

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



Dissertação

Perfil metabólico, comportamento alimentar e desempenho produtivo de vacas da raça Holandês suplementadas com modulador térmico (I.C.E™) em período de altas temperaturas e umidade

Jorge da Silva Franck

Pelotas, 2017.

JORGE DA SILVA FRANCK

Perfil metabólico, comportamento alimentar e desempenho produtivo de vacas da raça Holandês suplementadas com modulador térmico (I.C.E™) em período de altas temperaturas e umidade

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (Área do conhecimento: Produção Animal: ênfase em Nutrição de Ruminantes).

Orientador: Prof. Dr. Francisco Augusto B. Del Pino
Co-orientador: Prof. Dr. Eduardo Schmitt

Pelotas, 2017.

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

F823p Franck, Jorge da Silva

Perfil metabólico, comportamento alimentar e desempenho produtivo de vacas da raça Holandês suplementadas com I.C.E TM e submetidas a altas temperaturas e umidade / Jorge da Silva Franck ; Francisco Augusto Burkert Del Pino, orientador ; Eduardo Schmitt, coorientador. — Pelotas, 2017.

55 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2017.

1. Estresse térmico. 2. Ruminação. 3. ITU. I. Pino, Francisco Augusto Burkert Del, orient. II. Schmitt, Eduardo, coorient. III. Título.

CDD : 636.2

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

Jorge da Silva Franck

Perfil metabólico, comportamento alimentar e desempenho produtivo de vacas da raça Holandês suplementadas com I.C.ETM e submetidas a altas temperaturas e umidade

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Ciências, pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 27/01/2017

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Francisco Augusto Burkert Del Pino (Orientador). Doutor em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Prof^a. Dra. Arione Augusti Boligon. Doutora em Genética e Melhoramento Animal pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

Prof. Dr. Cássio Cassal Brauner. Doutor em Produção Animal pela Universidade Federal de Pelotas.

Prof^a. Dra. Viviane Rohrig Rabassa. Doutora em Veterinária pela Universidade Federal de Pelotas.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus, por ter guiado meus passos até a realização de um sonho profissional!

Agradeço aos meus amigos e familiares pelo carinho, apoio, compreensão em todas as etapas desta jornada.

Agradeço toda a coordenação do NUPEEC, do meu orientador Prof. Del Pino e ao grande parceiro de todas as horas Prof. Eduardo Schimmit.

Aos amigos, colegas colaboradores do NUPEEC, em especial ao colega Antônio pela parceria e amizade! Muito Obrigado!!

Aos parceiros da Cargill, David Araújo e Fabiano Terra pelo empenho e ajuda, tornando todo esse trabalho possível! Obrigado!!

Aos proprietários da Fazenda Leite Sul, Felipe Krolow e Daniel Retzlaff por disponibilizar as instalações e animais! Obrigado!!

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia pela oportunidade de efetuar meu mestrado.

Resumo

FRANCK, Jorge da Silva. **Perfil metabólico, comportamento alimentar e desempenho produtivo de vacas da raça Holandês suplementadas com I.C.E™ e submetidas a altas temperaturas e umidade.** 2017. 55f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Departamento de Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

Indicadores metabólicos, produtivos e comportamentais foram avaliados em vacas lactantes da raça Holandês suplementadas com ICE™ expostas à períodos de alta temperatura e umidade. O experimento foi conduzido entre 22 de Fevereiro à 09 de Abril de 2016, em um sistema “*Freestall*” localizado no município de Capão do Leão (Rio Grande do Sul/Brasil). Foram utilizadas 16 vacas da raça Holandês com produção leiteira média de $25,19 \pm 4,9$ L/dia, distribuídas uniformemente em um grupo controle (GC, n=8) recebendo a dieta da propriedade e um grupo I.C.E™ (GICE, n=8), que recebeu uma dieta isoproteica e isoenergética acrescida de 60g/d do suplemento I.C.E™. O índice de temperatura e umidade (ITU) médio do experimento foi de 71,65, com mínimo de 59,6 e máximo de 83,6. A produção de leite foi maior no GICE ($26,3 \pm 3,14$ vs. $24,2 \pm 3,14$ kg/leite/dia; $P=0,05$), assim como a média geral das concentrações séricas de albumina ($2,6 \pm 0,43$ vs. $2,4 \pm 0,47$ g/dL; $P=0,03$). Já as concentrações sanguíneas de ureia foram menores no GICE ($27,1 \pm 5,4$ vs. $28 \pm 5,7$ mg/dL; $P=,0265$). Observou-se interação significativa do tratamento com a hora do dia onde as vacas suplementadas tiveram maior tempo de ruminação e atividade e menores períodos de ócio ($P=0,01$). Estes resultados demonstram que vacas da raça Holandês expostas a períodos de altos ITU quando suplementadas com I.C.E™ tem maior produção leiteira por alterarem seu comportamento alimentar e otimizar o metabolismo proteico.

Palavras-chave: estresse térmico, ruminação, ITU

Abstract

FRANCK, Jorge da Silva. **Metabolic profile, feeding behavior and productive performance of Holstein cows supplemented with I.C.ETM and submitted to high temperatures and humidity.** 2017. 55p. Thesis (Master in Animal Science) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Departamento de Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

Production, feeding behavioral and metabolic markers were evaluated in Lactating Holstein cows supplemented with ICETM and exposed to high humidity and temperatures. The experiment was conducted in a Freestall system in Capão do Leão City (Rio Grande do Sul state, Brazil). Sixteen Lactating Holstein cows 25.94 ± 5.04 kg/day average milk yield and 67 ± DIM were distributed in to control group (CG, n = 8); which received the farm diet; and ICE group (GICE, n = 8) that received isoproteic and isoenergetic diet supplemented with 60 g ICE. During the experimental period the average THI was 71.65, with 59.6 and 83.6 minimum and maximum THI, respectively. The milk production was higher in the GICE (27.08 ± 3.2 vs. 24.92 ± 3.2 kg/leite/dia; P = 0.05), as well as the average of seric albumin (2.6 ± 0.43 vs. 2.4 ± 0.47g/dL; P = 0.03). Already the blood urea concentration was less in GICE (27.1 ± 5.4 vs. 28 ± 5.7mg/dL; P = 0.0265). The rumination and activity time, were higher to the GICE in some hours of the day and the idleness was less in this group. The lactating Holstein cows exposed to periods with high THI when supplemented with ICE there are higher milk production due to change the feeding behavior and optimization of proteic metabolism.

Key-words: heat stress, rumination, THI

“Happiness is only real when shared”

Chris McCandless

Lista de Figuras

Figura 1-	Flutuação do ITU durante o período experimental.....	42
Figura 2-	Percentual de ITU>70 turno noturno e diurno nas semanas experimentais.....	43
Figura 3-	Efeito da suplementação com I.C.E TM e ITU na temperatura vaginal de vacas da raça Holandês no período do verão.....	44
Figura 4-	Efeito da suplementação com I.C.E TM sobre a produção média de leite.....	46
Figura 5A-	Tempo de ruminação de vacas da raça Holandês suplementadas com I.C.E TM	48
Figura 5B-	Tempo de atividade de vacas da raça Holandês suplementadas com I.C.E TM	48
Figura 5C-	Tempo de ócio de vacas da raça Holandês suplementadas com I.C.E TM	49

Lista de Tabelas

Tabela 1- Composição das dietas experimentais.....	38
--	----

Sumário

1 Introdução.....	12
2 Revisão de Literatura.....	14
2.1 Índice de temperatura e umidade (ITU).....	14
2.2 Resposta fisiológica ao estresse térmico.....	15
2.3 Comportamento.....	16
2.4 Influência do estresse térmico sobre a produção leiteira.....	19
2.4.1 Alterações metabólicas.....	20
2.4.2 Metabolismo de lipídios.....	20
2.4.3 Metabolismo de carboidratos.....	21
2.4.4 Metabolismo de proteínas.....	22
2.5 Estratégias nutricionais para reduzir os efeitos do estresse térmico.....	23
2.5.1 Fibra.....	23
2.5.2 Suplementação com gordura.....	23
2.5.3 Monensina.....	24
2.5.4 Leveduras.....	24
2.5.5 Água e Minerais.....	25
2.5.6 I.C.E™ (Internal Cooling Element).....	26
Referências.....	27
3 Capítulo 1 – Performance de vacas holandesas suplementadas com I.C.E™ durante o período de verão no Sul do Brasil.....	33
3.1 Introdução.....	34
3.2 Materiais e Métodos.....	37
3.2.1 Animais e Instalações.....	37
3.2.2 Dados climáticos.....	39

3.2.3 Variáveis analisadas.....	40
3.2.3.1 Temperatura vaginal.....	40
3.2.3.2 Indicadores metabólicos.....	40
3.2.3.3 Desempenho zootécnico.....	41
3.2.3.4 Comportamento animal.....	41
3.2.4 Análise estatística.....	41
3.3 Resultados e Discussão.....	42
3.3.1 ITU.....	42
3.3.2 Temperatura vaginal, frequência respiratória, ECC e peso corporal.....	43
3.3.3 Produção de leite.....	44
3.3.4 Marcadores metabólicos.....	46
3.3.5. Comportamento animal.....	47
3.4 Conclusão.....	50
Referências.....	51

1 Introdução

A homeostase da temperatura interna dos animais depende da dissipação ou retenção do calor produzido pelo metabolismo, sendo considerado equilíbrio térmico quando isso ocorre sem que haja grande consumo energético e prejuízo do desempenho animal. Segundo Kadzere et al. (2002), os animais possuem uma zona de termoneutralidade, que varia de acordo com a taxa metabólica, caso não ocorram compensações entre as trocas de calor com ambiente, ou estas sejam insuficientes, uma maior gama de mecanismos fisiológicos e comportamentais devem ser acionados, refletindo em perda de desempenho zootécnico, manifestação de sinais clínicos e comportamentais, caracterizando o estresse térmico.

O impacto econômico da temperatura ambiente na cadeia produtiva do leite tem demonstrado como fator direto na redução da produção, saúde e desempenho reprodutivo das vacas (WEST, 2003; BERNABUCCI et al, 2005, WHEELLOCK et al., 2010). Independente da capacidade produtiva do animal, a relação entre a produção de leite e estresse térmico apresenta uma correlação negativa (RAVAGNOLO & MIZTAL, 2000; WEST, 2003). Porém, vacas com alto desempenho são mais sensíveis às altas temperaturas, pois necessitam também de uma maior ingestão de matéria seca (IMS), por consequência, geram um maior incremento calórico o qual possui uma relação positiva com a ingestão de alimento (WEST, 2003). Esta grande quantidade de calor metabólico gerado pela alta demanda energética impõe uma zona de conforto entre 4°C e 15°C (ROBINSON, 2004). Fora deste intervalo, vacas produzindo 15 kg/leite/dia podem reduzir 17% à produção, entretanto em vacas com média de 40 kg/leite/dia esta redução chega a 22% (PINARELLI, 2003).

Segundo o Instituto Nacional de Meteorologia (INMET, 2014) entre os meses de Novembro à Março de 2014, o Rio Grande do Sul apresentou índices de temperatura e umidade (ITU) dentro do limiar de conforto térmico de vacas leiteiras, mas em diversos momentos ocorreram episódios acima dos valores preconizados,

registrando-se índices de estresse grave. Tendo em vista que o RS é o segundo maior produtor de leite do país, com mais de 4 bilhões de litros produzidos em 2015, totalizando 35,2% da produção nacional (IBGE - 2015), o estresse térmico pode ser responsável por grandes prejuízos em toda cadeia leiteira, além de acarretar na diminuição da renda de muitos produtores familiares que segundo o relatório de 2015 do Instituto Gaúcho do Leite (IGL) representam cerca de 95% dos estabelecimentos produtores.

Baumgard et al, (2013) afirmaram que existe uma necessidade urgente de compreender melhor como o estresse térmico altera a utilização de nutrientes e reduz a produtividade animal, para que esses conhecimentos se tornem um pré-requisito no desenvolvimento de futuras estratégias e tecnologias para melhorar o bem-estar e desempenho animal. O presente estudo foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o efeito de um modulador térmico (I.C.ETM) fornecido para vacas da raça Holandês, em período de alta temperatura e umidade, e observar seu impacto sobre as variáveis de desempenho zootécnico, indicadores metabólicos e comportamento animal.

2 Revisão de Literatura

2.1 Índice de temperatura e umidade (ITU)

Os animais possuem uma faixa mínima e máxima de temperatura ideal para seu conforto, denominada de zona de conforto térmico ou zona termoneutra, que lhe confere o ambiente térmico ideal, para manter-se saudável e expressar seu potencial genético. Quando extrapolada a faixa máxima de temperatura, o animal passa a ser afetado pelos efeitos do ambiente e sofrer uma série de modificações para manter a termorregulação.

O estresse térmico é causado pela combinação dos fatores do ambiente térmico (umidade do ar, radiação solar, temperatura do ar, velocidade do vento, precipitação). No entanto como há dificuldade na obtenção destas informações, utiliza-se a unidade de temperatura e a umidade do ar para avaliar o estresse por calor, devido a sua facilidade de medição, que pode ser a partir de uma estação meteorológica próxima ou no local de alocação dos animais.

O índice de temperatura e umidade (ITU) é uma medida que combina dois elementos do ambiente térmico, temperatura e umidade relativa do ar (NOAA, 1976). Desenvolvida inicialmente para humanos por Thom (1958), foi adaptada para bovinos por Berry et al (1964), e têm sido extensivamente utilizada para avaliar o índice de conforto térmico dos animais domésticos (JOHNSON et al., 1962). As unidades de ITU foram categorizadas em leve, moderado e grave para bovinos (WHITTIER, 1993; ARMSTRONG, 1994). Valores inferiores à 70 indicam condições normais, não estressantes; entre 71 e 78 são considerados valores críticos; entre 79 e 83 o índice indica perigo e acima de 83 constitui um alerta de emergência (MARTELLO et al., 2004). No entanto, diversos autores acreditam que esta classificação subestima o impacto do ITU sobre a produção e fisiologia da vaca, como o trabalho realizado pela Universidade do Arizona, Zimbelman et al (2010) verificaram que vacas leiteiras de alta produção começam a reduzir a produção de

leite com ITU próximo a 68. Esses dados corroboraram Collier et al (2009) que observaram o impacto no rendimento de leite e parâmetros fisiológicos ocorrendo em índices de ITU entre 64 e 72.

Em outro ensaio utilizando ITU entre 65 e 72 com média diária de 68, Collier et al (2009) indicaram que reduções significativas se tornam evidentes após 17h de exposição a ITU de 68, relatando perdas de 2,2 kg/leite/dia, e sugerindo que vacas com média de produção de 35 kg/leite/dia devem iniciar resfriamento à partir de ITU mínimo de 65 ou média diária de 68. Este fato pode ser explicado devido às vacas em estudo atualmente serem mais produtivas do que os animais avaliados nos anos 60, médias de 35 e 15 kg/leite dia, respectivamente. A maior especialização para produção leiteira foi acompanhada pelo aumento nas necessidades de nutrientes e na ingestão de alimento para suprir essa elevação na produção, tornando a vaca leiteira mais sensível ao calor (COLLIER et al., 2008).

2.2 Respostas fisiológicas ao estresse térmico

O principal termorregulador do organismo é o hipotálamo, e por uma série de mecanismos, realiza uma ativação hormonal e do sistema nervoso autônomo, com o intuito de preservar a integridade do organismo, mantendo a homeostase térmica. Em casos de estresse térmico persistente, a vaca leiteira utiliza mecanismos comportamentais, fisiológicos e bioquímicos como forma de eliminar o calor e manter o equilíbrio térmico (KADZERE et al., 2002). Como a prioridade é de manter a eutermia, nutrientes são desviados e a eficiência produtiva é comprometida. Assim a produção de leite torna-se secundária, já que existe gasto de energia para ativar alguns mecanismos fisiológicos, como a frequência cardíaca, ofegação, salivação excessiva e sudorese (OMAR et al., 1996; BLAZQUEZ et al., 1994), além de ocorrer a diminuição da alimentação.

A elevação na temperatura corporal se dá principalmente pelo gradiente de temperatura da pele e do ambiente, caso a umidade do ar esteja elevada, ocorre a redução da evaporação e a troca de temperatura com o ambiente é dificultada (WEST, 1994). A interação entre temperatura e umidade tem efeitos negativos sobre o rendimento de bovinos, impactando principalmente no consumo de alimento e na produtividade. Johnson et al. (1963) demonstraram que vacas consumiram menor quantidade de ração à medida que a temperatura ambiente sozinha ou a temperatura ambiente combinada com umidade do ar eram aumentadas, enquanto que as vacas expostas a altas temperaturas ambiente porém baixa umidade

apresentaram maior consumo. Os De modo semelhante, West et al (2003) também relataram que à medida que a temperatura retal se elevou, a produção de leite e a ingestão de nutrientes diminuíram, ocorrendo declínio da produtividade das vacas, demonstrando que com o aumento da temperatura e umidade do ar houve a redução na produção de leite e consumo de alimentos, provavelmente mediada pelo aumento na temperatura corporal.

Vacas em estresse térmico podem desenvolver problemas metabólicos como a alcalose respiratória e acidose ruminal, transtornos clínicos, como laminite, além de impactos na qualidade do leite, como a queda no teor de gordura do leite, entre outros (BAUMGARD et al., 2014).

A redução do pH ruminal ocorre pelo aumento da frequência respiratória que resulta na diminuição do dióxido de carbono (CO_2) na corrente sanguínea. Como o sistema tampão deve manter uma relação de 20:1 de bicarbonato (HCO_3^-)/dióxido de carbono (CO_2) no sangue, para esta relação ser mantida, os rins passam a excretar HCO_3^- , diminuindo suas concentrações, deixando de ser utilizado para o tamponamento e manutenção do pH do rúmen saudável via saliva. Com mais CO_2 saindo dos pulmões, sua concentração sérica é reduzida, tornando o pH do sangue mais alcalino, estabelecendo um quadro de alcalose respiratória. Por outro lado, o estresse calórico provoca a diminuição da ingestão de volumoso, que consequentemente diminui a ruminação, um dos principais estímulos para salivação. Além disso, as vacas estressadas pelo calor perdem grande quantidade de saliva ingerida, devido à respiração ofegante o que somado a redução das concentrações salivares de HCO_3^- , reduz a quantidade de agente tampão que entram no rúmen, aumentando o risco de acidose ruminal (BAUMGARD et al., 2014). Assim, a utilização de ferramentas para resfriar a vaca e o ajuste da dieta através do estímulo da produção de saliva e a ruminação, são estratégias para mitigar os impactos causados pelas altas temperaturas no período do verão na bovinocultura leiteira.

2.3 Comportamento animal

Os animais respondem ao estresse térmico por meio de alterações fisiológicas como aumento da atividade dos mecanismos de perda de calor (temperatura retal, frequência respiratória e temperatura do pelame) e comportamentais como redução nas funções de geração de calor (ingestão de alimentos e produção de leite) (ALMEIDA et al., 2011).

Com a capacidade de ajustar seu comportamento, os animais buscam situações que lhe sejam benéficas, e que demandem menor consumo de energia, alterando o comportamento ingestivo, optando por horários e alimentos que propiciem menor calor metabólico. De acordo com Pires & Campos (2008), no estresse calórico, as alterações de comportamento como o aumento no consumo de água, diminuição no consumo de alimentos e da ruminação são as mais observadas, assim como a maior procura por sombra. Van Soest (1994) relata que existe um padrão de comportamento ingestivo e que bovinos dividem sua atividades diária em 6 horas ingerindo alimentos, 8 horas ruminando e 10 horas diárias em ócio, como também tendem a se alimentar nas horas de temperaturas mais amenas, como no início da manhã e final da tarde. Kendall et al. (2006) avaliaram diferenças nos padrões desses comportamentos em bovinos leiteiros em ambientes com ou sem climatização e observaram que o comportamento dos animais submetidos ao estresse calórico foi afetado nas atividades de pastejo, ruminação e, conseqüentemente na produção e qualidade do leite.

Bovinos sob pastejo são mais afetados que animais em sistema intensivo confinado, pois a digestão de alimentos volumosos pode gerar maior incremento calórico, quando comparados com alimentos ricos concentrados (COLUMBIANO, 2007), já que alimentos com altos teores de FDN necessitam mais tempo de fermentação e ruminação (ADIN et al., 2009). Desta forma, quanto maior o teor de fibra na dieta mais rapidamente se observa alteração no consumo de alimento. O estresse térmico acarreta na preferência e seleção do concentrado pelo animal afetando o pH ruminal, pois ocorre maior formação de ácido propiônico e a possível produção de ácido láctico, o que pode gerar um quadro de acidose. Além de que a falta de fibra no rúmen reduz a ruminação e, conseqüentemente, a formação da saliva, agravando o quadro de acidose, somado ao menor aporte de saliva no rúmen devido ao animal permanecer mais tempo com a boca aberta e com salivacão intensa quando sente calor excessivo.

O ato de o animal selecionar o alimento interfere diretamente na composição do leite, acarretando na diminuição da concentração de sólidos totais e na quantidade de gordura. Menores teores de gordura do leite em ambientes quentes seriam devido a variação no consumo de forrageiras pelos animais. O menor consumo de volumosos provoca alteração na relação acetato/propionato, diminuindo a concentração de acetato, precursor na síntese de gordura pela glândula mamária,

reduzindo a porcentagem de gordura do leite.

Outro fator associado com as alterações na composição do leite é a modificação da digestibilidade dos nutrientes da dieta, já que a exposição do animal à diferentes temperaturas ambientais pode ocasionar mudança da motilidade intestinal, o que influencia a taxa de passagem da digesta. Além de que a motilidade do trato gastrointestinal também é reduzida pelo hipotireoidismo, e animais estressados pelo calor apresentam baixa função da tireoide (PORCCIONATTO, et al.; 2009). Com a redução da motilidade um menor fluxo de sangue é direcionado para o epitélio ruminal, a taxa de passagem no trato gastrointestinal é mais lento, refletindo na diminuição da ingestão e atividade ruminal (MOALLEM et al.; 2010).

A ruminação tem grande importância na saúde dos ruminantes, sendo essencial para proporcionar às bactérias do rúmen um maior acesso às partículas de alimento durante a fermentação microbiana e o descanso fisiológico (RADOSTITS et al., 2007), sendo sua diminuição um indicador de desconforto animal (SORIANI et al., 2013). Durante as atividades de ócio e ruminação a posição dos animais pode ser interpretada em relação à condição de conforto, uma vez que o mesmo prefere a posição deitada, o que lhe confere descanso fisiológico pleno. A permanência do animal em pé quando em ócio ou ruminando pode significar desconforto térmico, já que os animais procuram ficar com maior área de superfície corporal exposta, a fim de facilitar as trocas de calor (KENDALL et al., 2006; MATARAZZO et al., 2007).

Outro mecanismo utilizado para minimizar os efeitos do estresse por calor, é que os animais tendem a alterar seus horários de ingestão e ruminação, em virtude do calor produzido durante e após a alimentação, transferindo grande parte do consumo de ração para o turno da noite quando a perda de calor evaporativa do animal para o ambiente é mais eficiente. Este fato resulta em menor gasto energético durante o dia, produzindo menos calor metabólico nas horas mais quentes (AHARONI et al., 2005). Soriani et al. (2013) verificaram que 63% da atividade de ruminação ocorreu durante a noite em períodos de altas temperaturas e umidade, com picos de ruminação após períodos de ingestão. Os autores comentam ainda que a queda da ruminação pode ser um efeito negativo primário do alto índice de ITU, seguido da diminuição da ingestão de matéria seca, corroborando Moallem et al. (2010) que observaram que o aumento do ITU reduziu o tempo de ruminação, levando a um declínio da ingestão de alimento, seguido pela redução na síntese de leite.

De acordo com Broom & Molento (2004), o monitoramento do comportamento animal contribui de forma a diminuir ou evitar o estresse animal, indicando o estado de conforto. Desta maneira torna-se possível proporcionar um maior conforto aos animais pela melhora das condições em que estão submetidos, minimizando os impactos negativos do estresse.

2.4 Influência do estresse térmico sobre a produção leiteira

O mecanismo biológico pelo qual o estresse térmico afeta a produção e a reprodução é parcialmente explicada pela redução da ingestão de alimentos, mas também inclui alterações do estado endócrino, redução da ruminação e absorção de nutrientes, além do aumento dos requisitos de manutenção (COLLIER & BEEDE, 1985; COLLIER et al., 2005), resultando em uma diminuição líquida de nutrientes e energia disponível para produção. Também é observado menor fluxo sanguíneo para o interior do corpo, que é desviado para regiões mais periféricas aumentando a vasodilatação na tentativa de dissipar a carga de calor excessiva. Essas mudanças resultam na redução do suprimento de sangue para os órgãos internos, incluindo o estômago (WEELLOCK et al., 2010), que por sua vez, diminui o fluxo plasmático da veia porta reduzindo assim a absorção de nutrientes (BAUMGARD et al., 2011).

Existem diferenças genéticas para tolerância ao calor, demonstrando que bovinos *Bos taurus indicus* apresentam maior tolerância devido a maior capacidade de transpiração e taxa metabólica baixa do que o *Bos taurus taurus*. Também pode-se observar diferenças na tolerância ao calor em relação a categoria animal, devido a quantidade de ingestão de alimento em virtude do tamanho corporal e da atividade metabólica (IGONO et al., 1985).

Com a redução da ingestão de alimento de animais submetidos a altas temperaturas também ocorre a diminuição do aporte de glicose, sendo que a glândula mamária requer glicose para sintetizar a lactose do leite. Além disso a lactose é o osmorregulador primário, determinando assim o volume total de leite. Se a glândula mamária não receber quantidades de glicose necessária, como resultado, a produção de lactose e, subsequentemente, a produção de leite é reduzida.

Embora difíceis de quantificar acredita-se que o impacto do estresse térmico nos custos da produção da cadeia produtiva do leite seja de um aumento de 25% a 30% (NRC, 1989; FOX & TYLUTK, 1998).

2.4.1 Alterações metabólicas

Para termos uma maior compreensão das alterações metabólicas que acometem vacas em estresse térmico é necessário compreender os mecanismos poupadores de glicose que são empregados em vacas em balanço energético negativo (BEN) em termoneutralidade. O BEN está associado a uma série de alterações metabólicas implementadas para suportar a condição fisiológica da lactação e crescimento (BAUMAN & CURRIE, 1980), tanto no metabolismo de carboidratos como no de lipídios, assegurando a partição dos nutrientes e derivados de tecidos para a glândula mamária e muitas destas alterações são mediadas por somatotropina endógena que aumenta naturalmente durante períodos de BEN.

O BEN implica na redução da sensibilidade à insulina, que está associada a uma diminuição da circulação de insulina no sangue (RHOADS et al., 2004). Desta forma, acarretando na redução da ação da insulina que ativa a lipólise, levando à mobilização de ácidos graxos não esterificados (AGNE) (BAUMAN & CURRIE, 1980), promovendo mobilização de tecido adiposo, acentuando o efeito lipolítico, resposta aos sinais β -adrenérgicos e a inibição de lipogênese e da utilização de glicose (BAUMAN & VERNON, 1993).

A maior circulação de AGNE é típica em vacas no início de lactação e/ou desnutrição. Uma vaca em termoneutralidade em BEN poderia ser considerada metabolicamente flexível porque os tecidos extra mamários podem depender de combustíveis alternativos (isto é, AGNE e cetonas) para poupar a glicose, que pode ser utilizada pela glândula mamária para priorizar a produção de leite (BAUMGARD & RHOADS, 2013). O que parece não ocorrer em vacas em estresse térmico, caracterizada principalmente pelos baixos níveis de AGNE (RHOADS et al., 2009).

O fato de vacas em estresse térmico não conseguirem ativar mudanças no metabolismo energético (apesar da ingestão inadequada de nutrientes), pode indicar que o estresse térmico age diretamente (não mediado pelo consumo de ração) no metabolismo, não sendo capaz de mobilizar tecido adiposo, apesar de perderem peso e entrarem em balanço energético negativo (SHOCKART et al., 2009). Devido a isso, durante o estresse térmico as vacas em lactação são forçadas a utilizarem glicose como combustível principal (ostensivamente para que mantenham a eutermia), e o uso da glicose passa ser desestimulado para a síntese de leite.

2.4.2 Metabolismo de lipídios

Os efeitos do estresse térmico sobre metabolismo pós-absortivo dos lipídios não foram completamente elucidados. As concentrações de AGNE, produto de mobilização de lipídeos, são tipicamente reduzidos em ovinos e bovinos em estresse térmico, apesar das acentuadas reduções no consumo (SANO et al., 1983, RONCHI et al., 1999, SHWARTZ et al., 2009). As alterações no metabolismo lipídico pode ser o resultado de concentrações aumentadas de insulina e/ou aumento da sensibilidade à insulina, já que a insulina é um potente hormônio lipogênico e antilipolítico (VERNON, 1992).

O aumento da insulina circulante durante o estresse por calor é incomum, uma vez que os animais desnutridos estão em estado catabólico e apresentam níveis de insulina diminuídos. O aumento da ação da insulina também pode explicar porque os animais submetidos a estresse térmico aumentaram as taxas de eliminação da glicose (WHEELOCK et al., 2010). Embora haja reduções na ingestão de matéria seca, o estresse térmico aumenta a sensibilidade à insulina e as concentrações basais de insulina em diversas espécies, roedores (DESOUZA & MEIER, 1993), suínos (HALL et al., 1980), novilhos em crescimento (O'BRIEN et al., 2010) e vacas em lactação (ITOH et al., 1998). Além disso, as ovelhas com estresse térmico (ACHMADI et al., 1993), bovinos em crescimento (O'BRIEN et al., 2010) e vacas em lactação (WHEELOCK et al., 2010) têm um aumento na resposta insulínica a um teste de tolerância à glicose. No geral, as informações disponíveis indicam que os animais submetidos a estresse térmico têm uma capacidade limitada para mobilizar o tecido adiposo e, assim, são incapazes de manter os mecanismos necessários para suportar a flexibilidade metabólica da seleção de combustível o que acarreta ao final em perdas produtivas.

2.4.3 Metabolismo de carboidratos

O estresse por calor parece alterar a energia celular e essas adaptações metabólicas parecem aumentar a probabilidade de sobrevivência com aumento de uma carga de calor. Lee & Scott (1916) levantaram a hipótese de que o uso do músculo esquelético como substrato para produção de energia é necessário para diminuir a produção de calor. O fígado desempenha um papel central na partição de nutrientes de todo o corpo através da coordenação do destino dos nutrientes exógenos e endógenos. Durante períodos de estresse térmico, a produção de glicose hepática aumenta, como resultado do aumento da glicogenólise (FEBBRAIO,

2001) e aumento da gliconeogênese (COLLINS et al., 1980). A produção hepática de glicose diminui tipicamente após a ingestão de carboidratos. Contudo, os açúcares exógenos são incapazes de reduzir a produção de glicose hepática induzida pelo estresse térmico (ANGUS et al., 2001). Coletivamente, esses estudos parecem indicar que os tecidos periféricos aumentam sua dependência da glicólise e a capacidade do fígado para fornecer glicose aos tecidos sistêmicos permanece intacta.

2.4.4 Metabolismo de proteínas

Vacas em estresse por não utilizarem das reservas de gordura corporal, parecem mobilizar a proteína do corpo (degradação muscular) e usam aminoácidos como fonte de energia para a produção de glicose (BAUMGARD & RHOADS, 2013). Os mecanismos de síntese de proteínas musculares e a capacidade sintética de RNA e DNA são reduzidos por hipertermia ambiental (STREFFER, 1982). Os aminoácidos provindos do músculo esquelético são mobilizados durante períodos de ingestão inadequada ou doença para fornecer substratos em apoio do metabolismo energético. Durante as condições de estresse por calor, evidências indicam que o músculo esquelético ativa a proteólise. Entretanto, não está claro se este é um resultado de catabolismo ou danos musculares induzidos pelo calor e proteólise. Trabalhos demonstraram que os suínos com estresse térmico (PEARCE et al., 2013), vacas (SHWARTZ et al., 2009) e novilhas (RONCHI et al., 1999) aumentaram as concentrações plasmáticas de ureia em comparação com as termoneutras. A ureia plasmática pode ser difícil de interpretar, pois provém de pelo menos duas fontes, dependendo das espécies: ineficiência da incorporação de amônia ruminal na proteína microbiana ou desaminação hepática de aminoácidos, seja da dieta ou mobilizada a partir do músculo esquelético. A evidência adicional indicando que o estresse de calor afeta diretamente o metabolismo de proteína é a diminuição dos níveis de proteína de leite de vacas com estresse térmico (RHOADS et al., 2009; SHWARTZ et al., 2009) e parece que a síntese de caseína α e β é mais susceptível (BERNABUCCI et al., 2002). A redução da síntese proteica combinada com indicações aumentadas de quebra muscular durante o estresse térmico é desconcertante porque o aumento da insulina plasmática, normalmente observado durante o estresse térmico, impede o catabolismo muscular.

2.5 Estratégias nutricionais para reduzir os efeitos do estresse térmico

Algumas estratégias nutricionais podem ser aplicadas durante o estresse por calor para melhorar o conforto térmico dos animais e minimizar a redução de consumo de ração. O aumento dos níveis de energia e nutrientes disponíveis na dieta é uma delas. Além disso, reduzir o incremento calórico com a redução no teor de fibra pode melhorar o equilíbrio térmico e reduzir a temperatura corporal. Os ionóforos e suplementos específicos para períodos de estresse térmico são alternativas, que também visam um maior aporte de nutrientes e melhora na funcionalidade do rúmen, diminuindo o incremento calórico, aumentando o pH e elevando a produção de propionato. Abordaremos algumas alternativas mais difundidas para mitigar os efeitos negativos do estresse térmico na produção leiteira.

2.5.1 Fibra

A digestão e o metabolismo da fibra produz um maior incremento calórico que alimentos concentrados (VAN SOEST et al., 1991). Uma estratégia comum para diminuir a carga de calor provinda da digestão é a substituição nos níveis de fibra da dieta por carboidratos não fibrosos (CNF) e nutrientes com maior densidade energética (como adição de gorduras). No entanto, é essencial uma dieta com níveis mínimos de fibra (FDN mínimo 25% da matéria seca) (NRC, 2001), para que a saúde do rúmen se mantenha. Também a alta qualidade da forragem contribui para a manutenção do consumo, tendo em vista, que vacas em estresse térmico estão propensas a acidose ruminal.

2.5.2 Suplementação com gordura

A suplementação de gordura inerte no rúmen, provavelmente é uma das mais difundidas técnicas para fornecer energia extra e segura no que diz respeito à saúde ruminal durante o estresse térmico, visando reduzir a produção basal de calor metabólico. Se comparar, a gordura é a fonte de energia que gera o menor incremento calórico (VAN SOEST, 1982), em torno de 50% menos calor que a maioria das forrageiras. No entanto, são poucos os estudos que citam seu impacto na produção leiteira e temperatura corporal de vacas em estresse térmico. Porém, sua utilização na dieta de vacas em estresse térmico como estratégia para períodos quentes é válida, visto o benéfico aumento da densidade energética da dieta, minimizando o impacto da redução de consumo de matéria seca. Embora a

alimentação com gorduras seja benéfica à produção de leite em condições quentes (HUBER, 1996), existe um limite ao qual a gordura pode ser incorporada na dieta, porque a alimentação com adição de gorduras, óleos e By-pass pode diminuir a digestão das fibras e reduzir a IMS (BAUMAN et al., 2008).

2.5.3 Monensina

A monensina tem sido utilizado na produção ruminal de precursores de glicose, pode ser uma estratégia eficiente para manter a produtividade, além de ser um método seguro e efetivo de maximizar a produção de propionato ruminal, que também contribui para aumentar o pH ruminal durante condições de estresse térmico. Este efeito se dá através da diminuição das concentrações de ácido acético e por prover propionato para a produção de glicose pelo fígado (BAUMGARD et al., 2011).

A produção de propionato pode aumentar em 50 a 70% dependendo da dieta basal (VAN MAANEN et al. ;1978) e a de metano pode ser reduzida em até 30% (SCHELLING, 1984; MACKINTOSH et al., 1997). A monensina age em microorganismos gram-positivos, ligando-se a parede da célula e facilitando a troca sódio (Na^+) e potássio (K^+) entre o citoplasma e o líquido ruminal, o que faz com que íons de hidrogênio (H^+) tenham acesso ao citoplasma para manter a eletroneutralidade, levando à redução do pH celular. Há bactéria reage esta acidose celular expelindo o excesso de H^+ através da bomba ATPase, ocorrendo gasto de energia e acaba a diminuir sua multiplicação ou a levando a morte, diminuindo assim a produção de metano, já que redireciona o fluxo de carbono (C) e hidrogênio (H^+) da síntese de metano, levando a uma maior produção de propionato. O aumento na produção de propionato aumenta a energia disponível para a síntese do leite e pode melhorar a síntese de glicose pelo animal, a qual pode influenciar a produção de leite por ser um precursor para a síntese da lactose. Efeitos indiretos do aumento da glicose incluem: menor utilização de aminoácidos para gliconeogênese, alteração no status hormonal que pode alterar a partição de nutrientes e a produção e os componentes do leite.

2.5.4 Leveduras

As leveduras como, por exemplo, (*Saccharomyces cerevisiae*) são probióticos resistentes, com alta viabilidade sob uma variedade de condições ambientais, e

podem ser facilmente cultivadas (TRIPATHI et al., 2008). As culturas de leveduras podem modificar a fermentação ruminal, principalmente pelo fornecimento de fatores estimulantes do crescimento e metabolismo bacteriano (ácidos dicarboxílicos, principalmente o ácido málico) e pelo consumo do oxigênio do ambiente ruminal (MARTIN & NISBET, 1992). Foi demonstrado por Guedes et al. (2008) que a levedura diminuiu a concentração de lactato, a razão acetato/propionato, além de ser capaz de impedir a queda do pH ruminal.

2.5.5 Água e Minerais

O consumo de água aumenta em consequência do aumento da temperatura, devido à perda de água pelo suor e pela vaporização, com os movimentos respiratórios mais rápidos, que são esforços que visam à diminuição de temperatura pela vaca. A água é indiscutivelmente o nutriente mais importante para a vaca leiteira e sua ingestão está intimamente relacionada com a IMS. A temperatura ambiental influencia diretamente no consumo de água (MURPHY et al., 1983). A ingestão de água aumentou 1,2 kg/°C de aumento da temperatura ambiente mínima, mas independentemente da taxa de aumento, água abundante deve estar disponível em todos os momentos sob condições quentes (WEST, 2003). É necessário fornecer água limpa, em quantidade ilimitada, em locais sombreados, não muito distantes.

Durante o tempo quente, declínio na ingestão de alimento e alta demanda da lactação requer aumento da concentração de minerais na dieta. No entanto, alterações no metabolismo mineral também afetam o estado eletrolítico da vaca durante o tempo quente. Diferentemente dos humanos, os bovinos utilizam o K^+ como seu regulador osmótico primário de secreção de água pelas glândulas sudoríparas. Como consequência disso, os requisitos de K^+ são maiores (1,4 a 1,6% da MS) durante o verão, e isso deve ser ajustado na dieta. Além disso, os níveis dietéticos de Na^+ e magnésio (Mg^{2+}) devem ser aumentados, uma vez que eles competem com o K^+ pela absorção intestinal. Dietas com níveis de minerais recomendadas para períodos de alta temperatura podem ser fornecidas antes do verão, assim, o mineral estará disponível para quando o necessitar. Pesquisas indicam que o uso de tampões contendo K^+ e Na^+ é preferível aos sais de cloreto. Também, é necessário o ajuste da quantidade de suplementação mineral e de vitaminas para vacas de consumo reduzido, a fim de garantir o consumo adequado.

Modificações nutricionais para atender às necessidades de nutrientes variáveis são necessárias para ajustar o impacto do estresse térmico devido à IMS reduzida e aos requisitos de nutrientes alterados.

2.5.6 I.C.ETM (Internal Cooling Element)

A empresa de nutrição animal Cargill desenvolveu o I.C.E.TM (Internal Cooling Elements). É uma tecnologia obtida partir da combinação dos principais ingredientes nutricionais, incluindo um componente osmótico que auxilia na hidratação do animal. O I.C.E.TM trabalha a nível celular para manter a integridade estrutural das proteínas sensíveis a alterações de temperatura corporal. Em trabalho realizado no Brasil pela Universidade Federal de Lavras (2011), vacas leiteiras suplementadas com I.C.ETM, apresentaram menor temperatura corporal, quando comparadas com o grupo sem suplementação com médias de 38,67 e 38,87°C (P<0,01), respectivamente. Esses resultados corroboram um ensaio anterior de 2009, realizado no verão do Texas (EUA) em rebanho leiteiro comercial, onde vacas suplementadas com I.C.ETM apresentaram maior taxa de prenhez do que os animais não suplementados (PROVIMI, 2015).

A finalidade de investigar o manejo nutricional focado para períodos quentes do ano, através da utilização de suplementação com I.C.ETM é de minimizar os efeitos do estresse térmico, porém existe falta de informação sobre sua eficiência na produção leiteira no Rio Grande do Sul. Outro ponto relevante, é que o Estado tem o desempenho do rebanho leiteiro afetado nos períodos mais quentes do ano, em especial no período de verão o que salienta para necessidade de novas estratégias de manejo e nutricionais para mitigar estes efeitos. Desta forma salienta-se a necessidade de investigar parâmetros produtivos, fisiológicos, metabólicos e comportamentais de vacas da raça holandês suplementadas com I.C.ETM, durante períodos de alta temperatura e umidade.

Referências

- ACHMADI, J. et al. Pancreatic insulin secretory response and insulin action in heat exposed sheep given a concentrate or roughage diet. **Domestic Animal Endocrinology**, 10:279–287, 1993.
- ADIN, G. et al. Effect of feeding cows in early lactation with diets differing in roughage neutral detergent fiber content on intake behavior, rumination, and milk production. **Journal Dairy Science**, 92:3364–3373, 2009.
- AHARONI, Y. et al. Night feeding for highyielding dairy cows in hot weather: effects on intake, milk yield and energy expenditure. **Livestock Production Science**. 92:207–219, 2005.
- ALMEIDA, G. L. P. et al. Uso do sistema de resfriamento adiabático evaporativo no conforto térmico de vacas da raça girolando. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.15, p.754-760, 2011.
- ARMSTRONG, D.V. Heat stress interaction with shade and cooling. **Journal Dairy Science**, 77:2044–50, 1994.
- ANGUS, D.J. et al. Effect of carbohydrate ingestion on glucose kinetics during exercise in the heat. **Journal Applied Physiology**, 90:601–5, 2001.
- BAUMAN, D. E. & CURRIE, W. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. **Journal Dairy Science**. 63:1514–1529, 1980.
- BAUMAN, D.E. & VERNON, R.G. Effects of exogenous bovine somatotropin on lactation. **Annual Review Nutrition**, 13:437–61, 1993.
- BAUMAN, D.E. et al. Regulation of fat synthesis by conjugated linoleic acid: Lactation and the ruminant model. **Journal of Nutrition**, v.138, n.2, p.403-409, 2008.
- BAUMGARD, L, H. et al. Post absorptive carbohydrate adaptations to heat stress and monensin supplementation in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, 94:5620-33, 2011.

BAUMGARD, L. H. & RHOADS, R. P. Effects of heat stress on postabsorptive metabolism and energetics. **Annual Review Animal Biosciences**. 1:311–337, 2013.

BAUMGARD, L. H. et al. Feeding and Managing Cows to Minimize Heat Stress. Tri-State Dairy Nutrition Conference 63-74. April 14-16, 2014

BERNABUCCI, U. et al. Markers of oxidative status in plasma and erythrocytes of transition dairy cows during hot season. **Journal of Dairy Science**, 85, 2173–2179, 2002.

BERNABUCCI, U.B. et al. Influence of body condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, 88:2017-2026, 2005.

BERRY, I.L. et al. Dairy shelter design based on milk production decline as affected by temperature and humidity. **Transactions of the American Society of Agricultural Engineers**, 7:329-331, 1964.

BLAZQUEZ, N.B. et al. Rate of discharge and morphology of sweat glands in the perineal, lumbodorsal and scrotal skin of cattle. **Research in Veterinary Science**, 57, 277–284, 1994.

BROOM, D. M. & MOLENTO, C. F. M. Bem-estar animal: conceito e questões relacionadas - revisão. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 9, n. 2, p. 1-11, 2004.

COLLIER, R. J. & BEEDE, D. **Thermal stress as a factor associated with nutrient requirements and interrelationships**. Pages 59–71 in Nutrition of Grazing Ruminants. L. McDowell, ed. Academic Press, New York, NY, 1985.

COLLIER, R. J. et al. **Physiological limitations, nutrient partitioning**. Pages 351–377 in Yields of Farmed Species: Constraints and Opportunities in the 21st Century. Proc. 61st Easter School. Nottingham University Press, Nottingham, U.K, 2005.

COLLINS, F. G. et al. Effect of palmitate on hepatic biosynthetic functions at hyperthermic temperatures. **Metabolism Clinical and Experimental**, 29:524–531, 1980.

COLUMBIANO, V.S. **Identificação de QLT nos cromossomos 10, 11 e 12 associados ao estresse calórico em bovinos**. 2007. 60p. Dissertação (Mestrado em Genética e melhoramento Animal). Universidade Federal de Viçosa. Minas Gerais, 2007.

DESOUZA, C. J. & MEIER, A. H. Alterations in body fat stores and plasma insulin levels with daily intervals of heat exposure in Holtzman rats. **American Journal Physiology**. Reg. Integr. Comp. Physiol. 265:1109–1114, 1993.

FEBBRAIO, M.A. Alterations in energy metabolism during exercise and heat stress. **Sports Medicine**, 31:47–59, 2001.

FOX, D.G. & TYLUTK, T.P. Accounting for the effects of environment on the nutrient requirements of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, 81:3085–89, 1998.

GUEDES, C. et al. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* yeast on ruminal fermentation and fibre degradation of maize silages in cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 145, n. 1 -4, p. 27-40, 2008.

HALL, G. M. et al. Porcine malignant hyperthermia. VII: Hepatic metabolism. **British Journal of Anaesthesia**, 52:11–17, 1980.

HUBER, J. T. **Amelioration of heat stress in dairy cattle**. Pages 211–243 in Progress in Dairy Science. C. J. C. Philips, ed. CAB Int., Wallingford, UK, 1996.

IBGE. **Produção da Pecuária Municipal**. Vol. 43, Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2015.

IGONO, M. O. et al. Spray cooling effects on milk production, milk, and rectal temperatures of cows during a moderate temperate summer season. **Journal of Dairy Science**, 68:979–985, 1985.

INSTITUTO GAÚCHO DO LEITE (IGL); EMATER, Rio Grande do Sul/ASCAR. **Relatório Socioeconômico da cadeia produtiva do leite no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre/RS: Emater/RS – Ascar, p.66, 2015.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA (INMET). Sisdagro - Conforto térmico em bovino. Disponível em:
<http://sisdagro.inmet.gov.br:8080/sisdagro/app/climatologia/confortotermicobovino>. Acesso em: 03 nov. 2015.

ITOH, F. et al. Insulin and glucagon secretion in lactating cows during heat exposure. **Journal of Animal Science**, 76:2182–2189, 1998.

JOHNSON H. D. et al. **Effects of various temperature–humidity combinations on milk production of Holstein cattle**. Research Bulletin no. 791. University of Missouri, College of Agriculture, Agricultural Experimental Station, MO, USA, 1962.

JOHNSON, H. D. et al. Temperature-humidity effects including influence of acclimation in feed and water consumption of Holstein cattle. University Missouri, **Agricultural Experiment Station Research Bulletin**, 846. Columbia, 1963.

KADZERE, C.T. et al. Heat stress in lactating dairy cows: a review. **Livestock Production Science**, 77:59–91, 2002.

KENDALL, P. E. et al. The effects of providing shade to lactating dairy cows in a temperate climate. **Livestock Production Science**, 103:148–157, 2006.

LEE, F. S. & SCOTT, E. L. The action of temperature and humidity on the working power of muscles and on the sugar of the blood. **American Journal Physiology**, 40:486–501, 1916

MARTELLO, L. S. et al. Avaliação do microclima de instalações para gado de leite com diferentes recursos de climatização. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 263-273, 2004.

MARTIN, S. A & NISBET, D. J. Effect of direct-fed microbials on rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 6, p. 1736-1744, 1992.

MATARAZZO, S. V. et al. Monitoramento eletrônico das respostas comportamentais de vacas em lactação alojadas em *freestall* climatizado. **Revista Brasileira de Biosistemas**, v.1, p.40-49, 2007.

MOALLEM, U. et al. Performance of high-yielding dairy cows supplemented with fat or concentrate under hot and humid climates. **Journal of Dairy Science**, 93:3192–3202, 2010.

MURPHY, M. R. et al. Factors affecting water consumption by Holstein cows in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 66, p. 35-38, 1983.

NOAA. **Livestock hot weather stress**. United States Dept. of Commerce, Natl. Oceanic and Atmospheric Admin., Natl. Weather Service Central Region. Regional Operations Manual Letter C-31-76, 1976.

N.R.C. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. Washington, DC: Natl. Acad. Press. 6th ed, 1989.

NRC. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC, 2001.

O'BRIEN, M. D. et al. Metabolic adaptations to heat stress in growing cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, 38:86–94, 2010.

OMAR, E.A. et al. Effect of water spray followed by forced ventilation on some physiological status and milk production of post calving Friesian cows. **Alexandria Journal Agricultural Research**, 4, 71–81, 1996.

PEARCE, S. C. et al. Effects of heat stress on energetic metabolism in growing pigs. **FASEB J.** 25:1052.5. (Abstr.), 2011.

PINARELLI, C. **The effect of heat stress on milk yield**. Latte, Milan, v. 28, n. 12, p. 36-38, 2003.

PIRES, M. F. A & CAMPOS, A. T. **Conforto Animal para maior produção de leite**, Viçosa-MG, CPT, 254p. 2008.

PORCIONATTO, M.A.F. et al. Influência do estresse calórico na qualidade e na produção de leite. **Revista Acadêmica: Ciência Agrária Ambiental**, v. 7, n. 4, p. 483-490, 2009.

PROVIMI. I.C.ETM – an innovative specialty to assist cow in heat stress conditions. Disponível em:

<http://www.provimi.com/wcm/groups/public/@canweb/@provimi/@global/@all/documents/document/na3069604.pdf>. Acesso em: 15 mai. 2015.

RADOSTITS, O. M. et al. 10th.ed. In **Veterinary Medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs and Goats**. Saunders Ltd., Philadelphia, PA, p. 298, 2007.

RAVAGNOLO, O. & MIZTAL, I. Genetic component of heat stress in dairy cattle, parameter estimation. **Journal of Dairy Science**, 83(9):2126-30, 2000.

RHOADS, R.P. et al. Insulin increases the abundance of growth hormone receptor in liver and adipose tissue of periparturient dairy cows. **Journal Nutrition**, 134:1020–27, 2004.

RHOADS, M.L. et al. Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I. Production, metabolism and aspects of circulating somatotropin. **Journal of Dairy Science**, 92:1986–97, 2009.

ROBINSON, N. E.; **Homeostase, Termorregulação**. In: CUNNINGHAM, J. G.; Tratado de Fisiologia Veterinária. 3. Ed, 550 561. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2004.

RONCHI, B. et al. Distinct and common effects of heat stress and restricted feeding on metabolic status of Holstein heifers. **Zoot. Nutr. Anim.** 25:11-20, 1999.

SANO, H. et al. Turnover and oxidation rates of blood glucose and heat production in sheep exposed to heat. **Journal of Dairy Science**, 66, 856–861, 1983.

SCHELLING, G. T. Monensin mode of action in the rumen. **Journal of Animal Science**. 58:1518–1527, 1984.

SHWARTZ, G. et al. Effects of a supplemental yeast culture on heat stressed lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, 92:935–42, 2009.

SORIANI, N. et al. Rumination time during the summer season and its relationships with metabolic conditions and milk production. **Journal of Dairy Science**, 96:5082–5094, 2013.

STREFFER, C. **Aspects of biochemical effects by hyperthermia**. Natl. Cancer Inst. Monogr. 61:11–17, 1982.

THOM, E.C. **Cooling degree days**. Air Conditioning, Heating and Ventilating 55:65-69, 1958.

TRIPATHI, M. K. et al. Effect of different liquid cultures of live yeast strains on performance, ruminal fermentation and microbial protein synthesis in lamb. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 92, n. 6, p. 631-639, 2008.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. Cornell University Press, Ithaca, NY, 1982

VAN SOEST, P. J. et al. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, 74:3583-3597, 1991.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. 2nd ed. Cornell Univ. Press, Ithaca, NY, 1994.

VERNON, R. G. Effects of diet on lipolysis and its regulation. **Proceedings of the Nutrition Society**, 51:397–408, 1992.

WEST, J. W. Interactions of energy and bovine somatotropin with heat stress. **Journal of Dairy Science**, 77:2091–2102, 1994.

WEST, J.W. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, 86:2131-2144, 2003.

WHEELLOCK, J.B. et al. Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, 93:644–55, 2010.

WHITTIER, J.C. **Hot weather livestock stress**. Univ. Missouri. Ext. Bull G2099. Mt. Vernon, 1993.

ZIMBELMAN, R.B. et al. **A re-evaluation of the impact of temperature humidity index (THI) and black globe humidity index (BGHI) on milk production in high producing dairy cows**. Proceedings of the Southwest Nutrition Conference (ed. RJ Collier), pp. 158–169. Retrieved February 2, 2009.

3 Capítulo 1

Desempenho de vacas da raça Holandês suplementadas com I.C.E™ durante o verão no Sul do Brasil

3.1 Introdução

Apesar dos avanços atingidos em ambientação e sistemas de resfriamento animal, o estresse térmico é um evento que gera ao ano milhões de dólares em prejuízo ao setor leiteiro (ST. PIERRE et al., 2003) e tem sido alvo de inúmeras pesquisas nas últimas décadas. Em virtude do impacto direto e indireto ao setor, os fatores que contribuem para reduzir a receita incluem a diminuição ingestão de alimentos e na síntese de leite, aumento nas necessidades de manutenção e alterações nos processos metabólicos, queda na eficiência alimentar e reprodutiva alteração de comportamento além de tornar o animal mais susceptível á doenças (TUCKER et al., 1988; RHOADS et al., 2009).

No Brasil prevalece o clima tropical, com algumas áreas de clima subtropical, tornando o estresse térmico um fator importante na problemática dos índices produtivos de rebanhos leiteiros. Uma maneira de avaliar as condições ambientais em que os animais estão submetidos é utilizando o índice de temperatura e umidade (ITU), devido a fácil aplicação da metodologia (BERNABUCCI et al., 2014). O índice é expresso como um único valor que representa os efeitos combinados de temperatura e umidade do ar. Alguns estudos demonstram que a produção de leite começa a reduzir quando ITU atinge 72 (JOHNSON, 1985; DU PREEZ et al., 1990; ARMSTRONG, 1994). No entanto, o nível de interferência vem sendo constantemente revisto, já que quanto maior a produção de leite, maior é a sensibilidade da vaca ao estresse térmico (KADZERE et al., 2002). Purwanto et al.; (1990) demonstrou que quando a produção de leite é aumentada de 35 para 45 kg/dia, a temperatura limiar para estresse térmico é reduzida em 5 °C (BERMAN, 2005). Em estudo realizado por Zimbelman et al. (2009) foi verificado uma redução na produção de leite em ITU de aproximadamente 68, para vacas leiteiras de alto desempenho.

Em trabalhos realizados por Rhoads et al. (2009) e Wheelock et al. (2010) foi verificado que a redução no consumo de alimento induzida pelo calor representa 50% de diminuição na síntese do leite. Reforçando assim a teoria de que o estresse térmico teria impacto na produção de leite por outros mecanismos, que não apenas sobre o consumo (BAUMGARD et al., 2012). Alteração no perfil endócrino com mudanças na circulação de hormônios anabólicos, com destaque para a insulina, certamente contribuem para a redução do desempenho zootécnico dos animais (COLLIER et al., 2005; BERNABUCCI et al., 2010; BAUMGARD & RHOADS, 2011).

Além disso, a sinalização intracelular vias responsáveis para fins de manutenção, produtividade e sobrevivência são marcadamente afetadas pelo estresse por calor (COLLIER et al. 2008).

O estresse térmico também afeta o metabolismo pós-absortivo das proteínas, (SCHMIDT et al., 1967; CLOSE et al., 1971; LU et al., 2007), sendo que os mecanismos de síntese de proteínas musculares e a capacidade de síntese de RNA/DNA são reduzidos pela hipertermia ambiental (STREFFER, 1982.), e aparentemente ocorrem efeitos semelhantes em relação à síntese mamária de alfa e beta-caseína (BERNABUCCI et al., 2002). O catabolismo do músculo esquelético também está claramente aumentado durante o estresse térmico através do uso de marcadores (BIANCA, 1965; YUNianto et al., 1997; WHEELLOCK et al., 2010). Um destes marcadores é a ureia que é sintetizada pelo fígado em quantidades proporcionais à concentração de amônia produzida no rúmen e sua concentração está diretamente relacionada à proporção energia/proteína da dieta e aos níveis proteicos da ração. As concentrações plasmáticas de ureia são quase dobradas nas vacas em lactação sob estresse térmico. Wheelock et al. (2010) sugeriram que o rápido aumento do nitrogênio ureico no plasma seria devido ao aumento da desaminação hepática de aminoácidos e/ou subproduto da proteólise do músculo esquelético. Outro marcador importante do metabolismo proteico é a albumina uma proteína sintetizada exclusivamente pelo fígado, sendo o principal constituinte da proteína total, considerada o indicador mais sensível para determinar o *status* nutricional proteico (PAYNE & PAYNE, 1987). Os níveis de albumina são reduzidos em doenças crônicas do fígado, a desnutrição ou estado de catabolismo de proteína também pode levar a uma hipoalbuminemia.

Acidose é um dos muitos efeitos duradouros do estresse por calor (laminite, baixo teor de gorduras do leite, etc.). Ela pode ser explicada pelo aumento da taxa de respiração, resultado do aumento da exalação de dióxido de carbono (CO₂). A fim de manter o sistema de tamponamento do pH do sangue eficaz. Porém em decorrência da hiperventilação induzida diminuição no CO₂ do sangue, o rim secreta HCO₃⁻ para manter esta proporção. Isso reduz a quantidade de HCO₃⁻ que pode ser usado (via saliva), para amortecer e manter um pH saudável do rúmen. Além disso, a vaca estressada pelo calor rumina menos (devido a ingestão reduzida de alimentos e aumento do tempo transpiração), e a ruminação é o estimulador chave da produção de saliva. Durante o estresse térmico a metabolização de alguns

minerais são também afetados (Na^+ , K^+ e Cl^-). A concentração de K^+ e Na^+ diminui à medida que a temperatura aumenta, enquanto que o Cl^- aumenta, provocando uma redução na excreção de H^+ e na reabsorção de HCO_3^- pelos rins. Concomitante a isso as vacas apresentam perda de saliva excessiva que é rica em tampão de sódio e fósforo.

Existem diversas estratégias nutricionais a considerar durante o estresse por calor, como o aumento na densidade energética e de nutrientes (redução da fibra, adição concentrado e gordura). A redução do conteúdo fibra da dieta é uma estratégia para melhorar o equilíbrio térmico da vaca e reduzir a temperatura corporal. Tomando-se cuidado com o aumento do concentrado na dieta para evitar acidose, além de considerar sua digestão gera um incremento calórico maior quanto comparado com o concentrado (VAN SOEST et al., 1991). Assim, o recomendado seria utilizar uma forragem de alta qualidade, assim mantendo o consumo e a saúde do rúmen Grant (1997), além de manter a produção de leite e teor de gordura em níveis ótimos.

Outra estratégia para minimizar os efeitos da ingestão reduzida de ração seria aumentar os níveis de proteína nas dietas durante o estresse térmico (WEST, 1999). Contudo, existem inconsistências na literatura sobre os benefícios e malefícios do aumento da proteína e da sua solubilidade (HUBER et al., 1994). Em trabalho realizado por Arieli et al. (2006) relataram efeitos negativos do aumento da proteína degradável rúmen, durante o calor. Uma possível razão porque as dietas com proteínas altamente degradáveis parecem ser prejudiciais durante o estresse térmico é que tanto a motilidade ruminal como a taxa de passagem diminuem. Isto permite um maior tempo de permanência e, conseqüentemente, uma degradação proteica mais extensa (LINN, 1997).

O aumento dos níveis de energia da dieta é outra estratégia, através da introdução de gordura dietética. Isso se deve pela menor produção de calor metabólico basal da gordura, que possui 50% a menos de incremento calórico (BAUMGARD et al., 2014). Entretanto o aumento de gorduras, por vezes, pode diminuir a ingestão de matéria seca em vacas térmicas neutras (CHILLARD, 1993), mas essa redução não é normalmente observada em vacas em estresse térmico.

A utilização de ionóforos que visa a melhora da função ruminal, tornando-a mais eficiente na digestão, assim aumentando o fornecimento do precursor de gliconeogêne (proprionato) ao fígado (BAUMGAR et al., 2011). A suplementação

mineral é outra ferramenta que pode ser utilizada, como é o caso do potássio (K^+), um mineral envolvido na regulação osmótica primária da secreção de água das glândulas sudoríparas, assim durante o verão as necessidades de K^+ são aumentadas (1,4 a 1,6% de MS), e isso deve ser ajustado na dieta. Além disso, os níveis dietéticos de sódio (Na^+) e magnésio (Mg^+) devem ser aumentados pois eles competem com K^+ na absorção intestinal (WEST, 2002).

Desta forma foi possível verificar que o estresse térmico afeta negativamente diversos parâmetros fisiológicos e econômicos na produção leiteira. A implantação de estratégias nutricionais são essências para reduzir perdas no segmento do leite, sendo que a manutenção da saúde do rúmen é um fator crucial para isso, no entanto existe a necessidade de investigar alternativas viáveis para minimizar perdas e proporcionar saúde e conforto aos rebanhos no período do verão.

Em estudos prévios o uso aditivo I.C.ETM demonstrou reduzir os impactos negativos do estresse térmico influenciando nos marcadores metabólicos como albumina, uréia e AGNE. Além de melhorar o desempenho de vacas expostas a índices ITU graves. Desta forma o objetivo do estudo foi avaliar os efeitos do I.C.ETM sobre a temperatura corporal, variáveis de produção, parâmetros metabólicos e comportamentais em vacas em lactação estressadas pelo calor.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Animais e Instalações

O experimento foi conduzido no Município de Capão do Leão/RS, em uma propriedade particular. O rebanho experimental foi composto por vinte vacas da raça Holandês, ordenhadas duas vezes ao dia, múltiparas equilibradas quanto à produção de leite de $25,19 \pm 4,92$ kg/leite/dia e dias em lactação (DEL) 67 ± 16 , contagem de células somáticas (CCS) $< 150,000$, escore de locomoção igual há zero (0) e condição de escore corporal maior que três (3), sendo que quando apresentavam mastite eram excluídas do experimento. As mesmas foram divididas em dois grupos experimentais: Suplementadas I.C.ETM (n=10) e Controle sem suplementação (n=10). Os animais foram mantidos em um sistema *Freestall* distribuídos aleatoriamente. O período experimental foi conduzido de 22 de fevereiro a 09 de abril de 2016. Primeiramente os animais passaram por um período de 28 dias de adaptação a dieta e 21 dias de coletas das variáveis resposta, totalizando um período experimental de 49 dias.

As dietas dos grupos foram isoproteicas e isoenergéticas, segundo tabela 1. O TMR era à base de silagem de milho, polpa cítrica, milho, soja e núcleo mineral e vitamínico, disponibilizado aos animais duas vezes ao dia, no turno da manhã e tarde e servido com vagão misturador. As quantidades do total de concentrado fornecido, bem como do rejeito, foram registradas diariamente para cálculo da ingestão de matéria seca durante o período.

Tabela 1 - Composição das dietas experimentais

Ingredientes e quantidade de matéria original/animal/dia	Matéria seca (%)	I.C.ETM(kg)	Controle(Kg)
Farelo de soja	88,71	3,60	3,60
Polpa cítrica	86,47	2,00	2,00
Ureia	99,70	0,09	0,09
Tamponante	97,86	0,55	0,55
ICE TM	96,24	0,05	0,00
Feno cornixão	91,00	1,80	1,80
Milho moido	87,54	3,00	3,00
Milho silagem	38,87	33,00	33,00
Água	0,01	2,00	2,00
Quantidade/kg/animal/dia		46,09	46,04
Concentração de Nutrientes na MS			
Volume (%)		100,00	100,00
Matéria seca (%)		49,23	49,18
Umidade (%)		50,77	50,82
Proteína bruta - PB (%)		15,41	15,44
Proteína solúvel (% de PB)		32,85	32,85
Proteína degradável no rúmem (% de PB)		68,79	68,80
Nitrogênio não proteico (% de PB)		31,20	31,20
Histidina digestível (g/kg)		2,32	2,32
Metionina digestível (g/kg)		2,55	2,56
Lisina digestível (g/kg)		6,94	6,95
Fenilalanina (g/kg)		4,62	4,63
Aminoácidos digestíveis (g/kg)		55,65	55,77
Energia líquida lactação (Mcal/kg)		1,61	1,61
Energia líquida manutenção (Mcal/kg)		1,59	1,60
Nutrientes digestíveis totais (%)		72,72	72,87
FDN (%)		28,13	28,19
Fibra detergente ácida (%)		17,97	17,99
FDN (%)		32,81	32,86
FDN digestível (%)		15,31	15,34
FDN efetivo (%)		29,29	29,35
RH index (unit)		-0,06	-0,08
NFC (%)		42,93	43,03
Adi Tort Starch (%)		22,55	22,60
Amido digestível no rúmen (%)		14,32	14,35
Rumen Sol Sug (%)		4,86	4,87

Gordura (%)	2,74	2,74
BioActv Rum Av Load (g/kg)	11,22	11,25
Cálcio (%)	0,83	0,82
Fósforo (%)	0,33	0,33
Magnésio (%)	0,33	0,33
Potássio (%)	1,28	1,29
Enxofre (%)	0,19	0,19
Sódio (%)	0,26	0,26
DCAD (meq/100g)	20,66	20,70
MAX Microbial Prot (unit)	109,87	110,10
CStarch (%)	25,63	25,69
Forage Products (%)	63,75	63,88
Lignina (%)	3,71	3,72
NIRd FDN (%)	20,23	20,27
Rumen total VFA TMA (g/kg)	253,60	254,14
Dairy Sat Fat (g/kg)	3,58	3,59
Índice gordura do leite(unit)	0,69	0,69
Cinzas (%)	6,84	6,77
Relação Ca/P	2,51	2,45
Cloridrato (%)	0,50	0,48
Zn (mg/kg)	58,17	58,30
Cobalto (mg/kg)	1,04	1,04
Cu (mg/kg)	12,60	12,63
Mn (mg/kg)	53,33	53,44
Se (mg/kg)	0,35	0,35
Vit A (UI/g)	9,70	9,50
Vit D (UI/g)	1,15	1,02
Vit E A (UI/kg)	29,25	29,15

3.2.2 Dados climáticos

Os dados de temperatura (°C), ponto de orvalho (°C) e umidade relativa do ar (% UR), foram obtidos através de uma estação meteorológica móvel do modelo INSTRUTEMP digital Touch Screen ITWH-1080, alocada no interior do galpão “freestall” para obter dados os mais próximos da real sensação climática que os animais eram submetidos. O backup das informações era efetuado semanalmente. Com base nestas informações foi calculado o índice de temperatura e umidade (THI, do inglês Temperature Humidity Index), através da equação desenvolvida originalmente por Thom (1959):

$$ITU = Tbs + (0,36 Tpo) + 41,2$$

Em que:

Tbs é a temperatura de bulbo seco (°C) e Tpo é a temperatura de ponto de orvalho (°C).

Utilizou-se ITU>70 como indicador de estresse, devido ao nível produtivo das vacas utilizadas no ensaio.

3.2.3 Variáveis analisadas

3.2.3.1 Temperatura vaginal

Durante o período experimental, as 20 vacas receberam um dispositivo intravaginal (CIDR) contendo um termômetro data logger (Thermochron ibutton. KY - USA), que registrou a temperatura intravaginal com intervalos de 30 minutos. No período de adaptação, que correspondeu aos primeiros 28 dias do experimento, os termômetros permaneceram por 48 horas, sendo retirado ao fim deste período para que fosse feito o backup dos dados através de um software (Thermochron TC – Basic Logger, <http://www.thermochron.com.au/TCS.aspx>) e recolocados no início da semana seguinte. Após o período de adaptação, já na semana de coleta das amostras, o termômetro permaneceu por todo período, sendo retirado somente ao final do experimento. Vacas com sinais clínicos de vaginite tinham o termômetro retirado ou não introduzido. Antes da colocação do dispositivo, todas as vacas do experimento passaram por um exame clínico sendo registrados os parâmetros fisiológicos.

3.2.3.2 Indicadores metabólicos

A coleta de sangue foi efetuada a cada três dias, após ordenha da tarde, através do acesso vascular coccígeo, em um sistema do tipo *vaccuntainer*, sendo a amostra dividida em três frascos: um contendo EDTA 10% (5 ml de sangue), um inibidor da via glicolítica (Fluoreto de Potássio 12%, 3 ml de sangue) e um frasco contendo apenas o sangue (10 ml). Imediatamente, as amostras de sangue e com Fluoreto de Potássio 12% foram centrifugadas a 3000 rpm durante 15 minutos e o soro repassado para tubo Eppendorf. As amostras provenientes do sangue foram congeladas a -80°C para posteriores análises bioquímicas e as amostras de Fluoreto processadas para avaliação dos níveis de glicose sanguínea. A concentração sérica de ácidos graxos não esterificados (AGNE) foi realizada utilizando kit comercial (Wako NEFA-HR, Wako Chemicals®, EUA, Richmond, EUA), através do método descrito por Ballou et al., (2009) e leitura realizada em leitor de microplacas (Thermo Plate® TP-Reader, São Paulo, Brasil). As análises bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Bioquímica Animal da Faculdade de Veterinária da UFPel.

A concentração de PPT, albumina, glicose e ureia foi realizada utilizando kits comerciais (Labtest Diagnóstica S.A., Brasil) por calorimetria, sendo as análises realizadas no aparelho bioquímico automático (Lambax Plenno- Labtest Diagnóstica

S.A., Brasil).

3.2.3.3 Desempenho zootécnico

ECC e Peso: Durante a fase de adaptação a cada sete dias os grupos foram avaliados quanto ao escore de condição corporal (ECC) e Pesagem. Já no período de coletas, tais análises foram efetuadas de três em três dias, seguindo metodologia de Wildman (1982) para o ECC e pesagem utilizando uma fita de aferição de peso para gado leiteiro, realizadas no mesmo dias em que se realizaram as coletas sanguíneas e exames clínicos. A produção de leite dos animais foi feita através de coletas semanais no período de adaptação e a cada três dias durante a fase de coleta de amostras.

3.2.3.4 Comportamento animal

No monitoramento do comportamento foram utilizadas coleiras C-Tech (Chip Inside - tecnologia – Santa Maria/RS/Brasil), através do sistema C-Tech HealthyCow composta de coleiras com sensores de alta performance e uma unidade fixada na sala de ordenha para leitura dos dados contidos nas coleiras. As vacas foram monitoradas durante todo o experimento, 24 horas por dia, registrando as informações de ruminação, atividade e ócio. Cada vez que o animal acessava a sala de ordenha, passando pelo portal os dados eram transferidos da Coleira C-Tech HealthyCow e processados. As informações captadas pelas coleiras foram processadas pelo software de gestão de dados HealthyCow Manager que detalha todo o comportamento do animal ao longo do dia.

3.2.4 Análise estatística

A análise estatística foi feita utilizando-se PROC MIXED MODEL (SAS 9.0), considerando como efeitos fixos o grupo (dieta), as semanas (período), dia e hora do dia, bem como as interações entre estas variáveis. As variáveis respostas foram: a) fisiológicas - temperatura intravaginal, frequência respiratória; b) de desempenho - produção de leite e peso corporal; c) comportamento alimentar - tempo de ruminação, atividade e ócio; d) perfil metabólico – glicose, ácidos graxos não esterificados (AGNE – NEFA), uréia e albumina. E Escore de condição corporal analisado pelo método de Quadrado.

3.3 Resultados e Discussão

3.3.1 Índice de temperatura e umidade (ITU)

Conforme demonstrado na figura 1, as vacas foram expostas há um ambiente estressante por um longo período, apresentando diversos momentos índices de ITU entre os níveis de estresse moderado à grave. Durante o estudo foi registrado ITU mínimo de 59,6 e máximo de 83,6 com médias diárias de 71,65. Em grande parte dos períodos noturnos foi verificado a manutenção do $ITU > 70$ (Figura 2), demonstrando que 60% do ITU permaneceu acima de 70 durante a noite nas semanas 1, 4, 6, 7. Estas semanas também registraram os maiores índices de ITU máximos durante as 24 horas, tornando evidente o ambiente desafiador em que os animais foram submetidos.

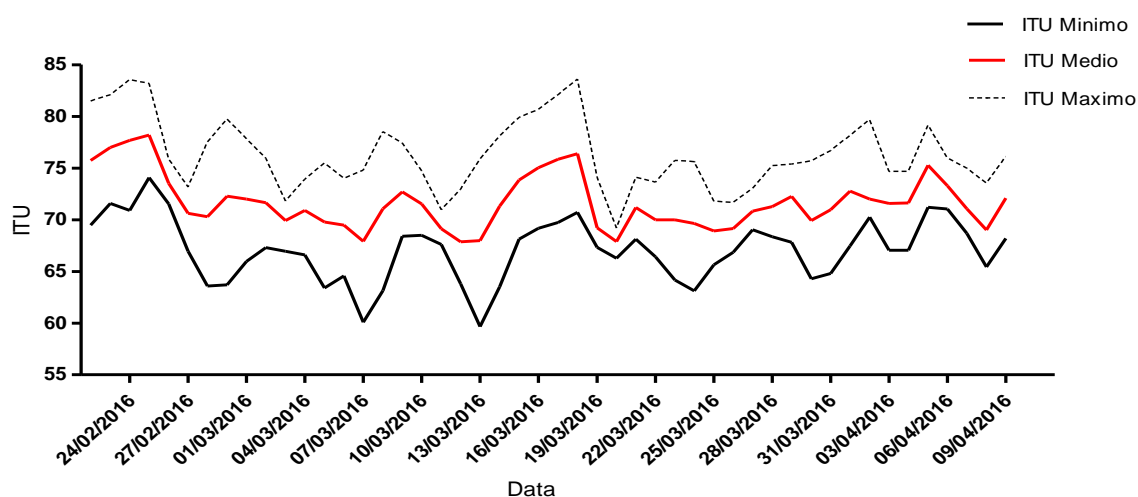


Figura 1 – Flutuação de ITU durante período experimental.

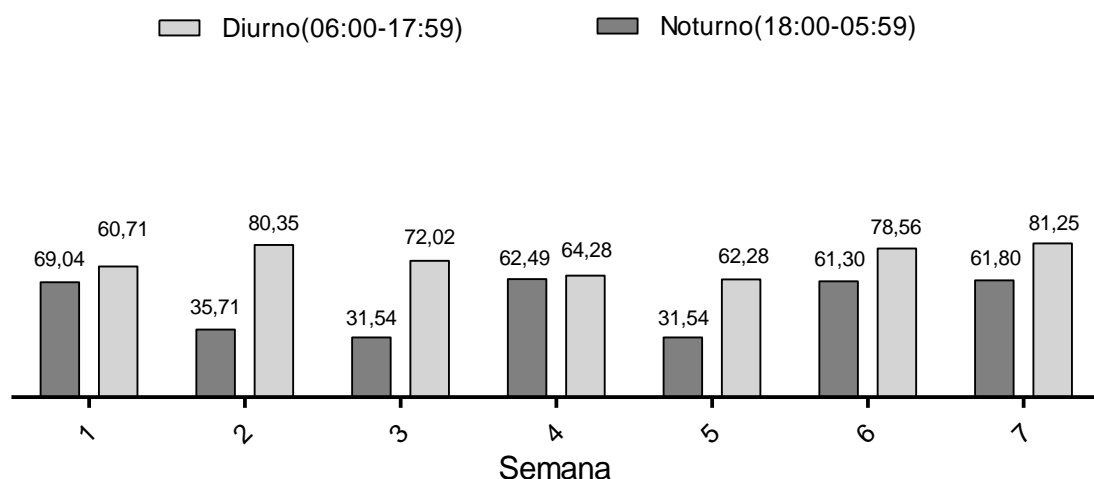


Figura 2 - Percentual de ITU >70 em turnos noturno e diurno nas semanas experimentais.

3.3.2 Temperatura vaginal, frequência respiratória, ECC e peso corporal

Segundo Dukes (1947) e Settivari et al. (2007) durante o dia é normal os animais apresentarem variações na temperatura corporal média, sendo que em vacas leiteiras em termoneutralidade essas temperaturas variam de 38 a 39,3°C, com uma média de 38,6 °C. No presente estudo, as temperaturas vaginais de ambos os grupos (controle e I.C.ETM) mínimas e máximas variaram de 38,5 à 40,5°C com médias de 39,3°C, não sendo verificadas diferenças entre os grupos (P=0,6926) (Figura 3). Isto indica que neste estudo diferentemente do reportado por (SHWARTZ et al.; 2009) onde verificou-se redução na temperatura corporal de vacas em estresse térmico suplementadas com levedura, o suplemento I.C.ETM não auxiliou na redução da temperatura.

Analisando a frequência respiratória (FR), observou-se similaridade no comportamento dos dados com a temperatura vaginal, onde foi observada uma diferença (P=0,0275) na semana 1, registrando uma FR maior para o grupo I.C.ETM 99,37mov/min contra 85,125 mov/min do grupo controle. Esses dados indicam uma grande elevação da FR acima da fisiológica que é de 10 á 30 mov/min (HEAD, 1995). Observou-se uma tendência no aumento na frequência na última semana (P=0,0648), com registros de 62 e 49,25 mov/min para o grupo I.C.ETM e controle, respectivamente.

De acordo com Pires (2006) uma elevação na combinação de temperatura corporal e frequência respiratória estaria indicando que o animal esta submetido a um nível de estresse variando de leve a acentuado, podendo apresentar impacto na

ingestão de alimento, produção de leite e manifestação de estro. Pode-se observar que durante todo o período experimental os animais apresentaram a FR acima da faixa fisiológica registrando média de 60,20 e 56,13 mov/min para o grupos I.C.ETM e controle, respectivamente. Segundo Barbosa et al. (2004) os mecanismos de aumento da frequência respiratória ou ofegação, embora não tão efetivos quanto à sudorese para o resfriamento evaporativo, são necessários para manter a homeotermia durante a exposição à carga de calor elevada. No presente trabalho a FR elevada demonstra que os animais do grupo I.C.ETM e controle utilizaram os mecanismos evaporativos para a dissipação do calor e eles foram eficientes, visto que as médias de temperatura vaginal se mantiveram quase em sua totalidade dentro da faixa fisiológica, reforçando a provável aclimatação dos animais ao ambiente.

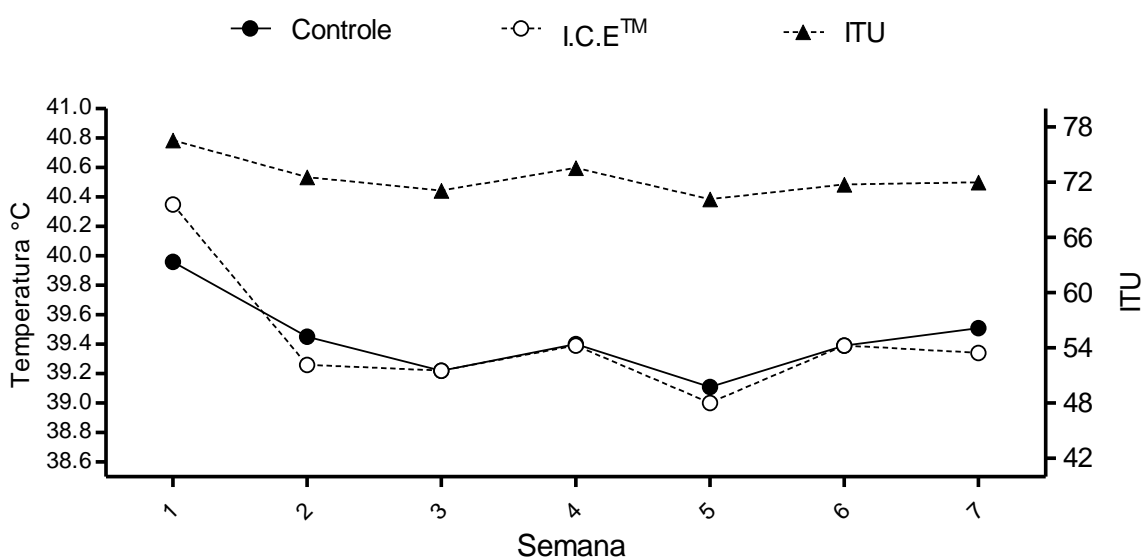


Figura 3 – Efeito do grupo I.C.ETM e Controle na temperatura vaginal de vacas da raça Holandês no período do verão e variação observada no Índice de temperatura e umidade (ITU). Efeito grupo ($P=0,6926$); Semana ($P<0,001$); Grupo*Semana ($P<0,001$).

Não foram registradas diferenças no E.C.C ($P>0,5$) e peso corporal ($P>0,5$), em ambos os grupos, o que talvez pudesse ser explicado pelo estágio de lactação que estavam ($DEL 67\pm 15$), onde a ingestão de matéria seca é suficiente para manutenção e produção, o que pode ser reforçado ao avaliarmos os níveis de AGNE.

3.3.3 Produção de leite

O grupo I.C.ETM apresentou média superior para a variável produção de leite ($P=0,0244$), em relação ao grupo controle, com uma diferença média de 2,18 kg/leite/dia (Figura 4).

Na semana 3 (coleta 1), não foi observada diferença estatística ($P>0,05$) na produção leiteira, demonstrando que a diferença encontrada durante o estudo, não foi ocasionada por falta de homogeneidade dos grupos no início do ensaio. O primeiro registro de produção leiteira foi realizado após 14 dias de experimento (semana 3), para a adaptabilidade dos animais às dietas. A partir desse momento (semana 3) foi registrado um decréscimo na produção média de leite (27,62%) que perdurou até a semana 5 (coleta 3), acompanhado da elevação do ITU-máximo que oscilou de 75,03 á 78,24.

Este fato confirma a influência do ITU sobre o desempenho produtivo, corroborando com Linville & Pardue (1992), que afirmaram que o número total de horas em que o animal foi exposto a índices de ITU acima de 72 ou 80, em um intervalo de 4 dias, demonstrou ter a maior correlação com a produção de leite. Já Collier et al. (1981) e Spiers et al. (2004) indicaram que os efeitos de uma dada temperatura no rendimento de leite eram máximos entre 24 e 48 horas após um estresse. West et al. (2003) relataram que as condições climáticas do ambiente 2 dias antes da medição do rendimento do leite apresentaram a maior correlação com as reduções na produção e no consumo de matéria seca. Isso corrobora com os dados obtidos neste estudo, onde foi possível observar que após eventos de ITU > 70, ocorreu uma redução na produção leiteira, demonstrando o efeito acumulativo do ITU sobre a produção e não uma resposta imediata ao evento.

À partir da semana 3 pode-se observar uma queda em ambos os grupos, no entanto, há um distanciamento das médias da produção de leite do grupo I.C.ETM e controle. Sendo que os animais do grupo I.C.ETM mantiveram sua produção mais constante. Essa eficiência fica evidente quando confrontou-se as soma de perdas na produção de leite ao comparar com as semanas anteriores 1,34 e 3,81 kg/leite/dia, no grupo I.C.ETM e controle, respectivamente.

O fato de ambos os grupos estarem expostos às mesmas condições climáticas, sem haver diferenciação quanto ao grau de estresse sofrido, possibilita afirmar que a variação na produção de ambos os grupos durante as semanas, se deu pela influência do ITU sobre o desempenho do rebanho. No entanto, apesar do ambiente acarretar em perdas de produção, o grupo I.C.ETM manteve produção superior e com menor

queda em comparação ao grupo controle.

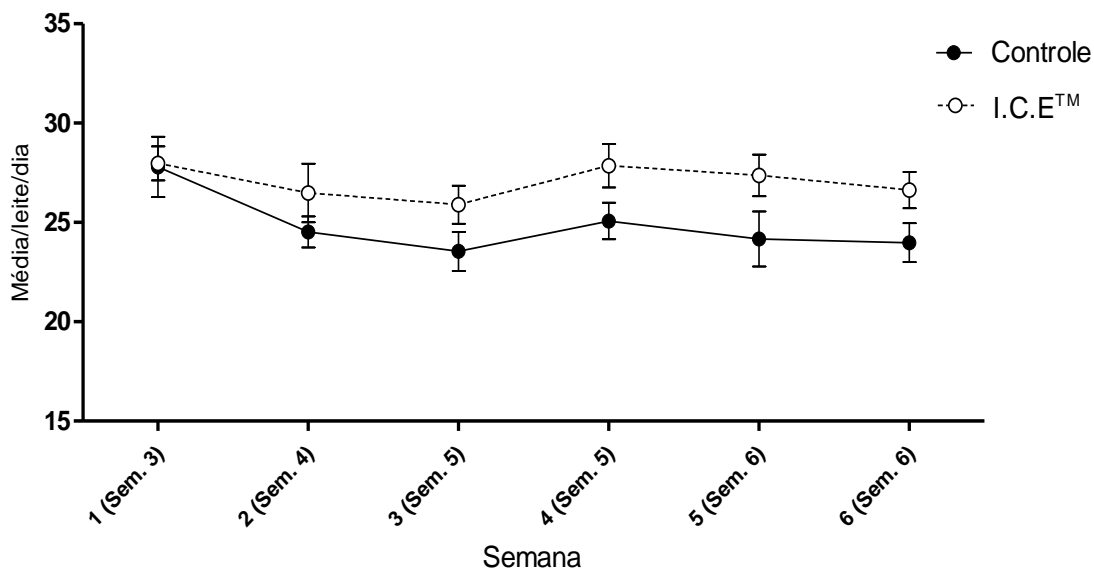


Figura 4 – Efeito da suplementação com I.C.E™ sobre a produção média de leite. Efeito grupo ($P=0,0244$) Grupo*semana ($P=0,4944$)

3.3.4 Marcadores metabólicos

Não foram verificadas diferenças significativas para os indicadores do metabolismo energético AGNE entre grupos I.C.E™ e controle ($P>0,5$), sendo que as médias de ambos os grupos permaneceram dentro dos valores de referência (de 0,4 – 0,7 mmol/L) adaptado de González et al. (2000). Esses resultados corroboram com os encontrados por Rhoads et al. (2009) e Schwartz et al. (2009), que também não verificaram alteração nas concentrações plasmática de AGNE em vacas em estresse térmico. No entanto, este comportamento já era esperado já que vacas em estresse térmico não apresentam o perfil metabólico típico (isto é, aumento nos níveis de AGNE), diferentemente do que ocorre quando o animal se encontra em balanço energético negativo (SHWARTZ et al., 2009). Segundo Baumgard & Rhoads (2007), este pode ser mecanismo natural e evolutivo para sobrevivência a uma determinada carga de calor, pois a β -oxidação de AGNE pode produzir mais calor metabólico do que o catabolismo de carboidratos.

Na análise da proteína total (PPT) não foi observado diferença estatística ($P>0,5$), entretanto, foi verificada diferença significativa nos níveis de albumina ($P=0,0317$). As médias do grupo I.C.E™ e controle foram 2,62 e 2,43 g/dL, respectivamente. Esses valores estão um pouco abaixo dos níveis fisiológicos de 2,7 a 3,8 g/dL, adaptado de González & Silva (2006).

Observou-se interação significativa entre grupo*data ($P < 0.0001$), nos níveis de ureia, sendo que o grupo I.C.ETM e controle foram 26,58 e 27,64, respectivamente. Contudo, ambos apresentaram níveis de ureia dentro dos parâmetros fisiológicos. A concentração de ureia no sangue é um indicador da atividade do metabolismo proteico nos animais (WITTEWER et al., 1993, GARCIA, 1997). Assim como a albumina é marcador do metabolismo proteico e seus níveis estão relacionados com a função hepática, disponibilidade de aminoácidos (proteína da dieta) e perdas durante doenças (PAYNE & PAYNE, 1987). Estes mesmos autores, observaram que a baixa concentração de albumina e relacionaram esse resultado com a redução na produção de leite. Em trabalho realizado por González & Rocha (1997), em quatro rebanhos leiteiros, observaram maiores níveis de albuminas nas vacas de melhor produção leiteira, possibilitando afirmar que os animais suplementados com I.C.ETM, apresentaram maior produção leiteira, devido a maior eficiência na função ruminal e no metabolismo proteico, fornecendo aminoácidos em quantidades ótimas para síntese do leite.

3.3.5 Comportamento animal

No presente estudo não foi observada diferença no tempo de ruminação entre os grupos I.C.ETM e controle ($P > 0.5$), sendo que os valores encontrados de 671,5 e 624,4 minutos, respectivamente, estando de acordo com os parâmetros normais. Resultados esses que corroboram com dados encontrados por Albright (1993), que relatou tempo de ruminação em vacas de 675min/dia com uma dieta de 34% de FDN. Entretanto houve interação significativa entre grupo*hora ($P < 0.0001$). Nas horas 11, 17, 19 e 22h, representando um acréscimo de 6 minutos por hora de ruminação para o grupo I.C.ETM, totalizando mais de 30 minutos de ruminação em 24 horas (Figura 5A). Importante ressaltar que os picos de ruminação referente às 11, 17 e 19h coincidiram com os índices de ITU > 70 (73,4; 73,5 e 71,4), episódio esse que discorda das afirmações de Moallem et al. (2010), que indicaram que o principal efeito negativo do alto índice de ITU é a depressão do tempo de ruminação (RT), que conseqüentemente acarretou na redução da ingestão de matéria seca, seguida por um declínio na produção de leite. Dados relatados por Soriano et al. (2013) também observaram uma correlação negativa entre o tempo de ruminação e o ITU Máximo > 72.

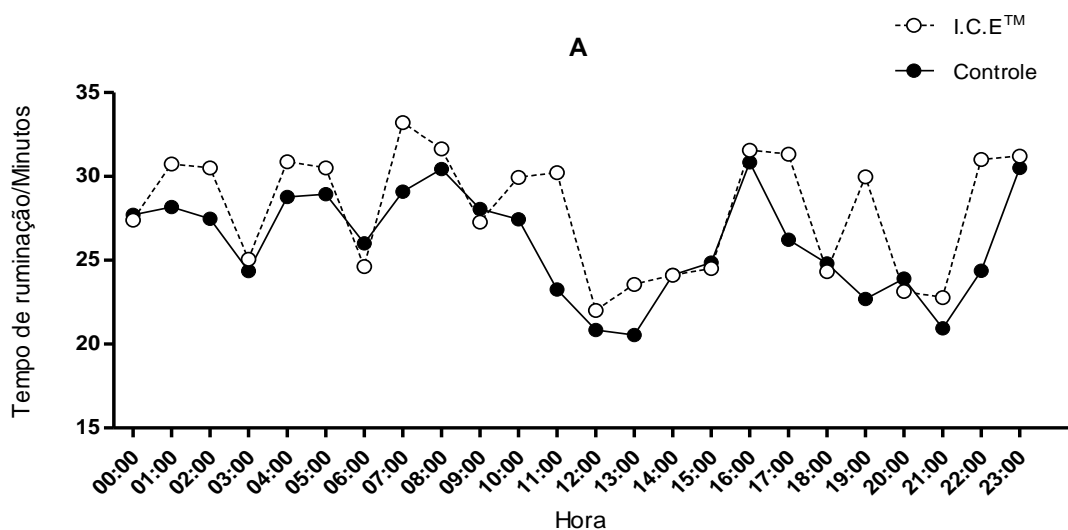


Figura 5 A – Tempo de ruminação de vacas da raça Holandês suplementadas com I.C.E.™, valores médios de todos dias do período experimental

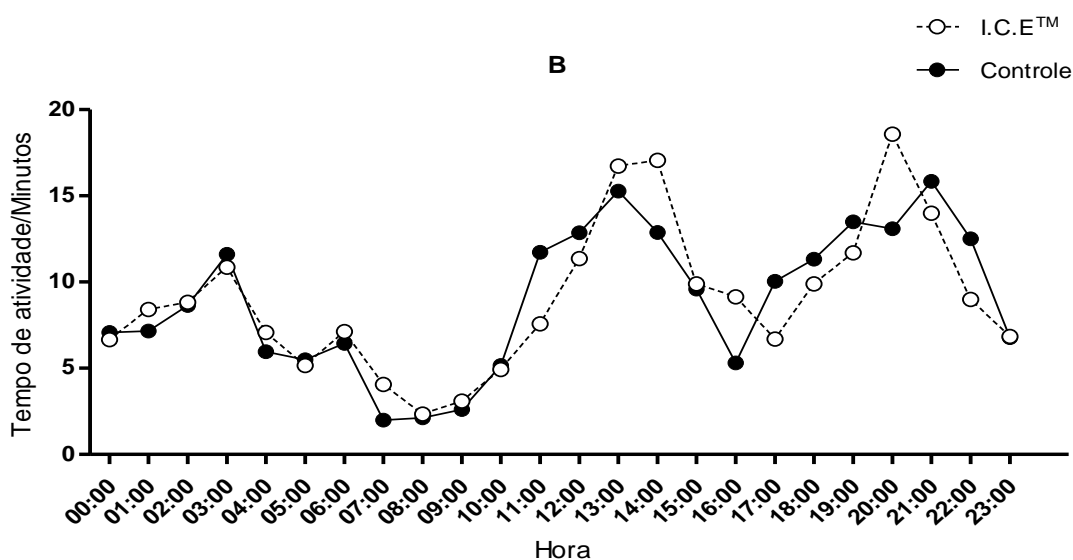


Figura 5 B – Tempo de atividade de vacas da raça Holandês suplementadas com I.C.E.™

A suplementação das dietas com I.C.E.™ provavelmente atuou na melhora da função ruminal, já que mesmo os animais submetidos a índices de ITU > 72, não apresentaram diminuição do TR. Fato esse que também explicaria a maior média de produção de leite do grupo I.C.E.™.

Na análise de atividade não verificou-se diferença estatística entre os grupos

($P > 0,5$), porém foi observada interação significativa entre grupo*hora ($P > 0.0001$). O grupo I.C.ETM apresentou em determinadas horas 7, 14, 16, e 18h maior tempo de atividade em comparação ao grupo controle, com um acúmulo de 00:15m6s a mais de atividade (Figura 5B).

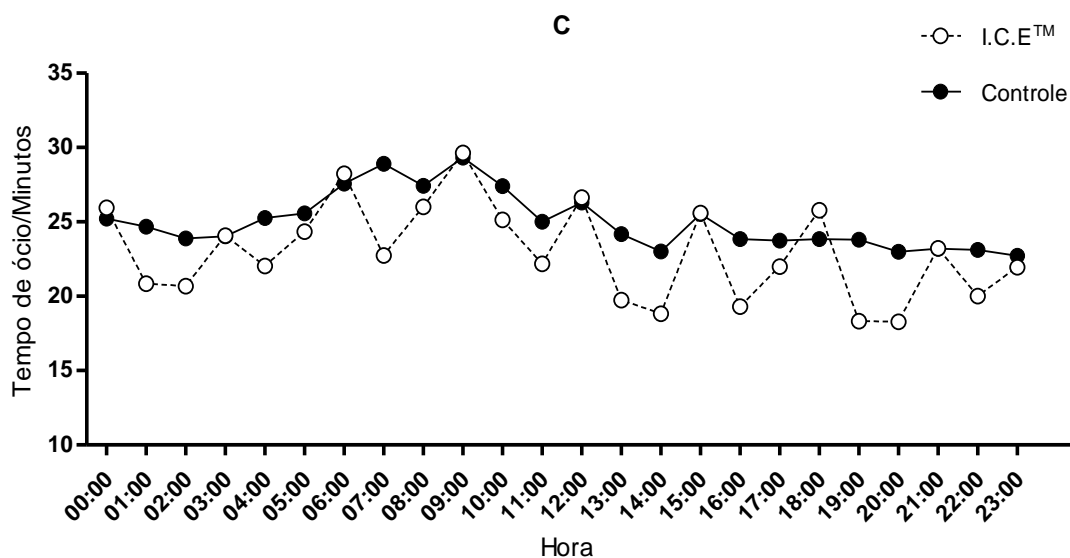


Figura 5 C – Tempo de ócio de vacas da raça Holandês suplementadas com I.C.ETM

É possível observar que a diferença na atividade ocorre em períodos que coincidem ou antecedem os picos de ruminação. No entanto a observação de alimentação esta inserida dentro do comportamento da atividade, assim pode-se afirmar que o maior tempo de atividade foi devido ao maior tempo de alimentação. Portanto é possível considerar que a suplementação com I.C.ETM estimulou um maior o tempo de alimentação em determinadas horas, concordando com os dados de TR, onde o uso do I.C.ETM aumentou o TR, já que o animal apresentou maior atividade, dentre elas a de alimentação.

O padrão diurno do comportamento alimentar concorda com os dados de DeVries et al. (2003) e Hosseinkhani et al. (2008), que observaram 2 picos em tempo de alimentação. Estes picos são fortemente influenciados pelo tempo de fornecimento de alimentos frescos e são conhecidos por serem alterados em resposta à frequência de alimentação (DEVRIES et al., 2003). No entanto, no presente estudo os picos de atividade após o fornecimento da alimentação, não foram decisivos para influenciar o tempo de ruminação, pois os animais do grupo controle eram submetidos ao mesmo

manejo alimentar e não apresentaram o mesmo comportamento, sendo assim não justifica a diferença no tempo de ruminação observada.

O monitoramento do ócio não apresentou diferença estatística entre os grupos I.C.ETM e controle ($P>0,5$), mas foi observada interação significativa entre grupo*hora($P<0,0001$). Foi registrado maiores oscilações de ócio nos animais do grupo controle em momentos específicas, com um acréscimo da média de ócio de 5min (Figura 5C). Ambos os grupos apresentaram média de ócio abaixo do relatado na literatura, que citam, variações diárias de 9 a 12 e média de 10 horas (ORR et al., 2001), e de vacas holandesas no verão de 10h 35min (PIRES, 1997). Segundo Matarazzo et al. (2009) o menor tempo em ócio verificado nesses momentos no grupo I.C.ETM, concorda com o observado nos demais comportamentos, ou seja, maior tempo de alimentação acarreta em um maior tempo despendido com a ruminação. Esses dados corroboram com encontrado por que observaram aumento no tempo despendido no comedouro por vacas que receberam resfriamento por aspersão reduzindo, conseqüentemente, o tempo em ócio.

3.4 Conclusão

A suplementação de I.C.ETM na dieta de vacas da raça holandês não alterou a temperatura corporal dos animais. Contudo, foi verificado em diversos momentos um maior tempo de ruminação e atividade para o grupo de vacas suplementadas com I.C.ETM, podendo indicar que o produto induziu a um maior consumo de alimento, além disso, a suplementação I.C.ETM melhorou o metabolismo proteico destas vacas, conseqüentemente, acarretando maiores médias de produção de leite e menores perdas de produção quando submetidos a índices de ITU>70.

Referências

- ARIELI, A. et al. The effect of protein intake on performance of cows in hot environmental temperatures. **Journal of Dairy Science**, 87:620–629, 2006.
- BARBOSA, O. et al. Efeitos da sombra e da aspersão de água na produção de leite de vacas da raça Holandesa durante o verão. **Acta Scientiarum: Animal Science**, v.26, p.115-122, 2004.
- BAUMAN, D.E. et al. Regulation of fat synthesis by conjugated linoleic acid: Lactation and the ruminant model. **Journal of Nutrition**, v.138, n.2, p.403-409, 2008.
- BAUMGARD, L.H. et al. Potential application of conjugated linoleic acids in nutrient partitioning. **Proc. Southwest Nutr. Conf.** pp. 127-141, 2002.
- BAUMGARD L.H. et al. Post absorptive carbohydrate adaptations to heat stress and monensin supplementation in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, 94:5620–33, 2011.
- BAUMGARD, L.H. et al. **Impact of climate change on livestock production**. Pages 413-468. Chapter 15. Environmental Stress and Amelioration in Livestock Production. Eds. V. Sejian, et al., Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2012.
- BAUMGARD, L. H. & Rhoads, R. P. Ruminant Nutrition Symposium: Ruminant Production and Metabolic Responses to Heat Stress. **Journal of Animal Science**, 90:1855–65, 2012.
- BERCHIELLI, T. T. et al. **Nutrição de Ruminantes**. 1ª Ed. Jaboticabal, Funep, p. 583, 2006.
- BERMAN, A. Estimates of heat stress relief needs for Holstein dairy cows. **Journal of Animal Science**, 83:1377–1384, 2005.
- BERNABUCCI U. et al. Markers of oxidative status in plasma and erythrocytes of transition dairy cows during hot season. **Journal of Dairy Science**, 85, 2173–2179, 2002.
- BERNABUCCI, U. et al. Metabolic and hormonal adaptations to heat stress in ruminants. **Animal** 4:1167–83, 2010.
- BERNABUCCI, U. et al. The effects of heat stress in Italian Holstein dairy cattle.

Journal of Dairy Science, 97:471–486, 2014.

BIANCA, W. Reviews of the progress of dairy science. Physiology. Cattle in a hot environment. **Journal of Dairy Science**, 32:291–328, 1965.

CLOSE, W. H. et al. The influence of environmental temperature and plane of nutrition on heat losses from groups of growing pigs. **Animal Production**, 13:285–294, 1971.

COLLIER, R.J.et al. Shade management in subtropical environment for milk yield and composition in Holstein and Jersey cows. **Journal of Dairy Science**, 64, 844–849, 1981.

COLLIER, R. J.et al. **Physiological limitations, nutrient partitioning**. Pages 351–377 in *Yields of Farmed Species: Constraints and Opportunities in the 21st Century*. Proc. 61st Easter School. Nottingham University Press, Nottingham, U.K, 2005.

COLLIER, R. J.et al. Genes involved in the bovine heat stress response. **Journal of Dairy Science**, 91:445–54, 2008.

DEVRIES, T. J.et al. Short communication: Diurnal feeding pattern of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, 86:4079–4082, 2003.

DUKES, H. H. **The Physiology of Domestic Animals**. 6th ed. Comstock Publishing Company Inc., Ithaca, NY, 1947.

DU PREEZ, J. H. et al. Heat stress in dairy cattle and other livestock under Southern African conditions. III. Monthly temperature-humidity index mean values and their significance in the performance of dairy cattle. Onderstepoort. **Journal of Veterinary Research**, 57:243–248, 1990.

GARCIA, A. B.et al. Relationships between heat stress and metabolic and milk parameters in dairy cows in southern. **Brazilian Tropical Animal Health Production**, 47:889–894, 2015.

GONZÁLEZ, F.H.D. **Uso de provas de campo e laboratório clínico em doenças metabólicas e ruminais e bovinos**. Editado por GONZALEZ, F. H. D. Porto Alegre: UFRGS, p. 60, 2000.

GRANT, R.J. et al. Interactions among forages and non forage sources. **Journal of Dairy Science**, 80:1438-1446, 1997.

HUBER, J.T. et al. **Feeding for high production during heat stress**. Western Large Herd Management Conf. Las Vegas, NV. pp. 183–192, 1993.

JOHNSON, H.D. **Physiological responses and productivity of cattle**. In: YOUSEF, M.K. (Ed.). *Stress physiology in livestock*. Boca Raton, Fla: CRC Press, v.2, p.3-22, 1985.

LINN J.G. **Nutritional management of lactating dairy cows during periods of heat stress**. Dairy Update. Issue:125. University of Minnesota, St. Paul, 1997.

LINVILL, D. E. & PARDUE, F. E. Heat stress and milk production in the South Carolina Coastal Plains. **Journal of Dairy Science**, 75:2598:2604, 1992.

LU, Q. et al. Effect of chronic heat exposure on fat deposition and meat quality in two genetic types of chicken. **Poultry Science**, 86:1059–64, 2007.

KADZERE C. T. et al. Heat stress in lactating dairy cows: a review. **Livestock Production Science**, 77:59–91, 2002.

PAYNE , J. M. & PAYNE, S. **The Metabolic Profile Test**. Oxford University Press, New York, 1987.

PIRES, M. F. A. **Comportamento, parâmetros fisiológicos e reprodutivos de fêmeas da raça Holandesa confinadas em ‘free stall’, durante o verão e o inverno**. 1997. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais - Escola de Veterinária, Belo Horizonte, 1997.

PURWANTO, B.P. et al. Diurnal patterns of heat production and HR under thermoneutral conditions in Holstein Friesian cows differing in milk production. **The Journal Agricultural Science**, 114, 139–142, 1990.

RHOADS, M. L. et al. Effects of heat stress on production, lipid metabolism and somatotropin variables in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, 90 (Suppl. 1):230. (Abstr.), 2007.

RHOADS M. L. et al Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: Production, metabolism and aspects of circulating somatotropin. **Journal of Dairy Science**, 92:1986–97, 2009.

SETTIVARI, R.S.et al. Relationship of thermal status to productivity in heat-stressed dairy cows given recombinant bovine somatotropin. **Journal of Dairy Science**, 90, 1265–1280, 2007.

SHWARTZ, G. et al. Effects of a supplemental yeast culture on heat-stressed lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, 92:935–42, 2009.

SCHMIDT, P. & WIDDOWSON, E. M. The effect of a low-protein diet and a cold environment on calorie intake and body composition in the rat. **British Journal Nutrition**, 21:457–65, 1967.

SPIERS, D. E.et al. Use of physiological parameters to predict milk yield and feed intake in heat-stressed dairy cows. **Journal of Thermal Biology**, 29:759–764, 2004.

ST. PIERRE, N. R. et al. Economic losses from heat stress by US livestock industries. **Journal of Dairy Science**, 86:E52–77, 2003.

STREFFER, C. **Aspects of biochemical effects by hyperthermia**. Natl. Cancer Inst. Monogr. 61:11–17, 1982.

TYRRELL, H. F. et al. Influence of excess protein intake on energy metabolism of the

dairy cow. Pages 69– 71 in: Fifth Symposium Energy Metabolism Farm Animal, 1970.

TUCKER, W. B. et al. Influence of dietary cation-anion balance on milk, blood, urine, and rumen fluid in lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, 71:346–354, 1988.

VAN SOEST, P. J. et al. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, 74:3583–3597, 1991.

VRZGULA, L. **Metabolic Disorders and their Prevention in farm Animals**. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 1991.

WEST, J. W. Nutritional strategies for managing the heatstressed dairy cow. **Journal of Animal Science**, 77(Suppl. 2):21–35, 1999.

WEST, J.W. **Physiological effects of heat stress on production and reproduction**. Proc. Tri-State Nutr. Conf., The Ohio State University, Columbus. pgs. 1-9, 2002.

WEST, J. W. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, 86:2131–44, 2003.

WHEELLOCK, J. B. et al. Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, 93:644–55, 2010.

WILDMAN, E.E. et al. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. **Journal of Dairy Science**, 65, 495–501, 1982.

YUNianto, V. D. et al. Effect of environmental temperature on muscle protein turnover and heat production in tube-fed broiler chickens. **British Journal Nutrition**, 77:897–909, 1997.

ZIMBELMAN R. B. et al. **A re-evaluation of the impact of temperature humidity index (THI) and black globe humidity index (BGHI) on milk production in high producing dairy cows**. Proceedings of the Southwest Nutrition Conference (ed. RJ Collier), pp. 158–169, 2009.

ZIMBLEMAN, R.B. et al. Revised temperature humidity index (THI) for high producing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, 92(E-Suppl. 1):347 (Abstr.), 2009.