmina e haptoglobina, nos três primeiros dias pós-desmame, assim como em outros estudos (Arthington et al., 2003; Lynch et al., 2010; Lynch et al., 2019). Porém, as concentrações de dessas proteínas não diferiram entre os tratamentos, semelhante ao citado por Lynch et al. (2012), em avaliação da suplementação com concentrado de bezerros.

O aumento do metabolismo energético é uma resposta característica ao estresse, à medida que o corpo desvia energia dos processos de menor prioridade para os processos necessários para reagir ao estressor, o que é evidenciado por alterações nas concentrações de glicose, ácidos graxos não esterificados (Lynch et al., 2019). González et al. (2023) também observaram um aumento de glicose no sangue após o desmame. Além disso, Myers et al. (1999) indicaram que a transição alimentar e o estresse do desmame podem causar variações nos níveis de glicose, dependendo da disponibilidade nutricional e da adaptação metabólica dos animais, e descreveram aumento da glicose logo após o desmame e retorno ao normal no dia 14, caracterizando um aumento transitório.

O metabolismo proteico é alterado no desmame e é evidenciado por mudanças nas concentrações circulantes de proteínas totais e seus constituintes, globulinas e albumina (Lynch et al., 2019). A maior concentração de proteínas totais e globulinas para bezerras suplementadas no terceiro dia pós-desmame em comparação com as não suplementadas, foi também relatada por Lynch et al. (2012), de forma semelhante. Assim, sugere-se que existe algum mecanismo associado à suplementação que desencadeia o aumento da concentração de proteínas totais, o que pode ser explicado, pelo menos parcialmente, pelo aumento das globulinas, apenas nos animais CS. Nas bezerras não suplementadas as proteínas totais não variaram ao longo dos dias relativos ao desmame, no entanto, as globulinas diminuíram nos três primeiros dias pós-desmame, em relação aos níveis pré-desmame.

O número de eritrócitos foi influenciado pelos dias relativos ao desmame apenas para as bezerras CS. Com relação ao hematócrito e a concentração de hemoglobina, as bezerras CS em relação às SS apresentam maiores valores nos dias 14 e 3, respectivamente. Possivelmente, o efeito da suplementação está relacionado ao maior peso corporal, e ainda, à uma provável maior ingestão de matéria-seca dos animais suplementados que demandam maior quantidade de água em relação aos não suplementados (Brew et al., 2011). Assim, apesar da magnitude do estresse do desmame ter sido semelhante entre tratamentos (evidenciado pelos níveis de cortisol, ceruloplasmina e haptoglobina). Em geral, o número de eritrócitos, hematócrito e a concentração de hemoglobina, estão dentro da variação fisiológica descrita para bovinos proposta por Jones e Allison (2007).

A diminuição da contagem de leucócitos e linfócitos, no primeiro dia pós-desmame e no dia do desmame, respectivamente, e o aumento do número de neutrófilos no dia do desmame, estão condizentes com os achados de Hickey et al. (2003), Blanco et al. (2009) e Lynch et al. (2012) que examinaram os efeitos do estresse do desmame em bezerros de corte; mostrando a linfopenia e a neutrofilia características de uma resposta ao estresse. O número de neutrófilos é considerado um biomarcador robusto de estresse (O'Loughlin et al., 2014). A relação N:L aumentou no dia do desmame, consequência da diminuição dos linfócitos e aumento dos neutrófilos, refletindo um estado de estresse agudo (Campistol et al., 2013; Campistol et al., 2016). Hickey et al. (2003) encontraram maior concentração de leucócitos nos dias 1 e 2 pós-desmame, acompanhada por um aumento da relação N:L um dia pós-desmame.

Os marcadores biológicos envolvidos no estresse justificam os resultados aparentemente conflitantes das pesquisas sobre o tema (Grandin, 1997). As discrepâncias entre alguns estudos podem ser atribuídas a diferenças na idade e método de desmame, raça, sexo, idade da mãe ou manejo dos animais (Hickey et al., 2003; Arthington et al., 2008; Ungerfeld et al., 2009). Atualmente, há informações um tanto limitadas sobre as respostas fisiológicas, adrenocorticais e imunológicas de gado de corte após o desmame abrupto (Lynch et al., 2019). Nesse contexto, o presente estudo destaca-se por avaliar, em quatro anos, os efeitos do creep-feeding nas respostas ao desmame sobre a imunidade e o estresse de bezerras Nelore em condição de pastejo, fornecendo um conjunto de dados robusto. Ainda assim, existem lacunas relevantes quanto aos mecanismos que modulam

essas respostas, indicando a necessidade de investigações adicionais para aprofundar a compreensão da complexidade fisiológica envolvida no desmame de bovinos de corte.

## **CONCLUSÃO**

O creep-feeding não minimiza a magnitude do estresse ao desmame, e o período de maior estresse é nos primeiros três dias pós-desmame, além disso, não influencia a imunidade das bezerras Nelore em pastejo.

## REFERÊNCIAS

- Arthington 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. *Journal of Animal Science.*, 81: 1120-1125.
- Arthington J. D., Spears JW, Miller DC. (2005). The effect of early weaning on feedlot performance and measures of stress in beef calves. *Journal of Animal Science.* 83:933–939.
- Arthington J. D., Qiu X., Cooke R. F., Vendramini J. M. B., Araujo D. B., Chase C. C., Coleman S. W. (2008) Effects of preshipping management on measures of stress and performance of beef steers during feedlot receiving<sup>1</sup>. *Journal of Animal Science*, 86, 2016–2023.
- Blanco M, Villalba D, Ripoll G, Sauerwein H, Casasús I. (2008). Effects of pre weaning concentrate feeding on calf performance, carcass and meat quality of autumn-born bull calves weaned at 90 or 150 days of age. *Animal*, 2:779-789.
- Brew MN, Myer RO, Hersom MJ, Carter JN, Elzo MA, Hansen GR, Riley DG (2011). Water intake and factors affecting water intake of growing beef cattle. *Livestock Science*, 140:297-300.
- Campistol C., Kattesh H. G., Waller J. C., Rawls E. L. Arthington J. D., Engle T. E., Carroll J. A., Pighetti G. M., Saxton A. M. (2013). Effects of two-stage and total vs. fenceline weaning on the physiology and performance of beef steers. *Journal of Animal Science*, 29:501-507.
- 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. *International Journal of Livestock Production*, 7(8), 48-54.
- Carroll J. A., Forsberg N. E. (2007). Influence of Stress and Nutrition on Cattle Immunity. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 23(1), 105-149.
- Cooke R. F., Arthington J. D. (2013). Concentrations of haptoglobin in bovine plasma determined by ELISA or a colorimetric method based on peroxidase activity: Methods to determine haptoglobin in bovine plasma. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 97, 531–536.
- Cooke R. F., Arthington J. D., Austin B. R., Yelich J. V. (2009) Effects of acclimation to handling on performance, reproductive, and physiological responses of Brahman-crossbred heifers. *Journal of Animal Science*, 87, 3403–3412.
- Cooke R. F., Bohnert D. W. (2011). Technical note: Bovine acute-phase response after corticotrophin- release hormone challenge. *Journal of Animal Science.* 89:252-257.

- Cooke, R. F. (2017). Nutritional and management considerations for beef cattle experiencing stress-induced inflammation. *The Professional Animal Scientist*, 33(1), 1-11.
- de Paula C., Renn L. N., Martins H. C., Rodrigues I. I., Detmann E., Valadares Filho S. C., Paulino M. F. (2023) Does Parity Influence the Magnitude of the Stress Response of Nellore Cows at Weaning? *Animals*, 13(8), 1321.
- Demetriou, J. A., Drewes, P. A., Gin, J. B., Cannon, D. C., & Winkelman, J. W. (1974). Ceruloplasmin. *Clinical chemistry. Harper and Row, Hagerstown, MD*, 857-864.
- Duff GC, Galyean ML. (2007) Board-invited review: recent advances in management of highly stressed, newly received feedlot cattle. *Journal of Animal Science*. 85:823–840.
- Enriquez D., Hötzel M. J., Ungerfeld R. (2011) Minimising the stress of weaning of beef calves: a review. *Acta Veterinaria Scandinavica* 53, 28.
- González, L. A., Carvalho, J. G., Kuinchtner, B. C., Dona, A. C., Baruselli, P. S., & D'Occhio, M. J. (2023). Plasma metabolomics reveals major changes in carbohydrate, lipid, and protein metabolism of abruptly weaned beef calves. *Scientific Reports*, 13(1), 8176.
- Grandin, T. (1997). Assessment of stress during handling and transport. *Journal of animal science*, 75(1), 249-257.
- Gruys E., Toussaint M. J. M., Niewold T. A., Koopmans S. J. (2005) Acute phase reaction and acute phase proteins. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*, 6, 1045–1056.
- Haddad, J. J., Saadé, N. E., & Safieh-Garabedian, B. (2002). Cytokines and neuro-immune-endocrine interactions: a role for the hypothalamic-pituitary-adrenal revolving axis. *Journal of neuroimmunology*, 133(1-2), 1-19.
- Harvey, R. W., and J. C. Burns. (1988) Forage species, concentrate feeding level and cow management system in combination with early weaning. *Journal of animal science*. 66:2722–2727.
- 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 Production1. *Journal of Animal Science*, 81, 2847–2855.
- Jones, M. L., & Allison, R. W. (2007). Evaluation of the ruminant complete blood cell count. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 23(3), 377-402.
- Kim, E. T.; Lee, H. G.; Kim, D. H.; Son, J. K; Kim, B. W.; Joo, S. S.; Park, D. S.; Park, Y. J.; Lee, S. Y.; Kim, M. H. (2020). Hydrolysed yeast supplementation in calf starter promotes innate immune responses in Holstein calves under weaning stress condition. *Animals*, 10 (9), 1468.

Lynch E, McGee M, Earley B (2019) Weaning management of beef calves with implications for animal health and welfare. *Journal of Applied Animal Research* 47, 167–175.

Lynch, E. M., Earley, B., McGee, M., & Doyle, S. (2010). Characterisation of physiological and immunological responses in beef cows to abrupt weaning and subsequent housing. *BMC Veterinary Research*, 6, 1-8.

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 Veterinary Research*, 8, 1-11.

Makimura S., Suzuki N. (1982) Quantitative determination of bovine serum haptoglobin and its elevation in some inflammatory disease. *Japanese Journal of Veterinary Science*. 44, 15–21.

Myers SE, Faulkner D. B., Ireland F. A., Berger L. L., Parrett D. F. (1999) Production systems comparing early weaning to normal weaning with or without creep feeding for beef steers. *Journal of Animal Science*. 77, 300.

O'Loughlin, A., McGee, M., Doyle, S., & Earley, B. (2014). Biomarker responses to weaning stress in beef calves. *Research in Veterinary Science*, 97(2), 458-463.

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. *Applied Animal Behaviour Science*, 179, 17-22.

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. *Journal of Animal Science*, 81(1), 116-121.

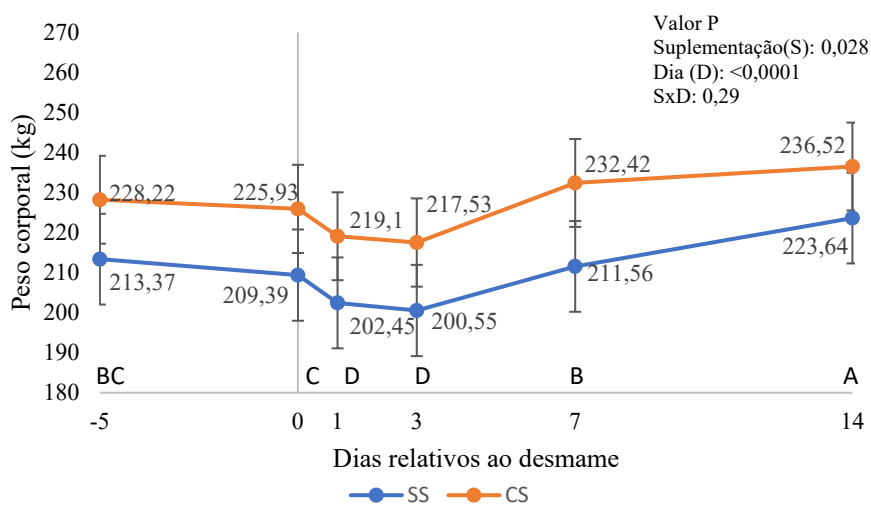
Ungerfeld R., Hötzel M. J., Quintans G. (2015) Changes in behaviour, milk production and bodyweight in beef cows subjected to two-step or abrupt weaning. *Animal Production Science*, 55, 1281.

Ungerfeld R., Quintans G., Enríquez D. H., Hötzel M. J. (2009) Behavioural changes at weaning in 6-month-old beef calves reared by cows of high or low milk yield. *Animal Production Science*, 49, 637.

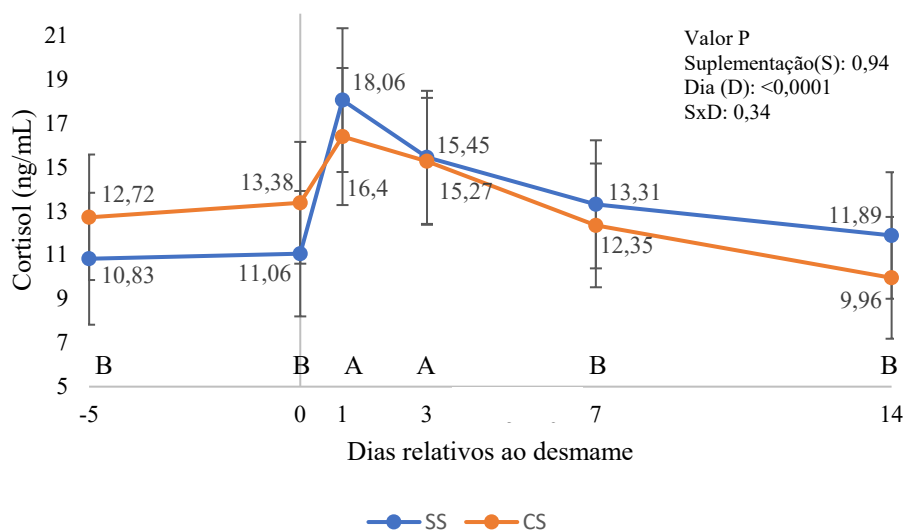
Weary D. M., Jasper J., Hötzel M. J. (2008) Understanding weaning distress. *Applied Animal Behaviour Science*, 110, 24–41.

Winton, T. S., Nicodemus, M. C., & Harvey, K. M. (2024). Stressors Inherent to Beef Cattle Management in the United States of America and the Resulting Impacts on Production Sustainability: A Review. *Ruminants*, 4(2), 227-240.

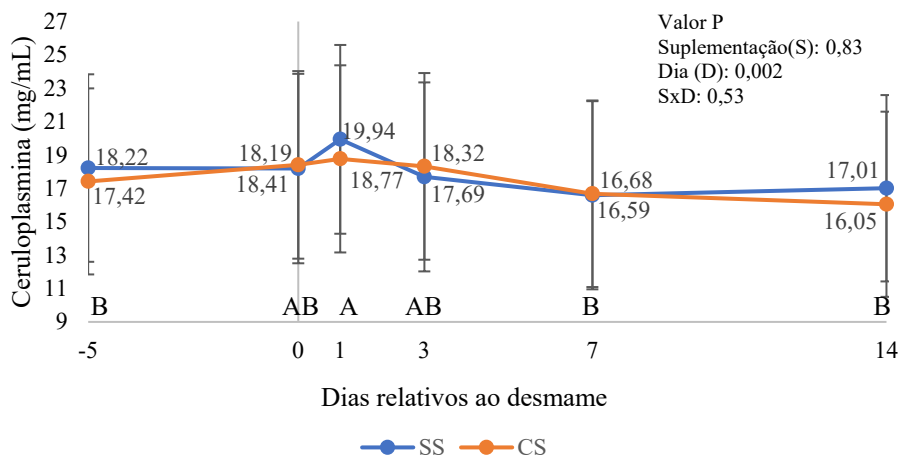
## TABELAS E FIGURAS



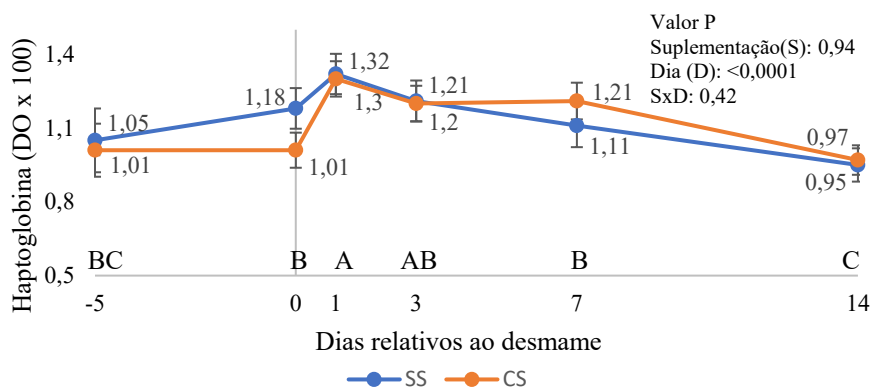
**Figura 1.** Variação de peso corporal em bezerras suplementadas (CS) e não suplementadas (SS) nos dias relativos ao desmame. Médias de dias com letras distintas diferem entre si ( $p < 0,05$ ).



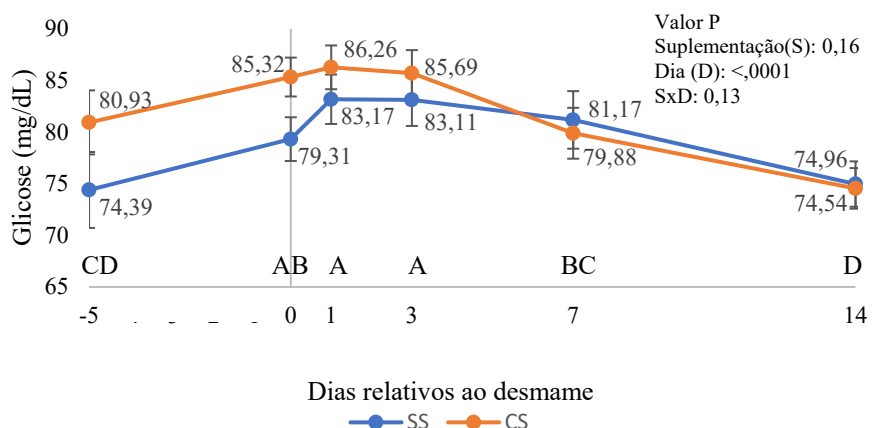
**Figura 2.** Concentração sérica de cortisol em bezerras suplementadas (CS) e não suplementadas (SS) nos dias relativos ao desmame. Médias de dias com letras distintas diferem entre si ( $p < 0,05$ ).



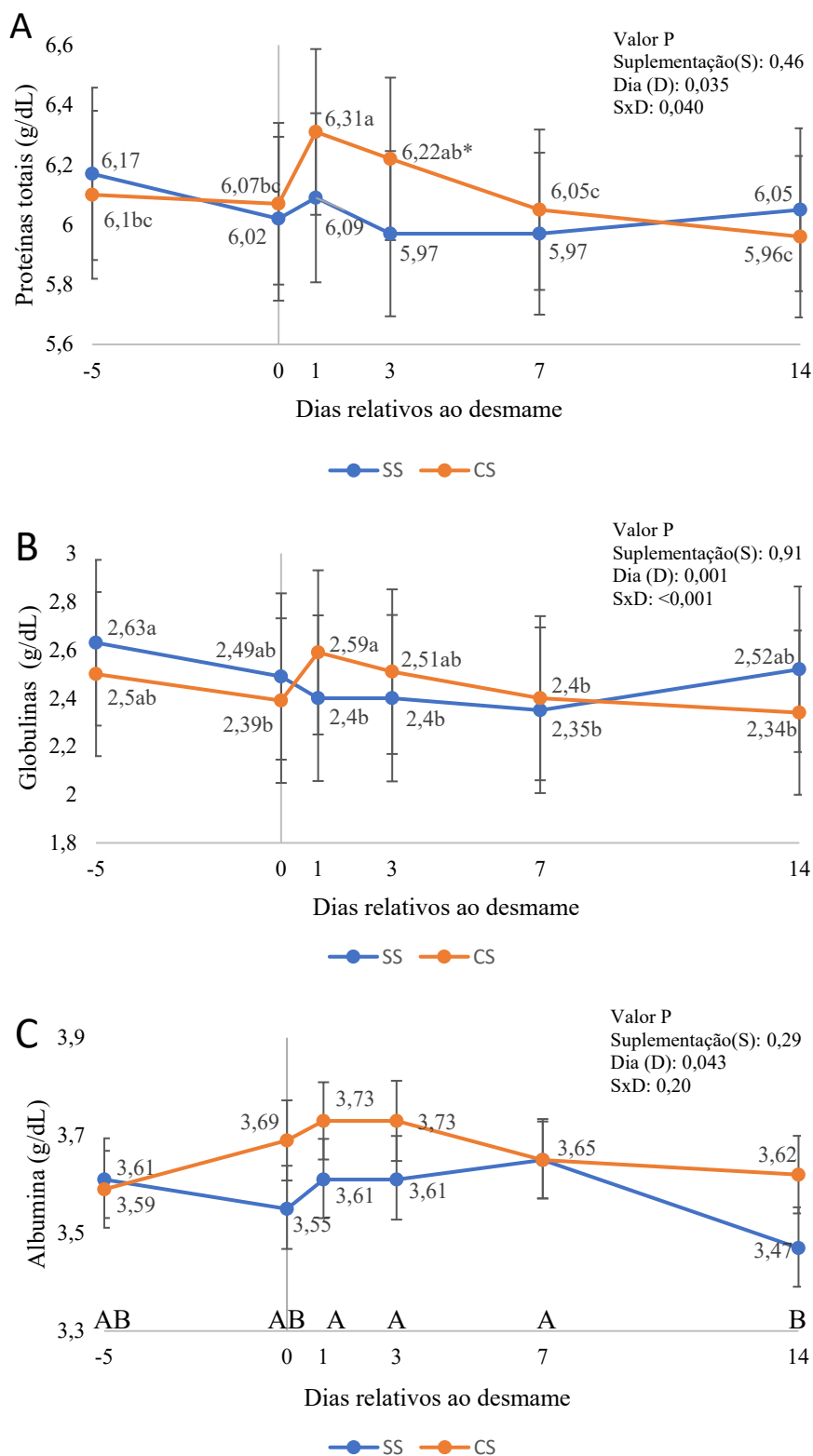
**Figura 3.** Concentração plasmática de ceruloplasmina em bezerras suplementadas (CS) e não suplementadas (SS) nos dias relativos ao desmame. Médias de dias com letras distintas diferem entre si ( $p < 0,05$ ).



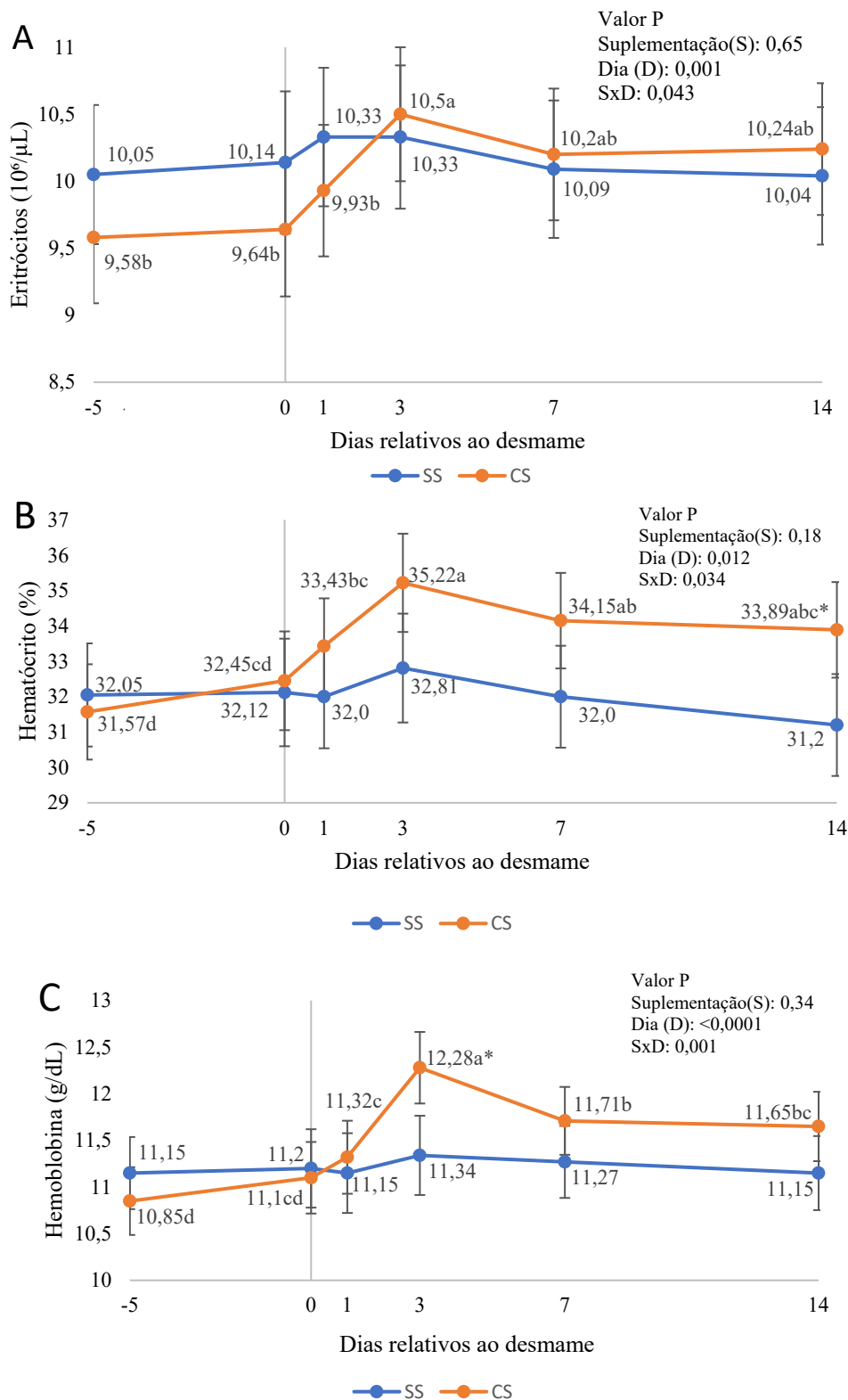
**Figura 4.** Concentração plasmática de haptoglobina em bezerras suplementadas (CS) e não suplementadas (SS) nos dias relativos ao desmame. Médias de dias com letras distintas diferem entre si ( $p < 0,05$ ).



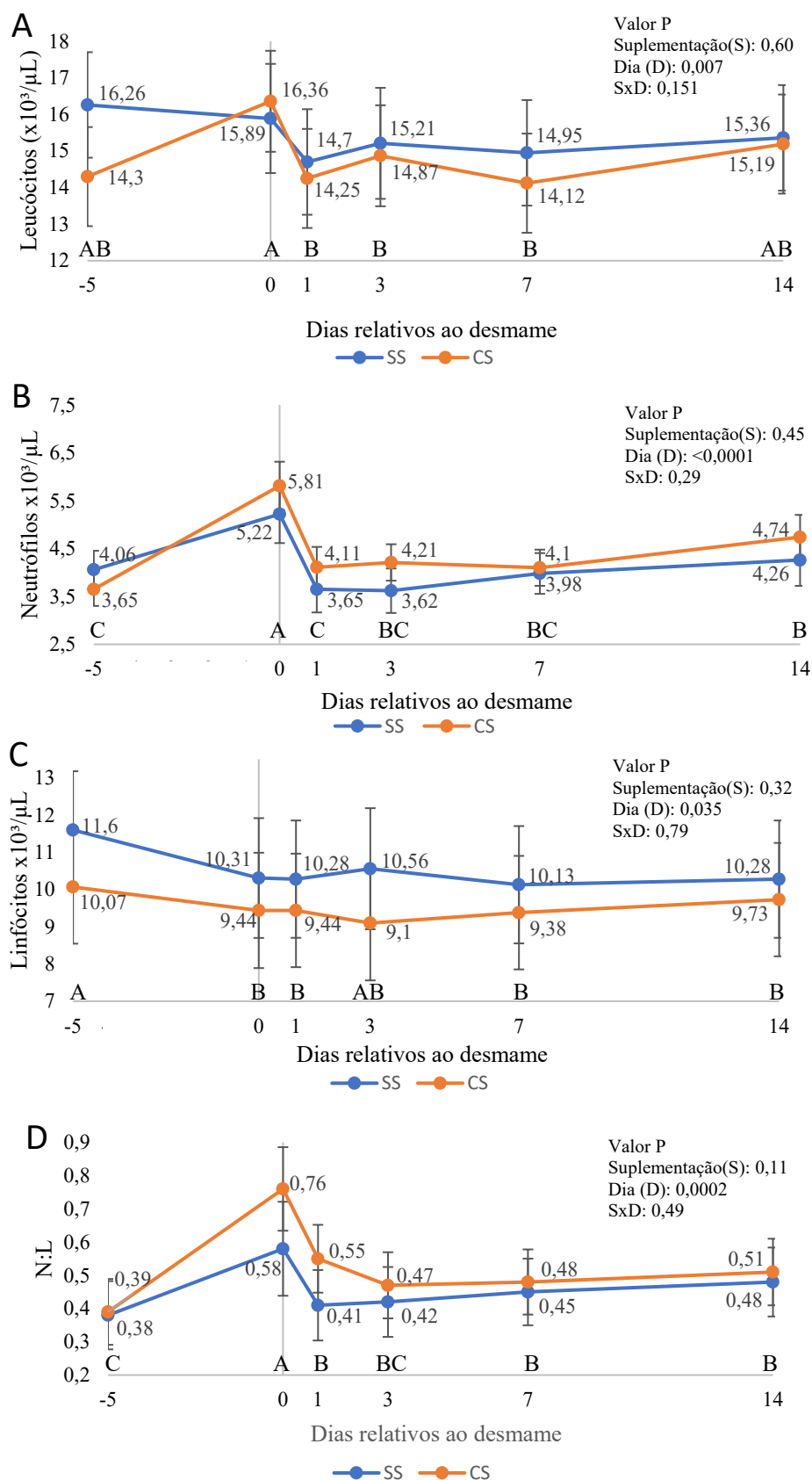
**Figura 5.** Concentração plasmática de glicose em bezerras suplementadas (CS) e não suplementadas (SS) nos dias relativos ao desmame. Médias de dias com letras distintas diferem entre si ( $p < 0,05$ ).



**Figura 6.** Concentração sérica de proteínas totais (A), globulinas (B) e Albumina (C) em bezerras suplementadas (CS) e não suplementadas (SS) nos dias relativos ao desmame. Médias de dias com letras distintas diferem entre si ( $p < 0,05$ ). Médias de dias dentro de tratamento com letras distintas diferem entre si ( $p < 0,05$ ). Nos dias com asterisco (\*) há interação suplementação x dias relativos ao desmame ( $p < 0,05$ ).



**Figura 7.** Número de eritrócitos (A) hematócrito (B) e concentração de hemoglobina (C) em bezerras suplementadas (CS) e não suplementadas (SS) nos dias relativos ao desmame. Médias de dias dentro de tratamento com letras distintas diferem entre si ( $p < 0,05$ ).



**Figura 8.** Número de leucócitos (A), linfócitos (B), neutrófilos (C) e relação neutrófilos:linfócitos (D) em bezerras suplementadas (CS) e não suplementadas (SS) nos dias relativos ao desmame. Médias de dias com letras distintas diferem entre si ( $p < 0,05$ ).