UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

REÍSSA ALVES VILELA

Efeito do ambiente térmico na fisiologia adaptativa de bubalinos

Pirassununga

2013

REÍSSA ALVES VILELA

Efeito do ambiente térmico na fisiologia adaptativa de bubalinos
(Versão corrigida)

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal.

Orientador: Prof. Dr. Evaldo Antonio Lencioni Titto.

Co-orientador: Prof. Dr. Alfredo Manuel Franco Pereira.

Pirassununga

2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Serviço de Biblioteca e Informação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo

V699e Vilela, Reíssa Alves
 Efeito do ambiente térmico na fisiologia adaptativa
 de bubalinos / Reíssa Alves Vilela. --
 Pirassununga, 2013.
 110 f.
 Tese (Doutorado) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo.
 Departamento de Zootecnia.
 Área de Concentração: Qualidade e Produtividade
Animal.
 Orientador: Prof. Dr. Evaldo Antonio Lencioni Titto.

 1. Armazenamento de calor 2. Bubalinocultura
3. Radiação solar 4. Sombra
5. Termorregulação. I. Título.

DEDICATÓRIA

Ao meu avô José Cardoso de Moraes (*in memoriam*) que em vida foi o herói da minha infância, um exemplo de honra e honestidade, e com sua morte me ensinou a lição mais valiosa: a importância de verbalizar o nosso amor. O senhor foi uma das pessoas que mais amei e nos deixou sem ouvir o quanto o amava, por isso, imprimo estas palavras:

Vovô eu te amo.

**"Ohana quer
dizer família e
família quer dizer
nunca abandonar"**

Chris Sanders

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Joaquim Vilela de Moraes e Rosângela Alves de Moraes e ao meu irmão Vicente Alves Vilela pelo apoio incondicional e por compreenderem minha ausência pela busca de um sonho.

Ao Prof. Dr. Evaldo Antonio Lencioni Titto, pela orientação, pela oportunidade e por acreditar em meu trabalho.

Ao Prof. Dr. Alfredo Manoel Franco Pereira pela orientação e pela dedicação a este projeto. A quem tenho uma profunda admiração e respeito.

Ao Prof. Dr. Júlio Cesar de Carvalho Balieiro pelo auxílio nas análises estatísticas.

Ao Prof. Dr. Eduardo Harry Birgel Júnior pela assistência nas análises sanguíneas.

Ao Prof. Dr. Alex Sandro Campos Maia pelo auxílio nos cálculos biofísicos.

Aos meus amigos do LABE Ana Geraldo, Adriana Tribucci, Claudia Amadeu, Claudia Bonato, Cristiane Titto, Diego Lobon, Paulo Fantinato, Raquel Calviello, Roberta Sommavilla e Thays Leme, pela amizade, apoio e cooperação na condução deste projeto.

Aos estagiários Giovana Catandi, Ivo Gonzales, Igor Gonzales, Julia Joselevitch, Miguel Machado e Tatiana Canata pelo apoio e colaboração na condução deste projeto.

Aos Funcionários Alexandre Prado, Dione Silva, Edgar Pavão, José Cuel, Lúcio Zanquetin e Ricardo Galeni pela aprendizagem e auxílio na condução deste projeto.

Os amigos são a família que Deus nos permite escolher. Agradeço aos meus amigos do coração Ana Livia Babadopulos, Anderson Carrara, Claudia Leal, Daiane Futema, Glauber Lage, Hernan Hourcade, Isabel Carvalho, Luiz Margutti, Joseane Estevão, Maria Elisa Estevão, Neide Aparecida, Patrícia Magalhães, Priscilla Mac-Lean, Renata Rodrigues, Saulo Alves e Wiliam Camilo por trazerem açúcar nos dias amargos.

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo pelo apoio e contribuição na minha formação acadêmica.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP pelo apoio financeiro para execução deste projeto.

Aos animais, fonte de toda minha inspiração e motivo pelo qual dedicarei toda minha vida à Zootecnia com fidelidade e amor, principalmente as minhas “negas”.

Enfim, a todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para mais este passo na minha vida, meu muito obrigado.

**“O saber se aprende com os mestres. A sabedoria, só
com o corriqueiro da vida”**

Cora Coralina

RESUMO

VILELA, R. A. **Efeito do ambiente térmico na fisiologia adaptativa de bubalinos**. 2013. 110 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

O objetivo do estudo foi a avaliação dos mecanismos termorreguladores, baseada numa abordagem temporal em função de diferentes armazenamentos de calor, proporcionados por diferentes tipos de ambientes térmicos (com e sem radiação solar). Foram utilizadas 12 búfalas da raça Mediterrânea que foram submetidas a quatro experimentos durante o verão de 2010 a 2012 delineados para o comprimento dos objetivos específicos. Nos vários experimentos os parâmetros meteorológicos registrados foram: temperatura de bulbo seco, temperatura de bulbo úmido, umidade relativa do ar, velocidade do vento e temperatura de globo negro. Os parâmetros fisiológicos avaliados foram: temperatura retal, temperatura da base da cauda, temperatura da epiderme, temperatura de superfície do pelame, frequência respiratória e taxa de sudção. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa Statistical Analysis System, versão 9.1.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), utilizando-se os procedimentos PROC MIXED. No experimento 1 que visou verificar as reações termorreguladoras ao ambiente aquecido em unidade biometeorológica, o aumento da temperatura do ar em ambiente controlado influenciou todas as variáveis fisiológicas ao longo do dia ($P < 0,01$). O incremento na taxa de sudção durante o período de estresse térmico determinou a depleção na concentração plasmática de potássio ($P = 0,0051$). No experimento 2 que avaliou as reações termorreguladoras na presença de radiação solar direta averiguamos que houve influência da exposição ao sol sobre todas as variáveis fisiológicas ao longo do dia ($P < 0,01$). O gradiente térmico favorável no período noturno atenuou os efeitos do estresse térmico não constatando o efeito da exposição a radiação solar direta sobre os constituintes sanguíneos. No experimento 3 que objetivou quantificar a velocidade de aquisição de calor ao sol comparando-a posteriormente com a velocidade de dissipação do calor à sombra, constatamos que a exposição por uma hora ao sol incrementou a frequência respiratória em 189,24 % e a temperatura retal em 1,46 %, após o retorno a sombra, por uma hora, verificamos uma redução de 191,75 % e 0,57 %, respectivamente. No experimento 4 avaliamos a dinâmica da termólise evaporativa e o balanço térmico de radiação e convecção em condições de radiação solar direta. À medida que reduz a temperatura radiante média, os

animais passam a perder o calor armazenado por radiação, reduzem as perdas por polipnéia térmica ao passo que as perdas por sudação permanecem altas.

Palavras-chave: armazenamento de calor, búfalos de água, radiação solar, sombra, termorregulação.

ABSTRACT

VILELA, R. A. **Effect of thermal environment in the adaptive physiology of water buffaloes.** 2013. 110 f. Thesis (Doctoral) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012.

The aim of the study was to evaluate the thermoregulatory mechanisms, based on a temporal approach, in relation to different heat storages provided by different types of thermal environments (with and without solar radiation). Twelve Mediterranean buffalo heifers were submitted to four experiments during the summer of 2010 to 2012 outlined to achieve specific objectives. Environmental parameters dry bulb temperature; wet bulb temperature; relative humidity; winds speed and black globe temperature were measured. Physiological parameters rectal temperature; base of tail temperature; skin temperature; hair coat surface temperature; respiratory rate and sweating rate were measured. The statistical analysis were done with the assistance of the Statistical Analysis System, version 9.1.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), using procedures UNIVARIATE, CORR, GLM and MIXED. The first experiment aimed to verify the thermoregulatory reactions of the warm environment in the climatic chamber. Increasing the air temperature in a controlled environment influenced all physiological variables throughout the day ($P < 0,01$). The increase in the sweating rate during heat stress led to the depletion of plasma potassium ($P = 0,0051$). In experiment 2, which assessed the thermoregulatory reactions in the presence of direct solar radiation, it was observed the influence of sun exposure on all physiological variables throughout the day ($P < 0,01$). The favorable thermal gradient at night attenuated the effects of heat stress without identifying the effect of direct sun exposure on blood constituents. In experiment 3, that aimed to measure the heat acquisition rate under the sun subsequently comparing it with the speed of heat dissipation under the shade, it was observed that one hour exposure to the sun increased respiratory rate at 189,24 % and rectal temperature at 1,46 %. After returning the shade for one hour, it was found reductions of 191,75 % and 0,57 %, respectively. The Experiment 4 evaluated the dynamics of evaporative thermolysis and thermal balance of radiation and convection under conditions of direct solar radiation. Reducing the mean radiant temperature, the animals started to lose the stored heat by radiation, reduced losses by thermal polipnea while the losses by sweating remain high.

Key-words: heat storage, shade, solar radiation, thermoregulation, water buffalo

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Inserção do termômetro	35
Figura 2 - Registro da temperatura retal	35
Figura 3 - Registro da temperatura caudal	36
Figura 4 - Região da veia coccígea	36
Figura 5 - Registro da temperatura da superfície	36
Figura 6 - Registro da temperatura de epiderme	36
Figura 7 - Área tricotomizada	37
Figura 8 - Dispositivo de acrílico	37
Figura 9 - Registro da sudção pelo método Schleger e Turner	38
Figura 10 - Registro da sudção pelo VapoMeter	38
Figura 11 - Coleta da amostra sanguínea	39
Figura 12 - Refrigeração das amostras sanguíneas	39
Figura 13 - Centrifugação das amostras sanguíneas	40
Figura 14 - Amostras acondicionadas em microtubos	40
Figura 15 - Registro da temperatura e umidade	40
Figura 16 - Registro da temperatura de globo negro	40
Figura 17 - Unidade biometeorológica	43
Figura 18 - Animais contidos em gaiolas metabólicas	43
Figura 19 - Vista frontal tratamento com sombra	63
Figura 20 - Animais mantidos à sombra	63
Figura 21 - Vista frontal tratamento ao sol	64
Figura 22 - Animais mantidos ao sol	64

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Esquema das fases experimentais	34
Quadro 2 - Esquema das atividades durante o experimento 1.....	43
Quadro 3- Esquema das atividades ao longo do dia durante o experimento 1	43
Quadro 4 - Esquema das atividades durante o experimento 2.....	64
Quadro 5 - Esquema das atividades ao longo do dia do experimento3	82
Quadro 6 - Esquema das atividades ao longo do dia do experimento 4.....	88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Número de observações (N), média, desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV), mínima (Min) e máxima (Max), para as variáveis meteorológicas durante o experimento 1	44
Tabela 2 - Número de observações (N), média, desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV), mínima (Min) e máxima (Max), para as variáveis fisiológicas do experimento 1	45
Tabela 3 - Resumo da análise de variância para as variáveis fisiológicas e temperatura de bulbo seco durante o experimento 1	45
Tabela 4 - Médias ajustadas das variáveis fisiológica e temperatura de bulbo seco dentro de cada tratamento ao longo do dia durante o experimento 1	46
Tabela 5 - Resumo da análise de variância para as taxa de sudção e temperatura de bulbo seco (14h) durante o experimento 1	52
Tabela 6 - Médias ajustadas para taxa de sudção e temperatura de bulbo seco (14h) dentro de cada tratamento durante o experimento 1	53
Tabela 7 - Número de observações (N), média, desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV), mínima (Min) e máxima (Max) para constituintes hematimétricos do experimento 1 ..	55
Tabela 8 - Resumo da análise de variância para os constituintes bioquímicos durante o experimento 1	56
Tabela 9 - Médias ajustadas para os constituintes bioquímicos dentro de cada tratamento durante o experimento 1	56
Tabela 10 - Resumo da análise de variância para os constituintes do eritrograma durante o experimento 1	58
Tabela 11 - Médias ajustadas para os constituintes do eritrograma dentro de cada tratamento durante o experimento 1	59
Tabela 12 - Resumo da análise de variância para os constituintes do leucograma durante o experimento 1	60
Tabela 13 - Médias ajustadas para os constituintes do leucograma dentro de cada tratamento durante o experimento 1	60
Tabela 14 - Número de observações (N), média, desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV), mínima (Min) e máxima (Max), para as variáveis meteorológicas durante o período experimental do experimento 2	65
Tabela 15 - Número de observações (N), média, desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV), mínima (Min) e máxima (Max), para as variáveis fisiológicas do experimento 2	66
Tabela 16 - Resumo da análise de variância para as variáveis fisiológicas e temperatura de globo negro durante o experimento 2	67
Tabela 17 - Médias ajustadas das variáveis fisiológica e temperatura de globo negro dentro de cada tratamento ao longo do dia durante o experimento 2	68
Tabela 18 - Resumo da análise de variância para as taxa de sudção e temperatura de globo negro (14h) durante o experimento 2	73
Tabela 19 - Médias ajustadas para taxa de sudção e temperatura de globo negro (14h) dentro de cada tratamento durante o experimento 2	73
Tabela 20 - Número de observações (N), média, desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV), mínima (Min) e máxima (Max) para os constituintes hematimétricos do experimento 2	77
Tabela 21 - Resumo da análise de variância para os constituintes bioquímicos durante o experimento 2	77
Tabela 22 - Médias ajustadas para os constituintes bioquímicos dentro de cada tratamento durante o experimento 2	78

Tabela 23 - Resumo da análise de variância para os constituintes do eritrograma durante o experimento 2	79
Tabela 24 - Médias ajustadas para os constituintes do eritrograma dentro de cada tratamento durante o experimento 2	79
Tabela 25 - Resumo da análise de variância para os constituintes do leucograma durante o experimento 2	79
Tabela 26 - Médias ajustadas para os constituintes do leucograma dentro de cada tratamento durante o experimento 2	80
Tabela 27 - Número de observações (N), média, desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV), mínima (Min) e máxima (Max), para as variáveis meteorológicas do experimento 3...	83
Tabela 28 - Número de observações (N), média, desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV), mínima (Min) e máxima (Max), para as variáveis fisiológicas do experimento 3.....	84
Tabela 29 - Resumo da análise de variância para as variáveis fisiológicas durante o experimento 3	84
Tabela 30 - Médias ajustadas das variáveis fisiológica ao longo dos períodos do experimento 3	84
Tabela31 - Número de observações (N), média, desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV), mínima (Min) e máxima (Max), para as variáveis meteorológicas durante o experimento 4	90
Tabela 32 - Número de observações (N), média, desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV), mínima (Min) e máxima (Max), para as variáveis fisiológicas do experimento 4.....	91
Tabela 33 - Resumo da análise de variância para as variáveis fisiológicas durante o experimento 4	91
Tabela 34 - Médias ajustadas das variáveis fisiológica, biofísicas e meteorológicas ao longo do dia durante o experimento 4	92

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Temperatura da epiderme observada e estimada para os tratamentos unidade desligada (UD) e unidade ligada (UL)	48
Gráfico 2 - Temperatura de superfície corporal observada e estimada para os tratamentos unidade desligada (UD) e unidade ligada (UL).....	49
Gráfico 3 - Temperatura da base da cauda observada e estimada para os tratamentos unidade desligada (UD) e unidade ligada (UL)	50
Gráfico 4 - Frequência respiratória observada e estimada para os tratamentos unidade desligada (UD) e unidade ligada (UL)	51
Gráfico 5 - Temperatura retal observada e estimada para os tratamentos unidade desligada (UD) e unidade ligada (UL).....	54
Gráfico 6 - Temperatura da epiderme observada e estimada para os tratamentos sol (SOL) e sombra (SBRA)	69
Gráfico 7 - Temperatura de superfície corporal observada e estimada para os tratamentos sol (SOL) e sombra (SBRA)	70
Gráfico 8 - Temperatura da base da cauda observada e estimada para os tratamentos sol (SOL) e sombra (SBRA)	71
Gráfico 9 - Frequência respiratória observada e estimada para os tratamentos sol (SOL) e sombra (SBRA)	72
Gráfico 10 - Temperatura retal observada e estimada para os tratamentos sol (SOL) e sombra (SBRA)	76
Gráfico 11 - Temperatura retal e frequência respiratória observadas durante o teste de capacidade termolítica	85
Gráfico 12 - Dinâmica do balanço térmico por radiação de ondas longas ao longo do dia	93
Gráfico 13 - Dinâmica do balanço térmico por convecção ao longo do dia	94
Gráfico 14 - Dinâmica da termólise latente ao longo do dia	94
Gráfico 15 - Dinâmica do equilíbrio térmico do animal ao longo do dia.....	95

SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO	16
2 - HIPÓTESE	18
3 - OBJETIVO	18
3.1 - Objetivo Geral	18
3.2 - Objetivos Específicos.....	18
4 - REVISÃO DE LITERATURA	19
4.1 - Particularidades Estruturais e Funcionais dos Bubalinos	19
4.2 - Bem-estar e Estresse Animal	20
4.3 - Indicadores de Estresse Térmico	22
4.3.1 - Indicadores Meteorológicos.....	22
4.3.2 - Indicadores Fisiológicos.....	23
4.3.2.1- Temperatura corporal	23
4.3.2.2 - Frequência respiratória	25
4.3.2.3 - Sudação	26
4.3.2.4 - Alterações hormonais.....	27
4.3.2.5 - Perfil clínico	30
4.3.2.6 - Equilíbrio eletrolítico	31
4.3.4 - Indicadores comportamentais.....	32
5 - MATERIAL E MÉTODOS – Descrição Geral	33
5.1 - Local experimental.....	34
5.2 - Animais experimentais.....	34
5.3 - Parâmetros fisiológicos	35
5.4 - Parâmetros hematológicos.....	38
5.5 - Parâmetros meteorológicos	40
6 - Experimento 1. Avaliação das reações termorreguladoras de búfalos de água ao ambiente aquecido em unidade biometeorológica	41
6.1 - Introdução.....	41
6.2 - Material e Métodos.....	42
6.3 - Resultados e Discussão.....	44
6.4 - Conclusão	61
7 - Experimento 2. Avaliação das reações termorreguladoras na presença de radiação solar direta- balanço térmico e níveis de termólise latente.....	62
7.1 - Introdução.....	62
7.2 - Material e Métodos.....	63
7.3 - Resultados e Discussão.....	66
7.4 - Conclusão	80
8 - Experimento 3. Avaliação das velocidades de termogênese e de termólise com base no armazenamento de calor	81
8.1 - Introdução.....	81
8.2 - Material e Métodos.....	82
8.3 - Resultados e Discussão.....	83
8.4 - Conclusão	86
9 - Experimento 4. Avaliação dinâmica da termólise evaporativa em condições de radiação solar direta - balanço térmico de radiação, convecção e níveis de termólise latente.....	87
9.1 - Introdução.....	87
9.2 - Material e Métodos.....	88

9.3 - Resultados e Discussão.....	90
9.4 - Conclusão	95
10 - CONCLUSÕES GERAIS	96
11 - IMPLICAÇÕES	96
12 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	96

1 - INTRODUÇÃO

Os búfalos são originários da Ásia e são divididos em dois grupos principais: Búfalos-do-Rio, composto por dezoito raças, sendo que as mais conhecidas no Brasil são Murrah, Jafarabadi e Mediterrânea; e Búfalos-do-Pântano composto apenas pela raça Carabao.

Os bubalinos foram introduzidos no território brasileiro em 1870. Contudo, em 1895 ocorreu oficialmente a primeira importação para Ilha de Marajó - PA com vista à ocupação dos chamados “vazios pecuários”, devido a sua adaptabilidade e capacidade de utilizar campos alagados com diversas fontes de forragens, especialmente as de baixa qualidade. Esta versatilidade promoveu a falsa ideia de que eles produzem em quaisquer condições. Atualmente esta falsa ideia de extrema rusticidade ainda existe, entretanto, a bubalinocultura vem se destacando no Brasil pela possibilidade de produzir carne e leite de boa qualidade, comprovado por inúmeros trabalhos que demonstraram suas propriedades nutricionais e características sensoriais.

Os bubalinos possuem uma ampla capacidade de adaptação, habitando diversos ecossistemas, sendo encontrados desde regiões pantanosas até regiões nevadas. Devido a sua adaptabilidade, a bubalinocultura tornou-se uma alternativa econômica aos mais diversos ambientes, principalmente em regiões tropicais úmidas apresentado assim, comprovado crescimento em todas as regiões do Brasil.

De acordo com os dados do Ministério da Agricultura (2011), o rebanho bubalino no Brasil está estimado em torno de 1,17 milhões de cabeças, sendo a região Norte a de maior concentração com 720 mil cabeças, com 39% do rebanho nacional encontrado no Pará, seguido das regiões Nordeste e Sudeste, com 135 e 104 mil cabeças, respectivamente.

Atualmente, os maiores desafios que se verificam na bubalinocultura brasileira consistem na busca de uma melhor organização do setor e do estabelecimento de um maior equilíbrio nas cadeias comerciais. Diante da necessidade de estruturação da cadeia produtiva, é de fundamental importância conhecer o comportamento natural da espécie e sua fisiologia, para elaboração de práticas de manejo mais adequadas, a fim de respeitar suas necessidades e melhorar seu bem-estar, resultando assim, em adequadas condições para seu desenvolvimento e, conseqüentemente, melhoria na qualidade do produto final.

Trabalhos clássicos sobre mecanismos termorreguladores dos bubalinos baseiam-se essencialmente em uma análise simplificada entre a causa e efeito, não considerando a

variável tempo nem as características dos ambientes térmicos. Posto isto, o presente trabalho visou melhorar a compreensão dos mecanismos termorreguladores dos bubalinos.

Este trabalho foi concebido abordando a termorregulação dos bubalinos de uma forma sistêmica. Foi valorizada a componente individual, de acordo com a inclusão do fator tempo (com metodologias da cronobiologia) integrado de forma sincrônica com as variáveis fisiológicas e comportamentais. O caráter inovador do trabalho tem por base não apenas a análise das interações instantâneas, mas também uma análise agregada do armazenamento de calor em função da variação temporal e da variação do ambiente térmico.

Para melhor compreensão, a tese foi dividida em capítulos sendo a primeira parte dedicada a um estudo bibliográfico referente às características adaptativas e aos indicadores de estresse térmico dos bubalinos. Posteriormente, foi realizada uma descrição geral dos materiais e métodos comuns aos quatro experimentos. Cada experimento foi composto por uma breve introdução descrevendo os objetivos, materiais e métodos específicos, seus resultados e discussão e conclusão, sendo a tese finalizada com uma conclusão geral e implicações.

2 - HIPÓTESE

Nos búfalos, os mecanismos termorreguladores exibem respostas com o mesmo padrão e proporcionalidade, face à temperatura ambiente crescente.

3 - OBJETIVO

3.1 - Objetivo Geral

Fazer uma análise comparativa, baseada numa abordagem temporal, do funcionamento dos mecanismos termorreguladores em função de diferentes formas de armazenamentos de calor, proporcionados por diferentes tipos de ambientes térmicos (com e sem radiação solar).

3.2 - Objetivos Específicos

- Evidenciar numa lógica cronobiológica as eventuais diferenças nas reações fisiológicas dos animais face às temperaturas elevadas.
- Avaliar as reações dos animais perante condições de radiação solar direta, designadamente a intensidade de funcionamento das vias de termólise latente e as variações nos armazenamentos de calor de acordo com os diferentes balanços térmicos.
- Avaliar a velocidade de acúmulo de calor ao sol comparando-a posteriormente com a velocidade de dissipação do calor à sombra.
- Estudar a dinâmica da utilização das vias de termólise evaporativa ao longo do dia, de forma a compreender as relações sincrônicas entre a temperatura ambiente, os armazenamentos de calor e a intensidade e proporcionalidade das respostas das vias de termólise evaporativa.

4 - REVISÃO DE LITERATURA

4.1 - Particularidades Estruturais e Funcionais dos Bubalinos

Apesar da adaptabilidade às diversas condições ambientais, os búfalos possuem características morfológicas e anatômicas específicas que lhes conferem vantagens e desvantagens relativas à termorregulação.

A pele possui função termorreguladora, de defesa, percepção e proteção do organismo. A característica mais marcante da pele dos bubalinos é a espessura da epiderme, o estrato córneo é mais eminente e pode ser duas vezes mais espesso que a dos bovinos (MASON 1974). A espessurada pele do búfalo favorece na proteção contra superaquecimento do corpo por meio da redução da condutância térmica (AGGARWAL; SINGH, 2008). Além disso, a interface entre as duas camadas da pele, epiderme e derme, possuem várias reentrâncias. A epiderme estende-se em numerosas papilas na derme alterando a distribuição dos vasos sanguíneos, as artérias se ramificam com mais frequência dando origem a inúmeras arteríolas e capilares (HAFEZ; ANWAR, 1954).

Nos búfalos, além da epiderme ser mais espessa, é mais pigmentada que a dos bovinos. A alta concentração de melanina confere-lhes uma elevada proteção contra a radiação ultravioleta. As partículas de melanina interceptam os raios ultravioleta e os impedem de penetrar através da derme (MARAI; HABEEB, 2010). Porém, os bubalinos apresentam um menor número de folículos pilosos na superfície corporal, sua densidade é de apenas 10 % daquela dos bovinos, variando de 100 a 200 folículos por cm^{-2} de área de pele. Acrescendo o fato de que o número de pelos por unidade de área decresce com a idade, tornando o animal quase glabro (VILLARES; MONTENEGRO; RAMOS, 1979).

Os pelos são relativamente longos e grossos, o comprimento do pelo varia de 1 a 7 cm e diâmetro de 80 μ a 107 μ , e se implantam na pele associados às glândulas sudoríparas e sebáceas, formando o aparelho pilo-sebáceo-músculo-sudoríparo (VILLARES; RAMOS; ROCHA, 1979). Tendem a desempenhar dupla função termorreguladora: facilita a termólise e, ao mesmo tempo, protege contra energia radiante. Quando adultos, essa ausência de uma camada de pelos reflexivos sobre a pele torna-os mais susceptíveis à radiação visível e infravermelha de ondas curtas, que são absorvidas em maior quantidade devido à coloração da epiderme (PANT; ROY, 1982). Por outro lado, com essa reduzida densidade de pelos, juntamente com o pouco desenvolvimento do músculo eretor, não se forma uma camada de ar

isolante sobre a pele, como acontece nos bovinos, favorecendo, portanto, a dissipação do calor endógeno (TRIPATHI et al., 1972).

As glândulas sudoríparas são do tipo epitriquial e apócrina, em forma tubular, alongada e sinuosa, situadas mais profundamente que o folículo piloso (VILLARES; MONTENEGRO; RAMOS, 1979). Apresentam uma densidade por unidade de área da superfície corporal dez vezes menores que nos bovinos, sendo sugerida uma maior dificuldade de dissipação do calor através da sudorese (MASON, 1974).

As glândulas sebáceas dos bubalinos são do tipo holócrinas, sendo volumosas, multilobadas e possuem maior atividade secretória que as dos bovinos. Apresentam-se em forma de cacho e situam-se unilateralmente ao folículo piloso. Quando em estresse térmico, o sebo produzido pelas glândulas sebáceas se espalha na epiderme tornando-a mais brilhante, aumentando a refletância, e aliviando parcialmente o animal da carga térmica excessiva (VILLARES; RAMOS; ROCHA, 1979). Essa substância gordurosa secretada pela glândula, além da função refletora funciona como um lubrificante que, juntamente com a espessa camada córnea, impede a absorção de água e solutos, protegendo os animais contra quaisquer compostos químicos nocivos encontrados na água (MARAI; HAEED, 2010).

Devido essas particularidades, Chikamune et al. (1986) referem que estes animais possuem baixa eficiência na perda de calor pelas vias cutâneas, sendo a via respiratória de grande relevância na dissipação do calor endógeno (VILLARES; RAMOS; ROCHA, 1979).

Os bubalinos são perfeitamente adaptados ao ambiente quente e úmido e a terrenos alagados, embora sejam sensíveis às altas temperaturas do ar, principalmente se associadas à radiação solar direta (MARAI; HAEED, 2010). Nestas condições, tendem apresentar alterações fisiológicas mais rapidamente quando comparados com os bovinos nativos dos trópicos. Por estas particularidades, os bubalinos tornam-se mais susceptíveis ao estresse térmico e, conseqüentemente, reduzem o bem-estar.

4.2 - Bem-Estar e Estresse Animal

Existe uma grande discussão acerca do bem-estar animal e este conceito passou a ter uma importância econômica à medida que a sociedade reconheceu o sofrimento dos animais como um fator relevante na produção animal (MOLENTO, 2005). O bem-estar passa ser um entrave econômico com embargos nas exportações dos produtos de origem animal, o que promoveu uma urgência no meio científico para elaborações de novas recomendações

técnicas e discussões sobre questões éticas na produção animal. Para tanto, surgiu a necessidade de uma definição clara do termo bem-estar animal.

Um critério essencial para a definição de bem-estar animal é que o mesmo deve referir-se às características do animal, e não a algo proporcionado pelo homem. Deve ser definido de forma que permita pronta relação com outros conceitos tais como necessidades, liberdades, felicidade, adaptação, controle, capacidade de previsão, sentimentos, sofrimento, dor, ansiedade, medo, estresse e saúde (BROOM, 2002).

Existem três abordagens quanto ao bem-estar. A primeira abordagem baseia-se nos sentimentos dos animais. São medidas subjetivas que relacionam as experiências dos animais, enfatizando a necessidade de reduzir as experiências negativas e proporcionar experiências positivas. A segunda abordagem refere-se às funções vitais dos animais, enfatizando o funcionamento normal das atividades biológicas dos animais. A última abordagem é fundamentada na expressão dos comportamentos naturais inerentes à espécie estudada (DUNCAN; FRASER 1997).

Crissiuma e Almeida (2006), em revisão sobre o conceito de bem-estar, concluíram que se devem refinar as formas de se medir o grau de bem-estar dos animais, para que estas avaliações possam ser utilizadas no sentido de se aprimorar as relações entre seres humanos e animais, e que o debate e a divulgação do tema são fundamentais para o desenvolvimento da pesquisa científica dentro dos parâmetros da bioética.

A definição mais aceita no meio científico foi descrita por Broom (1991) que definiu o bem-estar como um termo que se refere ao estado de um indivíduo em relação às suas tentativas de adaptar-se ao seu ambiente, que pode ser mensurado em uma escala variando de muito bom a muito ruim.

O bem-estar animal é associado ao estresse e baseia-se no fato de que se o estresse aumenta o bem-estar diminui. O estresse caracteriza-se pela soma de mecanismos de defesa do organismo em resposta a um estímulo provocado por um agente estressor, externo ou interno, para manter a homeostasia, ocasionando respostas comportamentais, fisiológicas e imunológicas. (BACCARI JR, 1998a).

Os agentes estressores podem ser de origem mecânica (traumatismo, cirúrgicos, contenção), ambientais (temperatura do ar, umidade relativa, radiação, vento, poeira), físicas (eletricidades, ruídos), químicos (drogas), biológicas (nutrição, agentes infecciosos), sociais (hierarquia, dominância) e, psicológicas (manejo) (BACCARI JR, 2001).

Para uma avaliação correta, o bem-estar animal deve ser mensurado por diversos indicadores de estresse. A seguir serão descritos os indicadores de estresse térmico.

4.3 - Indicadores de Estresse Térmico

O estresse térmico é definido como qualquer combinação de condições ambientais que tornem a temperatura efetiva do ambiente mais elevada que a faixa de temperatura da zona termoneutra do animal (THATCHER et al., 2010). O estresse térmico é caracterizado pela quantidade de calor endógeno acima do calor eliminado, quando o animal é exposto a um ambiente térmico desfavorável (FERRO et al., 2010). Entretanto, Pereira (2004) afirmou que o estresse térmico é caracterizado pelo esforço fisiológico realizado pelo animal, com consequência no gasto energético, para equilibrar a termólise com a termogênese.

Quando o animal é submetido a um estresse térmico, os indicadores para avaliação do seu bem-estar levam em consideração o meio que este animal foi inserido, suas respostas fisiológicas e comportamentais.

4.3.1 - Indicadores Meteorológicos

O estresse térmico é causado pelas combinações dos elementos meteorológicos como temperatura, umidade, radiação solar e vento e, dependendo da intensidade e duração destes elementos, podem afetar o crescimento, a produção e a reprodução dos animais (BACCARI JR, 1998b).

O termo estresse térmico deve ser utilizado para descrever aquela porção de bem-estar pobre, que se refere à ineficácia das tentativas para enfrentar as adversidades do meio (BROOM, 2002).

A avaliação e o monitoramento do ambiente na produção animal são fundamentados tradicionalmente no controle e análise da temperatura e umidade do ar, ou em índices que venham combinar variáveis ambientais em um único valor (SOUZA, 2002).

Existem diversos índices de conforto térmico como: temperatura operativa (T_o), índice de temperatura e umidade (ITU), índice de temperatura de globo negro e umidade (ITGU). Estes índices objetivam determinar a adequação de um ambiente com relação a uma atividade ou um tipo específico de animal. Tais índices dificilmente podem ser de uso generalizado, uma vez que são estruturados com base em determinados fatores ambientais, que podem ser importantes para alguns animais e não para outros (SILVA, 2000).

4.3.2 - Indicadores Fisiológicos

As alterações fisiológicas dos animais, assim como as comportamentais, quando expostos ao estresse térmico são comandadas pelo sistema nervoso autônomo (simpático e parassimpático), controlado pelo hipotálamo. Os mecanismos fisiológicos para lidar com o estresse térmico por calor incluem uma maior vasodilatação com aumento do fluxo sanguíneo para a superfície da pele, aumento da frequência respiratória, suor, alteração no perfil hematológico e hormonal, redução na ingestão de alimentos e aumento na ingestão de água.

A avaliação das respostas fisiológicas deve ser interpretada com cuidado, pois o impedimento da função imune ocasiona algumas alterações fisiológicas indicando um estado pré-patológico (MOBERG, 1985).

4.3.2.1- Temperatura corporal

A temperatura corporal é determinada pela diferença entre a quantidade de calor produzido, seja através dos processos metabólicos ou adquirido através da troca de calor com o ambiente e, a quantidade de calor dissipado para o ambiente por meio latente ou sensível.

Os mecanismos para dissipação ou produção de calor são comandados pelo centro termorregulador (hipotálamo) por meio dos termorreceptores que estão localizados no próprio hipotálamo, medula espinhal, cutâneos e nas vísceras.

Os tecidos corporais são majoritariamente maus condutores, portanto o calor é transferido principalmente por convecção, através do aumento da circulação sanguínea. A perda de calor corporal pode ser modificada por mudanças no fluxo sanguíneo na pele e pela quantidade de isolamento na superfície do animal. As arteríolas que vascularizam a pele se dilatam e as anastomoses arteriovenosas se abrem, aumentando o fluxo sanguíneo na periferia, aquecendo os tecidos periféricos, cuja temperatura se aproxima da temperatura nuclear e, o sangue arrefecido retorna para o centro corporal através das veias superficiais após a perda de calor para a pele e o ar (ROBINSON, 2008b). Anatomicamente, os bubalinos possuem uma vantagem em relação aos bovinos neste processo de perda de calor devido às reentrâncias existentes entre a epiderme e a derme, permitindo uma maior aproximação das arteríolas à superfície corporal (HAFEZ; ANWAR, 1954).

A temperatura do corpo não é homogênea e varia de acordo com a região anatômica, em razão das diferenças nas atividades metabólicas dos diversos tecidos. O equilíbrio da

temperatura retal ocorre mais lentamente que em outros pontos internos, tornando-se um índice dinâmico verdadeiro (SILVA, 2000). A temperatura retal é a que fornece uma indicação que mais se aproxima da temperatura nuclear (ROBINSON, 2008b).

A temperatura retal do animal, mesmo em situação de conforto, não se mantém constante, apresenta uma variação circadiana, influenciada por mudanças na atividade física, no nível metabólico, ingestão de alimento e comportamento do animal (BIANCA, 1973; PIRES et al., 1998a; SILANIKOVE, 2000).

Os valores da temperatura retal dos bubalinos quando em termoneutralidade são inferiores que a dos bovinos (SILVA, 2010). Shimizu (1988) indicou que a temperatura retal dos bubalinos em termoneutralidade é 37,6 °C comparada a 38,5 °C para vacas holandesas. Chaiyabutr et al. (1987) relataram que a temperatura retal dos bubalinos aumentou acentuadamente uma média de 0,0033°C/min com o tempo de exposição a uma temperatura de 41°C de bulbo seco.

As regiões superficiais apresentam temperaturas mais variáveis por estarem mais sujeitas às influências do ambiente externo. Essa variação indica que a temperatura da superfícieda pele se modifica em relação à temperatura ambiente, umidade, radiação solar e vento e, também devido a fatores fisiológicos como vasodilatação periférica, perspiração insensível e sudação (AGGARWAL; SINGH, 2008).

O pelame tem função de proteção térmica, constituindo uma barreira ao fluxo de calor sensível por meio do isolamento proporcionado pelo tipo de fibra e principalmente pelo ar aprisionado entre os pelos que diminui a perda de calor por convecção (SILVA, 2008). Porém, devemos considerar que os bubalinos adultos apresentam um reduzido número de folículos pilosos na superfície corporal facilitando a perda de calor por essa via. Entretanto, os bubalinos possuem a epiderme totalmente pigmentada tornando-os susceptíveis à radiação visível e infravermelha de ondas curtas, absorvendo esta radiação com a consequente elevação de sua temperatura (PANT; ROY, 1982).

Das, Upadhyay, e Madan (1999) ao avaliarem os efeitos da radiação solar direta sobre a temperatura de superfície corporal de temperatura retal e frequência respiratória, por um período de 24 horas concluíram que o aumento da exposição à radiação solar altera a temperatura de superfície em todas as regiões estudadas. Os búfalos não são capazes de manter a temperatura retal e sua frequência respiratória aumentou 5-6 vezes, com projeção da língua e aumento da atividade salivar.

4.3.2.2 - Frequência respiratória

A primeira indicação visível de que o animal está submetido ao estresse térmico é o aumento da frequência respiratória, embora seja o terceiro na sequência das respostas termolíticas.

A frequência respiratória é definida como o número de ciclos ou o número de respirações a cada minuto (REECE, 2006). É um excelente indicador de estresse, mas deve ser cuidadosamente interpretada por estar sujeita variações intrínsecas e extrínsecas. As variações intrínsecas caracterizam-se pelas respostas aos exercícios físicos, medo, excitação, estado fisiológico e produção de leite (CARVALHO et al., 1995; MARAI; HABEEB; FARGHALY, 1999). Os fatores extrínsecos, ou ambientais, como condições meteorológicas, estação do ano, ciclo circadiano, densidade animal e sombreamento resultam em respostas respiratórias, geralmente associadas aos mecanismos de termólise (PIRES et al., 1998b; MARAI; HABEEB; FARGHALY, 1999).

A principal função do sistema respiratório é prover oxigênio para manter o metabolismo tecidual e remover dióxido de carbono. Além disso, o sistema respiratório possui um importante papel na termorregulação, no metabolismo de substâncias endógenas e exógenas e, na proteção do animal contra inalação de poeiras, gases tóxicos e agentes infecciosos (ROBINSON, 2008 a).

O ritmo basal da respiração pode ser modificado, de forma que a frequência e a profundidade sejam alteradas (BIANCA, 1973). Durante o exercício e na termorregulação ocorrem alterações no volume respiratório corrente e na frequência respiratória. Quando em estresse térmico pelo calor, os animais diminuem o volume e aumentam a frequência da respiração, a fim de incrementar a ventilação do espaço morto e promover evaporação de água e perda de calor (ROBINSON, 2008a).

Durante a respiração ofegante, ocorre um aumento na ventilação do trato respiratório superior concomitante com aumento no fluxo sanguíneo na mucosa nasal. O ar inspirado será aquecido à temperatura corporal nuclear e ficará saturado com vapor de água, à medida que o ar passa sobre as fossas nasais até o espaço morto, sendo o calor para a vaporização proveniente do suprimento sanguíneo das vias nasais, ocasionando um arrefecimento na mucosa. Na expiração, o ar sai dos pulmões saturado e aquecido e, para reduzir a condensação deste ar ao passar pela mucosa arrefecida, ocorre uma vasoconstrição na mucosa nasal para restringir uma reaquisição de calor retirado da superfície da mucosa (REECE, 2006).

O aumento da frequência respiratória por um determinado intervalo é uma resposta termolítica ao estresse térmico. Porém, se este período se prolonga ocasiona um relevante aumento no calor endógeno, em função da atividade muscular (ofego). Além de interferir na ingestão de alimentos e ruminação, desvia energia de outros processos metabólicos. Quando o animal estiver sujeito a um estresse intenso e prolongado, muda o tipo de respiração, a taquipnéia superficial cede lugar à respiração mais lenta e profunda, possibilitando incremento temporário na ventilação alveolar. Porém, esta segunda fase respiratória causa uma diminuição parcial de CO₂ no sangue e, conseqüentemente, uma diminuição na concentração de ácido carbônico, resultando em uma alcalose respiratória (BIANCO; FINDLAY, 1962).

A termólise pela via cutânea dos bubalinos parece ser limitada, sendo o calor corporal excedente eliminado pela via respiratória, para manter a homeotermia (VILLARES; MONTENEGRO; RAMOS, 1979).

A frequência respiratória dos bubalinos em clima temperado, com temperatura de bulbo seco (Tbs) de 14,1 °C e umidade relativa (UR) de 71,9 %, apresenta-se em $12,7 \pm 0,60$ movimentos por minuto (SHIMIZU, 1988). Segundo Nguyen Xuan Tinh (1996)¹ citado por Thanh e Chang (2007), quando os bubalinos se encontram em termoneutralidade apresentam uma frequência respiratória de 18-21 movimentos por minuto.

4.3.2.3 - Sudação

A sudação é a via evaporativa de termólise mais eficiente e de gasto energético inferior para o animal, quando em condições de umidade relativa não superior a 70%. A capacidade de um animal em suar depende do número e atividade de glândulas sudoríparas, da natureza da capa de cobertura cutânea e sua permeabilidade ao vapor de água, além da capacidade circulatória periférica (SILVA, 2008). O número de glândulas ativas está relacionado com o ciclo de atividade dos folículos pilosos e também com a idade do animal (SILVA, 2000).

A dissipação da energia térmica através da evaporação sobre uma epiderme coberta por pelo ocorre de forma diferente a de uma superfície lisa e exposta, pois o pelame confere

¹TINH, NGUYEN XUAN; NGAN, TIET HONG; BA MUI, NGUYEN; LOAN, LEMONG. *Livestock Physiology*. Agriculture Publishing House. Hanoi. 1996. pp.227.

uma resistência à difusão do vapor. Pelames assentados e poucos densos possuem menor resistência, possibilitando maior taxa de transferência de energia térmica resultante da sudação (LIGEIRO et. al., 2006).

A capacidade máxima de sudação ocorre sob temperatura elevada, quando há incremento no aporte sanguíneo para a epiderme, o que estimula as glândulas sudoríparas (SOUZA JR, 2008).

O processo sudativo ocorre com o acúmulo do fluido (suor) nas células epiteliais das glândulas, o que cria uma diferença hidrostática, fazendo com que o líquido passe através das paredes celulares para o lúmen glandular, ocasionando a eliminação do suor através de contrações das miofibrilas (SILVA, 2000).

Na maioria das espécies, a sudorese é controlada pelo sistema nervoso simpático colinérgico e as glândulas apócrinas são estimuladas pela elevação dos níveis de catecolaminas circulantes. Na aclimação, ocorre um incremento na taxa de sudação e, devido a um aumento na secreção de aldosterona, a maior parte do sódio e cloreto é reabsorvida nos ductos das glândulas sudoríparas antes que o suor chegue à pele (ROBINSON, 2008b).

O conceito geral prevalecente é que os bubalinos pertencem à categoria de animais com uma baixa capacidade sudativa. Porém, apesar dos bubalinos apresentarem uma unidade de área de superfície de glândula sudorípara três vezes menores, quando em condições de estresse térmico, suas glândulas sudoríparas apresentam ser tão funcionais quanto às dos bovinos, principalmente quando expostos a um ambiente quente e seco (JOSHI; MCDOWELL; SADHU, 1968). Titto, Russo e Lima (1997) verificaram aumento na taxa de sudação de búfalos de 107,3 para 252,2 g.m⁻².h⁻¹ em temperatura ambiente de 28,2 a 34,7 °C, com umidade relativa de 57 %.

4.3.2.4 - Alterações hormonais

Na abordagem aos mecanismos fisiológicos dos hormônios, é essencial perceber o funcionamento do complexo hipotálamo-hipófise. Ao nível do hipotálamo há uma inter-relação importante entre o sistema nervoso e as glândulas endócrinas. Esta inter-relação está associada com algumas das funções que o hipotálamo pode desempenhar. Além de ser um termostato regulador da temperatura, o hipotálamo desempenha outras funções, entre as quais o controle de praticamente todo o sistema endócrino, através do eixo hipotálamo-hipofisário.

O sistema endócrino opera através de mensageiros químicos reconhecidos por receptores hormonais específicos nas células alvo e o grau de resposta está associado à dose hormonal e ao tempo de exposição (EILER, 2006).

Os animais respondem aos agentes estressores em três estágios. No primeiro estágio, conhecido como alarme, os animais reconhecem o agente estressor e ativam o sistema neuroendócrino (SELYE, 1950).

Inicialmente o agente estressor atua via sistema nervoso central sobre o hipotálamo que ativa o sistema nervoso autônomo simpático. No hipotálamo, as células neuro-secretoras secretam o neuro-hormônio liberador de corticotrofina (CRH), que estimula a liberação do hormônio adrenocorticotrófico ou corticotrofina (ACTH) no plexo capilar primário do sistema porta pelos corticotropos na parte distal da hipófise (adenohipófise) (EILER, 2006).

A porção medular das adrenais estimulada por via do sistema nervoso simpático produz as catecolaminas, adrenalina e noradrenalina, conhecidas também como epinefrina e norepinefrina, que preparam o organismo para ações protetoras mobilizando energia com o aumento da circulação sanguínea nos órgãos vitais através da aceleração dos batimentos cardíacos, dilatação das pupilas, aumento do catabolismo, da taxa de glicose sanguínea e da sudorese. O ACTH estimula as glândulas suprarrenais, que passam a produzir e liberar os hormônios do estresse. A porção cortical das adrenais produz os glicocorticoides (cortisona, cortisol e corticosterona), os mineralocorticoides (aldosterona) e alguns hormônios sexuais (andrógeno e estrógeno) que regulam o metabolismo dos carboidratos, proteínas e lipídeos, aumenta a oxigenação dos tecidos através da contração do baço que, aumenta a concentração de hemácias na circulação sanguínea, diminuem as respostas imunológicas e os processos digestivos, mantém o equilíbrio de eletrólitos (Na e K), de água e diminui a libido. Juntamente, estes hormônios têm funções de preparar fisiologicamente o organismo para ações de fuga ou de luta (EILER, 2006).

No segundo estágio, conhecido como adaptação, o organismo reduz os níveis hormonais e repara os danos causados pelo estágio de alarme. Entretanto, se o agente estressor persistir por um período prolongado ou se tornar crônico, o animal entrará no terceiro estágio, conhecido como exaustão. Neste estágio, ocorre o retorno à fase de alarme com falhas nos mecanismos de adaptação, déficit das reservas energéticas, alterações nas funções imunes, no desenvolvimento e na reprodução. Nesta fase, o animal já excedeu sua capacidade adaptativa com esgotamento fisiológico podendo levar a falência do organismo (SELYE, 1950).

A glândula tireóidea também apresenta funções importantes no mecanismo de adaptação dos animais em situações de estresse térmico (MORAES et al., 2008). A glândula da tireóide localiza-se afixadas às faces laterais da traquéia abaixo da cartilagem cricóide e, para a síntese dos hormônios tireoidianos pelo epitélio folicular é essencial que existam grandes quantidades de iodo no meio, obtido a partir da alimentação (GRECO, STABENFELDT, 2004).

A secreção hormonal da glândula da tireóide é regulada pelo hipotálamo, que secreta o hormônio liberador da tireotropina (TRH). O TRH estimula a secreção do hormônio estimulante da tireóide (TSH) pelos tireotropos na parte distal da hipófise. O TSH estimula a secreção de triiodotironina (T_3) e tiroxina (T_4) pela tireóide. O T_3 é a forma biologicamente mais ativa e com meia-vida de dezesseis a quarenta e oito horas, podendo ser produzido diretamente na tireóide ou, periféricamente, a partir da desiodação periférica do T_4 . O T_4 é bioativamente menos ativo e, a meia-vida da T_4 é de dois a seis dias (EILER, 2006).

Os hormônios da tireóide exercem influência sobre diversas funções orgânicas e possuem efeitos sobre o crescimento e o desenvolvimento e efeitos metabólicos. A função mais conhecida dos hormônios tireóideos nos mamíferos é a sua capacidade de aumentar a taxa de consumo de oxigênio e a velocidade dos processos de oxidação e de liberação de energia nas células corporais, alterando o metabolismo basal e consequentemente o aumento da termogênese, da ventilação alveolar, da sudorese e da produção de uréia e, redução do tecido adiposo e tecido muscular. Além disso, potencializam outros hormônios, como as catecolaminas, epinefrina, norepinefrina e somatotrofina (KHONGDEE; SRIPOON; VAJRABUKKA, 2011; SILVA et al., 1994).

A avaliação de T_3 e T_4 totais deve ser interpretada com precaução. Há considerável variabilidade com a idade, reprodução, temperatura ambiental, estado nutricional e de saúde bem como uma ampla faixa de valores normais. Além disso, as determinações totais podem não refletir a concentração do hormônio livre, que é o elemento de maior importância para células alvo (EILER, 2006).

Ohashi et al. (2007) determinaram, para bubalinos machos com faixa etária de 18 a 24 meses, as concentração plasmática média dos hormônios T_3 de $153,7 \text{ ng.dL}^{-1}$ e T_4 de $4,2 \text{ ng.dL}^{-1}$.

Aggarwal e Singh (2010) avaliaram as alterações hormonais em búfalas em lactação da raça Murrah em dois diferentes sistemas de resfriamento (aspersão ou imersão) e em dois períodos do ano (quente-seco e quente-úmido) na Índia. Relataram que os níveis plasmáticos de T_3 não variaram entre os períodos estudados e nem entre os tipos de resfriamento, com

valores médios no período seco e para os grupos com aspersão e com imersão de $1,97 \pm 0,03$ e $1,88 \pm 0,03$ ng.ml⁻¹. E, no período úmido de $1,83 \pm 0,04$ e $1,99 \pm 0,03$ ng.ml⁻¹, respectivamente. Nos níveis plasmáticos de T4 verificaram uma variação ($P < 0,01$) entre os períodos estudados, sendo maior durante o período seco para os búfalos em imersão ($52,27 \pm 0,67$ ng.ml⁻¹) do que em búfalos mantidos em aspersão ($50,65 \pm 0,50$ ng.ml⁻¹). E, no período úmido de $50,97 \pm 0,61$ vs $48,25 \pm 0,54$ ng.ml⁻¹, respectivamente.

4.3.2.5 - Perfil clínico

O sangue é um tecido conjuntivo líquido produzido na medula óssea vermelha e tem como função o transporte de nutrientes, metabólitos (toxinas), oxigênio e gás carbônico. É constituído em uma parte líquida (plasma) e uma parte sólida formada por células que são classificadas em glóbulos brancos (leucócitos), que são as células de defesa; glóbulos vermelhos (hemácias ou eritrócitos), responsáveis pelo transporte de oxigênio; e plaquetas, fatores de coagulação sanguínea (GARCIA-NAVARRO, 2005). O seu exame é chamado hemograma e é realizado para avaliar o estado de saúde do animal. No entanto, os componentes sanguíneos constituem um importante indicador das respostas fisiológicas aos agentes estressores.

Estudos indicaram que os valores hematológicos e os índices hematimétricos podem ser influenciados pelas condições: a) Ambientais, os bubalinos quando submetidos ao estresse térmico apresentam maiores valores de hemoglobina, hemácias e leucócitos (SILVA et al., 2011). b) Nutricionais, as dietas com teor de proteína bruta balanceada e animais hidratados apresentam hemograma com valores normais (OLIVEIRA et al., 2005). c) Espécies, os valores de eritrócitos dos bubalinos são maiores que dos bovinos e menores que dos ovinos e equinos, o conteúdo de leucócito dos bubalinos é menor que os encontrados nos bovinos, equinos e ovinos (HAFEZ; ANWAR, 1954; RAMIREZ IGLESIA et al., 1998). d) Sexo, as fêmeas apresentam maiores concentrações de hemoglobina e eritrócitos (RAMIREZ IGLESIA et al., 1999). e) Idade, os animais mais jovens apresentam maiores concentrações de hemoglobina, hematócrito, eritrócitos, aumento do volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular médio (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular médio (CHCM) e menores concentrações de leucócitos (BEECHLER; JOLLES; EZENWA, 2009; CIARAMELLA et al., 2005; GOMES et al., 2010; RAMIREZ IGLESIA et al., 1999). f)

Estágio fisiológico, no final da gestação aumenta o número de leucócitos e eritrócitos (CAMPOS et al., 2008).

A utilização de técnicas hematológicas em bubalinos é de grande importância, pois esses dados podem detectar variações nos valores de referência que devem ser considerados nos propósitos de diagnósticos em situações de estresse e de certas enfermidades (HERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ et al., 2005).

Os valores médios de referência dos constituintes sanguíneos de búfalos domésticos para as contagens de eritrócitos são de $6,8 \times 10^6 \text{.mm}^{-3}$; leucócitos $6,7 \times 10^3 \text{.mm}^{-3}$; 11-15 g.100mL⁻¹ de sangue para hemoglobina e de 38 a 52 % para o hematócrito (HAFEZ; ANWAR, 1954).

4.3.2.6 - Equilíbrio eletrolítico

O conhecimento da fisiologia da regulação ácido-base e dos fluidos corporais é de fundamental importância para a compreensão das alterações orgânicas e metabólicas em decorrência dos distúrbios hídricos, eletrolíticos e/ou de ácido-base em animais (HOUP, 2006).

Os eletrólitos são substâncias químicas que se dissociam nos seus constituintes iônicos, tendo como função fisiológica principal a manutenção do equilíbrio ácido-base corporal. As principais substâncias envolvidas na manutenção deste equilíbrio são os cátions sódio (Na^+) e potássio (K^+) e o ânion cloro (Cl^-) (BORGES; MAIORKA; SILVA, 2003).

O Na^+ é o principal cátion do fluido extracelular e, tem como funções principais regular o volume dos fluidos corporais e as relações osmóticas do organismo, nas contrações musculares, transmissão de impulsos nervosos, atua como tampão alcalino ajudando a regular o pH, aumenta a permeabilidade da membrana plasmática e inibição de enzimas da mitocôndria no meio extracelular; absorção e transporte dos nutrientes para as células e participa da estrutura dos ossos (FREITAS et. al., 2010).

O K^+ é o principal cátion do fluido intracelular e está envolvido em muitos processos metabólicos, transmissões de impulsos nervosos, excitação, contração muscular, metabolismo de carboidratos, manutenção da homeostasia intracelular, reações enzimáticas, balanço osmótico e equilíbrio ácido-base. Consequentemente, distúrbios da calemia podem afetar as funções celulares (BORGES; MAIORKA; SILVA, 2003; ARAÚJO et. al., 2010).

O Cl^- é o principal ânion do fluído extracelular e é um importante componente em muitas secreções, como suor, saliva e secreções gástricas. Participa na regulação da pressão osmótica e equilíbrio ácido-base, contribui para a tonicidade da resistência iônica do meio extra e intracelular e controle do equilíbrio hídrico (GONZÁLES, 2000).

Os níveis plasmáticos de Na^+ , K^+ e Cl^- são afetados pelo estresse calórico. A concentração de K^+ e Na^+ diminui à medida que a temperatura se eleva, enquanto que o Cl^- aumenta (BORGES; MAIORKA; SILVA, 2003).

Pequenas alterações no equilíbrio ácido-básico e eletrolítico podem levar a um quadro de acidose ou alcalose, que podem por si só, ou pelos seus respectivos mecanismos de compensação, afetar a saúde e a capacidade produtiva dos animais (SCHAFHÄUSER JR., 2006).

4.3.4 - Indicadores comportamentais

Nos últimos anos, o estudo do comportamento vem despertando grande interesse no meio científico. O interesse dos pesquisadores no estudo do comportamento está em entender melhor os hábitos naturais dos animais e, através deste conhecimento, propor e adotar técnicas de manejo, alimentação e instalações que respeitem as condições mínimas necessárias exigidas pelos animais, proporcionando uma diminuição dos custos sem alterar a produtividade (PARANHOS DA COSTA, 1987).

O estudo do comportamento é bom indicativo de estresse térmico, pois o animal a fim de restabelecer sua troca térmica com o meio, apresenta alterações comportamentais. A diminuição na ingestão de alimentos, o aumento no consumo de água, o aumento no tempo de repouso e a adoção de posturas corporais atípicas são alguns sinais de que o animal, de algum modo, busca aumentar sua dissipação de calor para o ambiente (GARCIA, 2006).

As alterações comportamentais constituem mecanismos adaptativos que visam, em geral, reduzir ou eliminar a exposição aos agentes estressores. Os mamíferos destituídos de pelos, não só adquirem novas características estruturais e funcionais, como novos hábitos etológicos com função termorreguladora (VILLARES; RAMOS; ROCHA, 1979).

Os bubalinos, por serem particularmente intolerantes à radiação solar direta, apresentam um comportamento adaptativo característico. Durante os períodos mais quentes do dia, tendem chafurdar em poças de água ou lama para reduzirem o calor armazenado (DAS et al., 2010). Desta forma, verifica-se uma dissipação do calor endógeno mais rápido através

da perda de calor por convecção e condução e, posteriormente, por vaporização. O banho de água mostra-se efetivo para reduzir o estresse térmico em bubalinos (TITTO; RUSSO; LIMA, 1997). Porém a imersão em água não é essencial para a sobrevivência destes animais, desde que, seja disponibilizado sombreamento adequado (DAMASCENO et al., 2010).

A temperatura corporal dos bubalinos, em estresse térmico, pode ser mantida apenas com água para imersão ou pela aplicação quase contínua da água preferencialmente associada à ventilação. A sombra é o fator mais importante, apenas a aplicação frequente da água será mais eficiente que a sombra (MASON, 1974).

O recurso de água para imersão a ser oferecido em pastagens destinadas à criação de bubalinos deve obedecer aos princípios de preservação dos recursos hídricos, evitando-se o despejo de possíveis dejetos nos mananciais e garantindo a renovação da água com o mínimo de consumo (ABLAS et al., 2007).

O sombreamento das pastagens, a fim de reduzir os efeitos negativos do clima, torna-se um elemento favorável para a criação de búfalos, principalmente nas regiões tropicais e em função da disponibilidade cada vez mais restrita de fontes naturais de água para banho (CASTRO et al., 2008).

Na sombra, os mecanismos de termorregulação dos búfalos funcionam eficientemente e podem ser mais eficazes do que em bovinos (MARAI; HABEEB, 2010). Em condições de sombra, o búfalo atua como um típico “corpo negro” radiador de calor, pois recupera seu equilíbrio térmico rapidamente (MASON, 1974). Porém, quando os bubalinos têm disponíveis os dois tipos de proteção ambiental (água e sombra) preferem a água para imersão (ABLAS et al., 2007).

Em búfalas lactantes observa-se uma maior proporção de animais chafurdando ($0,474 \pm 0,034$) e, menores proporções de animais na postura em pé ($0,386 \pm 0,029$) ou deitada ($0,140 \pm 0,021$) fora da piscina (DE ROSA et al., 2007). Além disso, é interessante notar que se existe a disponibilidade de água, os búfalos podem economizar energia que seria utilizada para dissipar o excesso de calor corporal em condições de temperatura ambiente elevada (COSTA, 2007). Indicando ser a ferramenta mais eficiente para termorregulação de bubalinos em condições quentes (DE ROSA et al., 2009).

5 - MATERIAL E MÉTODOS – Descrição Geral

A tese foi composta por quatro experimentos com distintos objetivos e utilizando diferentes metodologias. Entretanto, neste capítulo estão descritos os procedimentos e metodologias comuns utilizados em todos os experimentos. As metodologias específicas serão descritas dentro de cada experimento.

Os experimentos foram avaliados e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo.

5.1 - Local experimental

O experimento 1 foi realizado no Laboratório de Biometeorologia e Etologia (LABE), e os experimentos 2, 3 e 4 foram realizados no Setor de Bubalinocultura da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, localizados em Pirassununga, SP, com altitude de 597 m, e coordenadas 21°57' 06" S e 47° 27' 01" W, 21°58' 04" S e 47° 26' 47" W, respectivamente.

5.2 - Animais experimentais

Foram utilizadas 12 búfalas da raça Mediterrânea, filhas do mesmo pai, com idade média inicial de 18 meses e peso médio inicial de 380 kg e com idade média final de 31 meses e peso médio final de 636 kg, que foram submetidas a quatro experimentos durante os verões de 2010 a 2012 (quadro 1), com intervalo mínimo entre as fases de 15 dias, para descanso fisiológico dos animais.

Quadro 1 - Esquema das fases experimentais

	Local experimental	Período de registro	Idade inicial dos animais	Peso inicial dos animais
Experimento 1	LABE	Dezembro 2010	18 meses	380kg
Experimento 2	Setor Bubalinocultura	Janeiro/Fevereiro 2011	19 meses	430kg
Experimento 3	Setor Bubalinocultura	Março 2011	20 meses	515 kg
Experimento 4	Setor Bubalinocultura	Janeiro 2012	29 meses	569 kg

As búfalas foram submetidas à pesagem antes e após cada fase experimental. Esta informação foi usada diretamente e indiretamente para o cálculo do armazenamento de calor seguindo as recomendações descritas por McGovern e Bruce (2000).

Cálculo do armazenamento de calor (Arm_{cal}):

$$\Delta T_{ret} = (3600 \cdot C_{arm} \cdot A) / (P_v \cdot c_b) \quad (1)$$

ΔT_{ret} = diferença entre a temperatura retal;

C_{arm} - é o calor armazenado [$W \cdot m^{-2}$];

A - a superfície do animal [m^2] calculada a partir da equação: $A = 0.13 \cdot P_v^{0.556}$;

P_v - a massa corporal [kg];

c_b - o calor específico do animal ($3,4 \text{ KJ} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot ^\circ\text{K}^{-1}$).

5.3 - Parâmetros fisiológicos

Em cada experimento foram mensuradas as variáveis fisiológicas de temperatura retal (TR), frequência respiratória (FR), temperatura da base da cauda (TC), temperatura de superfície corporal (TS), temperatura da epiderme (TE) e taxa de sudação (TxS).

A TR ($^\circ\text{C}$) foi aferida através de termômetro clínico digital (Incoterm, Brasil) inserido no reto do animal (figuras 1 e 2), com o devido cuidado para evitar o estresse ao manuseio e que o mesmo esteja em contato com a mucosa.

Figura 1 - Inserção do termômetro

Figura 2 - Registro da temperatura retal

A FR ($\text{mov} \cdot \text{min}^{-1}$) foi tomada pela contagem dos movimentos torácicos por um minuto com auxílio de um cronômetro.

A TC ($^\circ\text{C}$) foi mensurada na parte interna da base da cauda na região da veia coccígea com uso de um termômetro clínico de infravermelho (G-TECH, China, modelo: THGTOUV) (figuras 3 e 4).

Figura 3 - Registro da temperatura caudal

Figura 4 - Região da veia coccígea

A TS e TE foram mensuradas com uso de um termômetro infravermelho (Instrutherm, Brasil, modelo:TI-890), sendo que para a TS ($^{\circ}\text{C}$) foi realizada varredura ao longo da região dorsal registrando a temperatura média dos diferentes pontos (figura 5) e a TE ($^{\circ}\text{C}$) pontualmente na área tricotomizada na região dorsal (figura 6), com devida atenção ao ângulo de noventa graus entre o termômetro e a área a ser mensurada.

Figura 5 - Registro da temperatura de superfície

Figura 6 - Registro da temperatura da epiderme

Para taxa de sudção ($\text{g.m}^{-2}\text{h}^{-1}$) utilizou-se o método desenvolvido por Schleger e Turner (1965) e modificado por Pereira et al. (2010).

O método de Schleger e Turner (1965) baseia-se na utilização de discos de papel de cromatografia impregnado com cloreto de cobalto a 10 %. Tricotomiza-se uma área de 3cm^2 na região central do tronco, entre a 10^a e a 11^a costelas, 20 cm abaixo da coluna vertebral (figura 7). Cronometra-se o tempo de viragem, em segundos, da cor dos discos de papel de azul-violeta para róseo-claro permitindo determinar a taxa de sudção.

Entre as metodologias existentes para mensurar a sudção optamos pelo método de Schleger e Turner (1965) pela facilidade e simplicidade na aplicação e por não originar

estresse para os animais. Uma das fontes de variação neste método é o observador que determina o tempo de viragem do papel de filtro. Para eliminar esta fonte de variação as medições foram executadas por um único observador.

Originalmente utiliza-se fita adesiva para fixar os discos de papel sobre a pele do animal. Com a modificação na metodologia realizada por Pereira et al. (2010) a fixação dos discos de papel é feita com auxílio de um dispositivo de acrílico juntamente com a fita adesiva de dupla face que permite melhor aderência dos discos de papel ao animal, com menor fonte de variação e, conseqüentemente, maior precisão (figura 8).

Figura 7 - Área tricotomizada

Figura 8 - Dispositivo de acrílico

Posteriormente à realização dos experimentos foi adquirido um novo equipamento para mensuração da sudação. O VapoMeter (Delfin, Finlândia) é um equipamento desenvolvido para análise de perda de água transepidermica e permeabilidade. É equipado com uma câmara fechada contendo sensor de umidade relativa e temperatura. A câmara fechada evita interferências ambientais, e fornece medidas mais rápidas e precisas.

De forma a estabelecer uma relação entre os valores obtidos com a metodologia de Schleger e Turner (ST) (figura 9) e os do VapoMeter (figura 10), foi realizado um teste piloto que contemplou 108 medições obtidas em 3 dias. Da relação analisada, resultou a seguinte equação $Vap = 0,025363233 * ST^{1,5}$ ($P < 0,0001$) $R^2 = 0,9351$, $F = 706,49779$. Posteriormente todos os resultados foram corrigidos para os valores do VapoMeter.

Figura 9 - Registro da sudação pelo método Schleger e Turner

Figura 10 - Registro da sudação pelo VapoMeter

5.4 - Parâmetros hematológicos

As amostras sanguíneas foram colhidas (às 14 h) por venopunção da jugular, sem garroteamento excessivo do vaso, em tubos a vácuo (figura 11) ao início e ao final dos experimentos 1 e 2.

As análises dos constituintes bioquímicos foram realizadas no Laboratório de Diagnóstico de Análises Clínicas, localizado em Pirassununga-SP. Para essas análises foram colhidas amostras sanguíneas em tubos a vácuo contendo heparina sódica para determinação hormonal de triiodotironina (T3) (ng.dL^{-1}), tiroxina (T4) (ng.dL^{-1}) e prolactina (ng.dL^{-1}). Para determinação da glicose (mg.dL^{-1}) foram utilizados tubos a vácuo com fluoreto de sódio. Para determinação de sódio (Na) (mEq.L^{-1}) e potássio (K) (mEq.L^{-1}) utilizaram-se tubos a vácuo sorológicos. As amostras foram mantidas refrigeradas até o momento da centrifugação (figura 12).

As amostras de sangue contendo heparina sódica e fluoreto de sódio foram então centrifugadas a 1500 rpm por 5 minutos e as amostras de sangue sem anticoagulante foram centrifugadas a 3500 rpm por 10 minutos (figura 13), sendo posteriormente acondicionadas em microtubos plásticos e armazenados a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o momento das análises (figura 14).

Para determinação de T_3 , T_4 , prolactina e glicemia utilizou-se o método de eletroquimioluminescência pelo aparelho Elecsys 2010 (Roche Diagnostics, EUA) e, para determinação de sódio (Na) e potássio (K) utilizou-se o método de íon seletivo no aparelho AVL 9180 (Roche Diagnostics, EUA).

As análises dos constituintes do eritrograma e dos constituintes do leucograma foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas do Curso de Medicina Veterinária, da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos. Para determinação dos constituintes do

eritrograma foram colhidas amostras de sangue em tubos a vácuo contendo EDTA e efetuadas as seguintes provas: contagem do número de hemácias ($\times 10^6/\mu\text{l}$) em Câmara de Neubauer modificada, diluídas em pipeta hematimétrica específica, utilizando-se como solução diluidora o líquido de Gower; determinação do volume globular pelo método do microhematócrito; dosagem de hemoglobina (g/dl) pelo método que transforma a hemoglobina em cianometahemoglobina; cálculo dos índices hematimétricos absolutos - volume corpuscular médio (VCM) (fl), hemoglobina corpuscular média (HCM) (pg) e concentração hemoglobínica corpuscular média (CHCM) (%).

Para determinação dos constituintes do leucograma foi realizada a contagem do número total de leucócitos, em câmara de Neubauer modificada, utilizando-se o líquido de Thoma como diluidor e a contagem diferencial de leucócitos, efetuado em esfregaço sanguíneo confeccionado com sangue in natura e corado pelo método pancromático de Rosenfeld. Em cada esfregaço sanguíneo, foram diferenciados 100 leucócitos e classificados de acordo com suas características morfológicas e tintoriais, em neutrófilos com núcleo em bastonete, neutrófilos com núcleo segmentado, eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos. As técnicas empregadas na determinação do hemograma completo seguiram as recomendações de Birgel (1982).

Figura 11 - Coleta da amostra sanguínea

Figura 12 - Refrigeração das amostras sanguíneas

Figura 13 - Centrifugação das amostras sanguíneas

Figura 14 - Amostras acondicionadas em microtubos

5.5 - Parâmetros meteorológicos

Durante cada experimento foram registradas, a cada 10 minutos, as variáveis meteorológicas de temperatura de bulbo seco (Tbs) ($^{\circ}\text{C}$) e umidade relativa do ar (UR) (%) com uso de um termohigrômetro digital (Incoterm, Brasil) (Figura 15), temperatura de bulbo úmido (Tbu) termohigrômetro digital (Incoterm, Brasil), velocidade do vento (V) por meio de um anemômetro e, a temperatura de globo negro ao sol (TGNsol) e a sombra (TGNsbra) (Figura 16). Os equipamentos foram alocados no centro de cada instalação a uma altura de 1,60 m do piso.

Figura 15 - Registro da temperatura e umidade

Figura 16 - Registro da temperatura de globo negro

6 - Experimento 1. Avaliação das reações termorreguladoras de búfalos de água ao ambiente aquecido em unidade biometeorológica

6.1 - Introdução

A exposição dos animais a altas temperaturas desencadeia diferentes reações. Essas reações dependem da intensidade e duração do estímulo térmico. Quando os animais estão sujeitos a um estresse térmico de curto prazo, desenvolvem uma reação de alarme. Esta é a fase na qual as alterações são iniciadas ao nível celular, levando a distúrbios na homeostase celular e a reprogramação das células sobreviventes aos efeitos deletérios do estresse térmico (BERNABUCCI et al., 2010; COLLIER; DAHL; VANBAALE, 2006).

Nesta fase aguda, ocorre um aumento na taxa metabólica por aceleração nos processos bioquímicos (o efeito Van't Hoff) que induz um aumento na capacidade de perda de calor por via latente (SILANIKOVE, 2000). Os maiores armazenamentos de calor determinam a necessidade de reduzir o calor metabólico, que efetiva num curto prazo uma diminuição da ingestão de matéria seca e aumento na ingestão de água (COLLIER; DAHL; VANBAALE, 2006; HAHN, 1997). Se o estresse térmico persistir, o animal se reajusta fisiologicamente a fim de manter sua homeotermia, processo designado como aclimação.

De acordo com Goswami e Narain (1962)² citado por Guimarães et al. (2001) a zona de conforto térmico para os bubalinos se encontra entre 13 °C a 24 °C. A partir desta temperatura os bubalinos começam apresentar alterações fisiológicas. Titto, Russo e Lima (1997) relataram que em búfalos submetidos a Tbs de 28,2 a 34,7 °C, em ambiente controlado, alteram a temperatura retal (38,3 para 39,2 °C), frequência respiratória (26 para 48 mov.min⁻¹) e taxa de sudção (107,4 para 252,3 g.m⁻².h⁻¹). Guimarães et al. (2001) observaram alteração fisiológicas com temperaturas do ar acima de 29 °C, em ambiente controlado.

Em ambiente controlado (40,5 °C Tbs e 35,0 °C Tbu) verificam-se médias de temperatura retal e de superfície do pelame de 40,10 ± 0,1 e 37,5 ± 0,2 °C e taxa de sudção, mensurada pela técnica de cápsula, de 686 g.m⁻².h⁻¹ (JOSHI; McDOWELL; SADHU, 1968).

As respostas fisiológicas são costumeiramente utilizadas como indicativos de estresse térmico. Objetiva-se neste experimento evidenciar numa lógica cronobiológica as eventuais diferenças nas reações fisiológicas dos animais face às temperaturas elevadas. As

²GOSWAMI, S.B.; NARAIN, P. The effect of air temperate and relative humidity on some physiological indices of buffalo bulls (*Bubalus bubalis*). **The Indian Journal Veterinary Sciences**, New Delhi, v.33, p.112, 1962.

estimulações térmicas de curto e médio prazo permitem identificar as respostas fisiológicas e bioquímicas sem o fator aclimação. Desta forma, possibilita identificar as respostas individuais dos animais, tendo como base os próprios parâmetros em termoneutralidade.

6.2 - Material e Métodos

Este experimento foi realizado na unidade biometeorológica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, localizada em Pirassununga-SP, durante o mês de dezembro de 2010.

Foram utilizadas 12 búfalas da raça Mediterrânea, com idade média inicial de 18 meses e peso médio inicial de 380 kg. Os animais foram divididos aleatoriamente em duas etapas, devido a limitação do espaço físico da unidade biometeorológica.

A alimentação dos animais foi composta por ração total na proporção volumoso: concentrado de 80:20, oferecida diariamente, dividida em duas refeições às 6 h e às 16 h. A ração continha 76 % de NDT e 18 % PB na matéria seca, sendo composta por silagem de milho e concentrado.

Cada etapa teve duração de 12 dias (quadro 2). Os animais foram contidos em gaiolas metabólicas e mantidos na unidade biometeorológica (figura 17) que simulou situações de estresse térmico e ambiente termoneutro. Os dois primeiros dias foram para adaptação dos animais às rotinas diárias e ao manejo. No terceiro dia, realizou-se às 14h a coleta sanguínea referente aos valores basais em termoneutralidade.

Do quarto ao sexto dia os animais permaneceram na unidade biometeorológica sem funcionamento do aquecimento (UD), com temperatura termoneutra. Este período permitiu identificar para cada animal as suas variáveis fisiológicas de referência em termoneutralidade (Tbs 36,2 °C e UR 76 %). Após esse período, os animais foram transferidos para um piquete com sombra e água para descanso fisiológico, a fim de possibilitar a recuperação dos animais à presença nas gaiolas metabólicas (figura 18).

A partir do nono até o décimo primeiro dia os animais permaneceram na unidade biometeorológica com funcionamento do aquecimento (UL). Durante este período realizou-se um ciclo de temperatura que simulou o ambiente natural, isto é, temperaturas mais elevadas durante o período diurno (06 h às 19 h de 36 °C) e mais moderadas durante o período noturno (19 h às 06 h de 27 °C). No décimo segundo dia realizou-se a coleta sanguínea às 14 h para verificar os efeitos do período de estresse térmico.

Quadro 2 - Esquema das atividades durante o experimento 1

Dias	1-2	3	4 ao 6*	7 ao 8	9 ao 11*	12
Eventos	Adaptação à unidade e à gaiola	Coleta sangue e entrada na unidade	Unidade desligada	Descanso fisiológico	Unidade ligada 6-19h	Saída da unidade e coleta sangue

* Período de registro das variáveis fisiológicas

Durante os períodos do quarto ao sexto dia e do nono ao décimo primeiro dia foram registradas as variáveis fisiológicas de temperatura retal (TR), frequência respiratória (FR), temperatura de superfície corporal (TS), temperatura da epiderme (TE) e temperatura da base da cauda (TC). Estas medições foram realizadas às 07 h, 10 h, 13 h, 16 h, 19 h e 22 h. A taxa de sudção foi medida às 14 h. No quadro 3 são ilustrados os procedimentos e os respectivos horários de avaliação.

Quadro 3- Esquema das atividades ao longo do dia durante o experimento 1

Horário do dia																							
6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	0	1	2	3	4	5
Ciclo de estresse													Ciclo de conforto										
	A			A			A			A			A			A							
								B															

A – Medições nos animais: TR, FR, TS, TE, e TC

B – Taxa de sudção

Figura 17 - Unidade biometeorológica

Figura 18 - Animais contidos em gaiolas metabólicas

A análise descritiva das variáveis meteorológicas de temperatura de bulbo seco (Tbs), temperatura de bulbo úmido (Tbu) umidade relativa do ar (UR), temperatura de globo negro (TGN) e carga térmica radiante (CTR) registrada durante o período experimental é apresentada na tabela 1.

Tabela 1 - Número de observações (N), média, desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV), mínima (Min) e máxima (Max), para as variáveis meteorológicas durante o experimento 1

Variável	N	Média	DP	CV	Min	Max
Tbs	432	28,88	4,34	15,02	20,00	37,60
Tbu	432	24,88	4,58	18,42	17,20	34,00
UR	432	77,28	10,33	13,37	48,00	96,00
TG	432	29,43	4,25	14,46	19,50	37,00
CTR	432	409,56	88,46	21,60	23,24	469,59

Tbs: temperatura de bulbo seco (°C); Tbu: temperatura de bulbo úmido (°C); UR: umidade relativa do ar (%); TG: temperatura de globo negro (°C); CTR: carga térmica radiante (w.m^{-2}).

As análises das variáveis fisiológicas (TE, TS, TC, FR e TR) e biofísicas (Arm_{cal} e $\text{Calor}_{\text{acum}}$) consideraram um modelo estatístico que contemplou os efeitos fixos de horários de avaliação (7h, 10h, 13h, 16h, 19h e 22h), tratamentos (unidade desligada ou ligada) e interação dupla horários x tratamentos, além do efeito aleatório de animal utilizado como resíduo. Nestas análises, considerou-se que as avaliações nos diferentes horários e etapas foram realizadas nos mesmos animais, caracterizando estrutura repetida no tempo, conforme descrito por Crowder e Hand (1990). As análises foram realizadas com auxílio do procedimento PROC MIXED do programa *Statistical Analysis System*, versão 9.1.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Em virtude de efeitos significativos ($P < 0,05$) para a interação dupla foram utilizadas análises de regressão, visando identificar o comportamento das variáveis dependentes em função dos horários de forma apropriada.

Para avaliação das variáveis meteorológicas (Tbs, Tbu, UR, TG e CTR), da taxa de sudação e dos constituintes sanguíneos: bioquímicos (Gli, Na e K), eritrograma (He, Hb, Ht, VCM, HCM e CHCM) e do leucograma (Leu., Seg., Linf., Eosi., Baso., Mono. e Bast.) considerou-se um modelo estatístico que contemplou o efeito fixo de tratamentos (unidade desligada ou ligada), além do efeito aleatório de animal utilizado como resíduo. Nestas análises, considerou-se que as avaliações foram realizadas nos mesmos animais, caracterizando estruturas repetidas nas mesmas unidades experimentais. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do mesmo procedimento anteriormente citado.

6.3 - Resultados e Discussão

Ao longo do período experimental não foi observado nos animais nenhum comportamento que indicasse uma situação de estresse à contenção nas gaiolas metabólicas nem às rotinas diárias e ao manejo durante o registro dos dados.

Por meio das variáveis meteorológicas podem-se evidenciar a alteração do ambiente entre os tratamentos, como pretendido. No período em que a unidade biometeorológica permaneceu desligada a temperatura média de bulbo seco variou de 20,00 °C a 29,90 °C e umidade relativa entre 48 % e 96 %. Quando a unidade biometeorológica foi acionada a temperatura de bulbo seco variou de 20,40 °C a 37,65 °C e umidade relativa entre 58 % e 92 %.

Como os animais foram mantidos em ambiente fechado, entre as variáveis meteorológicas monitoradas a temperatura de bulbo seco foi eleita para auxiliar na discussão das prováveis alterações nas variáveis fisiológicas.

A análise descritiva das variáveis fisiológicas de temperatura da epiderme (TE), temperatura de superfície corporal (TS), temperatura da base da cauda (TC), frequência respiratória (FR), taxa de sudção (TxS) e temperatura retal (TR) e das variáveis biofísicas de armazenamento de calor (Arm_{cal}), calor acumulado ($Calor_{acum}$) registradas durante o período experimental é apresentada na tabela 2.

Tabela 2 - Número de observações (N), média, desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV), mínima (Min) e máxima (Max), para as variáveis fisiológicas do experimento 1

Variável	N	Média	DP	CV	Min	Max
TE	432	35,15	3,25	9,25	28,20	41,20
TS	432	34,78	3,38	9,71	24,70	41,20
TC	432	35,11	2,39	6,81	30,00	44,30
FR	432	38,10	27,19	71,34	12,00	128,00
TxS	72	1067,50	649,53	60,85	321,86	2810,08
Arm_{cal}	432	0,0022	0,01	469,84	-0,0420	0,0277
$Calor_{acum}$	432	0,0360	0,04	108,91	-0,0226	0,1892
TR	432	38,74	0,48	1,24	37,50	40,30

TE: temperatura da epiderme (°C); TS: temperatura de superfície corporal (°C); TC: temperatura da base da cauda (°C); FR: frequência respiratória ($\text{mov} \cdot \text{min}^{-1}$); TxS: taxa de sudção ($\text{g} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{h}^{-1}$); Arm_{cal} : calor armazenado ($\text{w} \cdot \text{m}^{-2}$); $Calor_{acum}$: calor acumulado ($\text{w} \cdot \text{m}^{-2}$); TR: temperatura retal (°C).

O resumo da análise de variância para as variáveis fisiológicas de temperatura da epiderme (TE), temperatura de superfície corporal (TS), temperatura da base da cauda (TC), frequência respiratória (FR) e temperatura retal (TR), das variáveis biofísicas de armazenamento de calor (Arm_{cal}), calor acumulado ($Calor_{acum}$) e da variável meteorológica de temperatura de bulbo seco (Tbs) é descrito na tabela 3.

Tabela 3 - Resumo da análise de variância para as variáveis fisiológicas e temperatura de bulbo seco durante o experimento 1

F.V.			Pr > F							
	GL_{NUN}	GL_{DEN}	TE	TS	TC	FR	TR	Arm_{cal}	$Calor_{acum}$	Tbs
Trat.	1	11	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,8235	<,0001	<,0001

Hora	5	55	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001
Trat.xHora	5	55	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001

F.V.: fontes de variação; Trat: tratamento (unidade desligada e unidade ligada); GL_{NUN}: grau de liberdade do numerador; GL_{DEN}: grau de liberdade do denominador; TE: temperatura da epiderme; TS: temperatura de superfície corporal; TC: temperatura da base da cauda; FR: frequência respiratória; Arm_{cal}: armazenamento de calor; Calor_{acum}: calor acumulado; TR: temperatura retal; Tbs: temperatura de bulbo seco.

O aumento na temperatura do ar pode provocar modificações nos processos fisiológicos, sendo estes utilizados como mecanismos de avaliação direta da alteração do equilíbrio térmico do animal (FURTADO et al., 2012; KADZERE et al., 2002; SILVA, 2000).

Existe uma variação individual na modificação nestes processos fisiológicos. A amplitude das variações dos valores fisiológicos face às altas temperaturas depende em grande parte dos valores individuais dos animais quando em termoneutralidade. Pensando nisto, os resultados registrados no tratamento UD referem-se ao período de permanência dos animais em termoneutralidade com vista à obtenção dos valores de referência de cada indivíduo. Desta forma, as comparações apresentam com maior rigor uma vez que cada animal é testemunha de si próprio.

As médias ajustadas por quadrados mínimos das variáveis fisiológicas, das variáveis biofísicas e da variável meteorológica de temperatura de bulbo seco (Tbs) ao longo do dia estão apresentadas na tabela 4.

Tabela 4 - Médias ajustadas das variáveis fisiológica e temperatura de bulbo seco dentro de cada tratamento ao longo do dia durante o experimento 1

Efeitos		Horário					
		7	10	13	16	19	22
Var.	Trat.	Média	Média	Média	Média	Média	Média
TE	UD	31,09dB	32,13cB	33,29bB	34,19aB	33,87abB	33,25bB
	UL	33,57eA	37,62cA	38,98bA	39,97aA	39,10bA	34,69dA
TS	UD	30,22dB	31,49cB	33,22bB	34,28aB	33,53abB	32,92bB
	UL	33,20dA	37,32cA	38,66bA	39,78aA	38,94bA	33,81dA
TC	UD	32,83dB	33,39cdB	34,19bcB	35,13aB	34,52abB	33,98bcA
	UL	34,14cA	35,99bA	37,31aA	37,77aA	37,96aA	34,15cA
FR	UD	17,56aB	18,67aB	19,78aB	20,44aB	20,92aB	19,33aB
	UL	26,78eA	45,11cA	62,33bA	82,22aA	87,33aA	36,78dA
Arm _{cal}	UD	0,00cA	0,0021bcB	0,0028abB	0,0023abcB	0,0045aB	0,0014bcA
	UL	0,00dA	0,0058cA	0,0121aA	0,0112abA	0,0096bA	-0,0251eB
Calor _{acum}	UD	0,00dA	0,0062cdB	0,0147bcB	0,0215bB	0,0349aB	0,039aA
	UL	0,00fA	0,0174eA	0,0538cA	0,875bA	0,1162aA	0,041dA
TR	UD	38,36dA	38,44cdA	38,55bcB	38,64bB	38,82aB	38,88aA
	UL	38,16fB	38,39eA	38,87cA	39,32bA	39,71aA	38,70dB
Tbs	UD	23,08dB	25,20cB	27,32bB	28,67aB	27,28bB	25,82cB

UL	26,08eA	31,22cA	33,63bA	34,90aA	35,73aA	27,62dA
----	---------	---------	---------	---------	---------	---------

Var: variável; Trat. UD: tratamento unidade desligada; Trat. UL: tratamento unidade ligada; TE: temperatura da epiderme ($^{\circ}\text{C}$) (e.p. = 0,26); TS: temperatura de superfície corporal ($^{\circ}\text{C}$) (e.p. = 0,27); TC: temperatura da base da cauda ($^{\circ}\text{C}$) (e.p. = 0,29); FR: frequência respiratória (mov.min^{-1}) (e.p. = 1,96); Armcal: armazenamento de calor (w.m^{-2}) (e.p. = 0,0008); Caloracum: calor acumulado (w.m^{-2}) (e.p. = 0,003); TR: temperatura retal ($^{\circ}\text{C}$) (e.p. = 0,04); Tbs: temperatura de bulbo seco ($^{\circ}\text{C}$) (e.p. = 0,32).

Médias seguidas por letras maiúsculas iguais dentro da coluna e letras minúsculas iguais dentro da linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P < 0,01$).

Quando a temperatura do ambiente se encontra acima da zona de conforto térmico o animal aciona seus mecanismos termolíticos, como a vasodilatação periférica, dissipando o calor principalmente por radiação e convecção (BIANCA, 1973). À medida que a temperatura se eleva e ultrapassa a temperatura crítica superior o centro termorregulador, sediado no hipotálamo, dá início à termólise especialmente por via evaporativa intensificando a sudção que, por sua vez, é complementada com o aumento na evaporação respiratória através da polipnéia térmica. Se estes mecanismos não forem suficientes para perda do calor, não havendo restabelecimento do equilíbrio térmico, a temperatura do corpo começará a se elevar (TITTO, 1998). A partir deste limite, inicia-se a redução nas atividades da tireóide, redução na ingestão de alimentos e aumento na ingestão de água (PIRES et al., 1998a).

A temperatura da epiderme do animal é influenciada pela condição térmica do ambiente, alteração no fluxo sanguíneo, características da pelagem e na intensidade na via de termólise latente cutânea (SILVA, 2000). A análise de variância para temperatura da epiderme apresentou efeito ($P < 0,01$) para as fontes de variação de tratamento, hora e suas interações como pode ser observado na tabela 3. A análise de regressão associada à temperatura da epiderme diferiu ($P < 0,01$) entre os tratamentos em função do horário de avaliação, apresentando modelo quadrático (gráfico 1).

Por meio dos coeficientes de regressão foi calculado o horário ($X_{\text{máximo}}$) que estima a TE máxima, sendo às 17,4 h com TE de $33,94^{\circ}\text{C}$ para UD e às 15 h com TE de $40,02^{\circ}\text{C}$ para UL. Os valores médios observados da TE, ao longo do dia entre os tratamentos, diferiram ($P < 0,01$) em todos os horários avaliados (tabela 4).

A epiderme ocupa uma posição importante na regulação da temperatura do corpo (AGGARWAL; SINGH, 2008). No período em que a unidade biometeorológica permaneceu desligada ocorreu um leve aumento na TE ao longo dos horários até às 16 h e posteriormente uma redução de $0,32^{\circ}\text{C}$ entre as 16 h e 19 h.

A unidade biometeorológica era acionada às 6h. Às 10 h o gradiente de temperatura ambiente entre os tratamentos foi de $6,02^{\circ}\text{C}$ que resultou em um aumento de $4,05^{\circ}\text{C}$ na TE

entre as 7 h e 10 h. Às 19h a unidade biometeorológica era desligada com uma queda na Tbs de 8,11 °C até às 22 h, ocasionou uma redução de 4,41 °C na TE.

Gráfico 1 - Temperatura da epiderme observada e estimada para os tratamentos unidade desligada (UD) e unidade ligada (UL)

Quando os animais passaram de um ambiente de conforto térmico para um ambiente de estresse verificou-se um aumento gradativo na TE, com uma amplitude máxima entre os tratamentos de 5,78 °C às 16 h. Com o aumento da temperatura do ar, os termorreceptores cutâneos e centrais dos animais enviam sinais ao centro termorregulador ativando o sistema cardiovascular, que responde com um aumento no débito cardíaco, o qual, juntamente com a dilatação das arteríolas e a abertura das anastomoses arteriovenosas alteram o fluxo sanguíneo para os tecidos periféricos refletindo em um aumento na TE. A alteração no fluxo sanguíneo passa a ser um transporte ativo do calor e contribui para reduzir o gradiente de temperatura entre a temperatura nuclear do animal e dos tecidos subcutâneos e para um aumento no gradiente de temperatura da superfície da epiderme e do ambiente que circunda o animal, promovendo a dissipação do calor (JOHNSON; PROPPE, 2011; KOGA et al., 1999a; KOGA et al., 2004; KOGA, CHANPONGSANG; CHAIYABUTR, 2007).

A análise de variância para temperatura de superfície corporal apresentou efeito (P<0,01) para todas as fontes de variação, como verificado na tabela 3. A análise de regressão associada à temperatura de superfície corporal revelou efeito (P<0,01) para os tratamentos em função do horário de avaliação, apresentando modelo quadrático, como averiguados no

gráfico 2. Os valores médios observados da TS, ao longo do dia entre os tratamentos, diferiram ($P<0,01$) em todos os horários avaliados (tabela 4).

Por meio dos coeficientes de regressão foi calculado o horário ($X_{\text{máximo}}$) que estima a TS máxima, sendo às 17,1 h com TS de 33,87 °C para UD e às 14,9 h com TS de 39,83 °C para UL.

Gráfico 2 - Temperatura de superfície corporal observada e estimada para os tratamentos unidade desligada (UD) e unidade ligada (UL)

A temperatura de superfície corporal se apresentou de forma semelhante à temperatura da epiderme entre os tratamentos avaliados, devido à estrutura do pelame dos bubalinos que não confere um isolamento na superfície do animal.

Com a alteração do ambiente, assim como na TE, a amplitude máxima verificada entre os tratamentos ocorreu às 16 h com uma diferença de 5,50 °C na TS. Resultados superiores foram encontrados por Joshi, McDowell e Sadhu (1968) e Koga et al. (1999a) que registraram uma diferença na TS de 9,97 °C e 6,90 °C, respectivamente, antes e após o período de estresse. Essa diferença entre os resultados deve-se provavelmente pelo fato do menor gradiente de temperatura registrado no presente estudo entre os períodos de conforto térmico e estresse.

A análise de variância para temperatura da base da cauda exibiu efeito ($P<0,01$) para todas as fontes de variação (tabela 3). A análise de regressão associada à temperatura da base da cauda diferiu ($P<0,01$) entre os tratamentos em função do horário de avaliação, apresentando modelo quadrático, como verificado no gráfico 3.

Por meio dos coeficientes de regressão foi calculado o horário ($X_{\text{máximo}}$) que estima a TC máxima, sendo às 16,6h com TC de 34,69 °C para UD e às 14,9 h com TC de 37,94 °C para UL.

Gráfico 3 - Temperatura da base da cauda observada e estimada para os tratamentos unidade desligada (UD) e unidade ligada (UL)

A temperatura da base da cauda é uma variável pouco estudada e nos fornece uma informação da alteração do fluxo sanguíneo, já que é mensurada região da veia coccígea.

Os valores médios observados da TC, ao longo do dia entre os tratamentos, diferiram ($P < 0,01$) nos horários das 7 h, 10 h, 13 h, 16 h e 19 h (tabela 4). No período de conforto térmico verificou-se um pequeno aumento na TC até às 16 h, seguido de uma queda de 0,61 °C entre as 16 h e 19 h. Quando os animais foram submetidos ao período de estresse térmico só foi constatada uma diminuição na TC após às 19 h, horário em que a unidade biometeorológica era desligada, com uma diferença de 3,81 °C na TC entre as 19 h e 22 h. A maior amplitude na TC entre os tratamentos foi averiguada às 19 h, com uma diferença de 3,44 °C, horário de maior diferença de temperatura do ambiente entre os tratamentos.

O aumento da temperatura ambiente determina redução no gradiente térmico entre o animal e o ambiente, dificultando a dissipação do calor metabólico acumulado, por via sensível. A fim de manter o balanço térmico do animal adequado, neste cenário a termólise latente passa a ser uma via importante para a manutenção deste equilíbrio.

Existe uma grande variação entre as espécies, relativas à utilização das vias de termólise latente. No caso dos bubalinos, esses parecem utilizar de forma concomitante tanto a polipnéia térmica quanto a sudção.

A análise de variância para frequência respiratória revelou efeito ($P < 0,01$) para todas as fontes de variação, como observado na tabela 3. A análise de regressão associada à frequência respiratória revelou efeito ($P < 0,01$) para o tratamento UL em função do horário de avaliação, apresentando modelo cúbico (gráfico 4).

Gráfico 4 - Frequência respiratória observada e estimada para os tratamentos unidade desligada (UD) e unidade ligada (UL)

A FR dos animais no tratamento UD apresentou-se com uma pequena variação ao longo do dia e com valor médio estimado de $19,44 \text{ mov.min}^{-1}$, indicando que os animais, no período em que a unidade biometeorológica permaneceu desligada, se encontravam em conforto térmico por meio de um equilíbrio nos fluxos de calor entre o animal e o ambiente térmico. Os animais, quando em termoneutralidade, apresentam uma pequena variação circadiana da frequência respiratória (HAHN; PARKHURST; GAUGHAN, 1997).

O aumento da frequência respiratória é o primeiro sinal visível do animal quando submetido ao estresse térmico, embora seja o terceiro na sequência dos mecanismos de termorregulação (BACCARI JR, 2001). Aumento ou diminuição da frequência respiratória está na dependência da intensidade e da duração do estresse a que estão submetidos os animais (MARTELLO et al., 2004).

Ao analisar os valores médios observados da FR ao longo do dia entre os tratamentos, verificou-se que no período em que a unidade biometeorológica permaneceu ligada, simulando uma situação de estresse térmico, a FR dos animais no tratamento UL diferiu ($P < 0,01$) em todos os horários avaliados (tabela 4), indicando que os animais ativaram os processos de perda de calor latente pela via respiratória, através da polipnéia térmica, a fim de manterem a homeotermia. O aumento da temperatura do ar provoca desconforto nos animais e eleva a frequência respiratória, como forma de dissipar calor endógeno, para manter a temperatura corpórea em níveis normais (GUIMARÃES et al., 2001; MAGALHÃES et al., 2006; MORAES JÚNIOR et al., 2010).

O aumento da FR ao longo do dia, no período de estresse, iniciou a partir das 7 h com um ligeiro aumento desencadeado por estímulos dos termorreceptores periféricos com uma diferença de $9,22 \text{ mov.min}^{-1}$ entre os tratamentos. À medida que se elevou a temperatura do ar, verificou-se um aumento progressivo na FR até às 19 h com uma diferença de $66,41 \text{ mov.min}^{-1}$ entre os tratamentos. Após às 19h, quando a unidade biometeorológica era desligada, ocorria um decréscimo na temperatura do ambiente de $8,45 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e, consequentemente, um declínio na FR de $50,55 \text{ mov.min}^{-1}$, reduzindo a diferença entre os tratamentos às 22 h para $17,45 \text{ mov.min}^{-1}$.

Estes resultados corroboram com os encontrados por Haque et al. (2012) e por Eustáquio Filho et al. (2011) que verificaram um incremento de 60 mov.min^{-1} e 68 mov.min^{-1} , respectivamente. Contudo, divergem dos resultados obtidos por Titto, Russo e Lima (1997) que registraram amplitudes inferiores ($21,75 \text{ mov.min}^{-1}$).

A análise de variância para taxa de sudção revelou efeito ($P = 0,0001$) para tratamento, como observada na tabela 5.

Tabela 5 - Resumo da análise de variância para as taxa de sudção e temperatura de bulbo seco (14h) durante o experimento 1

F.V.	GL _{NUN}	GL _{DEN}	Pr > F	
			TxS	Tbs (14h)
Trat.	1	11	0,0001	<.0001

F.V.: fonte de variação; Trat: tratamento (unidade desligada e unidade ligada); GL_{NUN}: grau de liberdade do numerador; GL_{DEN}: grau de liberdade do denominador; TxS: taxa de sudção; Tbs: temperatura de bulbo seco (14h).

As médias da taxa de sudção apresentadas a seguir foram corrigidas por meio da equação de regressão determinada para sudção descrita no material e métodos (descrição geral).

As médias ajustadas por quadrados mínimos para a taxa de sudação entre os tratamentos diferiram ($P < 0,01$) entre si, com um aumento de 102,26 % de suor quando em estresse térmico (tabela 6).

Tabela 6 - Médias ajustadas para taxa de sudação e temperatura de bulbo seco (14h) dentro de cada tratamento durante o experimento 1

TRAT.	TxS		Tbs (14h)	
	UD	UL	UD	UL
Média	706,36B	1428,65A	27,73B	34,07A

Trat: tratamento (unidade desligada e unidade ligada); TxS: taxa de sudação ($\text{g.m}^{-2}\text{h}^{-1}$) (e.p. = 72,53); Tbs: temperatura de bulbo seco às 14h ($^{\circ}\text{C}$) (e.p. = 0,22).

Médias seguidas por letras diferentes dentro da linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P < 0,01$).

A literatura refere que os bubalinos possuem baixa eficiência na dissipação do calor pelas vias cutâneas, porém este experimento evidencia a capacidade sudativa destes animais com um incremento de $722,29 \text{ g.m}^{-2}\text{h}^{-1}$ com o aumento na temperatura do ar. A maior vasodilatação periférica indicada pela elevação na temperatura da base da cauda e da epiderme proporciona um suprimento sanguíneo estimulando a ação da glândula sudorípara. Quando um animal é submetido a altas temperaturas ocorre um acréscimo no aporte sanguíneo para a epiderme ocasionando uma quantidade adicional de matéria-prima às glândulas sudoríparas estimulando sua ação (SILVA, 2000; SOUZA JR, 2008).

Vários resultados evidenciam a influência do ambiente sobre a taxa de sudação e existe um consenso que há um incremento na taxa de sudação com o aumento na temperatura ambiente (EUSTÁQUIO FILHO et al., 201; FERREIRA et al., 2009; GUIMARÃES et al., 2001; JOSHI; McDOWELL; SADHU, 1968; VIEIRA et al., 1995; TITTO; RUSSO; LIMA, 1997).

A temperatura retal é bom indicador da temperatura corporal e, pode ser considerada como um índice de medição de adaptabilidade a ambientes quentes. O aumento desta indica que os mecanismos termorreguladores não foram eficientes (FERRO et al., 2010; SILVA, 2000; SILANIKOVE, 2000). A análise de variância para temperatura retal apresentou efeito ($P < 0,01$) para todas as fontes de variação, como indicada na tabela 3.

A análise de regressão associada à temperatura retal revelou efeito ($P < 0,01$) para o tratamento UL em função do horário de avaliação, apresentando modelo cúbico (gráfico 5).

Os valores médios observados da TR, ao longo do dia entre os tratamentos, diferiram ($P < 0,01$) as 7 h e 22 h apresentando maiores valores para animais no tratamento UD quando comparados ao tratamento UL e entre as 13 h e 19 h apresentando maiores valores para os animais no tratamento UL.

A TR dos animais quando em conforto térmico apresentou-se com uma pequena variação circadiana ao longo do dia, com uma diferença máxima de 0,18° C entre as 16h e 19h. Para animais em condições térmicas favoráveis, a temperatura corporal apresenta um ritmo diurno monofásico com valores máximos no final da tarde e mínimo no início da manhã (HAHN, 1999).

Gráfico5 - Temperatura retal observada e estimada para os tratamentos unidade desligada (UD) e unidade ligada (UL)

Os animais, no período em que foram submetidos ao estresse térmico, conseguiram manter sua TR até às 10 h com valor inferior ao do período de conforto. Tal pode ser devido ao maior gradiente térmico entre a TE e o ambiente, que juntamente com a alteração no fluxo sanguíneo (que no caso dos bubalinos por possuírem uma distribuição diferenciada, aumenta a condutância térmica dos tecidos), favorece o fluxo de energia no sentido centrífugo, dissipando essa energia por radiação e convecção. A alteração no fluxo de sangue para a periferia aumenta de modo a reforçar a perda de calor por radiação, condução e convecção (HANSEN, 2004). Vale ressaltar que as temperaturas retais mais baixas que ocorrem às 7h no tratamento UL, sugerem um mecanismo adaptativo para limitarem os armazenamentos de calor que tendem a ocorrer ao longo do dia.

A partir das 10 h verificou-se um aumento no armazenamento do calor e como o gradiente térmico entre o animal e o ambiente é reduzido, a termólise latente passa a ser a

principal via de dissipação do calor. Às 13 h constatou-se um aumento da TR apesar do incremento na FR de 42,55 mov.min⁻¹ chegando a uma diferença de 66,41 mov.min⁻¹ às 19 h. Esta intensidade termolítica é ainda coadjuvada por níveis elevados de sudorese (1147,01 g.m⁻².h⁻¹), que mesmo assim não foram suficientes a total dissipação de calor, em um incremento na TR de 0,89 °C quando comparado entre tratamentos. Estes resultados corroboram os obtidos por Haque et al. (2012), Titto, Russo e Lima (1997). Segundo McDowell, Hooven e Camões (1976), um aumento de 1,0°C na temperatura retal é suficiente para reduzir o desempenho na maioria espécies de animais.

Estes resultados divergem dos encontrados por Ferreira et al. (2006) que verificaram um incremento de 3,08°C na TR em animais mestiços Gir x Holandês. Koga et al. (2004) referem que em bubalinos, as interferências do ambiente na temperatura retal são menores, quando comparadas aos bovinos, devido à sua grande capacidade em dissipar calor endógeno, principalmente, por meio da via respiratória. Resultados superiores também foram obtidos por Joshi, McDowell, Sadhu (1968) e Koga et al. (1999a).

Depois das 19h, quando a unidade meteorológica era desligada, ocorria uma mudança na temperatura do ambiente favorecendo, portanto, a dissipação deste calor com redução de 1,01°C na TR (tabela 4).

Evidencia-se o comportamento da temperatura retal dos bubalinos, ao longo do dia quando submetidos à estresse térmico, que mostrou-se em forma de ondas triangulares, diferentemente dos bovinos que normalmente apresenta-se em forma de ondas senoidais.

A análise descritiva dos constituintes bioquímicos séricos de glicose, sódio e potássio, dos constituintes do eritrograma, dos índices hematimétricos e dos constituintes do leucograma é apresentada na tabela 7.

Tabela 7 - Número de observações (N), média, desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV), mínima (Min) e máxima (Max) para constituintes hematimétricos do experimento 1

Variável	N	Média	DP	CV	Min	Max
Glicose	24	79,00	15,86	20,08	64,00	136,00
Na	24	138,75	3,47	2,50	130,00	145,00
K	24	4,20	0,41	9,85	3,40	5,00
Hemácia	24	6,60	0,91	13,74	5,07	8,68
Hemoglobina	24	12,09	1,18	9,74	10,00	14,10
Hematócrito	24	30,46	3,68	12,09	24,00	36,00
VCM	24	49,50	7,22	14,58	35,71	59,80
HCM	24	38,99	2,02	5,19	36,25	45,17
CHCM	24	19,21	2,32	12,07	14,40	23,42
Leucócito	24	11772,22	2562,30	21,77	6900,00	15250,00

Segmentado	24	4916,25	1171,21	23,82	2622,00	7625,00
Linfócito	24	6363,42	1717,19	26,99	3795,00	9480,50
Eosinófilo	24	343,03	239,02	69,68	0,00	768,00
Basófilo	24	22,56	70,51	312,59	0,00	278,00
Monócito	24	101,53	112,62	110,92	0,00	305,00
Bastonete	24	25,44	76,34	300,01	0,00	283,00

Gli.: glicose (mg/dL); Na: sódio (mEq/L); K: potássio(mEq/L); He: hemácia ($\times 10^6/\mu\text{l}$); Hb: hemoglobina (g/dl); Ht: hematócrito (%);VCM: volume corpuscular médio (fl); HCM: hemoglobina corpuscular média (pg); CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média (%);Leu: leucócito (células/mm³); Eos.: eosinófilo (células/mm³); Baso.: basófilo (células/mm³); Linf.: linfócito (células/mm³); Mono.: monócito(células/mm³); Seg.: segmentado (células/mm³); Bast.: bastonete (células/mm³).

O aumento na temperatura do ar desencadeia alterações diretas nas variáveis fisiológicas dos animais, como foi observado e pode ocasionar alterações indiretas no metabolismo dos animais bem como alterar o perfil bioquímico e hematimétrico. O resumo da análise de variância para os constituintes bioquímicos de glicose, sódio e potássio está descrito na tabela 8.

Tabela 8 - Resumo da análise de variância para os constituintes bioquímicos durante o experimento 1

F.V	GL _{NUN}	GL _{DEN}	Pr> F		
			Gli.	Na	K
TRAT	1	11	0,0992	0,9104	0,0051

F.V.: fonte de variação; Trat: tratamento (unidade desligada e unidade ligada); GL_{NUN}: grau de liberdade do numerador; GL_{DEN}: grau de liberdade do denominador; Gli.: glicose; Na: sódio; K: potássio.

A análise de variância para os constituintes bioquímicos apresentou efeito ($P<0,01$) entre tratamentos somente para o potássio (tabela 8).

A manutenção da homeostase é diretamente dependente do equilíbrio dinâmico que há entre os líquidos corporais, pH e eletrólitos (ROBINSON, 2008c).

As médias ajustadas por quadrados mínimos para os constituintes bioquímicos estão apresentadas na tabela 9.

Tabela 9 - Médias ajustadas para os constituintes bioquímicos dentro de cada tratamento durante o experimento 1

TRAT	Média		
	Gli	Na	K
UD	69,16A	138,83A	4,44A
UL	83,91A	138,67A	3,96B

Trat: tratamento (unidade desligada e unidade ligada); Gli.: glicose (mg/dL) (e.p. = 4,21); Na: sódio (mEq/L) (e.p. = 1,02); K: potássio (mEq/L) (e.p. = 0,10).

Médias seguidas por letras diferentes dentro da coluna diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P<0,01$).

Uma concentração plasmática de glicose adequada é essencial para o funcionamento normal do cérebro. O organismo utiliza vias elaboradas para garantir a manutenção da glicemia e, como resultado, a glicose plasmática pode vir de uma ou mais fontes, dependendo do estado do metabolismo de carboidratos (KERR, 2003).

Existe uma retroalimentação específica e um controle hormonal sobre estas vias para assegurar uma concentração plasmática adequada, independentemente do estado do animal (se alimentando ou em jejum). Em situações normais, o glucagon e o hormônio do crescimento (GH) são responsáveis por sua manutenção, enquanto que quando em estresse ou jejum prolongado, os glicocorticóides e a adrenalina são importantes (KERR, 2003).

Em uma situação de estresse agudo, os glicocorticóides agem no fígado aumentando a síntese de enzimas que promovem a neoglicogênese (síntese da glicose a partir de substâncias que não sejam carboidratos) sendo parte sintetizada novamente e convertida em glicogênio que é armazenado no fígado e no músculo que, entretanto, é liberada na circulação aumentando sua concentração plasmática (RANDALL; BURGGERN; FRENCH, 2008). No presente, estudo verificou-se apenas uma tendência para o aumento na concentração plasmática de glicose, porém essa não diferiu entre os tratamentos.

A maioria das respostas endócrinas ao estresse térmico agudo está associada na alteração no *turnover* de água e eletrólitos. Esta resposta é necessária para cumprir com o aumento da perda de água por evaporação, que é a principal via de troca de calor quando a temperatura do corporal aproxima-se da temperatura ambiente (COLLIER et al., 1982).

O metabolismo dos eletrólitos, juntamente com a avaliação do eritrograma, permite avaliar o grau de hidratação do animal. Os problemas hidro-eletrolíticos estão associados às perdas anormais de líquidos, e é a quantidade e a composição do líquido que está sendo perdido que determinará o desvio anormalidade (KERR, 2003).

O sódio é o principal cátion extracelular e o conteúdo corporal deste cátion é determinado pela ingestão do mineral pela dieta e sua excreção na urina, nas fezes e no suor. A manutenção do seu equilíbrio deve-se principalmente aos efeitos do mecanismo renina-angiotensina-aldosterona no transporte de Na^+ pelas superfícies epiteliais dos rins, no sistema gastrointestinal e nas glândulas sudoríparas (FETTMAN, 2007).

O aumento da eficiência sudativa verificada no presente estudo não influenciou na concentração plasmática de Na^+ . Na desidratação isotônica as concentrações plasmáticas de Na^+ e Cl^- permanecem inalteradas, quando há perdas corporais de quantidades proporcionais equivalentes de água e solutos (FETTMAN, 2007; KERR, 2003, p. 95).

O potássio é o principal cátion intracelular e o equilíbrio da concentração deste cátion envolve a regulação extracorpórea, que é relacionada com o seu consumo na dieta e as suas perdas orgânicas diárias. A sua regulação está relacionada com o equilíbrio ácido-base, glicemia, insulinemia, exercício e a liberação de catecolaminas. A sua excreção é influenciada por fatores hormonais (aldosterona, hormônio antidiurético - ADH e desoxicorticosterona), equilíbrio ácido-base e balanço de cátions (ARAÚJO et al., 2010).

Os níveis séricos de K^+ são influenciados pelo estresse calórico. A secreção do K^+ é incrementada pela eficiência da sudação do animal já que é o principal cátion presente no suor (ARAÚJO et al., 2010). Apesar de não ter sido verificado alteração na concentração plasmática de Na^+ com aumento na eficiência sudativa, as alterações de K^+ são provavelmente referentes às perdas sudativas, que não foram compensadas no curto prazo.

O aumento na temperatura do ar provoca um aumento nos níveis séricos de aldosterona que resulta em reabsorção de Na^+ nos rins e aumento da secreção de K^+ pelos túbulos renais. A variação da excreção pela urina depende da concentração plasmática de sódio e do estado de hidratação do animal (FREITAS et al., 2010). A depleção do K^+ verificada no presente estudo também pode estar associada às perdas urinárias. O aumento do fluxo de fluido tubular distal eleva o gradiente para a secreção de K^+ aumentando sua perda urinária (FETTMAN, 2007).

Durante o estresse de curto prazo em búfalos, a diminuição na concentração plasma de potássio tem sido demonstrada de forma a coincidir com os aumentos na taxa de *turnover* de água, concentração plasmática da glicose e da excreção fracionada de potássio (CHAIYABUTR et al., 1987). As concentrações plasmáticas para os constituintes bioquímicos do presente trabalho encontram-se dentro dos valores referidos para bubalinos (CHAIYABUTR et al., 1997; TERZANO et al., 2007).

O resumo da análise de variância para os constituintes do eritrograma e dos índices hematimétricos está descrito na tabela 10.

Tabela 10 - Resumo da análise de variância para os constituintes do eritrograma durante o experimento 1

F.V	GL _{NUN}	GL _{DEN}	Pr > F					
			He	Hb	Ht	VCM	HCM	CHCM
TRAT	1	11	0,9027	0,8036	0,4266	0,4071	0,6464	0,3714

F.V.: fonte de variação; Trat: tratamento (unidade desligada e unidade ligada); GL_{NUN}: grau de liberdade do numerador; GL_{DEN}: grau de liberdade do denominador; He: hemácia; Hb: hemoglobina; Ht: hematócrito; VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média.

Por meio da análise de variância não foi constatado efeito ($P>0,01$) do tratamento para nenhum dos constituintes do eritrograma (tabela 10). As médias ajustadas por quadrados mínimos para os constituintes do eritrograma e dos índices hematimétricos estão descritas na tabela 11.

Tabela 11 - Médias ajustadas para os constituintes do eritrograma dentro de cada tratamento durante o experimento 1

TRAT	Média					
	He	Hb	Ht	VCM	HCM	CHCM
UD	6,64A	12,03A	29,83A	51,68A	19,97A	38,65A
UL	6,57A	12,15A	31,08A	48,41A	18,83A	39,16A

Trat. UD: tratamento unidade desligada; Trat. UL: tratamento unidade ligada; He: hemácia ($\times 10^6/\mu\text{l}$) (e.p.= 0,27); Hb: hemoglobina (g/dl) (e.p.=0,35); Ht: hematócrito (%) (e.p.= 1,07); VCM: volume corpuscular médio (fl) (e.p.= 2,09); HCM: hemoglobina corpuscular média (pg) (e.p.= 0,85); CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média (%) (e.p.= 0,95).

As médias ajustadas para os constituintes do eritrograma não diferiram entre os tratamentos, pois as variações verificadas se encontram dentro do intervalo de confiança. Como os bubalinos conseguiram dissipar o calor acumulado ao longo do dia no período noturno, devido o gradiente térmico mais favorável, amenizaram os efeitos do estresse térmico e, por conseguinte, não foram verificados os efeitos sobre os constituintes do eritrograma e, conseqüentemente, em seus índices hematimétricos. Esta resiliência é um aspecto muito relevante na plasticidade fisiológicas dos búfalos.

O eritrograma é a primeira parte do hemograma e avalia os glóbulos vermelhos e pode avaliar o grau de hidratação do animal pela determinação no teor de alguns componentes sanguíneos (FETTMAN, 2007). O hematócrito é o percentual do sangue que é ocupado pelas hemácias e nos traduz as alterações quantitativas nas células sanguíneas associadas ao estresse térmico. O aumento da concentração plasmática de hemácias e do hematócrito permite identificar o grau de hidratação do animal, que em uma situação de estresse térmico pode levar a uma hemoconcentração, devido às alterações no fluxo de água entre os espaços extracelulares e intracelulares, além das perdas pelas vias evaporativas (FETTMAN, 2007; GARCIA-NAVARRO, 2005). O aumento nas perdas evaporativas, por meio da polipnéia térmica e sudação, não alteraram os valores plasmáticos de He e Ht no presente estudo. Em alguns casos, o excessivo consumo de água pode conduzir a uma hemodiluição, com resultados contrários nos valores do hematócrito (PEREIRA et al., 2008).

A hemoglobina é responsável pelo transporte de oxigênio dos pulmões para os diferentes tecidos e, durante situação de estresse, ocorre aumento da taxa de consumo de oxigênio, ocasionando elevação do valor desse constituinte sanguíneo (RANDALL; BURGGERN; FRENCH, 2008; SCHMIDT-NIELSEN, 2002). Apesar de constatar uma tendência na elevação deste constituinte, o incremento na frequência respiratória verificada no presente estudo não alterou seus valores entre os tratamentos. No entanto, o aumento da ventilação do espaço morto durante a polipnéia térmica, com diminuições na ventilação alveolar, pode ter consequência num incremento nos níveis de hemoglobina.

As informações acerca da morfologia das hemácias são fornecidas pelos valores dos cálculos dos índices hematimétricos VCM, que mede o tamanho das hemácias, do HCM, que mede o peso da hemoglobina dentro das hemácias e do CHCM, que avalia a concentração de hemoglobina na hemácia, e ambos indicam a quantidade de hemoglobina na massa de hemácias compactadas (KERR, 2003). Como seus valores são obtidos a partir do número de hemácias, da concentração de hemoglobina e do hematócrito, não se verificaram, portanto, alterações nestes índices em função dos tratamentos.

As concentrações plasmáticas para os constituintes do eritrograma do presente trabalho encontram-se dentro dos valores referidos para bubalinos (AKHTAR et al., 2007; CIARAMELLA et al., 2005; FRANÇA et al., 2011; GOMES et al., 2010).

O resumo da análise de variância para os constituintes do leucograma de contagem total de leucócito e da contagem diferencial de leucócitos é apresentado na tabela 12.

Tabela 12 - Resumo da análise de variância para os constituintes do leucograma durante o experimento 1

F.V	Pr > F								
	GL _{NUN}	GL _{DEN}	Leu	Seg.	Linf.	Eosi.	Baso.	Mono.	Bast.
TRAT	1	11	0,9092	0,1414	0,5049	0,2766	0,3578	0,5093	0,3632

F.V.: fonte de variação; Trat: tratamento (unidade desligada e unidade ligada); GL_{NUN}: grau de liberdade do numerador; GL_{DEN}: grau de liberdade do denominador; Leu: leucócito; Eos.: eosinófilo; Baso.: basófilo; Linf.: linfócito; Mono.: monócito; Seg.: segmentado; Bast.: bastonete.

As médias ajustadas por quadrados mínimos para os constituintes do leucograma de contagem total de leucócito e da contagem diferencial de leucócitos estão apresentadas na tabela 13.

Tabela 13 - Médias ajustadas para os constituintes do leucograma dentro de cada tratamento durante o experimento 1

TRAT	Média						
	Leu	Seg.	Linf.	Eosi.	Baso.	Mono.	Bast.
UD	11667A	4272,50A	6780,33A	438,92A	46,33A	128,58A	0,00A
UL	11825A	5238,13A	6154,96A	295,08A	10,66A	88,00A	38,17A

Trat. UD: tratamento unidade desligada; Trat. UL: tratamento unidade ligada; Leu: leucócito (células/mm³) (e.p.= 762,09); Seg.: segmentado (células/mm³) (e.p.= 451,73); Linf.: linfócito (células/mm³) (e.p.= 711,25); Eos.: eosinófilo (células/mm³) (e.p.= 96,20); Baso.: basófilo (células/mm³) (e.p.=28,76); Mono.: monócito (células/mm³) (e.p.= 46,66); Bast.: bastonete (células/mm³) (e.p.= 31,16).

As médias ajustadas para os constituintes do leucograma assim como do eritrograma não diferiram entre os tratamentos. O leucograma é o conjunto de valores relativos e absolutos do perfil leucocitário, junto às informações sobre a morfologia dos leucócitos (WEISER; THARALL, 2007).

Os segmentados são os neutrófilos jovens e os neutrófilos são especializados no combate a bactérias, sendo o tipo de leucócito mais comum. Os linfócitos são o segundo tipo mais comum de glóbulos brancos e são as principais linhas de defesa contra infecções por vírus e são as células que fazem o reconhecimento de organismos estranhos, iniciando o processo de ativação do sistema imune. Os monócitos são ativados tanto em processos virais quanto bacterianos, tipicamente se elevam nos casos de infecções crônicas. Os eosinófilos são os leucócitos responsáveis pelo combate de parasitas. Os basófilos são o tipo menos comum de leucócitos no sangue, sua elevação normalmente ocorre em processos alérgicos e estados de inflamação crônica (WEISER; THARALL, 2007).

A alteração do leucograma frente ao estresse é uma resposta orgânica mediada pela liberação de hormônio adrenocorticotrófico pela glândula pituitária e, conseqüentemente, liberação de cortisol pela glândula adrenal. A resposta pode ser detectada no leucograma devido às alterações em vários tipos celulares. Durante um período de estresse de curto prazo, geralmente verifica-se um aumento na contagem total de leucócitos. Na contagem diferencial a principal alteração é a limfopenia, a segunda alteração mais consistente é a duplicação da população de neutrófilos circulantes e a eosinopenia é a terceira alteração mais comum (KERR, 2003; WEISER, 2007).

As concentrações plasmáticas para os constituintes do leucograma do presente trabalho encontram-se dentro dos valores referidos para bubalinos (AKHTAR et al., 2007; FRANÇA et al., 2011).

6.4 - Conclusão

A estimulação térmica de curto prazo permitiu identificar alterações de grande magnitude nas respostas fisiológicas ao longo do dia, principalmente na FR e na TR. A resposta termolítica latente foi evidente com valores elevados da FR e principalmente da TxS,

muito além dos valores normalmente referidos. A rápida recuperação da TR face à diminuição da temperatura ambiente sugere a manutenção de taxas de sudção elevadas mesmo após a diminuição acentuada da FR. O gradiente térmico favorável no período noturno propiciou um reajuste fisiológico amenizando os efeitos do estresse, justificando, assim, a ausência de diferenças relevantes nos parâmetros hematológicos.

7 - Experimento 2. Avaliação das reações termorreguladoras na presença de radiação solar direta- balanço térmico e níveis de termólise latente

7.1 - Introdução

Da energia radiante emitida pelo sol que incide sobre a Terra, apenas 31 % atinge efetivamente a superfície terrestre. Do restante, cerca de 3 % da radiação ultravioleta é absorvida pelas moléculas de O₂ na ionosfera, para a formação da camada de ozônio. Aproximadamente 15 % é absorvido na atmosfera pelo vapor de água, CO₂ e partículas (aerossóis). 30 % da energia radiante é refletida pelas nuvens de volta para o espaço e 6 % é refletida pelo solo. Por fim, 15 % da energia radiante é dispersa pelas partículas sólidas e gasosas na atmosfera, contribuindo na luminosidade celeste (SILVA, 2000; SILVA, 2008).

A energia radiante, ao atingir o animal, é convertida em calor susceptível de ser adquirida, sendo que a aquisição de calor é função das características da epiderme e do pelame. No caso dos búfalos, a intensa pigmentação da epiderme e do pelame torna-os especialmente sensíveis à radiação solar (DAMASCENO et al., 2010).

Os bubalinos, quando submetidos aos efeitos da radiação solar direta, não são capazes de manterem condições normais a temperaturarectal e frequência respiratória (ALAM et al., 2010). A exposição ao sol (41°C) durante cinco horas aumenta a frequência respiratória de 26 ± 4 para 86 ± 16 mov.min⁻¹ e a temperatura retal de $38,5 \pm 01$ para $39,7 \pm 0,2^\circ\text{C}$ (CHAIYABUTR et al., 1997). Gudev et al. (2007a) referem que os búfalos devem ser protegidos da exposição ao sol, principalmente nas horas mais quentes do dia, por serem mais susceptíveis ao estresse térmico.

Este experimento objetivou avaliar comparativamente a forma como cada animal integra e responde à radiação solar direta. O experimento visou quantificar as reações dos animais perante condições de radiação solar direta, designadamente a intensidade de

funcionamento das vias de termólise latente e as variações nos armazenamentos de calor de acordo com os diferentes balanços térmicos.

7.2 - Material e Métodos

O experimento foi desenvolvido no setor de Bubalinocultura da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, durante os meses de janeiro e fevereiro de 2011.

Foram utilizadas 12 búfalas da raça Mediterrânea, com idade média inicial de 19 meses e peso médio inicial de 430 kg. Os animais foram divididos aleatoriamente em dois tratamentos, com sombra (SBRA) e ao sol (SOL). Este experimento decorreu em duas etapas num esquema de *switch-back*, em que todos os animais passaram por ambos tratamentos.

A alimentação dos animais foi composta por ração total na proporção volumoso: concentrado de 80:20, oferecida diariamente, dividida em duas refeições às 6 h e às 16 h. A ração continha 76 % de NDT e 1 8% PB na matéria seca, sendo composta por silagem de milho e concentrado.

Os animais do tratamento com sombra ficaram estabulados em uma instalação com piso de cimento rugoso e com cobertura de telha de fibrocimento, com pé direito de 3 metros, paredes laterais de 1,5 metros, orientação Leste-Oeste, com uma área de sombreamento total de 204 m² (figuras 19 e 20). Os animais do tratamento ao sol ficaram estabulados em curral com piso de cimento rugoso, com uma área total de 499 m² (Figuras 21 e 22).

Figura 19 - Vista frontal tratamento com sombra

Figura 20 - Animais mantidos à sombra

Figura 21 - Vista frontal tratamento ao sol

Figura 22 - Animais mantidos ao sol

O período experimental de cada etapa teve duração de 10 dias, com intervalo entre as etapas de setes dias para a recuperação fisiológica dos animais. Após esse período os animais trocaram de tratamento. O primeiro dia de cada etapa foi para adaptação aos procedimentos e manejo a que os animais estavam sujeitos. As variáveis fisiológicas mensuradas nos animais foram as mesmas descritas no experimento 1 e realizadas de acordo com o mesmo procedimento e periodicidade (quadro 4).

Quadro 4 - Esquema das atividades durante o experimento 2

Dias	0	1	2*	3*	4*	5*	6*	7*	8*	9*	10
Eventos	Coleta sangue	Adaptação	SOL	SOL	SOL	SOL	SOL	SOL	SOL	SOL	Coleta sangue
			SBRA	SBRA	SBRA	SBRA	SBRA	SBRA	SBRA	SBRA	

* Período de registro das variáveis fisiológicas

Eventualmente se algum animal do tratamento ao sol entrasse em fase de pré-falência termorreguladora, com valores elevados de temperatura retal, o animal seria molhado com água com auxílio de uma mangueira (durante 3 minutos). Nesta situação, a temperatura da água seria medida e estimado o volume de água utilizado no banho. Antes e depois deste procedimento seria monitorada a temperatura retal para evidenciar o efeito de arrefecimento promovido pela água.

Durante este experimento, além das variáveis meteorológicas descritas no material e métodos (descrição geral), foram registradas as temperaturas do solo e do telhado com uso de um termômetro infravermelho (Instrutherm, Brasil, modelo:TI-890).

A análise descritiva das variáveis meteorológicas de temperatura de bulbo seco (Tbs), temperatura de bulbo úmido (Tbu) umidade relativa do ar (UR), temperatura de globo negro

(TGN), vento, temperatura do solo (Tsolo), temperatura do telhado (Ttelhado) e carga térmica radiante (CTR) registrada durante o período experimental é apresentada na tabela 14.

Tabela 14 - Número de observações (N), média, desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV), mínima (Min) e máxima (Max), para as variáveis meteorológicas durante o período experimental do experimento 2

Variável	N	Média	DP	CV	Min.	Max.
Tbs	1008	28,85	4,69	16,28	21,50	38,00
Tbu	1008	24,00	1,64	6,84	21,00	28,00
UR	1008	64,94	16,52	25,44	36,00	99,00
TGN	1008	31,71	8,92	28,11	18,50	56,00
Vento	1008	0,45	0,63	137,55	0,00	2,70
Tsolo	1008	34,16	11,63	34,05	20,50	68,40
Ttelhado	1008	36,56	14,64	40,03	16,30	66,00
CTR	1008	495,89	100,54	20,27	350,11	770,77

Tbs: temperatura de bulbo seco (°C); Tbu: temperatura de bulbo úmido (°C); UR:umidade relativa do ar (%); TGN: temperatura de globo negro (°C); Vento (m.s⁻¹); Tsolo: temperatura do solo (°C); Ttelhado: temperatura do telhado (°C); CTR: carga térmica radiante (w.m⁻²).

As análises das variáveis fisiológicas (TE, TS, TC, FR e TR) e biofísicas (Arm_{cal} e Calor_{acum}) consideraram um modelo estatístico que contemplou os efeitos fixos de horários de avaliação (7 h, 10 h, 13 h, 16 h, 19 h e 22 h), tratamentos (sol ou sombra) e interação dupla horários x tratamentos, além do efeito aleatório de animal utilizado como resíduo. Nestas análises considerou-se que as avaliações nos diferentes horários e etapas foram realizadas nos mesmos animais, caracterizando estrutura repetida no tempo, conforme descrito por Crowder e Hand (1990). As análises foram realizadas com auxílio do procedimento PROC MIXED do programa *Statistical Analysis System*, versão 9.1.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Em virtude de efeitos significativos (P<0,05) para a interação dupla foram utilizadas análises de regressão, visando identificar o comportamento das variáveis dependentes em função dos horários de forma apropriada.

Para avaliação das variáveis meteorológicas (Tbs, Tbu, UR, TGN e CTR), da taxa de sudação e dos constituintes sanguíneos: bioquímicos (Gli, Na e K), eritrograma (He, Hb, Ht, VCM, HCM e CHCM) e do leucograma (Leu.,Seg., Linf., Eosi., Baso., Mono. e Bast.) considerou um modelo estatístico que contemplou o efeito fixo de tratamentos (sol ou sombra), além do efeito aleatório de animal utilizado como resíduo. Nestas análises considerou-se que as avaliações foram realizadas nos mesmos animais, caracterizando estruturas repetidas nas mesmas unidades experimentais. As análises foram realizadas com auxílio do mesmo procedimento anteriormente citado.

7.3 - Resultados e Discussão

Ao longo do período experimental não foi observado nos animais nenhum comportamento que indicasse uma situação de estresse às rotinas diárias e ao manejo durante o registro dos dados. Devido à monitorização rigorosa das variáveis fisiológicas, os limites fisiológicos dos animais não foram atingidos. Aquilo que se pretendeu foi a caracterização cronológica do desconforto perante o estresse térmico e não a identificação dos limites fisiológicos individuais.

Através das variáveis meteorológicas podem-se evidenciar a alteração do ambiente entre os tratamentos. Durante o experimento, a temperatura média de bulbo seco ao longo do dia foi de 28,85 °C e umidade relativa de 64 % com velocidade média do vento de 0,5 m.s⁻¹. No período que os animais estiveram expostos ao sol a temperatura do globo negro variou de 18,50 °C a 56,00 °C e temperatura do solo entre 22,40 °C e 68,45 °C. Quando os animais foram mantidos à sombra a temperatura do globo negro variou de 21,00 °C a 40,00 °C, com temperatura do solo entre 20,50 °C e 35,25 °C e do telhado de 16,35 °C e 66,00 °C.

Entre as variáveis meteorológicas monitoradas, a temperatura de globo negro foi eleita para auxiliar na discussão das prováveis alterações nas variáveis fisiológicas.

A análise descritiva das variáveis fisiológicas de temperatura da epiderme (TE), temperatura de superfície corporal (TS), temperatura da base da cauda (TC), frequência respiratória (FR), taxa de sudção (TxS) e temperatura retal (TR) e das variáveis biofísicas de armazenamento de calor (Arm_{cal}), calor acumulado (Calor_{acum}) registrada durante o período experimental está apresentada na tabela 15.

Tabela 15 - Número de observações (N), média, desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV), mínima (Min) e máxima (Max), para as variáveis fisiológicas do experimento 2

Variável	N	Média	DP	CV	Min.	Max.
TE	1008	35,52	5,19	14,62	23,70	51,60
TS	1008	35,66	6,13	17,17	22,10	56,30
TC	1008	35,33	2,64	7,46	21,90	42,80
FR	1008	36,21	26,48	73,14	12,00	148,00
TxS	168	673,68	335,09	49,74	191,20	1626,20
Arm _{cal}	1008	0,001	0,016	1130,69	-0,070	0,247
Calor _{acum}	1008	0,041	0,071	173,25	-0,164	0,770
TR	1008	38,45	0,69	1,81	27,90	40,80

TE: temperatura da epiderme (°C); TS: temperatura de superfície corporal (°C); TC: temperatura da base da cauda (°C); FR: frequência respiratória (mov.min⁻¹); TxS: taxa de sudção (g.m⁻².h⁻¹); Arm_{cal}:armazenamento de calor(w.m⁻²); Calor_{acum}: calor acumulado (w.m⁻²); TR :temperatura retal (°C).

O resumo da análise de variância para as variáveis fisiológicas de temperatura da epiderme (TE), temperatura de superfície corporal (TS), temperatura da base da cauda (TC), frequência respiratória (FR) e temperatura retal (TR), das variáveis biofísicas de armazenamento de calor (Arm_{cal}), calor acumulado ($Calor_{acum}$) e da variável meteorológica de temperatura de globo negro (TGN) encontra-se descrito na tabela 16.

Tabela 16 - Resumo da análise de variância para as variáveis fisiológicas e temperatura de globo negro durante o experimento 2

F.V.	Pr> F									
	GL _{NUN}	GL _{DEN}	TE	TS	TC	FR	Arm_{cal}	$Calor_{acum}$	TR	TGN
Trat.	1	11	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0,4627	<.0001	<.0001	<.0001
Hora	5	55	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
Trat.xHora	5	55	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001

F.V.: fontes de variação; Trat: tratamento (sol e sombra); GL_{NUN}: grau de liberdade do numerador; GL_{DEN}: grau de liberdade do denominador; TE: temperatura da epiderme; TS: temperatura de superfície corporal; TC: temperatura da base da cauda; FR: frequência respiratória; Arm_{cal} : armazenamento de calor; $Calor_{acum}$: calor acumulado; TR: temperatura retal; TGN: temperatura de globo negro.

Os bubalinos possuem características anatômicas e morfológicas que os tornam susceptíveis à radiação solar direta. Estando ao longo do dia sujeitos a uma grande intensidade de radiação direta e a níveis elevados de radiação infravermelha de ondas curtas proveniente do solo, que originam cargas térmicas radiantes frequentemente acima da própria temperatura nuclear, favorecem a aquisição de calor (VALTORTA; LEVA; GALLARDO, 1997).

As médias ajustadas por quadrados mínimos das variáveis fisiológicas, das variáveis biofísicas e da variável meteorológica de temperatura de globo negro (TGN) estão apresentadas na tabela 17.

Tabela 17 - Médias ajustadas das variáveis fisiológica e temperatura de globo negro dentro de cada tratamento ao longo do dia durante o experimento 2

Efeitos		Horário					
		7	10	13	16	19	22
Var.	Trat.	Média	Média	Média	Média	Média	Média
TE	SOL	30,54dB	38,98bA	42,85aA	43,53aA	35,98cA	30,05dA
	SBRA	31,81cA	34,05bB	37,08aB	36,86aB	33,78bB	30,75dA
TS	SOL	29,75dB	40,41bA	44,91aA	45,16aA	35,64cA	29,20dB
	SBRA	30,64cA	33,99bB	37,55aB	37,15aB	33,34bB	30,17cA
TC	SOL	32,42fB	35,61dA	37,63bA	38,77aA	36,68cA	33,21eB
	SBRA	33,37cA	34,36bB	36,01aB	36,19aB	35,69aB	34,10bA
FR	SOL	23,10eA	42,95dA	72,60bA	91,02aA	51,76cA	20,10eA
	SBRA	20,19bcA	23,48abB	25,33aB	22,67abcB	22,62abcB	18,76cA
Arm _{calor}	SOL	0,00cA	0,0066bA	0,0170aA	0,0183aA	-0,0096dB	-0,0253eB
	SBRA	0,00cdA	0,0068aA	0,0021bcB	0,0038abB	0,0008bcA	-0,0031dA
Calor _{acum}	SOL	0,00A	0,0198A	0,0709A	0,1258A	0,0970A	0,0209A
	SBRA	0,00A	0,0205A	0,0268B	0,0384B	0,0408B	0,0314A
TR	SOL	37,96eA	38,22dA	38,89cA	39,61aA	39,23bA	38,23dA
	SBRA	37,86cA	38,13bA	38,21bB	38,37aB	38,40aB	38,28abA
TGN	SOL	19,68fB	37,00cA	43,96bA	47,64aA	32,71dA	23,29eB
	SBRA	21,57fA	28,11dB	34,61bB	36,14aB	30,39cB	25,43eA

Var.: variável; Trat: tratamento (sol e sombra); TE: temperatura da epiderme (°C) (e.p. = 0,31); TS: temperatura de superfície corporal (°C) (e.p. = 0,33); TC: temperatura da base da cauda (°C) (e.p. = 0,21); FR: frequência respiratória (mov.min⁻¹) (e.p. = 1,47); Arm_{cal}: armazenamento de calor (w.m⁻²) (e.p. = 0,001); Calor_{acum}: calor acumulado (w.m⁻²) (e.p. = 0,007); TR: temperatura retal (°C) (e.p. = 0,05); TG: temperatura de globo negro (°C) (e.p. = 0,35).

Médias seguidas por letras maiúsculas iguais dentro da coluna e letras minúsculas iguais dentro da linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,01).

A temperatura da epiderme dos bubalinos é bastante dependente da temperatura radiante por possuir uma baixa densidade de pelos e epiderme pigmentada. Animais com epiderme escura são mais susceptíveis ao estresse térmico (BROWN-BRANDL et al., 2006).

A análise de variância para temperatura da epiderme apresentou efeito (P<0,01) para todas as fontes de variação, como pode ser observado na tabela 16. A análise de regressão associada à temperatura da epiderme revelou efeito (P<0,01) entre os tratamentos em função do horário de avaliação, apresentando modelo quadrático (gráfico 6).

Através dos coeficientes de regressão foi calculado o horário (X_{máximo}) que estima a TE máxima, sendo às 14,2 h para os animais que permaneceram ao sol com TE de 43,11 °C e com TE de 36,72 °C para os que permaneceram à sombra.

Gráfico 6 - Temperatura da epiderme observada e estimada para os tratamentos sol (SOL) e sombra (SBRA)

Os valores médios observados na TE, ao longo do dia entre os tratamentos, diferiram ($P < 0,01$) nos horários às 7 h, 10 h, 13 h, 16 h e 19 h como pode ser verificado na tabela 17.

A TE dos animais que permaneceram ao sol aumentou à medida que acresce a temperatura radiante, ao passo que os animais que permaneceram à sombra apresentaram uma pequena variação ao longo do dia. Entre as 7 h e 10 h da manhã ocorreu uma alteração de 17,32 °C na TGN ao sol que resultou, juntamente com a alteração do fluxo sanguíneo e a pigmentação da epiderme, em um aumento de 8,44 °C na TE dos animais mantidos ao sol. Entretanto, nos animais que permaneceram a sombra, com uma alteração na TGN de 6,54 °C, o aumento na TE foi de apenas 2,24 °C, resultante da alteração do fluxo sanguíneo concomitante com a radiação refletida.

Após às 10 h, verificou-se que nos animais ao sol, o aumento na TE ocorreu de forma gradativa e com menor amplitude até às 16 h, horário de maior temperatura radiante registrada (TG 47,64 °C e CTR de 645,54 w.m^{-2}), com uma diferença entre os tratamentos na TE de 6,67 °C. Posteriormente, com a redução na incidência da radiação, verificou-se um decréscimo acentuado na TE de 7,55 °C entre as 16 h e 19 h e de 5,93 °C entre as 19 h e 22 h. Enquanto isso, nos animais à sombra, esse decréscimo foi verificado a partir das 13 h e com uma menor amplitude.

A análise de variância para temperatura de superfície corporal revelou efeito ($P < 0,01$) para todas as fontes de variação, como pode ser observado na tabela 16. A análise de

regressão associada à temperatura de superfície corporal diferiu ($P<0,01$) entre os tratamentos em função do horário de avaliação, apresentando modelo quadrático (gráfico 7).

Por meio dos coeficientes de regressão foi calculado o horário ($X_{\text{máximo}}$) que estima a TS máxima, sendo às 14,2 h para os animais mantidos ao sol com TS de 44,91 °C e às 14,3 h para os mantidos à sombra com TS de 37,04 °C.

Gráfico 7 - Temperatura de superfície corporal observada e estimada para os tratamentos sol (SOL) e sombra (SBRA)

Os valores médios observados para a TS, ao longo do dia entre os tratamentos, diferiram ($P<0,01$) em todos os horários avaliados (tabela 17).

A TS se apresentou de forma semelhante a TE, porém com valores superiores, isto se deve pelo fato da diferença entre as metodologias, a TE era mensurada pontualmente na área tricotomizada enquanto que a mensuração da TS era feita por varredura ao longo do dorso.

Entre às 7 h e às 10 h verificou-se um aumento na TS de 10,66 °C nos animais ao sol e de 3,35 °C nos animais à sombra. A redução na TS iniciou às 13h para os animais à sombra (0,40 °C) e às 16h para os animais ao sol (9,52 °C).

Valores inferiores foram registrados por Koga et al. (2004) em animais mantidos à sombra. E por Silva et al. (2010) em animais mantidos tanto a sombra quanto ao sol, provavelmente por estarem sob condições térmicas mais favoráveis.

A análise de variância para temperatura da base da cauda apresentou efeito ($P<0,01$) para todas as fontes de variação, como pode ser observado na tabela 16. A análise de

regressão associada à temperatura da base da cauda revelou diferenças ($P<0,01$) entre os tratamentos em função do horário de avaliação, apresentando modelo quadrático (gráfico 8).

Por meio dos coeficientes de regressão foi calculado o horário ($X_{\text{máximo}}$) que estima a TC máxima, sendo às 14,9 h para os animais ao sol com TC de 38,33 °C e às 15,4 h para os animais à sombra com TC de 36,11 °C.

Gráfico 8 - Temperatura da base da cauda observada e estimada para os tratamentos sol (SOL) e sombra (SBRA)

Os valores médios observados na TC, ao longo do dia entre os tratamentos, diferiram ($P<0,01$) em todos os horários avaliados (tabela 17). A temperatura mensurada na base da cauda na região da veia coccígea nos permite identificar o efeito do aquecimento da epiderme por meio das alterações no fluxo sanguíneo, já que esta região fica protegida da radiação solar.

A TC dos animais mantidos à sombra aumentou ao longo do dia, com uma diferença máxima de 1,65 °C entre as 10 h e 13 h seguida de uma redução de 0,50 °C após às 16 h. Para os animais ao sol observou-se um aumento mais acentuado na TC entre as 7 h e 10 h com um aumento gradativo até às 16 h, com diferença na TC entre os tratamentos de 2,58 °C, horário de maior gradiente de TGN entre os tratamentos. Após às 16 h, com a redução na temperatura radiante, verificou-se um decréscimo de 2,09 °C na TC.

Valores inferiores na TC foram registrados por Vilela (2008) e Martello et al. (2010) em vacas Holandesas, evidenciando as diferenças anatômicas na distribuição dos vasos sanguíneos entre os bubalinos e os bovinos. É válido salientar que nas horas mais frescas do

dia (após às 19 h) os decréscimos na TC foram menos acentuados que aqueles da TE ou TS repercutindo, provavelmente, níveis superiores de vasodilatação periférica.

O aumento da temperatura radiante determina redução no gradiente térmico entre o animal e o ambiente, dificultando a dissipação do calor metabólico acumulado por via sensível. A fim de manter o balanço térmico do animal adequado, neste cenário, a termólise latente passa a ser uma via importante para a manutenção deste equilíbrio.

A análise de variância para frequência respiratória difere ($P < 0,01$) entre os tratamentos para todas as fontes de variação (tabela 14). A análise de regressão associada à frequência respiratória revelou efeito ($P < 0,01$) entre os tratamentos em função do horário de avaliação, apresentando modelo quadrático, como pode ser observado no gráfico 9.

Por meio dos coeficientes de regressão foi calculado o horário ($X_{\text{máximo}}$) que estima a FR máxima, sendo às 14,6 h para os animais mantidos ao sol com FR de $78,05 \text{ mov.min}^{-1}$ e às 13,8 h para os animais à sombra com FR de $24,47 \text{ mov.min}^{-1}$. Contudo, neste caso o ajustamento do modelo apresenta resíduos superiores para o tratamento sol às 16 h.

Os valores médios observados para a FR, ao longo do dia entre os tratamentos, diferiram ($P < 0,01$) às 10 h, 13 h, 16 h e 19 h (tabela 17).

A FR dos animais mantidos à sombra apresentou uma pequena variação ao longo do dia, indicando que os animais se encontravam em conforto térmico, não havendo necessidade de ativarem sua via de termólise evaporativa por meio da polipnéia térmica.

Gráfico 9 - Frequência respiratória observada e estimada para os tratamentos sol (SOL) e sombra (SBRA)

A estimulação térmica nos termorreceptores periféricos desencadeia o início da termólise evaporativa por meio da polipinéria térmica (ALAM et al. 2010). Quando os animais permaneceram ao sol, a FR pode apresentar como uma medida antecipadora. Segundo Hahn (1999), o aumento na FR inicia-se mais rapidamente quando comparadas com outras repostas, tais como TR e redução na ingestão de alimentos.

No presente estudo, verificou-se um aumento gradual na FR até às 16 h, com uma elevação de 29,65 mov.min⁻¹ entre às 10 h e 13 h e alcançando valores médios de 91,02 mov.min.⁻¹ às 16 h. Valores semelhantes foram encontrados por Alam et al. (2010), porém esses observaram que 29 % dos bubalinos ofegaram com a boca aberta e apresentavam algum grau de salivação, situações que não foram observadas neste estudo. Valores inferiores foram registrados por Gudev et al. (2007a), Gudev et al. (2007b), Silva et al. (2010), provavelmente por estarem expostos a cargas térmicas radiantes inferiores. Após às 16h, com uma redução de 14,93 °C na TGN, observou-se um decréscimo na FR de 39,26 mov.min⁻¹.

A via respiratória é relevante na dissipação do calor endógeno de bubalinos, que juntamente com a via sudativa auxiliam na manutenção do equilíbrio térmico. A análise de variância para taxa de sudação revelou efeito ($P < 0,01$) para tratamento, como pode ser observada na tabela 18.

Tabela 18 - Resumo da análise de variância para as taxa de sudação e temperatura de globo negro (14h) durante o experimento 2

F.V.	GL _{NUN}	GL _{DEN}	Pr > F	
			TxS	TG (14h)
Trat.	1	11	<.0001	<.0001

F.V. = fonte de variação; Trat = tratamento; GL_{NUN} = grau de liberdade do numerador; GL_{DEN} = grau de liberdade do denominador; TxS = taxa de sudação; TG = temperatura de globo negro (14h).

As médias ajustadas por quadrados mínimos para a taxa de sudação entre os tratamentos diferiram ($P < 0,01$) entre si, com um aumento de 125,33 % na taxa de sudação dos animais quando expostos à radiação solar direta (tabela 19).

As médias da taxa de sudação apresentadas a seguir, assim como no experimento 1, foram corrigidas por meio da equação de regressão determinada para sudação com uso do VapoMeter.

Tabela 19 - Médias ajustadas para taxa de sudação e temperatura de globo negro (14h) dentro de cada tratamento durante o experimento 2

TRAT.	TxS		TGN (14h)	
	SOL	SBRA	SOL	SBRA
Média	933,22A	414,15B	45,28A	35,85B

Trat: tratamento (sol e sombra); TxS: taxa de sudação ($\text{g.m}^{-2}\text{h}^{-1}$) (e.p.= 18,54); TGN: temperatura de globo negro às 14h ($^{\circ}\text{C}$)(e.p. = 0,29).

Médias seguidas por letras diferentes, para cada variável e tratamento dentro da linha, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P<0,01$).

A produção do suor está diretamente relacionada com a densidade e o calibre dos vasos sanguíneos dos tecidos periféricos, da atividade do folículo piloso e da própria glândula sudorípara (FINCH, 1986). Quando um animal é submetido à radiação solar direta, ocorre um maior aporte sanguíneo para epiderme, proporcionando uma quantidade adicional de matéria-prima para as glândulas sudoríparas e estimulando a sua ação (LIGEIRO et al., 2006; SILVA, 2000).

As taxas de sudação registradas em condições à campo são em média superiores às registradas em ambientes controlados e essa diferença deve-se essencialmente à estimulação direta das glândulas sudoríparas pela radiação solar (FINCH, 1986).

A estimulação térmica com consequente aumento no aporte sanguíneo para a epiderme incitou um incremento de $519,07 \text{ g.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ de suor nos animais mantidos ao sol. No entanto, esse incremento foi inferior ao registrado nos animais durante o experimento 1.

Existem duas hipóteses que justificam taxas de sudação superiores nas condições do experimento 1. Uma hipótese está relacionada com o processo da aclimação sazonal. Como o experimento foi conduzido no mês de dezembro, durante o verão ocorre um reajuste no volume das glândulas sudoríparas acompanhando o aumento da temperatura ambiente (SILVA, 2000), que associado à ausência de convecção tenha exacerbado a estimulação das glândulas sudoríparas e consequentes maiores produções de suor. A segunda hipótese está relacionada com as condições ambientais, no período em que a unidade biometeorológica permaneceu ligada, os animais estavam sujeitos a altas temperaturas e umidades dando origem a elevado índice de temperatura e umidade ($\text{ITU} = 82$) e, consequentemente, uma sobre-estimulação das glândulas sudoríparas.

Estes valores parecem confirmar a importância da taxa de sudação na potencial perda de calor nos búfalos. Se agregar à quantidade de suor produzido, a elevada velocidade de evaporação do mesmo (devido à ausência de barreiras interpostas pelo pelame) então estão reunidas as condições para uma rápida e elevada perda de calor latente.

A temperatura corporal é determinada pela diferença entre a quantidade de calor produzida e a dissipada. A velocidade no fluxo de calor entre o animal e o meio é influenciada por alterações no comportamento do animal, à área de superfície corporal exposta à radiação,

mudanças no fluxo sanguíneo (vasomotricidade) e isolamento tissular (BLACKSHAW; BLACKSHAW, 1994; SCHARF et al., 2010; SILANIKOVE, 2000).

A análise de variância para variável temperatura retal apresentou efeito ($P<0,01$) para todas as fontes de variação (tabela 14). A análise dos coeficientes de regressão associada à temperatura retal diferiu ($P<0,01$) entre os tratamentos em função do horário de avaliação, apresentando modelo quadrático, como pode ser averiguado no gráfico 10.

Por meio dos coeficientes de regressão foi calculado o horário ($X_{\text{máximo}}$) que estima a TR máxima, sendo às 15,6 h para os animais mantidos ao sol com TR de 39,26 °C e às 17,8 h para os animais à sombra com TR de 38,37 °C.

Os valores médios observados para a TR, ao longo do dia entre os tratamentos, diferiram ($P<0,01$) às 13 h, 16 h e 19 h (tabela 17).

A TR dos animais à sombra apresentou uma variação circadiana, com um aumento máximo de 0,27 °C entre as 7 h e 10 h, seguida de uma redução a partir das 19 h. Essa pequena variação na TR indica que a sombra propiciou um ambiente de conforto que permitiu um equilíbrio térmico entre os animais e o ambiente.

Em bubalinos, por possuírem a epiderme pigmentada e baixa densidade de pelos ao serem mantidos ao sol, a energia radiante é absorvida e transmitida com um fluxo de calor no sentido centrípeto. Às 13 h, com TGN 43,96 °C e CTR de 631,30 w.m^{-2} , os animais não foram capazes de manter sua homeotermia, mesmo ativando suas vias de termólise latente, resultando em aumento no armazenamento de calor e um incremento com uma diferença de 0,68 °C na TR quando comparados entre tratamentos. Esse incremento é verificado até às 16 h com TR média de 39,61 °C.

Gráfico 10 - Temperatura retal observada e estimada para os tratamentos sol (SOL) e sombra (SBRA)

Estes resultados corroboram com os encontrados por Alam et al. (2010), Gudev et al. (2007a), Gudev et al. (2007b), Khongdee, Sripoon e Vajrabukka (2011). Valor inferior em 1,01 °C foi registrado por Silva et al. (2010) provavelmente por estarem expostos a temperaturas radiantes inferiores. E, valores de TR superiores ao deste estudo foram encontrados por Chaiyabutr et al. (1997).

Posteriormente, com a redução da temperatura radiante, observou-se uma alteração no fluxo de calor para o sentido centrífugo, com maior inércia térmica para dissipação do calor verificando valores negativos no armazenamento do calor e consequentemente um decréscimo de até 1,00 °C na TR entre as 19 h e 22 h, conseguindo restabelecer o equilíbrio térmico.

Os efeitos da exposição à radiação solar direta do estresse térmico inerente podem provocar uma série de mudanças no metabolismo de água, proteína, energia e equilíbrio mineral, secreções hormonais, reações enzimáticas e metabólitos sanguíneos (MARAI et al., 2007).

A análise descritiva dos constituintes bioquímicos de triiodotironina, tiroxina, prolactina, glicose, sódio e potássio e, dos constituintes do eritrograma de hemácia, hemoglobina, hematócrito, dos índices hematimétricos volume corpuscular médio, hemoglobina corpuscular média e concentração de hemoglobina corpuscular média e dos constituintes do leucograma de contagem total de leucócito e da contagem diferencial de leucócitos segmentados, linfócitos, eosinófilos, basófilos, monócitos e bastonetes é apresentada na tabela 20.

Tabela 20 - Número de observações (N), média, desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV), mínima (Min) e máxima (Max) para os constituintes hematimétricos do experimento 2

Variável	N	Média	DP	CV	Min	Max
T3	48	129,94	24,18	18,61	71,00	184,00
T4	48	6,30	1,01	16,09	3,90	9,00
Prolactina	48	0,05	0,00	1,53	0,05	0,05
Glicose	48	64,08	5,65	8,81	50,00	85,00
Na	48	141,71	12,57	8,87	115,00	190,00
K	48	4,39	0,49	11,11	3,50	5,80
Hemácia	48	7,86	1,15	14,56	6,37	10,43
Hemoglobina	48	12,32	1,89	15,36	8,74	15,63
Hematócrito	48	34,38	2,51	7,32	28,00	40,00
VCM	48	43,85	4,76	10,84	32,80	53,04
HCM	48	15,45	2,98	19,32	11,12	23,58
CHCM	48	35,81	4,60	12,86	24,73	46,61
Leucócito	48	13275,00	3212,26	24,20	6000,00	23350,00
Segmentado	48	3844,29	1663,28	43,27	0,00	8240,00
Linfócito	48	8137,83	2482,28	30,50	0,00	14710,50
Eosinófilo	48	791,69	527,15	66,59	0,00	2568,50
Basófilo	48	101,01	109,98	108,88	0,00	394,50
Monócito	48	43,92	103,98	236,76	0,00	456,00
Bastonete	48	24,43	46,89	191,94	0,00	131,50

T₃: triiodotironina (ng/dL); T₄: tiroxina (ng/dL); Prol.: prolactina (ng/mL); Gli.: glicose (mg/dL); Na: sódio (mEq/L); K: potássio (mEq/L); He: hemácia ($\times 10^6/\mu\text{l}$); Hb: hemoglobina (g/dl); Ht: hematócrito (%); VCM: volume corpuscular médio (fl); HCM: hemoglobina corpuscular média (pg); CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média (%); Leu: leucócito (células/mm³); Seg.: segmentado (células/mm³); Linf.: linfócito (células/mm³); Eos.: eosinófilo (células/mm³); Baso.: basófilo (células/mm³); Mono.: monócito (células/mm³); Bast.: bastonete (células/mm³).

Assim como no experimento 1, com o gradiente térmico favorável no período noturno, os bubalinos conseguiram dissipar o calor acumulado ao longo do dia, parte devido a perdas por radiação para o céu à noite (BROWN-BRANDL et al., 2005), atenuando os efeitos do estresse térmico, não constatando o efeito da exposição à radiação solar direta sobre os constituintes sanguíneos.

O resumo da análise de variância para os constituintes bioquímicos de triiodotironina, tiroxina, prolactina, glicose, sódio e potássio está descrito na tabela 21.

Tabela 21 - Resumo da análise de variância para os constituintes bioquímicos durante o experimento 2

F.V	Pr > F							
	GL _{NUN}	GL _{DEN}	T ₃	T ₄	Prol.	Gli.	Na	K
TRAT	1	11	0,8853	0,68	0,3388	0,3781	0,5954	0,7482

F.V.: fonte de variação; Trat: tratamento (sol e sombra); GL_{NUN}: grau de liberdade do numerador; GL_{DEN}: grau de liberdade do denominador; T₃: triiodotironina; T₄: tiroxina; Prol.: prolactina; Gli.: glicose; Na: sódio; K: potássio.

As médias ajustadas por quadrados mínimos para os constituintes bioquímicos estão apresentadas na tabela 22.

Tabela 22 - Médias ajustadas para os constituintes bioquímicos dentro de cada tratamento durante o experimento 2

TRAT	Média					
	T3	T4	PROL	Gli	Na	K
SOL	129,42A	6,23A	0,05A	64,83A	142,71A	4,37A
SBRA	130,46A	6,36A	0,05A	63,33A	140,71A	4,41A

Trat: tratamento (sol e sombra); T₃: triiodotironina (ng/dL) (e.p. = 4,99); T₄: tiroxina (ng/dL) (e.p.=0,21); Prol.: prolactina (ng/mL) (e.p. = 0,0001); Gli.: glicose (mg/dL) (e.p. = 1,16); Na : sódio (mEq/L) (e.p. = 2,59); K: potássio(mEq/L) (e.p. = 0,10).

Médias seguidas por letras diferentes dentro da coluna diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,01).

Entre as mudanças nas funções biológicas dos animais em função do estresse térmico, podem-se destacar nas alterações endócrinas a diminuição na atividade do eixo hipotálamo-hipófise-tireóide, com redução das concentrações de hormônios tireoidianos (WHITE, 2009; RANDALL; BURGGERN; FRENCH, 2008) e o aumento nos níveis circulantes de prolactina, que pode influenciar os mecanismos termorreguladores facilitando a dissipação do calor e reduzindo o incremento calórico (ALAMER, 2011; BERNABUCCI et al., 2010; FAROOQ et al., 2010).

As variações nas concentrações dos hormônios tireoidianos, juntamente com a prolactina são relevantes no monitoramento do estresse térmico e no processo de aclimação. Identificam o esforço fisiológico do animal para alterar a taxa metabólica e reduzir o calor endógeno. Porém, apesar de ser verificada uma tendência para redução nas concentrações de T₃ e T₄, a pequena variação observada no presente estudo, não determinou diferenças entre os tratamentos. O mecanismo que estimula a secreção da prolactina sobre estresse térmico está relacionado com os termorreceptores centrais, portanto, um aumento substancial na temperatura corporal é uma pré-condição para secreção da prolactina (MILLS; ROBERTSHAN, 1981³ citado por ALAMER, 2011). Como os animais conseguiam recuperar sua temperatura corporal no período noturno, isso determinou a manutenção do nível sérico da prolactina entre os tratamentos.

Assim como no experimento 1, verificou-se uma tendência na elevação nos níveis séricos de glicose e sódio e uma redução na concentração do potássio, porém as variações

³MILLS, D. E.; ROBERTSHAW, D. Response of plasma prolactin to changes in ambient temperature and humidity in man. **J. Clin. Endocrinol Metab.** v. 52, p. 279-283, 1981.

encontradas não diferiram entre os tratamentos. Apesar de constatar um incremento na sudorese quando os animais foram submetidos à radiação solar direta, este incremento foi inferior ao detectado no experimento 1 e, essa menor produção de suor foi determinante para não verificar alterações na concentração do potássio, ou então ter-se-á manifestado uma maior capacidade de reajuste eletrolítico no médio prazo.

O resumo da análise de variância para os constituintes do eritrograma e dos índices hematimétricos está descrito na tabela 23.

Tabela 23 - Resumo da análise de variância para os constituintes do eritrograma durante o experimento 2

F.V	GL _{NUN}	GL _{DEN}	Pr > F					
			He	Hb	Ht	VCM	HCM	CHCM
TRAT	1	11	0,9676	0,7789	0,5803	0,4834	0,8202	0,9947

F.V.: fonte de variação; Trat: tratamento (sol e sombra); GL_{NUN}: grau de liberdade do numerador; GL_{DEN}: grau de liberdade do denominador; He: hemácia; Hb: hemoglobina; Ht: hematócrito; VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média.

As médias ajustadas por quadrados mínimos para os constituintes do eritrograma e dos índices hematimétricos estão descritas na tabela 24.

Tabela 24 - Médias ajustadas para os constituintes do eritrograma dentro de cada tratamento durante o experimento 2

TRAT	Média					
	He	Hb	Ht	VCM	HCM	CHCM
SOL	7,87A	12,24A	34,17A	43,27A	15,33A	35,81A
SBRA	7,86A	12,40A	34,58A	44,43A	15,56A	35,80A

Trat: tratamento (sol e sombra); He: hemácia (x 10⁶/μl) (e.p.= 0,27); Hb: hemoglobina (g/dl) (e.p.=0,39); Ht: hematócrito (%) (e.p.= 0,52); VCM: volume corpuscular médio (fl) (e.p.= 1,13); HCM: hemoglobina corpuscular média (pg) (e.p.= 0,71); CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média (%) (e.p.= 0,95).

Assim como no experimento 1, as alterações dos constituintes do eritrograma não diferiram entre os tratamentos e suas concentrações plasmáticas encontram-se dentro dos valores referidos para bubalinos (AKHTAR et al., 2007; CIARAMELLA et al., 2005; FRANÇA et al., 2011; GOMES et al., 2010).

O resumo da análise de variância para os constituintes do leucograma de contagem total de leucócito e da contagem diferencial dos leucócitos é apresentado na tabela 25.

Tabela 25 - Resumo da análise de variância para os constituintes do leucograma durante o experimento 2

F.V	GL _{NUN}	GL _{DEN}	Pr > F						
			Leu	Seg.	Linf.	Eosi.	Baso.	Mono.	Bast.
TRAT	1	11	0,7229	0,5835	0,3961	0,7678	0,6076	0,8205	0,17

F.V.: fonte de variação; Trat: tratamento (sol e sombra); GL_{NUN} : grau de liberdade do numerador; GL_{DEN} : grau de liberdade do denominador; Leu: leucócito; Seg.: segmentado; Linf.: linfócito; Eosi.: eosinófilo; Baso.: basófilo; Mono.: monócito; Bast.: bastonete.

As médias ajustadas por quadrados mínimos para os constituintes do leucograma de contagem total de leucócito e da contagem diferencial dos leucócitos estão apresentadas na tabela 26.

Tabela 26 - Médias ajustadas para os constituintes do leucograma dentro de cada tratamento durante o experimento 2

TRAT	Média						
	Leu	Seg.	Linf.	Eosi.	Baso.	Mono.	Bast.
SOL	13472A	4002,42A	8504,31A	818,64A	110,81A	39,83A	13,14A
SBRA	13078A	3686,17A	7771,36A	764,75A	91,22A	48,00A	35,72A

Trat: tratamento (sol e sombra); Leu: leucócito (células/mm³) (e.p.= 766,70); Seg.: segmentado (células/mm³) (e.p.= 395,91); Linf.: linfócito (células/mm³) (e.p.= 586,93); Eos.: eosinófilo (células/mm³) (e.p.=125,90); Baso.: basófilo (células/mm³) (e.p.= 26,19); Mono.: monócito (células/mm³) (e.p.= 24,85); Bast.: bastonete (células/mm³) (e.p.= 10,87).

As médias ajustadas para os constituintes do leucograma, assim como do eritrograma, não diferiram entre os tratamentos. As concentrações plasmáticas para os constituintes do leucograma do presente trabalho encontram-se dentro dos valores referidos para bubalinos (AKHTAR et al., 2007; FRANÇA et al., 2011).

7.4 - Conclusão

As respostas termolíticas dos animais perante condições de radiação solar direta tenderam a hipertermia nos horários de maior carga térmica radiante, entretanto com a redução dessa carga térmica, os animais apresentam mecanismos adaptativos a fim de restringir os armazenamentos de calor do dia seguinte. Um dos aspectos mais relevantes é que apesar dos elevados armazenamentos de calor registrados ao longo do dia, se verificaram recuperações totais durante o período noturno. A baixa inércia térmica apresentada pelos búfalos na diminuição da temperatura retal evidencia uma grande eficiência das vias termolíticas. A ausência de qualquer indício de aclimação ou de alterações hematológicas no final do experimento evidencia uma notável capacidade de reajuste fisiológico.

8 - Experimento 3. Avaliação das velocidades de termogênese e de termólise com base no armazenamento de calor

8.1 - Introdução

A capacidade termolítica é um atributo que apresenta uma base filogenética e que é valorizada nos animais que vivem ambientes quentes. O teste de capacidade termolítica é utilizado para avaliar a adaptabilidade dos animais às condições existentes ou na escolha das raças a serem transferidas para novas áreas diferentes das de origem (MARAI; HABEEB, 2010).

Os fatores climáticos afetam diretamente o comportamento e a fisiologia dos animais domésticos e determinam a sua capacidade termolítica. Os mamíferos ajustam seus processos físicos, bioquímicos e psicológicos na tentativa de conter os efeitos negativos do estresse, o que envolve dissipação do calor para o ambiente e redução da produção do calor metabólico (TITTO et al., 1998b).

Os limites de tolerância térmica não são fixos ou imutáveis, pois essa tolerância pode mudar com o tempo. A exposição contínua a um ambiente térmico próximo ao limite da zona de tolerância determina um grau de adaptação e pode ocorrer uma expansão desse limite (SILVA, 2008).

O teste de capacidade termolítica foi desenvolvido por Baccari Jr. et al. (1986) e foi denominado como índice de tolerância ao calor (ITC). Foi inicialmente aplicado em bubalinos e correlacionado com o ganho de peso e, verificado que 53% da variação no ganho de peso estavam associados à variação da capacidade termolítica de cada animal.

Posteriormente, este teste foi adaptado e aplicado em bovinos de corte (TITTO, E. A. L. et al. 1994, 1998a, 1999, 2001e 2004; TITTO, C. G. et al. 2006, 2007 e 2011). Os resultados demonstraram que existe uma alta correlação positiva entre este índice e ganho de peso em bovinos de corte, mostrando-se um teste efetivo e útil para avaliação do desempenho destes animais em condições tropicais. Ao ser aplicado em ovinos, observou-se que a cor do pelame e a tosquia não influenciaram na sua capacidade termolítica, sendo a tosquia indicada somente quando há disponibilidade de sombra para os animais (VERÍSSIMO et al., 2009a, 2009b).

Os bubalinos e os bovinos, quando em estresse térmico, respondem com um aumento linear na TR e na FR, porém esse aumento linear ocorre mais rapidamente nos bubalinos. E,

quando se encontram em conforto térmico os bubalinos diminuem sua TR e sua FR mais pronunciadamente que os bovinos (SHIMIZU, 1988).

Tendo em consideração que vários fatores podem condicionar as variações no armazenamento de calor como no funcionamento das vias de termólise, este experimento (baseado no ITC) visou, através de testes individuais, quantificar a velocidade de aquisição de calor ao sol comparando-a posteriormente com a velocidade de dissipação do calor à sombra.

8.2 - Material e Métodos

O experimento foi realizado no setor de Bubalinocultura da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, durante o mês de março de 2011.

Foram utilizadas 12 búfalas da raça Mediterrânea, com idade média inicial de 20 meses e peso médio inicial de 515 kg.

Para a comparação das velocidades de aquisição e dissipação de calor, os animais foram colocados alternada e sequencialmente sob condições de sombreamento, radiação solar direta e novamente em sombreamento (quadro 5). Esta comparação baseou-se nas alterações das temperaturas retais e no cálculo dos respectivos armazenamentos de calor.

A sombra foi provida por uma instalação com piso de cimento rugoso e com cobertura de telha de fibrocimento, com pé direito de 3 metros, orientação Leste-Oeste, com uma área de sombreamento total de 204 m². Quando expostos ao sol, permaneciam em curral com piso de cimento rugoso, com uma área total de 499 m².

Este experimento foi realizado em três dias não consecutivos, com características meteorológicas específicas tais como, céu limpo, ausência de chuva e de vento. Durante o período do registro dos dados os animais permaneciam sem água e alimento para não alterar o armazenamento de calor.

Quadro 5 - Esquema das atividades ao longo do dia do experimento³

Sombra	Período 0	Sol	Período 1	Sombra	Período 2	Sombra	Período 3
2 horas	TR0 FR0	1 hora	TR1 FR1	1 hora	TR2 FR2	1 hora	TR3 FR3

A análise descritiva das variáveis meteorológicas de temperatura de bulbo seco (Tbs), temperatura de bulbo úmido (Tbu) umidade relativa do ar (UR), temperatura de globo negro (TG), vento e carga térmica radiante (CTR) registrada durante o período experimental é apresentada na tabela 27.

Tabela 27 - Número de observações (N), média, desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV), mínima (Min) e máxima (Max), para as variáveis meteorológicas do experimento 3

Variável	N	Média	DP	CV	Min	Max
Tbs	144	33,17	1,52	4,59	30,00	35,10
Tbu	144	27,50	0,77	2,79	26,00	29,00
UR	144	53,42	6,66	12,47	45,00	66,00
TG	144	36,00	5,37	14,92	30,00	51,00
Vento	144	0,16	0,29	183,79	0,00	0,80
CTR	144	501,10	68,43	13,66	427,94	618,76

Tbs: temperatura de bulbo seco (°C); Tbu: temperatura de bulbo úmido (°C); UR: umidade relativa do ar (%); TG: temperatura de globo negro (°C); Vento (m.s⁻¹); CTR: carga térmica radiante (w.m⁻²).

Para avaliação das variáveis fisiológicas (TR e FR), das variáveis biofísicas (Arm_{cal} e $Calor_{acum}$) considerou-se um modelo estatístico contemplou o efeito fixo de períodos de avaliação (0, 1, 2 e 3), além do efeito aleatório de animal utilizado como resíduo. Nestas análises considerou-se que as avaliações nos diferentes horários foram realizadas nos mesmos animais, caracterizando estrutura de repetidas no tempo. As análises foram realizadas com auxílio do procedimento PROC MIXED do programa *Statistical Analysis System*, versão 9.1.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

8.3 - Resultados e Discussão

Os animais não indicaram nenhum comportamento que verificasse uma situação de estresse ao manejo durante o registro dos dados ao longo do período experimental.

A temperatura média de bulbo seco ao longo dos períodos de avaliação durante o experimento foi de 33,17 °C e umidade relativa de 53,42 % com velocidade média do vento de 0,16 m.s⁻¹. No horário que os animais estiveram expostos ao sol, a temperatura do globo negro variou de 39,00 °C a 51,00 °C. Quando os animais foram mantidos à sombra, a temperatura do globo negro variou de 30,00 °C a 40,00 °C.

A análise descritiva das variáveis fisiológicas de frequência respiratória (FR), calor armazenado (Arm_{cal}), calor acumulado ($Calor_{acum}$) e temperatura retal (TR), registrada durante o período experimental é apresentada na tabela 28.

Tabela 28 - Número de observações (N), média, desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV), mínima (Min) e máxima (Max), para as variáveis fisiológicas do experimento 3

Variável	N	Média	DP	CV	Min	Max
FR	144	37,22	24,00	64,48	16,00	136,00
Arm _{cal}	144	-0,01	0,09	-781,86	-1,06	0,01
Calor _{acum}	144	-0,05	0,27	-574,63	-3,22	0,00
TR	144	38,65	0,32	0,83	38,10	39,90

FR: frequência respiratória (mov.min^{-1}); TxS: taxa de sudção ($\text{g.m}^{-2}\text{h}^{-1}$); Arm_{cal}: armazenamento de calor (w.m^{-2}); Calor_{acum}: calor acumulado (w.m^{-2}); TR :temperatura retal ($^{\circ}\text{C}$).

O resumo da análise de variância para as variáveis fisiológicas de frequência respiratória (FR), armazenamento de calor (Arm_{cal}), calor acumulado (Calor_{acum}) e temperatura retal (TR) é descrito na tabela 29.

Tabela 29 - Resumo da análise de variância para as variáveis fisiológicas durante o experimento 3

F.V.	GL _{NUN}	GL _{DEN}	Pr > F			
			FR	Arm _{cal}	Calor _{acum}	TR
Períodos	3	33	<.0001	0,3547	0,1520	<.0001
1 vs 0	1	33	<.0001	0,7686	0,7696	<.0001
2 vs 1	1	33	<.0001	0,9446	0,8229	0,0005
3 vs 1	1	33	<.0001	0,1851	0,0706	<.0001

FR: frequência respiratória; Arm_{cal}: armazenamento de calor; Calor_{acum}: calor acumulado; TR: temperatura retal.

As médias ajustadas por quadrados mínimos das variáveis fisiológicas de frequência respiratória (FR) e temperatura retal (TR) estão apresentadas na tabela 30.

Tabela 30 - Médias ajustadas das variáveis fisiológica ao longo dos períodos do experimento 3

Períodos	Média	
	FR	TR
0	25,66B	38,38D
1	74,22A	38,94A
2	25,44B	38,72B
3	23,55B	38,55C

FR: frequência respiratória (mov.min^{-1}) (e.p. = 1,81); TR: temperatura retal ($^{\circ}\text{C}$) (e.p. = 0,04).

Médias seguidas por letras diferentes, para cada efeito dentro da coluna, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P < 0,01$).

A primeira prioridade de cada indivíduo é a manutenção da sua temperatura corporal interna, portanto, é de suma importância inferir a capacidade termolítica de cada indivíduo e posteriormente para cada raça.

A temperatura retal e a frequência respiratória são geralmente utilizadas para avaliar a tolerância ao calor (BERNABUCCI et al., 2010; BLACKSHAW; BLACKSHAW, 1994; GAUGHAN et al., 2010). A análise de variância para frequência respiratória e temperatura retal apresentou efeito ($P < 0,01$) para todas as fontes de variação (tabela 29).

As variáveis fisiológicas registradas no “período 0” foram mensuradas após a permanência dos animais por duas horas em repouso à sombra e representam os valores basais (gráfico 11). Seguida uma hora de exposição ao sol (período 1) verificou-se efeito ($P < 0,01$) sobre a FR e a TR com um incremento de $48,56 \text{ mov.min}^{-1}$ e $0,56 \text{ }^{\circ}\text{C}$, respectivamente (tabela 30), isso indica que uma hora sob radiação solar direta promoveu um desconforto aos animais, tendo estes que acionar suas vias de termólise latente, com um aumento na FR de $189,24 \%$ que não foram eficientes na manutenção da sua homeotermia com um aumento na TR de $1,46 \%$, sem verificar alteração no armazenamento de calor.

Posteriormente, os animais retornaram à sombra e, após uma hora (período 2) constatou-se um decréscimo na FR retornando aos valores basais e redução de $0,20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ na TR e, seguida duas horas à sombra (período 3) essa redução passa a ser em um total de $0,39 \text{ }^{\circ}\text{C}$ na TR. Apesar de verificar que a TR não recuperou totalmente os níveis basais, verificou-se paralelamente uma redução da FR aos níveis iniciais. Esta aparente discrepância sugere apenas que a perda de calor pela frequência respiratória poderá estar a ser substituída por um maior protagonismo da taxa de sudação.

Gráfico 11 - Temperatura retal e frequência respiratória observadas durante o teste de capacidade termolítica

Quando os búfalos são criados em sistemas sem acesso à sombra e água, o seu sistema termorregulador imediatamente é ativado, de forma a manter o equilíbrio térmico, desviando as energias que poderiam ser utilizadas para se obter maior produtividade. Assim, os sistemas que permitem o acesso à sombra promove uma melhor tolerância dos búfalos para o calor nos

trópicos úmidos (SILVA et al., 2010). Na sombra, os búfalos perdem calor rapidamente, a epiderme escura e altamente irrigada por vasos sanguíneos conduz e irradia o calor de forma eficiente (MARAI; HAEED, 2010; KOGA; KUHARA; KANAI et al., 2000).

De acordo com Koga et al. (1999b), após um período de estresse térmico, os bubalinos têm um melhor mecanismo de dissipação do calor quando comparados com os bovinos. Mullick (1960) estudando a capacidade termolítica de búfalas da raça Murrah e bovinos da raça Hariana verificou que após duas horas de exposição ao sol ocorreu um incremento de 487 % na FR, 3,90 % na TR e 57 % na FR, 0,89 % na TR para os bubalinos e bovinos, respectivamente. Ao retornarem por apenas uma hora a sombra a FR e a TR reduziram em 60 %, 3,10 % para bubalinos e 0,59 %, 24 % para bovinos.

Ao comparar resultados de trabalhos com os deste estudo nos tempos 0 e 2 verifica-se que Biernacki et al (2010) registraram FR superiores e TR semelhantes em vacas Holandesas. Souza et al. (2007) encontraram TR superiores em bovinos da raça Sindi. Titto et al. (1998a) constataram TR superiores tanto para a raça Nelore quanto para Marchigiana. Titto et al. (2011) comparando com os tempos 0, 1 e 2 observaram FR superiores aos destes estudo. Porém, encontraram TR inferiores no tempo 0 e superiores nos tempos 1 e 2 em vacas Holandesas, essa TR inferior deve-se provavelmente por menores TGN à sombra no tempo 0.

8.4 - Conclusão

O uso da sombra é essencial na criação de bubalinos, pois o seu acesso permite aos animais uma rápida recuperação fisiológica após uma situação de estresse térmico, com uma importante economia de energia. É de se salientar a baixa inércia térmica apresentada pelos búfalos, mesmo considerando a pequena superfície específica, o que denota uma elevada capacidade termolítica em condições de sombreamento.

9 - Experimento 4. Avaliação dinâmica da termólise evaporativa em condições de radiação solar direta - balanço térmico de radiação, convecção e níveis de termólise latente

9.1 - Introdução

Quando um animal se encontra em um ambiente térmico estressante, à medida que a temperatura corporal deste se aproxima da temperatura do ambiente, as trocas de calor sensível deixam de ser efetivas no balanço homeotérmico, pois o gradiente térmico torna-se pequeno, reduzindo sua eficácia, havendo a necessidade de utilização das trocas de calor latente (BAÊTA; SOUZA, 1997).

A quantidade de água evaporada do corpo de um animal depende de diversos fatores conforme o local da evaporação. No sistema respiratório, são importantes o volume de ar expirado, a temperatura corporal e a umidade do ar inspirado. Na superfície da epiderme, os fatores mais importantes são a velocidade do vento, a temperatura da superfície corporal, a umidade atmosférica, a taxa de transferência de água do interior do corpo para a superfície e a capa de cobertura (pelame) (SILVA, 2008).

A termólise pela via cutânea dos bubalinos parece ser limitada, sendo o calor corporal excedente eliminado pela via respiratória, para manter a homeotermia (VILLARES; MONTENEGRO; RAMOS, 1979). No entanto, quando os bubalinos são expostos a um ambiente quente e seco, suas glândulas sudoríparas apresentam ser tão funcionais quanto às dos bovinos (JOSHI; McDOWELL; SADHU, 1968).

A frequência respiratória de búfalas em lactação quando mantidas ao sol ($T_{bs} 28,54\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1.08$) foi de 24 mov.min^{-1} e a sombra ($T_{bs} 24,07\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.99$) não ultrapassou 18 mov.min^{-1} , indicando que a frequência respiratória é um bom indicativo de estresse térmico (SEVEGNANI et al., 2007).

A constatação de uma rápida recuperação fisiológica após armazenamento de calor apresentada pelos bubalinos sugere uma elevada capacidade termolítica. Contudo, as características anatômicas e alguns estudos realizados sugerem algumas limitações na termólise evaporativa. Importa, assim, esclarecer as razões que conduzem às rápidas recuperações do armazenamento de calor, estudando as características funcionais das vias de termólise evaporativa bem como suas importâncias relativas, face às dinâmicas de aquisição de calor diferenciadas. Objetivou-se neste experimento estudar a dinâmica da utilização das

vias de termólise evaporativa ao longo do dia, de forma a compreender as relações sincrônicas entre a temperatura ambiente, os armazenamentos de calor e a intensidade e proporcionalidade das respostas das vias de termólise evaporativa.

9.2 - Material e Métodos

O experimento foi desenvolvido no setor de Bubalinocultura da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, durante o mês de janeiro de 2012.

Foram utilizadas 12 búfalas da raça Mediterrânea, com idade média inicial de 29 meses e peso médio inicial de 569 kg. Os animais permaneceram ao sol com alimentação e água *ad libitum* durante cinco dias consecutivos. Durante esse período foram registradas as variáveis fisiológicas de temperatura retal, frequência respiratória, temperatura de superfície corporal, temperatura da epiderme e taxa de sudção, nos horários das 08h, 11 h, 13 h, 15 h, 18 h e 21 h, conforme esquema abaixo (quadro 6).

Quadro 6 - Esquema das atividades ao longo do dia do experimento 4

Horário do dia																							
6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	0	1	2	3	4	5
		*			*		*		*			*			*								

* Medições nos animais: TR, FR, TS, TE e TxS

Para a determinação do fluxo de calor sensível foram realizadas medições das trocas térmicas por radiação de ondas longas (q_{RL}) e através das trocas térmicas por convecção (q_{con}) na superfície corporal do animal, considerando a seguinte fórmulas descrita por Silva (2008).

O fluxo térmico por radiação de ondas longas entre o animal e o ambiente é determinado por:

$$q_{RL} = \varepsilon_s \sigma (T_s^4 - T_{RM}^4), \text{ W.m}^{-2} \quad (2,0)$$

Onde ε_s é a emissividade da superfície animal (0,98); σ constante de Stefan-Boltzmann ($5,6697 \times 10^{-8}$, $\text{W.m}^{-2}\text{K}^{-4}$); T_s temperatura de superfície animal ($^{\circ}\text{K}$) e T_{RM} temperatura radiante média ($^{\circ}\text{K}$).

A temperatura radiante média que circunda o animal é determinada por:

$$T_{RM} = [(\sigma \varepsilon_G)^{-1} h_c (T_G - T_A) + \varepsilon_G \sigma T_G^4]^{1/4} \quad (2,1)$$

Em que ε_G é a emissividade do globo negro (0,95); h_c , o coeficiente de convecção do globo negro ($\text{W.m}^{-2}\text{K}^{-1}$); T_G , a temperatura do globo negro ($^{\circ}\text{C}$) e T_A , a temperatura do ar ($^{\circ}\text{C}$), O valor de h_c dependerá da ocorrência de convecção natural ou convecção forçada:

$$\text{Para convecção forçada: } h_c = 0,38 k d^{-1} \text{Re}^{0,6} \text{Pr}^{1/3} \quad (2,2)$$

$$\text{Para convecção natural: } h_c = k d^{-1} [2 + 0,43 (\text{GrPr})^{1/4}] \quad (2,3)$$

Sendo:

Re é o número de Reynolds: $\text{Re} = V d \nu^{-1}$;

Pr o número de Prandtl: $\text{Pr} = \rho c_p \nu k^{-1}$;

Gr o número de Grashof: $\text{Gr} = g d^3 \nu^{-2} T_A^{-1} (T_S - T_A)$;

k é a condutividade térmica do ar na temperatura T_A ($\text{W.m}^{-1}\text{C}^{-1}$); d , o diâmetro do globo (m); V , a velocidade do vento (m.s^{-1}); ν , a viscosidade cinemática do ar na temperatura T_A ($\text{m}^2.\text{s}^{-1}$); ρ , a densidade do ar na temperatura T_A (kg.m^{-3}); c_p , o calor específico do ar na temperatura T_A ($\text{Jk.g}^{-1}\text{C}^{-1}$) e g , a aceleração gravitacional ($9,785 \text{ m.s}^{-2}$ para latitude 21° e altitude 627 m).

Para estabelecer o tipo de convecção que está ocorrendo, comparam-se os valores de Gr e Re. Se $\text{Gr}/\text{Re}^2 \leq 0,08$ convecção é predominantemente forçada; se $\text{Gr}/\text{Re}^2 > 3$ convecção é predominantemente natural; se Gr/Re^2 está entre os dois limites apontados, a convecção é combinada, neste caso, calcula-se o h_c para convecção forçada e natural e escolha o de maior valor. Caso a velocidade do vento for zero considera-se a convecção como natural.

O fluxo térmico por convecção entre o animal e o ambiente é determinado por:

$$q_c = [(k N_u d^{-1})(T_s - T_A)], \text{ W.m}^{-2} \quad (3,0)$$

Sendo d , neste caso, o diâmetro do animal (m); N_u , o número de Nusselt para cilindros horizontais. Em que N_u para convecção forçada: $N_u = 0,26 \text{Re}^{4/5} \text{Pr}^{1/3}$ e N_u para convecção natural: $N_u = \{0,60 + 0,387 (\text{GrPr})^{1/6} [1 + (0,559 \text{Pr}^{-1})^{9/16}]^{-8/27}\}^2$.

A análise descritiva das variáveis meteorológicas de temperatura de bulbo seco (T_{bs}), temperatura de bulbo úmido (T_{bu}) umidade relativa do ar (UR), temperatura de globo negro (TG), vento, temperatura do solo (T_{solo}), temperatura radiante média (TRM) e carga térmica radiante (CTR) registrada durante o período experimental é apresentada na tabela 31.

Tabela31 - Número de observações (N), média, desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV), mínima (Min) e máxima (Max), para as variáveis meteorológicas durante o experimento 4

Variável	N	Média	DP	CV	Min.	Max.
Tbs	336	27,64	3,88	14,03	20,20	33,00
Tbu	336	24,43	1,92	7,84	17,60	27,00
UR	336	59,39	16,09	27,09	32,00	87,00
TG	336	35,45	5,93	16,74	23,00	45,00
Vento	336	1,08	0,89	82,24	0,00	2,69
Tsolo	336	42,60	10,25	24,06	25,00	59,50
TRM	336	48,41	13,58	28,06	23,06	68,31
CTR	336	547,43	89,24	16,30	390,08	688,79

Tbs = temperatura de bulbo seco ($^{\circ}\text{C}$); Tbu = temperatura de bulbo úmido ($^{\circ}\text{C}$); UR = umidade relativa do ar (%); TG = temperatura de globo negro ($^{\circ}\text{C}$); Vento (m.s^{-1}); Tsolo = temperatura do solo ($^{\circ}\text{C}$); TRM = temperatura radiante média ($^{\circ}\text{C}$); CTR = carga térmica radiante (w.m^{-2}).

Para avaliação das variáveis fisiológicas (TE, TS, FR, TxS, e TR), das variáveis meteorológicas (Tbs, Tbu, UR, TG, Vento e Tsolo) e das variáveis biofísicas (Arm_{cal} , $\text{Calor}_{\text{acum}}$, TRM, CTR q_{RL} e q_{C}) considerou-se um modelo estatístico que contemplou o efeito fixos de horários de avaliação (8 h, 11 h, 13 h, 15 h, 18 h e 21 h), além do efeito aleatório de animal utilizado como resíduo. Nestas análises considerou-se que as avaliações nos diferentes horários foram realizadas nos mesmos animais, caracterizando estrutura repetida no tempo. As análises foram realizadas com auxílio do procedimento PROC MIXED do programa *Statistical Analysis System*, versão 9.1.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

9.3 - Resultados e Discussão

Durante o período experimental não foi observado nos animais nenhum comportamento que indicasse uma situação de estresse às rotinas diárias e ao manejo durante o registro dos dados.

No decorrer do experimento, a temperatura média de bulbo seco ao longo do dia foi de $27,64^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de 59 %, com velocidade média do vento de $1,1 \text{ m.s}^{-1}$, temperatura de globo negro variando de $23,00^{\circ}\text{C}$ a $45,00^{\circ}\text{C}$ e temperatura radiante entre $23,06^{\circ}\text{C}$ e $68,31^{\circ}\text{C}$.

A análise descritiva das variáveis fisiológicas de temperatura da epiderme (TE), temperatura de superfície corporal (TS), temperatura da base da cauda (TC), frequência respiratória (FR), taxa de sudorese (TxS), temperatura retal (TR) e das variáveis biofísicas de armazenamento de calor (Arm_{cal}), calor acumulado ($\text{Calor}_{\text{acum}}$), trocas térmicas por radiação de

ondas longas (q_{RL}), trocas térmicas por convecção (q_C), registradas durante o período experimental é apresentada na tabela 32.

Tabela 32 - Número de observações (N), média, desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV), mínima (Min) e máxima (Max), para as variáveis fisiológicas do experimento 4

Variável	N	Média	DP	CV	Min	Max
TE	336	38,47	6,01	15,61	25,20	59,30
TS	336	39,65	7,17	18,08	25,20	55,70
FR	336	52,92	26,20	49,50	20,00	132,00
TxS	336	611,00	212,44	34,77	214,34	1940,45
Arm _{cal}	336	0,004	0,02	452,99	-0,080	0,050
Calor _{acum}	336	0,082	0,06	75,15	-0,043	0,241
TR	336	38,51	0,70	1,82	37,10	40,40
q_{RL}	336	-59,59	58,90	-98,84	-238,79	49,97
q_C	336	51,59	30,97	60,02	3,34	151,74

TE: temperatura da epiderme ($^{\circ}\text{C}$); TS: temperatura de superfície corporal ($^{\circ}\text{C}$); TC: temperatura da base da cauda ($^{\circ}\text{C}$); FR: frequência respiratória (mov.min^{-1}); TxS: taxa de sudção ($\text{g.m}^2\text{h}^{-1}$); Arm_{cal}: calor armazenado (w.m^{-2}); Calor_{acum}: calor acumulado (w.m^{-2}); TR: temperatura retal ($^{\circ}\text{C}$); q_{RL} : trocas térmicas por radiação de ondas longas (w.m^{-2}); q_C : trocas térmicas por convecção (w.m^{-2}).

O resumo da análise de variância para as variáveis fisiológicas e para as variáveis biofísicas é descrito na tabela 33.

Tabela 33 - Resumo da análise de variância para as variáveis fisiológicas durante o experimento 4

F.V	Pr > F										
	GL _N	GL _D	TE	TS	FR	TxS	Arm _{cal}	Calor _{acum}	TR	q_{RL}	q_C
Hora	5	55	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001

F.V.: fontes de variação; GL_N: grau de liberdade do numerador; GL_D: grau de liberdade do denominador; TE: temperatura da epiderme; TS: temperatura de superfície corporal; FR: frequência respiratória; TxS: taxa de sudção; Arm_{cal}: armazenamento de calor; Calor_{acum}: calor acumulado; TR: temperatura retal; q_{RL} : trocas térmicas por radiação de ondas longas; q_C : trocas térmicas por convecção.

As médias ajustadas por quadrados mínimos das variáveis fisiológicas, variáveis biofísicas e das variáveis meteorológicas são apresentadas na tabela 34.

Tabela 34 - Médias ajustadas das variáveis fisiológica, biofísicas e meteorológicas ao longo do dia durante o experimento 4

Var.	Horário					
	8	11	13	15	18	21
	Média	Média	Média	Média	Média	Média
TE	34,38D	40,89B	42,71A	43,14A	37,85C	30,04E
TS	34,22D	42,56B	46,30A	44,87A	38,21C	29,42E
FR	27,40D	53,00C	74,00B	81,33A	51,42C	24,33D
TxS	359,60D	579,56C	713,86A	751,41A	645,56B	625,90BC
Arm _{cal}	0,0D	0,021A	0,014B	0,009C	0,004D	-0,029E
Calor _{acum}	0,0D	0,062C	0,105B	0,135A	0,142A	0,053C
TR	37,57D	38,29C	38,79B	39,13A	39,18A	38,14C
q _{RL}	-29,41B	-107,06D	-81,46C	-101,04D	-37,55B	19,10A
q _C	38,57B	70,79A	77,61A	71,92A	23,23C	14,33D
Tbs	21,72E	27,86C	30,44B	31,40A	30,63B	23,58D
TRM	39,01C	58,42A	58,17A	59,56A	44,02B	25,89D
TG	32,00D	37,80B	39,70A	40,00A	36,25C	25,00E
Vento	0,09D	1,69B	1,69B	2,05A	0,56C	0,11D

Var: variável; TE: temperatura da epiderme (°C) (e.p = 0,50); TS: temperatura de superfície corporal (°C) (e.p = 0,53); FR: frequência respiratória (mov.min⁻¹) (e.p. = 1,96); TxS: taxa de sudção (g.m².h⁻¹) (e.p.=17,48); Arm_{cal}: armazenamento de calor (w.m⁻²) (e.p. = 0,002); Calor_{acum}: calor acumulado (w.m⁻²) (e.p.=0,005); TR: temperatura retal (°C) (e.p = 0,05); q_{RL}: trocas térmicas por radiação de ondas longas (w.m⁻²) (e.p.=5,13); q_C: trocas térmicas por convecção (w.m⁻²) (e.p. =2,44); Tbs = temperatura de bulbo seco (°C) (e.p=0,14); TRM = temperatura radiante média (°C) (e.p = 0,78); TG: temperatura do globo negro (°C) (e.p=0,40); Vento (m.s⁻¹) (e.p=0,05).

Médias seguidas por letras maiúsculas iguais dentro da linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,01).

A radiação constitui uma forma sensível de troca de calor por meio de ondas eletromagnéticas entre dois corpos que se encontram em diferentes temperaturas, direcionando-se para o corpo de menor temperatura, sem aquecer o ar por onde passa e, portanto, não dependendo da movimentação do ar (NÃÃS, 1989).

A troca térmica por radiação entre o animal e o meio ocorre pela diferença entre a temperatura de superfície do animal e a temperatura radiante média, que quantifica a radiação procedente de todo o ambiente incidido sobre o animal (SILVA, 2008).

Os bubalinos são particularmente susceptíveis à radiação solar direta por absorverem uma grande quantidade de radiação solar devido à coloração escura da epiderme e pelagem esparsas (BROWN-BRANDL et al., 2006; MARAI; HABEEB, 2010).

Quanto maior a TRM maior será o ganho térmico do animal. Assim, o animal deveria aumentar sua temperatura externa a fim de perder calor por essa via. Entretanto, nos bubalinos, mesmo possuindo a epiderme pigmentada, sua TS foi inferior a TRM até às 18h, portanto, o animal passou a perder energia térmica por radiação de ondas longas somente após este horário (gráfico 12). De acordo com Fuquay (1981), durante o verão há geralmente um

ganho de calor por radiação durante o dia e uma perda de calor por radiação à noite, com o animal que irradia para o céu.

Gráfico 12 - Dinâmica do balanço térmico por radiação de ondas longas ao longo do dia

A transferência de calor por convecção ocorre por meio do movimento convectivo de um fluido (gasoso ou líquido) e uma superfície sólida. O ar, que possui um baixo calor específico, entra em contato com uma superfície aquecida (epiderme) e é aquecido rapidamente. Como o ar quente é menos denso, este sobe sendo substituído por um ar mais frio o que causa pequenas correntes convectivas (isotérmicas) próximas à superfície da pele, mantendo, assim, um gradiente de temperatura entre a pele e o ar (HARDY, 1981).

Para que ocorra a troca térmica por convecção necessita-se da existência de um gradiente entre a temperatura de superfície do animal e a temperatura de bulbo seco (SILVA, 2008). Quanto maior for esse gradiente, maior será a perda de calor por convecção, podendo ser mais eficiente dependendo da velocidade do vento. Verificou-se que os animais perdem calor por convecção ao longo do dia, com maiores perdas às 11 h, 13 h e 15 h (gráfico 13), que coincide que os horários de maior velocidade do vento.

Gráfico 13 - Dinâmica do balanço térmico por convecção ao longo do dia

Quando a temperatura ambiente e a temperatura radiante são iguais ou superiores à temperatura de superfície do animal, a termólise latente passa a ser a principal via de perder calor para os animais (COLLIER, 2007).

A TRM foi superior à TS até às 18h (tabela 34) e, à medida que verificou-se um aumento no gradiente de temperatura entre a TRM e a TS, averiguou-se um incremento gradual tanto na FR como na TxS. A maior amplitude entre TRM e TS ocorre às 15h, que coincide com o pico tanto na FR quanto na TxS (gráfico 14).

Gráfico 14 - Dinâmica da termólise latente ao longo do dia

A partir das 15 h, constatou-se uma redução acentuada na FR, uma forma de poupar energia já que a FR é uma forma eficiente na perda de calor, porém de gasto energético superior para o animal quando comparado com a perda de calor pela via sudativa. Entretanto,

a taxa de sudação, permaneceu alta após as 15 h, o que indica que a TxS nos bubalinos possui um papel mais importante, que o relatado na literatura, na manutenção do equilíbrio térmico destes animais.

No decorrer do dia, o ganho de calor por radiação influenciou no calor acumulado pelo animal e consequentemente em um incremento na TR (gráfico 15) mesmo com as perdas de calor por convecção e pela via latente. A partir do momento que houve redução na TRM, os animais conseguiram restabelecer o equilíbrio térmico por utilizarem eficazmente tanto as vias de termólise sensível como latente.

Gráfico 15 - Dinâmica do equilíbrio térmico do animal ao longo do dia

9.4 - Conclusão

À medida que aumenta a temperatura radiante, ocorre um armazenamento de calor no animal que ativa suas vias de termólise latente proporcionalmente a este aumento, tendo a via cutânea uma maior persistência mesmo com a redução da temperatura radiante. Este efeito de arrastamento temporal da taxa de sudação é de importância relevante para explicar as baixas inércias térmicas, as elevadas e rápidas perdas de calor e as recuperações totais durante o período noturno da TR. Importa considerar, que embora não tenha sido calculado o efeito conjunto da convecção com a evaporação do suor produzido, os dados observados sugerem que os animais possam ter perdido uma substancial quantidade de calor por essas duas vias conjugadas.

10 - CONCLUSÕES GERAIS

As respostas termolíticas dos bubalinos, tanto em ambiente aquecido quanto sob radiação solar direta, são de grande amplitude, tanto pela exacerbação do funcionamento das vias de termólise quanto dos efeitos no armazenamento de calor. No entanto, estas respostas conseguem ser suficientes para uma total recuperação fisiológica durante o período mais fresco, evitando mesmo o recurso ao processo de aclimação. Apesar das aquisições de calor serem bastante rápidas e elevadas, as perdas por calor sensível são também elevadas, desde que exista um adequado gradiente térmico. Contudo, a maior ênfase deve ser dada à capacidade de perder calor pela via latente e, em particular, à taxa de sudção. Ao contrário do referido por variada bibliografia, a taxa de sudção assume um papel relevante no equilíbrio térmico. A taxa de sudção apresentou valores mais elevados que aqueles que são frequentemente referidos na bibliografia, verificando-se um efeito de arrastamento funcional com a manutenção de taxas de sudção bastante elevadas, mesmo após a diminuição acentuada da frequência respiratória. Estes resultados sugerem a necessidade da planificação de novos estudos com foco em várias vertentes, nomeadamente: a influência destas características funcionais nos ritmos circadianos do comportamento, na funcionalidade das glândulas sudoríparas e na expressão genética associada à proteção celular.

11 - IMPLICAÇÕES

O clima tropical desafia a produção animal, e a melhor compreensão dos mecanismos termorreguladores dos bubalinos pode auxiliar na adoção de práticas de manejo e construções de instalações mais adequadas, que respeitam suas necessidades e melhoram seu bem-estar, resultando em melhores condições para seu desenvolvimento e consequentemente melhoria na qualidade do produto final.

12 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABLAS, D. S. et al. Comportamento de bubalinos a pasto frente à disponibilidade de sombra e água para imersão. **Ciência Animal Brasileira**, v. 8, n. 2, p. 167-175, 2007.

AGGARWAL, A.; SINGH, M. Changes in skin and rectal temperature in lactating buffaloes provided with showers and wallowing during hot-dry season. **Tropical Animal Health and Production**, v. 40, n. 3, p.223–228, 2008. Disponível em <http://www.springerlink.com/content/a7v266021144v92w/fulltext.pdf>

AGGARWAL, A.; SINGH, M. Hormonal changes in heat-stressed Murrah buffaloes under two different cooling systems. **Buffalo Bulletin**, v.29, n.1, p.1-6, 2010.

AKHTAR, M. Z. et al. Haemato-biochemical aspects of parturient haemoglobinuria in buffalo. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 31, n. 2, p.119-123, 2007.

ALAM, M. R. et al. Frequency of heat Stress in Cattle and Water Buffalo at livestock markets in Bangladesh. **Journal of Commonwealth Veterinary Association**, v. 26, n.1, p. 13-17, 2010.

ALAMER, M. The role of prolactin in thermoregulation and water balance during heat stress in domestic ruminants. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 6, n. 12, p. 1153-1169, 2011.

ARAÚJO, W. A. G. A. et. al. Potássio na nutrição animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 7, n. 04 p.1280-1291, 2010.

BACCARI JR, F. et al. Um novo índice de tolerância ao calor para bubalinos: correlação com ganho de peso. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 23.,1986, Campo Grande-MS. **Anais ...** Campo Grande: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1986, p.316.

BACCARI JR, F. Adaptação de sistemas de manejo na produção de leite em climas quentes. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AMBIÊNCIA NA PRODUÇÃO DE LEITE. Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1998a, p. 24-67.

BACCARI JR, F. Manejo ambiental para produção de leite em climas quentes. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BIOMETEOROLOGIA, 2, Goiânia. **Anais...** Goiânia: UCG, 1998b, p.136-161.

BACCARI JR, F. **Manejo ambiental de vacas leiteiras em clima quente**. Londrina: UEL, 2001.

BAÊTA, F. C.; SOUZA, C. F. **Ambiência em edificações rurais – conforto animal**. Viçosa: UFV, 1997.

BANZATTO, D. A.; KRONCA, S. N. **Experimentação Agrícola**. Ed. Funep, Jaboticabal, FCAV-UNESP, 4ª ed. 237 p. 2006.

BEECHLER, B. R; JOLLES, A. E.; EZENWA, V. O. Evaluation of hematologic values in free-ranging African buffalo (*Syncerus caffer*). **Journal of Wildlife Diseases**, v.45, n. 1, p. 57–66, 2009.

BERNABUCCI, U. et al. Metabolic and hormonal acclimation to heat stress in domesticated ruminants. **Animal**, v. 4, n. 7, p 1167–1183, 2010.

BIANCA, W. Thermoregulation. In: Hafez, E.S.E. **Adaptation of domestic animals Philadelphia**. Londres: Lea & Fabiger, 1973. Cap. 7, p.97-118.

BIANCA, W.; FINDLAY, J. D. Efecto de la hipernea termalmente inducida en la status del ácido-base de la sangre de los becerros. **Revista Veterinary Science**, v.3, p. 38-49, 1962.

BIERNACKI, L. S. et al. Avaliação da tolerância ao calor em bovinos leiteiros da raça Holandesa no estado de Goiás. In: VIII Seminário de Iniciação Científica e V Jornada de Pesquisa e Pós-Graduação, 2010, São Luís de Montes Belos-GO. **Anais...** São Luís de Montes Belos-GO: UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS, 2010, p. 1-9. Disponível em:http://www.prp.ueg.br/sic2010/apresentacao/trabalhos/pdf/agrarias/seminario/avaliacao_da_tolerancia_ao_calor.pdf

BIRGEL, E. H. Hematologia clínica veterinária. In: BIRGEL, E. H., BENESI, F. J. **Patologia clínica veterinária**. São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1982. p.2-50.

BLACKSHAW, J. K.; BLACKSHAW, A. W. Heat stress in cattle and the effect of shade on production and behavior: a review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 34, p. 285-295, 1994.

BORGES, S. A.; MAIORKA, A.; SILVA, A. V. F. Fisiologia do estresse calórico e a utilização de eletrólitos em frangos de corte. **Ciência Rural**, v.33, n.5, p.975-981, 2003.

BROOM, D. M. Animal welfare: concepts and measurements. **Journal of Animal Science**, v. 69, n. 5 p. 4167-4175, 1991. Disponível em: <http://jas.fass.org/content/69/10/4167.full.pdf+html>

BROOM, D. M. Welfare in wildlife management and zoos. **Advances in Ethology**, v.37, p.4-6, 2002.

BROWN-BRANDL, T. M. et al. Comparison of heat tolerance of feedlot heifers of different breeds. **Livestock Production Science**, v.105, p.19-26, 2006.

KOGA, A.; KUHARA, T.; KANAI, Y. Effects of dehydration on body fluid regulated by adh and aldosterone in Swamp buffaloes and Friesian cows. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v. 13, p. 274, 2000.

CAMPOS, R. et al. Parâmetros hematológicos e níveis de cortisol plasmático em vacas leiteiras de alta produção no Sul do Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 45, n. 5, p. 354-361, 2008.

CARVALHO, F. A. et al. Breed affects thermoregulation and epithelial morphology in imported and native cattle subjected to heat stress. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 3570-3573, 1995.

CASTRO, A. C. et al. Sistema silvipastoril na Amazônia: ferramenta para elevar o desempenho produtivo de búfalos. **Ciência Rural**, v.38, n.8, p.2395-2402, 2008.

CHAIYABUTR, N. et al. Effects of acute heat stress on changes in the rate of liquid flow from the rumen and turnover of body water of swamp buffalo. **The Journal of Agricultural Science**, v. 108, p. 549-553, 1987.

CHAIYABUTR, N. et al. Alterations in potassium homeostasis during heat stress in swamp buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Journal of Thermal Biology**, v. 22, n. 3, p. 207-212, 1997.

CHIKAMUNE, T. et al. Comparison of the effects of seasonal-climatic changes on thermoregulatory responses and plasma concentrations of thyroid hormones in swamp buffaloes and cattle. **Japanese Journal Zootechny Science**, v.57, n.9, p.778-784, 1986.

CIARAMELLA, P. et al. Haematological profile on non-lactating Mediterranean buffaloes (*Bubalus bubalis*) ranging in age from 24 months to 14 years. **Research in Veterinary Science**, v.79, p. 77-80, 2005.

COLLIER, R. J. et al. Influences of environment and its modification on dairy animal health and production. **Journal of Dairy Science**, v. 65, p. 2213-2227, 1982.

COLLIER R. J.; DAHL, G. E.; VANBAALE M. J. Major advances associated with environmental effects on dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 1244-1253, 2006.

COSTA, L. A. B. **Índices de conforto térmico e adaptabilidade de fêmeas bubalinas em pastejo no agreste de Pernambuco**. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, 2007. Dissertação (Mestrado em Zootecnia).

CRISSIUMA, A. L.; ALMEIDA, E. C. P. Experimentação e bem estar animal - artigo de revisão. **Saúde e Ambiente em Revista**, v.1, n.2, p. 1-10, 2006.

CROWDER, M. J.; HAND, D. J. **Analysis of repeated measures**. London: Chapman & Hall, 1990, 257p.

DAMASCENO, F. A. et al. Adaptação de bubalinos ao ambiente tropical. **Revista Eletrônica Nutritime**, Artigo 125, v. 7, n. 5, p.1370-1381, 2010.

DAS, S. K.; UPADHYAY, R. C.; MADAN, M. L. Heat stress in Murrah buffalo calves. **Livestock Production Science**, v. 61, p. 71-78, 1999.

DAS, K. S. et al. Physiological responses and performance of Nili-Ravi buffalo calves under different washing frequency during hot summer months in tropics. **Tropical Animal Health and Production**, 2010. DOI 10.1007/s11250-010-9651-x.

DE ROSA, G. et al. Behavior and milk production of buffalo cows as affected by housing system. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 3, p. 907-912, 2009.

DE ROSA, G. et al. Effect of housing system on behavioural activity of lactating buffaloes. **Italian Journal of Animal Science**, v. 6 (SUPPL. 1), p. 506-508, 2007.

DUNCAN, I. J. H.; FRASER, D. Understanding animal welfare. In: APPLEBY, M.; HUGHES, B. O. **Animal Welfare**. London: CABI Publishing, 1997. p. 19-31.

EILER, H. Glândulas endócrinas. In: REECE, W. O. **Dukes, fisiologia dos animais domésticos**. 12^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006, p.577-622.

ERICKSON, H. H.; POOLE, D. C. Fisiologia do Exercício. In: REECE, W. O, editor. **Dukes, fisiologia dos animais domésticos**. 12^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006, p. 329-352.

EUSTÁQUIO FILHO, A. et al. Zona de conforto térmico de ovinos da raça Santa Inês com base nas respostas fisiológicas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.8, p.1807-1814, 2011.

FAROOQ, U. et al. Physiological responses of cattle to heat stress. **World Applied Sciences Journal**, v. 8, p. 38-43, 2010.

FERREIRA, F. et al. Parâmetros fisiológicos de bovinos cruzados submetidos ao estresse calórico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.5, p.732-738, 2006.

FERREIRA, F. et al. Taxa de sudção e parâmetros histológicos de bovinos submetidos ao estresse calórico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.4, p.763-768, 2009.

FERRO, F. R. A. et al. Efeito do estresse calórico no desempenho reprodutivo de vacas leiteiras. **Revista Verde**, v.5, n.5, p. 01 - 25, 2010. Disponível em: <http://revista.gvaa.com.br>

FETTMAN, M. J. Metabolismo de fluidos e eletrólitos. .In: THARALL, M. A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Roca, 2007, p. 311-334.

FINCH, V. A. Body temperature in beef cattle: its control and relevance to production in the tropics. **Journal of Animal Science**, v. 62, p. 531-542, 1986.

FRANÇA, R. T. et al. Valores hematológicos de búfalos em diferentes faixas etárias criados na região central do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 18, n. 1, p. 51-54, 2011.

FRASER, A. F.; BROOM, D. M. **Farm animal behaviour and welfare**. Wallingford: CAB International, 1990.

FREITAS, M. D. et al. Equilíbrio eletrolítico e ácido-base em bovinos. **Ciência Rural**, v.40, n. 12, p. 2608-2615, 2010.

FUQUAY, J. W. Heat Stress as it Affects Animal Production. **Journal of Agricultural Engineering Research**, v. 52, p. 164-174, 1981.

FURTADO, D. A. et al. Termorregulação e desempenho de tourinhos Sindi e Guzerá, no agreste paraibano. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 16, n. 9, 2012.

GARCIA, A. R. Influência de fatores ambientais sobre as características reprodutivas de búfalos do rio (*Bubalus bubalis*). **Revista de Ciências Agrárias**, n. 45, 2006. Suplemento.

GARCIA-NAVARRO, C. E. K. **Manual de hematologia veterinária**. 2. ed. São Paulo: Varela, 2005. 206 p.

GAUGHAN, J. B. et al. Assessing the heat tolerance of 17 beef cattle genotypes. **International Journal of Biometeorology**, v. 54, p. 617-627, 2010. doi:10.1007/s00484-009-0233-4

GOMES, V. et al. Valores de referência e influência da idade no eritrograma de bubalinos da raça Murrah. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, p. 301-304, 2010.

GONZÁLEZ, F. H. D. Indicadores sanguíneos do metabolismo mineral em ruminantes. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; BARCELLOS, J. O.; OSPINA, H.; RIBEIRO, L. A. O. (Eds.). **Perfil Metabólico em Ruminantes: Seu uso em Nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000, p. 31-51.

GRECO, D.; STABENFELDT, G. H. O sistema endócrino. In: CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de fisiologia veterinária**. 3th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004, p.333-349.

GUDEV, D. et al. Effect of heat-stress on some physiological and biochemical parameters in buffaloes. **Italian Journal of Animal Science**, v. 6, (Supl. 2), p. 1325-1328, 2007a.

GUDEV, D. et al. Physiological indices in buffaloes exposed to sun. **Archiva Zootechnica**, v. 10, p. 127-133, 2007b.

GUIMARÃES, C. M. C. et al. Termorregulação em bubalinos submetidos a duas temperaturas de ar e duas proporções de volumoso:concentrado. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, v. 25, n. 2, p. 437-443. 2001.

HAFEZ, E. S. E.; ANWAR, A. Normal hematological values in the buffalo. **Nature**, n.174, p.611-612, 1954.

HAHN, G. L. Dynamic responses of cattle to thermal heat loads. **Journal of Animal Science**, v. 77, s. 2, p. 10-20, 1999.

HAHN, G. L.; PARKHURST, A. M.; GAUGHAN, J. B. Cattle respiration rate as a function of ambient temperature. **Transactions of American Society of Agricultural Engineering**, v.40, p.97-121, 1997.

HANSEN, P. J. Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. **Animal Reproduction Science**, v. 82, n. 83, p. 349-360, 2004. doi:10.1016/j.anireprosci.2004.04.011

HAQUE, N. et al. Alteration of metabolic profiles in young and adult Murrah buffaloes exposed to acute heat stress. **International Journal of Applied Animal Sciences**, v.1, n.1, p. 23-29, 2012. ISSN 1925-3869 (online).

HARDY, R. N. **Temperatura e vida animal**. São Paulo: EPU: Ed. da Universidade de São Paulo, 1981.

HERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, A. et al. Determinación de valores de referencia hematológicos en búfalas (*Bubalus bubalis*) preparto y postparto en una unidad de producción en el sur del lago de Maracaibo, Venezuela. **Revista Científica, FCV-LUZ**. v. 15, n 2, p. 119-124, 2005.

HOUP, T. R. Equilíbrio ácido-básico. In: SWENSON, M. J.; REECE, W. O. O. **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. 12.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006, p.147-160.

JOHNSON, J. M.; PROPPE, D. W. Cardiovascular Adjustments to Heat Stress. In: **Comprehensive Physiology**. Supplement 14: Handbook of Physiology, Environmental Physiology, p. 215-243. 2011. doi: 10.1002/cphy.cp040111 <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cphy.cp040111/full>

JOSHI, B. C.; McDOWELL, R. E.; SADHU, D. P. Body Surface Evaporation Rates at Low and High Temperatures in Murrah Buffalo. **Journal Dairy Science**, v. 51, n. 10, p. 1689-1692, 1968.

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

KERR, M. G. **Exames laboratoriais em medicina veterinária: bioquímica clínica e hematológica**. 2 ed., São Paulo: Roca, 2003, 436p.

KHONGDEE, T.; SRIPOON, S.; VAJRABUKKA, C. The effects of high temperature and wallow on physiological responses of swamp buffaloes (*Bubalus bubalis*) during winter season in Thailand. **Journal of Thermal Biology**, v. 36, p. 417-421, 2011.

KOGA, A.; KUHARA, T.; KANAI, Y. Effects of dehydration on body fluid regulated by ADH and aldosterone in Swamp buffaloes and Friesian cows. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v. 13, p. 274, 2000.

KOGA, A. et al. Comparison of the thermoregulatory response of buffaloes and tropical cattle, using fluctuations in rectal temperature, skin temperature and haematocrit as an index. **Journal of Agricultural Science**, v. 142, p. 351-355, 2004. DOI: 10.1017/S0021859604004216

KOGA, A. et al. Internal changes of blood compartment and heat distribution in swamp buffaloes under hot conditions: Comparative study of thermo-regulation in buffaloes and Friesian cows. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v.12, p. 886-890, 1999a.

KOGA, A. et al. Thermoregulatory responses of swamp buffaloes and Friesian cows to diurnal changes in temperature. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v. 12, p. 1273-1276, 1999b.

KOGA, A.; CHANPONGSANG, S.; CHAIYABUTR, N. Importance of body-water circulation for body-heat dissipation in hot-humid climates: a distinctive body-water circulation in swamp buffaloes. **Italian Journal of Animal Science**, v. 6, Suppl. 2, p. 1219-1222, 2007.

LIGEIRO, E. C. et. al. Perda de calor por evaporação cutânea associada às características morfológicas do pelame de cabras leiteiras criadas em ambiente tropical. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.2, p.544-549, 2006.

MAGALHÃES, J. et al. Determination of cattle and buffaloes heat tolerance on the humid tropics In: Congresso Brasileiro de Biometeorologia, 4., Ribeirão Preto, 2006. **Anais ...** Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Biometeorologia, 2006.

MARAI, I. F. M., et al. Physiological traits as affected by heat stress in sheep - a review. **Small Ruminant Research**, v. 71, n. 3, p. 1-12, 2007. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.10.003>

MARAI, I. F. M.; HABEEB, A. A. M.; FARGHALY, H. M. Productive, Physiological and biochemical changes in imported and locally born Friesian and Holstein lactating cows under hot summer conditions of Egypt. **Tropical Animal Health and Production**, v. 31, p. 233-243, 1999.

MARAI, I. F. M.; HABEEB, A. A. M. Buffaloes' reproductive and productive traits as affected by heat stress. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v. 12, n. 2, p. 193 -217, 2010. Disponível em: <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=93913070002>

MARTELLO, L. S. et al. Respostas fisiológicas e produtivas de vacas holandesas em lactação submetidas a diferentes ambientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 1, 2004.

MARTELLO, L. S. et al. Alternative body sites for heat stress measurement in milking cows under tropical conditions and their relationship to the thermal discomfort of the animals. **International Journal of Biometeorology**, v.54, n. 6, p. 647-652, 2010. DOI 10.1007/s00484-009-0268-6

MARTIN, P.; BATESON, P. **Measuring behavior: an introductory guide**. Cambridge -UK: Cambridge University Press, 1986.

MASON, I. L. Environmental physiology. In: Cockrill, W. R. **The husbandry and health of the domestic buffalo**. Rome: FAO, 1974, p.89-104.

McDOWELL, R. E. Bases biológicas de la Producción animal en zonas tropicales. In: **Factores que influem en la producción ganadera de los climas cálidos**. Zaragoza: Acribia, 1975.

McDOWELL, R. E.; HOOVEN, N. W.; CAMOENS, J. K. Effects of climate on performance of Holsteins in first lactation. **Journal of Dairy Science**, v.59, p. 965–973, 1976.

McGOVERN, R. E.; BRUCE, J. M. A. Model of the thermal balance for cattle in hot conditions. **Journal of Agricultural Engineering**, v. 77, n. 1, p. 81-92, 2000. doi:10.1006/jaer.2000.0560.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Dados de rebanho bovinos e bubalinos do Brasil, 2011. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Dados%20de%20rebanho%20bovino%20e%20bubalino%20do%20Brasil_2011.pdf.

MOBERG, G. P. Biological response to stress: key to assessment of animal well-being In: MOBERG, G. P. **Animal Stress**. Bethesda: American Physiological Society, 1985. p.27-49.

MOLENTO, C. F. M. Bem-estar e produção animal: aspectos econômicos – revisão. **Archives of Veterinary Science**, v.10, n.11, p. 1-11, 2005.

MORAES JUNIOR, R. J. et al. Conforto ambiental de bezerros bubalinos (*Bubalus bubalis* Linnaeus, 1758) em sistemas silvipastoris na Amazônia Oriental. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 40, n. 4, 2010. <http://dx.doi.org/10.1590/S0044-59672010000400001>

MORAIS, D. A. E. F. et al. Variação anual de hormônios tireoidianos e características termorreguladoras de vacas leiteiras em ambiente quente. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.3, p.538-545, 2008.

MULLICK, D. N. Effect of humidity and exposure to sun on the pulse rate, respiration rate, rectal temperature and haemoglobin level in different sexes of cattle and buffalo. **The Journal of Agricultural Science**, v. 54, p. 391-394, 1960.

NÄÄS, I. A. **Princípios de conforto térmico na produção animal**. São Paulo: Ícone, 1989.

OHASHI, O. M. et al. Desenvolvimento reprodutivo do macho bubalino: circunferência escrotal, atividade espermática e endocrinologia. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, n.3, p.299-306, 2007. Disponível em www.cbra.org.br.

OLIVEIRA, N. J. F. et al. Hemograma, bioquímica sérica e histologia da biópsia hepática de bovinos após administração de polpa cítrica. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n.3, p.418-422, 2005.

PANT, H. C.; ROY, Y. A. **El bufalo de agua y su futuro**. In: Bases biológicas de la producción animal en zonas tropicales. Editorial Acribia, Zaragoza. p.567-600, 1982.

PARANHOS da COSTA, M. J. R. Comportamento dos animais de fazenda: reflexos na produtividade. In: V Encontro Anual de Etologia, 5, Jaboticabal, 1987. **Anais...** São Paulo: Sociedade Brasileira de Etologia, p.159, 1987.

PEREIRA, A. M. F. et al. Effect of thermal stress on physiological parameters, feed intake and plasma thyroid hormones concentration in Alentejana, Mertolenga, Frisian and Limousine cattle breeds. **International Journal of Biometeorology**, v. 52, n. 3, p. 199-208, 2008.

PEREIRA, A. M. F.; et al. A device to improve the Schleger and Turner method for sweating rate measurements. **International Journal of Biometeorology**, v.54, p. 37-43, 2010.

PIRES, M. F. A. et al. Efeito das estações (inverno e verão) na temperatura retal e frequência respiratória de vacas Holandesas confinadas em *free-stall*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.50, p.747-752, 1998b.

PIRES, M. F. A. et al. Reflexos do estresse térmico no comportamento das vacas em lactação. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AMBIÊNCIA NA PRODUÇÃO DE LEITE. Piracicaba **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1998a, p. 68-102.

RAMIREZ IGLESIA, L. N. et al. Observaciones hematológicas em varios ruminantes tropicales. **Revista Científica FCV-LUZ**, v. 8, n. 2, p. 105-112, 1998.

RAMÍREZ IGLESIA, L. N. et al. Observaciones hematológicas en búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) aparentemente sanos en el occidente de Venezuela. **Revista Científica FCV-LUZ**, v. 9, n. 6, p. 524-531, 1999.

RANDALL, D. J.; BURGGERN, W.; FRENCH, K. **Fisiologia animal: mecanismos e adaptações**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 717p.

REECE, W. O. Respiração dos mamíferos. In: REECE, W. O. **Dukes, fisiologia dos animais domésticos**. 12th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006, p.103-134.

ROBINSON, N. E. Síntese da função respiratória: ventilação do pulmão. In: CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de fisiologia veterinária**. 4^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008a, p. 571-582.

ROBINSON, N. E. Termorregulação. In: CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de fisiologia veterinária**. 4^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008b, p.647-660.

ROBINSON, N. E. Homeostasia ácido-básica In: CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de fisiologia veterinária**. 4^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008c, p. 635-646.

SAS.USER'S GUIDE: **basic and statistic**. Cary, NC: SAS, 1995. 1.686 p.

SCHAFHÄUSER JR, J. O balanço de cátions e ânions em dietas para vacas leiteiras no período de transição. **Revista da FZVA**, v.13, n.1, p. 112-127. 2006. Disponível em: <http://revistaseletronicas.pucrs.br/ojs/index.php/fzva/article/viewFile/2345/1831>

SCHARF, B. A. et al. Evaluation of physiological and blood serum differences in heat-tolerant challenge cattle during controlled heat Bos Taurus (Romosinuano) and heat-susceptible (Angus). **Journal of Animal Science**, v. 88, p. 2321-2336, 2010.doi: 10.2527/jas.2009-2551.

SCHLEGER, A. V.; TURNER, H. G. Sweating rates of cattle in the field and their reaction to diurnal and seasonal changes. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.16, p.92-106, 1965.

SCHMIDT-NIELSEN, K. **Fisiologia animal: adaptação e meio ambiente**. 5 ed. São Paulo: Santos, 2002, 611p.

SELYE, H. Stress and the general adaptation syndrome. **British Medical Journal**, v. 1, n. 4667, p.1383-1392, 1950.

SEVEGNANI, K. B. et al. Effect of environmental variables on buffaloes physiology. **Italian Journal of Animal Science**, v. 6, Suppl. 2, p. 1333-1335, 2007.

SHIMIZU, H. Adaptation and effect of climatic components in Swamp buffalo. In: World Buffalo Congress, 2, New Delhi. **Anais ...** New Delhi: ICAR, 1988, p. 147-166.

SILANIKOVE, N. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. **Livestock Production Science**, v. 67, p. 1-18, 2000. Doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0301-6226\(00\)00162-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0301-6226(00)00162-7).

SILVA, A. O. A. et al. Níveis séricos de triiodotironina (T3) e tiroxina (T4) em novilhas bubalinas das raças Murrah e Jaffarabadi. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.16, n.6, p.266-267, 1994.

SILVA, J. A. R. **Avaliação do estresse térmico em búfalas Murrah criadas em dois diferentes sistemas de manejo nas condições climáticas da Amazônia oriental**. 2010, 149f. Tese (Doutorado integrado em Zootecnia) Universidade Federal do Ceará, Universidade Federal da Paraíba e Universidade Federal Rural de Pernambuco. Fortaleza, 2010. Disponível em: http://www.zootecnia.ufc.br/cariboost_files/tese2010_jamile_20andrea_20rodrigues_20da_20silva.pdf

SILVA, J. A. R. et.al. Perfil hematológico de búfalas da raça Murrah, criadas ao sol e à sombra, em clima tropical da Amazônia oriental. **Acta Amazônica**, v. 41, n.3, p. 425-430, 2011.

SILVA, J. A. R. et al. Thermoregulatory answers in buffaloes (*Bubalus bubalis*) created on the shading and sun, in the climatic conditions of the Brazilian Eastern Amazon. **Revista Veterinária**, v. 21, sup. 1, p. 812-815, 2010.

SILVA, R. G. **Introdução à bioclimatologia animal**. São Paulo: Nobel, 2000.

SILVA, R. G. **Biofísica ambiental. Os animais e seu ambiente**. Jaboticabal: Funep, 2008.

SOUZA JR, J. B. F. Sudação e características morfológicas do pelame de bovinos manejados em ambiente tropical. **Pubvet**, v.2, n. 31, p. 1-6, 2008. Disponível em www.pubvet.com.br/artigos_imp.asp?artigo=7

SOUZA, C. F. Avaliação de materiais alternativos para confecção do termômetro de globo. **Ciência Agrotecnologia**, v. 26, n. 1, p. 157-164, 2002.

SOUZA, B. B. et al. Parâmetros fisiológicos e índice de tolerância ao calor de bovinos da raça Sindhi no semi-árido paraibano. **Ciência Agrotecnologia**, v. 31, n. 3, p. 883-888, 2007.

TERZANO, G. M. et al. Effect of intensive or extensive systems on buffalo heifers performances: blood metabolite values. **Italian Journal of Animal Science**, v. 6, n. 2, p. 1268-1272, 2007.

THANH, V. T. K.; CHANG, W. S. Differences in adaptation to tropical weather between buffaloes and cattle. **Italian Journal of Animal Science**, v. 6, Supl. 2, p. 1340-1343, 2007.

THATCHER, W. W. et. al. **Manejo de estresse calórico e estratégias para melhorar o desempenho lactacional e reprodutivo em vacas de leite.** In: XIV Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos, 2010, p. 2-25 Disponível em: <http://www.sheepembryo.com.br/files/artigos/371.pdf>.

TITTO, C. G. et al. Tolerância ao calor em bovinos de corte de raças européias utilizadas em cruzamento industrial no Brasil. In: Congresso Brasileiro de Biometeorologia, 4., Ribeirão Preto, 2006. **Anais ...** Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Biometeorologia, 2006.

TITTO, C. G. et al. Tolerância ao calor de touros da raça Simental e Brangus. In: XX Reunion latinoamericana de produccion animal, 20, Cuzco, 2007. **Anais ...** Cuzco: ALPA, 2007.

TITTO, C. G. et al. Heat tolerance and the effects of shade on the behaviour of Simmental bulls on pasture. **Animal Science Journal**, v. 82, p. 591-600, 2011.

TITTO, E. A. L. et al. Heat tolerance test in Zebu/Nelore and Marchigiana young bulls. In: International Italian Beef Cattle Contest, Perugia/Itália, 1994. **Anais...** Perugia: Proceedings International Italian Beef Cattle Contest, p. 232-235, 1994.

TITTO, E. A. L.; RUSSO, H. G.; LIMA, C. G. Efeito do banho de água sobre o conforto térmico de bubalinos. In: CONGRESSO DE ZOOTECNIA, 6. 1997, Lisboa. **Actas...** Lisboa: APEZ, 1997. v.1, p.15-18.

TITTO, E. A. L. et al. Teste da tolerância ao calor em novilhos Nelore e Marchigiana. **Revista Portuguesa de Zootecnia**, v.5, p.67-70, 1998a.

TITTO, E. A. L. et al. Termorregulação em ovinos: estudo de temperatura retal, frequência respiratória e ingestão de água. **Revista Portuguesa de Zootecnia**, v. 5, n. 1, p. 56-65, 1998b.

TITTO, E. A. L. Clima: Influência na produção de leite. In: AMBIÊNCIA NA PRODUÇÃO DE LEITE EM CLIMA QUENTE, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1998c. p.10-23.

TITTO, E. A. L. et al. Estudo da tolerância ao calor em tourinhos das raças Marchigiana, Nelore e Simental. In: IX Congresso de Zootecnia, Porto – Portugal, 1999. **Anais ...** Porto: IX Congresso de Zootecnia, p. 142, 1999.

TITTO, E. A. L. et al. Estudo da tolerância ao calor em bovinos de raças européias de corte. In: Congresso Brasileiro de Biometeorologia, 3, Maringá, 2001. **Anais ...** Maringá: SBBIOMET. v. 1. p. 1. , 2001.

TITTO, E. A. L. et al. Tolerância ao calor em bovinos de corte de raças européias utilizadas em cruzamento industrial no Brasil. In: Congresso de Zootecnia, 14., Açores, 2004. **Anais ...** Açores: XIV Congresso de Zootecnia, p. 68-70, 2004.

TRIPATHI, V. N.; THOMAS, C. K.; SASTRY, N. S. R. et al. Effect of shelter and water sprinkling on buffaloes: growth rate. **Indian Journal of Animal Science**, v.42, n.9, p.745-749, 1972.

VALTORTA, S. E.; LEVA, P. E.; GALLARDO, M. R. Evaluation of different shades to improve dairy cattle well-being in Argentina. **International Journal of Biometeorology**, v. 41, p. 65-67, 1997.

VERÍSSIMO, C. J. et al. Tolerância ao calor em ovelhas Santa Inês de pelagem clara e escura. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 10, p. 159-167, 2009a.

VERÍSSIMO, C. J. et al. Tolerância ao calor em ovelhas Suffolk e Ile de France antes e após a tosquia. **Ciência Animal Brasileira (UFG. Impresso)**, v. 66, p. 61-66, 2009b.

VIEIRA, R. J. et al. Efeitos do stress térmico sobre o desempenho produtivo e algumas variáveis fisiológicas de novilhas bubalinas da raça Mediterrâneo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BIOMETEOROLOGIA, 1. 1995, Jaboticabal. **Resumos...** Jaboticabal: UNESP, 1995. p. 65-66.

VILELA, R. A. **Comportamento e termorregulação de vacas Holandesas lactantes frente a recursos de ventilação e nebulização em estabulação livre**. 2008. 87f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2008. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/74/74131/tde-19022009-112953/pt-br.php>

VILLARES, J. B.; MONTENEGRO, M. R.; RAMOS, A. A. As estruturas anexas à pele do búfalo Jafarabadi, Murrah e Mediterrâneo. In: RAMOS, A. A.; VILLARES, J. B.; MOURA, J. C. **Bubalinos**. Campinas: Fundação Cargill, 1979, p.9-29.

VILLARES, J. B.; RAMOS, A. A.; ROCHA, G. P. As vias cutâneas e respiratórias na termólise de bubalinos sob extrema tensão térmica. In: RAMOS, A. A.; VILLARES, J. B.; MOURA, J. C. **Bubalinos**. Campinas: Fundação Cargill, 1979, p.55-132.

WEISER, G. Interpretação da resposta leucocitária nas doenças. In: THARALL, M. A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Roca, 2007, p. 127-140.

WEISER, G.; THARALL, M. A. Considerações sobre leucócitos e leucograma. In: THARALL, M. A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Roca, p. 118-122.

WHITE, B. A. Os sistemas endócrino e reprodutor. In: KOEPPEN, B. M.; STANTON, B. A. 6 ed. **Berne & Levy: Fisiologia**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009, p. 731-744.