



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
PROGRAMA INTEGRADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO ANIMAL -
PPGPA

**EFEITO DE VARIÁVEIS AMBIENTAIS, FISIOLÓGICAS E
CITOGENÉTICAS EM VACAS HOLANDESAS NO
SEMIÁRIDO NORDESTINO.**

SUSANA DE MEDEIROS MATOS

MOSSORÓ/RN – BRASIL
2013

SUSANA DE MEDEIROS MATOS

**EFEITO DE VARIÁVEIS AMBIENTAIS, FISIOLÓGICAS E
CITOGENÉTICAS EM VACAS HOLANDESAS NO
SEMIÁRIDO NORDESTINO.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural do Semiárido – UFRSA, Campus de Mossoró, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Antonio Nobrega de Sousa

MOSSORÓ/RN – BRASIL
2013

O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade de seus autores

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central Orlando Teixeira (BCOT)
Setor de Informação e Referência**

M433e Matos, Susana de Medeiros.

Efeito de variáveis ambientais, fisiológicas e citogenéticas em vacas holandesas no semiárido nordestino. / Susana de Medeiros Matos. -- Mossoró, 2014
43f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Antonio Nobrega de Sousa.

Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Pró-Reitoria de Graduação.

1. Bovinos. 2. Estresse térmico. 3. Semiárido. I. Título.

RN/UFERSA/BCOT

CDD: 636.2

Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva
CRB-15/120

SUSANA DE MEDEIROS MATOS

EFEITO DE VARIÁVEIS AMBIENTAIS, FISIOLÓGICAS E
CITOGENÉTICAS EM VACAS HOLANDEAS NO
SEMIÁRIDO NORDESTINO.

Dissertação apresentada à Universidade
Federal Rural do Semiárido – UFERSA,
Campus de Mossoró, como parte das
exigências para a obtenção do título de Mestre
em Produção Animal.

APROVADA EM: 19/12/2013

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Marcos Antonio Nobrega de Sousa
Presidente – Orientador – PPGPA/UFERSA

Profa. Dra. Marineide Jussara Diniz – DCAT/UFERSA
Primeiro Membro – Externo – DCAT/UFERSA

Profa. Dra. Liz Carolina da Silva Lagos Cortes Assis
Segundo Membro – Interno – PPGPA/UFERSA

Dedico este trabalho aos meus pais.
Pelo amor e dedicação investidos em
mim.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, pelo discernimento e sabedoria, por me guiar e me permitir chegar até a conclusão de mais uma etapa acadêmica da minha vida.

Aos meus amados pais, José de Arimatea de Matos (Painho) e Francisca Fátima de Medeiros Matos (Mainha), pelo amor incondicional revelado através das atitudes de apoio e incentivo e pelos ensinamentos que levo sempre comigo. Amo muito vocês.

Ao meu amado irmão, André Gustavo de Medeiros Matos, pela cumplicidade e “companheirismo”. Amo muito você.

Aos meus familiares, por serem especiais e me servirem como exemplo de vida.

À Emanuelle dos Santos (Manu) e Maria Clara Barbosa. A ausência nos tornou mais próximas e os pensamentos fortalecem nossa amizade. Obrigada por poder chamá-las de amigas-irmãs.

À Talita Belém, Luciana Oliveira, Luana Coelho, Glacilene Pires (Leninha), Danielle Freitas, Luiza Medeiros, Rafaelle Evaristo e Mariana Medeiros. A vida nos proporciona surpresas, dentre elas o nosso encontro, pois revelou-nos uma grande amizade.

A todos os meus amigos e colegas do Programa de Pós-Graduação em Produção Animal (PPGPA), Ageu Azevedo, Michelle Santos, Liliane Elzi, Luciana Vêras, Ruth Lucena, Wilma Emanuela, José Maria, Marcone Angicano, Diego Oliveira, Océlio Pereira e Janeto Gurgel, os quais acompanharam e compartilharam dessa jornada comigo, me ajudando e dando apoio.

Ao meu orientador Prof. Dr. Marcos Antonio Nobrega de Sousa, pelo apoio técnico e pelos conhecimentos transmitidos durante o processo de execução desta dissertação.

A todos os professores do PPGPA pelos ensinamentos.

Aos que fazem e fizeram parte do Laboratório de Genética e Evolução, em especial Joélina Santuza e Felipe Melo, pelo auxílio durante o procedimento laboratorial.

A todos que compõem o setor da bovinocultura da UFERSA, Oséas Pereira de Oliveira, Francisco Bernardino dos Santos, Adriano Pereira de Oliveira e Alderi Pereira de Oliveira, Sr. Souza, pelo auxílio durante todo o desenrolar do meu experimento sem o qual não conseguiria concluí-lo.

A CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

Enfim, a todos aqueles que colaboraram de forma direta ou indireta, permitindo-me chegar à conclusão do mestrado.

Muito Obrigada!

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Variação das distribuições gerais para as variáveis meteorológicas analisadas nos ambientes durante o período experimental.....	30
Tabela 2. Variação das distribuições gerais da frequência respiratória (FR, m.p.m.), temperatura retal (TR, °C) e temperatura de superfície (TS, C°), das vacas Holandesas criadas no setor de bovinocultura da UFERSA, Mossoró- RN durante o período experimental.	32
Tabela 3. Variação das distribuições gerais do índice mitótico (IM) e do número de cromossomos (NC) das vacas Holandesas criadas no setor de bovinocultura da UFERSA, Mossoró- RN durante o período experimental.	34

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fotografia ilustrativa de cromossomos acrocêntricos. Fonte: Autor 2013.	11
Figura 2. Fotografia de cromossomos sexuais de taurinos e zebuínos, respectivamente. Fonte. Autor. 2013.....	12
Figura 3. Fotografia de fêmeas bovinas da raça Holandesa Branca e Preta não puras utilizadas no experimento demonstrando a variação normal da cor da pelagem. Fonte. Autor. 2013.....	24
Figura 4. Fotografia dos ambientes experimentais onde as fêmeas bovinas não puras da raça Holandesa Branca e Preta ficaram durante o experimento. (a). Ambiente do grupo 1 (sol), na época do experimento o cocho estava sem telhas, totalmente descoberto e b(). ambiente do grupo 2 (sombra). Fonte. Autor. 2013.	27
Figura 5. Gráficos das médias e desvio padrão do índice mitótico (IM) e do número de cromossomos (NC) das células analisadas dos animais durante o período experimental nos ambientes de sol e sombra.	34
Figura 6. Cariótipo em coloração convencional de (a) exemplar de vaca do grupo do sol e (b) do grupo da sombra.....	36

SUMÁRIO

1	CAPÍTULO I: REFERENCIAL TEÓRICO	9
1.1	<i>ESTRESSE TÉRMICO EM BOVINOS LEITEIROS</i>	9
1.2	<i>CITOGENÉTICA E CITOTOXICIDADE EM BOVINOS</i>	11
1.3	<i>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</i>	14
2	CAPÍTULO II – EFEITO DE VARIÁVEIS AMBIENTAIS, FISIOLÓGICAS E CITOGENÉTICAS EM VACAS HOLANDESES NO SEMIÁRIDO NORDESTINO.	17
	RESUMO	18
	ABSTRACT	19
1	INTRODUÇÃO	20
2	MATERIAIS E MÉTODOS	24
2.1	<i>LOCAL DE EXECUÇÃO DO EXPERIMENTO</i>	24
2.2	<i>ANIMAIS UTILIZADOS</i>	24
2.3	<i>ANÁLISE DAS VARIÁVEIS AMBIENTAIS E FISIOLÓGICAS</i>	25
2.4	<i>ANÁLISE DAS VARIÁVEIS CITOGENÉTICAS</i>	26
2.4.1	<i>Coleta do sangue e cultivo de células sanguíneas para análise citogenética</i>	26
2.4.2	<i>Preparação das lâminas de microscopia</i>	28
2.4.3	<i>Análise das lâminas</i>	28
2.5	<i>ANÁLISES ESTATÍSTICAS</i>	29
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
3.1	<i>VARIÁVEIS AMBIENTAIS</i>	30
3.2	<i>VARIÁVEIS FISIOLÓGICAS</i>	31
3.3	<i>VARIÁVEIS CITOGENÉTICAS</i>	33
4	CONCLUSÕES	37
5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
6	Normas da revista	43

1 CAPÍTULO I: REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 ESTRESSE TÉRMICO EM BOVINOS LEITEIROS

O clima é um dos componentes ambientais que exerce efeito mais pronunciado sobre o bem-estar animal e, por consequência, sobre a produção e produtividade, sendo, portanto, fator regulador ou mesmo limitador da exploração animal para fins econômicos (PEREIRA, 2005).

Aproximadamente 64% do rebanho bovino mundial são criados em regiões tropicais e 2/3 do território brasileiro estão situados na região tropical, onde há predominância de temperaturas elevadas, consequentes da alta incidência de radiação solar. (AZEVEDO et al., 2005).

Estima-se que elevadas temperaturas causem severas perdas econômicas em aproximadamente 60% das fazendas leiteiras no mundo. Assim, comercialmente, o rebanho bovino do Brasil é o segundo maior do mundo, porém, a produtividade média é considerada uma das mais baixas (KOEHLER, 2000). O expressivo rebanho nordestino formado por 29,5 milhões de bovinos (IBGE, 2011) também apresenta baixos índices de produtividade.

Observa-se que a interação animal e ambiente deve ser considerada na busca de maior eficiência na exploração pecuária porque as diferentes respostas do animal às peculiaridades de cada região são determinantes para o sucesso da atividade pecuária. Uma das formas de verificar o efeito das condições ambientais sobre os animais é através da avaliação da temperatura ambiental. O conhecimento das respostas ou adaptações fisiológicas dos animais relacionados ao ambiente térmico permite promover a alteração de manejo, da nutrição, instalações e equipamentos, objetivando a maximização da atividade.

Na temperatura de conforto se torna dispensável qualquer atividade metabólica por parte do animal para aquecer ou esfriar o corpo e o metabolismo animal é mínimo. E na zona de neutralidade térmica ou termoneutralidade, a produção e a perda de calor no animal estão em equilíbrio. (RANDALL et al., 2000).

Esta zona de conforto térmico ou termoneutralidade é limitada pela temperatura crítica superior (TCS) e temperatura crítica inferior (TCI), sendo que abaixo da TCI os animais sofrem estresse pelo frio e acima da TCS sofrem estresse pelo calor (MARTELLO 2006).

No estresse calórico, a força exercida pelos componentes do ambiente térmico sobre o organismo causa nele uma reação fisiológica proporcional à intensidade da força aplicada e à capacidade do organismo em compensar os desvios causados por essa força. (COLUMBIANO, 2007).

Observa-se que nos trópicos ocorre um problema na adaptação de raças leiteiras de origem européia ao clima, que por sua alta produtividade sofrem com problemas fisiológicos e comportamentais causados pelo estresse térmico, diminuindo sua produção (SILVA et al., 2002).

Altas temperaturas do ar, altas umidades e intensa radiação solar são responsáveis pela diminuição na produção de leite de vacas de média e alta produção. (BACCARI JR., 2001; AGUIAR et al., 2003). Devido principalmente à inibição, pelo calor, do centro do apetite localizado no hipotálamo, resultante da hipertermia corporal, que pode resultar em um decréscimo de 17% na produção de leite de vacas de 15 kg de leite. dia⁻¹ e de 22% em vacas de 40 kg. dia⁻¹. (PORCIONATTO et al., 2009).

Para bovinos da raça Holandesa, os limites térmicos ambientais da zona de conforto variam de -1°C a 21°C , e o de termoneutralidade situa-se em 27°C e o limite de umidade relativa ideal para animais domésticos varia de 60 a 70% (MÜLLER, 1989).

A referência fisiológica, com mensuração da temperatura retal, para bovinos leiteiros, varia de $38,0^{\circ}\text{C}$ a $39,3^{\circ}\text{C}$. Em animais acomodados em local cuja temperatura ambiente estiver acima da zona de conforto térmico será gasta energia para manutenção da temperatura corporal. Serão diminuídas as perdas de calor sensíveis através da pele (radiação, condução e convecção) e aumentados o resfriamento por evaporação, sudorese, ofegação ou ambos. (ROBINSON, 2004).

Em condições de estresse térmico os animais acionam mecanismos adaptativos que implicam diretamente em mudanças na taxa metabólica, temperatura corporal, frequências respiratória e cardíaca, além de alterações de metabólitos sanguíneos. Estas mudanças, que ocorrem para promover a adaptação do organismo ao meio, geralmente implicam em perdas na produtividade (COSTA, 2000).

Nos trópicos a principal causa de estresse calórico nos bovinos é a radiação, porque ela age diretamente sobre o animal e interfere no ambiente, pois altera a temperatura e a umidade do ar (SILVA JR, 2001). A construção de abrigos com sombreamento busca diminuir o efeito negativo da radiação solar nos animais, e o grau de importância da

sombra varia de acordo e sua eficiência e com o microclima do local. (BAETA e SOUZA, 2010).

1.2 CITOGENÉTICA E CITOTOXICIDADE EM BOVINOS

O estresse térmico é capaz de alterar a fisiologia e o desempenho produtivo dos animais, com o aumento da temperatura ocasionando desconforto geral do animal e determinando consequências adversas da função celular. (GRUNERT et al., 2005).

Na pecuária brasileira, existem iniciativas que visam avaliar a integridade do material genético. Os bovídeos domésticos são formados pelas subfamílias Bovinae e Caprinae (MATTHEE e DAVIS, 2001). O gado e animais relacionados estão incluídos na subfamília Bovinae. Wurster e Benirschke (1968) publicaram o primeiro estudo seminal sobre a evolução do cariótipo de bovídeos. Estes autores estudaram o número diplóide (número de cromossomos = $2n$) e o de braços cromossômicos (número fundamental = FN) em 50 espécies diferentes, demonstrando que, enquanto o $2n$ varia entre as espécies de 38-60, e o FN varia entre 58 a 62.

O esclarecimento completo da morfologia cromossômica de *Bos taurus taurus* formado por um número diploide ($2n=60$) com 29 pares de cromossomos autossômicos acrocêntricos (Figura 1) de tamanho desigual e com o par sexual submetacêntrico foi consolidado em três artigos que utilizaram, sucessivamente: células de medula óssea (GIMENEZ-MARTINS e LOPES-SÁEZ, 1962), cultivo de fibroblastos (SASAKI e MAKINO, 1962) e linfócitos (CROSSLEY e CLARKE, 1962).



Figura 1. Fotografia ilustrativa de cromossomos acrocêntricos. Fonte: Autor 2013.

Posteriormente foi observado que através do estudo dos pares sexuais, é possível diferenciar Zebuínos e Taurinos: o cromossomo X é submetacêntrico, sendo um dos maiores cromossomos nas duas subespécies, enquanto que o Y é acrocêntrico nos zebuínos (*Bos taurus indicus*) e submetacêntrico nos taurinos (*Bos taurus taurus*), sendo um dos menores cromossomos do conjunto cromossômico. (LUNA, 2012) (Figura 2).

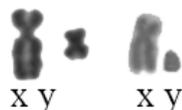


Figura 2. Fotografia de cromossomos sexuais de taurinos e zebuínos, respectivamente. Fonte. Autor. 2013.

As anomalias cromossômicas mais frequentes na evolução cromossômica de bovinos são as alterações estruturais do tipo fusão cêntrica ou translocação robertsoniana, onde ocorre a fusão de dois cromossomos acrocêntricos ou telocêntricos não homólogos através dos seus centrômeros. (BUCKLAND e EVANS, 1978; GALLAGHER e WOMACK, 1992; GALLAGHER et al. 1994, 1999).

As mutações cromossômicas nos cromossomos sexuais, como aneuploidias podem gerar subdesenvolvimento do trato reprodutivo ou como o quimerismo cromossômico que pode gerar animais intersexo. (MCFEELEY, 1990; LONG, 1990).

Pires et al (2010) realizaram um estudo citogenético em 121 animais bovinos da raça Pardo-Suíça provenientes do rebanho do Instituto de Zootecnia da Secretaria da Agricultura (APTA), em Nova Odessa – SP e confirmaram o número diploide típico dos bovinos ($2n=60$), com a constituição 60, XX para as fêmeas e 60, XY para os machos. Entretanto, em seis animais nascidos de partos gemelares heterossexuais (três fêmeas e três machos) foram observados quimerismo, isto é, células com 60, XX/ 60, XY no mesmo animal.

Tais mutações podem gerar diminuição da fertilidade devido à produção de gametas geneticamente desequilibrados, que, ao participar de fertilização podem levar à morte embrionária, abortos ou animais inviáveis. As anormalidades cromossômicas mais frequentemente relatadas em bovinos são a Translocação Robertsoniana 1/29, e o quimerismo sexual XX /XY (Freemartinismo). (CORREDOR-CAMARGO e JIMÉNEZ-ROBAYO, 2005).

Por esta razão, é necessário manter os animais reprodutores em controle citogenético, pois as aberrações podem ser herdadas rapidamente. Assim é muito importante o papel da citogenética para o melhoramento genético do gado. (NICOLAE, 2007).

Além disso, os organismos vivos estão frequentemente expostos a agentes ambientais químicos ou físicos que podem induzir modificações tanto ao nível celular quanto molecular. Essas lesões são prejudiciais às células, uma vez que afetam processos vitais como a duplicação e a transcrição gênica. As alterações podem também causar mutações e aberrações cromossômicas, fenômeno esse que pode levar a processos cancerosos e a morte celular. (COSTA e MENK, 2000).

1.3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, I. S.; BACCARI JR. F. Respostas fisiológicas e produção de leite de vacas holandesas mantidas ao sol e com acesso a sombra natural. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Ed. 1, jul 2003.

AZEVEDO, M.; PIRES, M.F.A.; STURNINO, H.M.; LANA, A.M.Q.; SAMPAIO I.B.; MONTEIRO J.B.N.; MORATO, L.E. Estimativa de níveis críticos superiores do índice de temperatura e umidade para vacas leiteiras 1/2, 3/4 e 7/8 holandês – zebu em lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 6, p. 2000-2008, 2005.

BACCARI JR, F. **Manejo ambiental da vaca leiteira em climas quentes**. Editora UEL. Londrina, PR, 142 p. 2001.

BAETA, F. C.; SOUZA, C. F. **Ambiência em edificações rurais**. Viçosa: UFV, 2010, 2ª ed. 269p.

BUCKLAND, R.A., EVANS H.J. 1978. Cytogenetic aspects of phylogeny in the Bovidae. I. G-banding. **Cytogenet. Cell Genet.** 78:42–63.

CORREDOR-CAMARGO, E.S. e JIMÉNEZ-ROBAYO L.M. Efecto de las anomalías cromosómicas sobre la fertilidad en bovinos. **Revista Oniroquia**. Vol. 9 n° 1. P. 56-63. 2005.

COSTA, M.J.R.P. Ambiência na produção de bovinos de corte a pasto. **Anais de Etologia**, 18: 26-42. 2000.

COSTA, R.M.; MENK, C.F.M. Biomonitoramento de mutagênese ambiental. **Biotecnologia: Ciência e Desenvolvimento**. 2000, v.3, n.12, p.24-26.

CROSSLEY, R. e CLARKE, G. The application of tissue culture techniques to the chromosomal analysis of *Bos Taurus*. **Genet. Res.** 3. 167-8. 1962.

GALLAGHER, D.S. Jr., DAVIS S.K., DE DONATO M., BURZLAFF J.D., WOMACK J.E., TAYLOR J.F., KUMAMOTO A.T. 1999. A molecular cytogenetic analysis of the tribe Bovini (Artiodactyla: Bovidae: Bovinae) with an emphasis on sex chromosome morphology and NOR distribution. **Chromosome Res.** 7:481–492

GALLAGHER, D.S. Jr., DERR J.N., WOMACK J.E. 1994. Chromosome conservation among the advanced pecorans and determination of the primitive bovid karyotype. **J. Hered.** 85:204–210.

GALLAGHER, D.S. Jr., WOMACK J.E. 1992. Chromosome conservation in the Bovidae. **J. Hered.** 83:287–298.

GIMENEZ-MARTIN, G. e LOPEZ-SAEZ, J.F. Dotaciones cromosómicas en los mamíferos domésticos. **Genet. Iberica**. 14. 7-17. 1962.

GRUNERT, E.; BIRGEL, E.H.; VALE, W.G. **Patologia e clínica da Reprodução dos Animais Mamíferos Domésticos – Ginecologia**. São Paulo, Livraria Varela, 2005.

HANSEN, P.J. Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. **Anim. Reprod. Sci.**, v.83-84, p.349-60, 2004.

IBGE. **Produção da Pecuária Municipal**. Vol. 39. 2011.

KOEHLER, J. C. **Caracterização da bovinocultura de leite no estado de Paraná**. SEAB: Curitiba, 2000. Disponível em: < <http://www.pr.gov.br/seab/deral/cultura3.pdf> >. Acesso em: 17 nov. 2013.

LONG, S.E. Development and diagnosis of freemartinism in cattle. **In Practice** 12:208-210. 1990.

LUNA, H.S. Citogenética clássica aplicada ao monitoramento de germoplasma bovino. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, v.36, n.2, p.84-93, abr./jun.2012.

MARTELLO, L. S. **Interação animal-ambiente: efeito do ambiente climático sobre as respostas fisiológicas e produtivas de vacas Holandesas em free-stall**, 2006. Tese (Doutorado em Qualidade e Produtividade Animal)- Universidade de São Paulo. Pirassununga – SP.

MATTHEE, C.A., DAVIS, S.K. 2001. Molecular insights into the evolution of the family Bovidae: a nuclear DNA perspective. **Mol. Biol. Evol.** 18:1220–1230.

MÜLLER, P.B. **Bioclimatologia aplicada aos animais domésticos**. Porto Alegre: Sulina., 262p. 1989

MCFEELEY, R.A. Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine. Vol 34. **Domestic Animal Cytogenetics**. Academic Press, Inc. N.Y.USA.1990.

NICOLAE, I. The role of cytogenetics in the genetic improvement of cattle. **3rd Joint Meeting of the Network of Universities and Research Institutions of Animal Science of the South Eastern European Countries**, Thessaloniki, p. 10-12, 2007.

PEREIRA, C.C.J. **Fundamentos de Bioclimatologia Aplicados à Produção Animal**. 1.ed. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2005. 195p.

PIRES, R. M. L.; DIB, C. C.; DUARTE, K. M. R.; AMARAL, J. B. do; MIRANDA, M. S. de. Análise citogenética de bovinos da raça Pardo-Suíça. **B. Industr.anim.**, Nova Odessa, v.67, n.2, p.151-155, 2010.

PORCIONATTO, M.A.F., FERNANDEZ, A.M., SARAN NETTO, A.; et al. Influência do estresse calórico na qualidade e na produção de leite. **Revista Acadêmica Ciências Agrárias e Ambientais**, v.7, n.4, p.483-490, 2009.

RANDALL, D.; BURGGREN, W.; FRENCH, K. Usando a energia: enfrentando desafios ambientais. In:_____. **Fisiologia Animal**. 4. Ed. p. 619-674. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2000.

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

SASAKI, M.S. e MAKINO, S. Revised study of the chromosomes of domestic catle and the horse in somatic cells in vitro. **J. hered.** 53: 157-62. 1962.

SILVA JR, J.L.C. **Zoneamento da Região Sudeste do Brasil, utilizando o índice de temperatura e umidade, para o gado leiteiro**. 2001. 73p. Tese (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.

SILVA, I. J. O. ; PANDORFI H.; ACARARO JR. I.; PIEDADE, S.M.S.; MOURA D.J. Efeitos da climatização do curral de espera na produção de leite de vacas holandesas, **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 5, p. 2036-2042, 2002.

WURSTER, D.H. e BENIRSCKE, K. Chromosome studies in the superfamily Bovidae. **Chromosoma** v.25, p. 152–171, 1968.

2 CAPÍTULO II - EFEITO DE VARIÁVEIS AMBIENTAIS, FISIOLÓGICAS E CITOGENÉTICAS EM VACAS HOLANDESAS NO SEMIÁRIDO NORDESTINO.¹

M.A.N. de Sousa^{2,4} e S. de M. Matos³

¹Parte da Dissertação do segundo autor.

²Biólogo, Doutor em genética, Docente do Programa de Pós-Graduação em Produção Animal,

³Veterinária, Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Produção Animal,

⁴Universidade Federal Rural do Semi-Árido - UFERSA, Departamento de Ciências Animais- DCAN, Mossoró, RN, Brasil.

Corresponding author: M.A.N. de Sousa

E-mail: marcossousa@ufersa.edu.br

RESUMO

1
2 Com a realização deste trabalho procurou-se avaliar o efeito do estresse térmico de
3 vacas holandesas criadas no semiárido nordestino em condição de luz solar incidente
4 (grupo 1) sombreamento artificial (grupo 2) através da análise do efeito de variáveis
5 ambientais, temperatura do ar (Tar), umidade relativa (Ur) e temperatura de globo negro
6 (Tgn); fisiológicas, frequência respiratória (FR, movimentos/minuto), temperatura retal
7 (TR, °C) e de superfície corpórea (TS, °C) e variáveis citogenéticas: índice mitótico
8 (IM) e número de cromossomos (NC). As condições ambientais verificadas
9 caracterizaram um ambiente de estresse térmico para os animais. Os parâmetros
10 fisiológicos mensurados apresentaram diferenças significativas entre os grupos
11 experimentais, mais elevadas nos animais expostos ao sol em comparação aos animais
12 confinados em sombra. As médias da frequência respiratória foram elevadas, mas os
13 valores de temperatura retal se encontraram dentro da faixa de normalidade para
14 animais leiteiros. O índice mitótico dos animais expostos ao sol indicaram
15 citotoxicidade em relação aos animais da sombra, enquanto que o número de
16 cromossomos não indicou diferenças estatísticas entre os ambientes. O cariótipo modal
17 obtido dos animais expostos ao sol e a sombra é compatível com os dados de bovinos
18 normais ($2n=60$). Nas vacas holandesas estudadas apesar de ter sido identificado
19 estresse térmico apenas foi observado aumento da citotoxicidade nos animais expostos
20 ao sol, todos os outros parâmetros se encontraram dentro da normalidade, indicando alto
21 grau de adaptação ao ambiente.

22

23 **Palavras-chaves:** Bovinos, Semiárido, Estresse Térmico.

24

ABSTRACT

25

26

27 With this work we intended to evaluate the effect of heat stress in dairy cows raised in
28 semiarid northeast on condition of incident sunlight (group 1) shading (group 2) by
29 analyzing the effect of environmental variables: air temperature (Tar) , relative humidity
30 (RH) and black globe temperature (BGT); physiological: respiratory rate (RR, breaths /
31 min) , rectal temperature (RT, ° C) and body surface (BS , ° C) and cytogenetic
32 variables: mitotic index (MI) and chromosome number (CN). Environmental conditions
33 on an environment characterized thermal stress to the animals. The measured
34 physiological parameters showed significant differences between higher experimental
35 groups in animals exposed to the sun as compared to animals confined in shadow. The
36 mean respiratory rates were high, but the values of rectal temperature were within the
37 normal range for dairy animals. The mitotic index of animals exposed to the sun showed
38 cytotoxicity towards animals shadow, while the number of chromosomes indicated no
39 statistical differences between the environments. The modal karyotype obtained from
40 animals exposed to the sun and the shade is compatible with data from normal cattle ($2n$
41 = 60). In spite of Holstein cows studied heat stress have been identified only increased
42 cytotoxicity was observed in animals exposed to the sun , all other parameters were
43 within normal limits, indicating a high degree of adaptation to the environment .

44

45 **Key-words: Cattle, Semiarid, Thermal Stress**

46 1 INTRODUÇÃO

47 A bovinocultura leiteira se desenvolveu em regiões temperadas, mas
48 aproximadamente 64% do rebanho bovino mundial são criados em regiões tropicais. No
49 Brasil dois terços do território está situado na região tropical, onde há predominância de
50 temperaturas elevadas devido à alta incidência de radiação solar; (AZEVEDO et al.,
51 2005).

52 Segundo a Pesquisa Pecuária Municipal do IBGE em 2012, a produção de leite
53 no Brasil cresceu 75,3% no período compreendido entre os anos de 1990 e 2006
54 passando de um volume total de 14,5 bilhões para 25,4 bilhões de litros/ano. O Brasil
55 apresenta a 5ª posição no cenário mundial de produção de leite. No entanto essa
56 colocação se deve ao grande número de animais ordenhados e não a produtividade
57 individual dos animais; (JÚNIOR & SANTOS, 2013a). Em relação à região nordeste,
58 no período de 1990 a 2010, analisando-se os índices: número de vacas ordenhadas,
59 quantidade de litros de leite produzidos por ano, quantidade de litros de leite por vaca
60 por ano e a produção de leite por vaca por dia de lactação (300 dias de lactação) foi
61 observado um aumento de produtividade de apenas 900 mL de leite ficando na frente
62 apenas da região norte com 800 mL; (JÚNIOR & SANTOS, 2013b).

63 O bem estar e o desempenho produtivo dos animais são alterados de acordo com
64 as condições ambientais. Altas temperaturas do ar, sobretudo quando associadas a altas
65 umidades e intensa radiação solar são responsáveis pela diminuição na produção de leite
66 de vacas de média e alta produção; (BACCARI, 2001; AGUIAR & BACCARI, 2003).

67 A atividade termorregulatória necessária para os animais homeotérmicos
68 manterem em equilíbrio suas temperaturas corporais aumenta com a alteração das
69 condições ambientais de temperatura para os limites extremos. Em condições

70 moderadas de temperatura a produção e a perda de calor estão em equilíbrio. Essa faixa
71 é chamada de zona de neutralidade térmica. Dentre desta zona reside encontra-se a
72 temperatura de conforto que ocorre quando se torna dispensável qualquer atividade
73 metabólica por parte do animal para aquecer ou esfriar o corpo e o metabolismo animal
74 é mínimo; (RANDALL et al., 2000).

75 A zona de neutralidade térmica varia de acordo com a taxa metabólica de cada
76 animal, a vaca leiteira que possui uma alta produção leiteira, produz uma grande
77 quantidade de calor metabólico fazendo com que sua zona de neutralidade térmica seja
78 baixa: entre 4°C e 15°C; (ROBINSON, 2004). Em temperaturas acima destes valores o
79 animal encontra-se em estresse térmico.

80 O estresse ambiental, fisiológico ou psicológico altera a homeostase animal
81 desencadeando mudanças nas rotas metabólicas que compõem a dinâmica fisiológica;
82 (ARANTES et al., 2013). Observa-se deste modo que a interação animal e ambiente
83 deve ser considerada na busca de maior eficiência na exploração pecuária porque as
84 diferentes respostas dos animais às peculiaridades de cada região são determinantes para
85 o sucesso da atividade pecuária; (NEIVA et al., 2004).

86 Uma das formas de verificar o efeito das condições ambientais sobre os animais
87 é através da avaliação da temperatura ambiental. O conhecimento das respostas ou
88 adaptações fisiológicas dos animais relacionados ao ambiente térmico permite promover
89 a alteração de manejo, da nutrição, instalações e equipamentos, objetivando a
90 maximização da atividade.

91 Segundo Costa e Silva et al. (2010), quando um animal é mantido em ambiente
92 inadequado, os diversos constituintes do meio, isolados ou combinados entre si, atuam

93 sobre o organismo, desencadeando uma série de reações adaptativas não específicas,
94 promovendo mudanças na fisiologia e no comportamento desse animal.

95 Fisiologicamente os animais reagem diferentemente a exposições frequentes de
96 radiação solar, dentre outros fatores ambientais alterando o comportamento e a
97 produtividade dos mesmos, além de sofrerem mudanças em vários parâmetros
98 fisiológicos; (DELFINO et al. 2012).

99 Em condições de estresse térmico os animais acionam mecanismos adaptativos
100 que implicam diretamente em mudanças na taxa metabólica, temperatura corporal,
101 frequências respiratória e cardíaca, além de alterações de metabólitos sanguíneos.

102 Dentre esses fatores fisiológicos, encontram-se os parâmetros hematológicos,
103 que podem ser citados como importante ferramenta para avaliar tanto o estado de saúde
104 do animal como o grau de estresse térmico ao qual ele está sendo submetido;
105 (ROBERTO et al. 2010).

106 O estresse térmico é capaz de alterar a fisiologia e o desempenho produtivo dos
107 animais, com o aumento da temperatura ocasionando desconforto geral do animal e
108 determinando consequências adversas da função celular; (GRUNERT et al., 2005).

109 As respostas celulares ao estresse térmico têm sido estudadas desde o artigo
110 inicial sobre a alteração do padrão de formação dos cromossômicos plumosos
111 localizados nas glândulas salivares de *Drosophila busckii* expostas ao aumento de
112 temperatura; (RITOSSA, 1962). As proteínas codificadas por estes genes ficaram
113 conhecidas como proteínas de choque térmico (heat shock proteins = hsp);
114 (TISSIÈRES, et al., 1974). Estas proteínas permitem as células adaptarem-se a
115 variações graduais no seu ambiente. Além de atuarem na regulação da apoptose e no
116 mecanismo intracelular de enovelamento das proteínas; (MORIMOTO, et al., 1994).

117 As proteínas de choque térmico hsp são classificadas de acordo com o seu peso
118 molecular, cada tipo de proteína tem um mecanismo único de ação. No gado já foram
119 identificados quatro genes que codificam a hsp70. Dois localizados no cromossomo 23
120 (hsp70-1 e hsp70-2), um no cromossomo 10 (hsp70-3) e um no cromossomo 3 (hsp70-
121 4); (GROSZ, et al., 1992; GALLAGHER et al., 1993).

122 Os cromossomos são um dos melhores materiais biológicos para analisar os
123 danos causados por exposição natural ou *in vitro* a agentes mutagênicos ambientais.
124 Uma grande variedade de agentes físicos e químicos podem causar danos aos
125 cromossomos. No nível microscópico estes danos podem ser visualizados com quebras
126 cromossômicas, quebras cromatídicas, lacunas e fragmentos cromossômicos que podem
127 afetar a vida de uma única célula ou originar danos no nível do DNA. A alta frequência
128 destes danos cromossômicos possibilita a mutação no nível somático ou meiótico;
129 (IANNUZZI, 2007).

130 As modificações celulares associadas ao choque térmico podem causar as
131 alterações na estrutura do fuso meiótico devido ao aumento da temperatura que podem
132 acarretar condensação prematura de cromossomos e formação de micronúcleos;
133 (SWANSON et al., 1995) ou desajuste do fuso mitótico e ocorrência de poliploidias
134 (VIDAIR et al., 1993).

135 Este trabalho, portanto, estudou o efeito de variáveis ambientais, fisiológicas e
136 citogenéticas em vacas holandesas em regime de confinamento com exposição contínua
137 ao sol e a sombra no semiárido nordestino.

138

139 2 MATERIAIS E MÉTODOS

140

141 2.1 LOCAL DE EXECUÇÃO DO EXPERIMENTO

142 Os experimentos com os animais foram conduzidos no Setor Didático de
143 Bovinocultura Leiteira (5° 12' 32.03'' de latitude e 37° 18' 59.38'' de longitude), e a
144 análise citogenética foi desenvolvida no Laboratório de Genética e Evolução
145 (LAGENE), setores do Departamento de Ciências Animais (DCAN) da Universidade
146 Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, durante os meses de julho a agosto de 2012.

147

148 2.2 ANIMAIS UTILIZADOS

149 Foram utilizadas 10 fêmeas bovinas não puras da raça Holandesa Branca e Preta
150 com variação de cor de pelagem normal da raça (Figura 3). Os animais foram
151 alimentados com volumoso, sal mineral e água *ad libitum* e ração comercial
152 concentrada no cocho.

153

154 **Figura 3.** Fotografia de fêmeas bovinas da raça Holandesa Branca e Preta não puras
155 utilizadas no experimento demonstrando a variação normal da cor da
156 pelagem. Fonte. Autor. 2013.

157



158

159 Para a realização do período experimental foi utilizado 20 dias iniciais para
160 adaptação dos animais aos ambientes experimentais. Em seguida, foram formados dois
161 grupos experimentais, diferentes entre si, pela forma de confinamento, em regime de
162 exposição ao sol (G1) ou a sombra (G2) continuamente durante o experimento.

163 O grupo G1 composto por cinco vacas, com idade entre 2 a 5 anos, que foram
164 mantidas em um piquete de tamanho 100mx50m, totalmente descoberto, sem cobertura
165 ou árvores, inclusive os cochós, com luz solar incidente durante todo o dia. O grupo G2
166 foi composto por cinco vacas, com idade entre 4 a 6 anos, que foram mantidas em
167 estábulos individuais com sombreamento artificial (telhas e tela sombrite com fator de
168 sombreamento de 70%). Além de uso de aspersores entre 11h e 14h e livre espaço para
169 circulação de ar. As baias tinham dimensões 4,04 m X 2,85 m. com a altura da parede
170 de 1,58 m e a altura restante até o teto de 2,23 m perfazendo uma altura total de 3,81m.
171 (Figura 4).

172

173 2.3 ANÁLISE DAS VARIÁVEIS AMBIENTAIS E FISIOLÓGICAS

174 Para as análises ambientais foram avaliadas a temperatura do ar (t_{Ar} , °C),
175 umidade relativa do ar (UR, %) e temperatura de globo negro (T_g , °C). Para as
176 análises fisiológicas foram avaliadas a frequência respiratória (Fr, movimentos
177 respiratórios/ minuto), temperatura retal (T_r , °C) e temperatura de superfície corporal,
178 (T_s °C).

179 As variáveis ambientais foram medidas com o auxílio de um anemômetro
180 climático, e as fisiológicas com um termômetro digital clínico, para a temperatura retal
181 e um termômetro digital com infravermelho para a temperatura de superfície corporal.
182 Esta última foi tomada em três pontos do corpo do animal, pescoço, dorso e garupa.

183 Para as análises desta variável foi utilizada a média dos três pontos por animal em
184 ambos ambientes experimentais.

185 Estes dados foram aferidos nos animais através de avaliações consecutivas a
186 cada hora, das 9 às 15 horas de todos estes parâmetros fisiológicos e ambientais em
187 ambos ambientes experimentais, durante nove dias consecutivos após o término do
188 período de adaptação.

189

190 2.4 ANÁLISE DAS VARIÁVEIS CITOGENÉTICAS

191

192 2.4.1 Coleta do sangue e cultivo de células sanguíneas para análise citogenética

193 De acordo com a aprovação no comitê de ética foram coletadas amostras, após
194 assepsia do local com álcool iodado, de quatro ml de sangue venoso ou arterial de
195 todas as vacas analisadas através de punção da veia jugular utilizando o sistema de
196 tubos de coleta a vácuo, com anticoagulante heparina sódica.

197 As células sanguíneas foram cultivadas em cultura celular em meio RPMI 1640
198 mais soro bovino fetal segundo a técnica de Rocha e Jorge (1989). Em cada tubo de
199 centrífuga estéril foi colocado quatro ml de meio de cultura e cinco a seis gotas de
200 sangue periférico, que foi cultivado por 72 horas.

201 Figura 4. Fotografia dos ambientes experimentais onde as fêmeas bovinas não puras da
202 raça Holandesa Branca e Preta ficaram durante o experimento. (a). Ambiente
203 do grupo 1 (sol), na época do experimento o cocho estava sem telhas,
204 totalmente descoberto e b(). ambiente do grupo 2 (sombra). Fonte. Autor.
205 2013.
206

**a****b**

208 2.4.2 Preparação das lâminas de microscopia

209 Após 72 horas do cultivo os tubos foram retirados da estufa e foram adicionadas
210 duas gotas de colchicina a 0,025% com pipeta Pasteur descartável, em cada um. Após
211 45 minutos os tubos foram centrifugados por 10 minutos na velocidade de 1200 rpm. O
212 sobrenadante foi desprezado e foram adicionados sete ml de solução hipotônica (0,075
213 M de cloreto de potássio), homogeneizando-os e colocados na estufa a 37 °C por 15
214 min. Foram acrescentados 10 ml do fixador metanol/ácido acético (3:1),
215 homogeneizando e centrifugando as amostras por 10 min. com retirada do sobrenadante
216 seguida de fixação. Este processo foi repetido por três vezes. Após a última lavagem, o
217 material no tubo foi homogeneizado e duas gotas foram lançadas em lâminas de
218 microscopia limpas e postas para secar ao ar. Em seguidas as lâminas foram coradas
219 com solução de Giemsa na proporção de 1:30 por sete min. e depois, lavadas em água
220 destilada e colocadas para secar ao ar.

221

222 2.4.3 Análise das lâminas

223 As lâminas foram analisadas ao microscópio óptico para a contagem das células
224 e estabelecimento do número diploide (2n). Foram contadas cerca de 20 células por
225 animal. As metáfases com melhor definição e com os cromossomos mais espalhados e
226 com poucas sobreposições foram fotografadas em microscópio acoplado a câmera
227 digital em objetiva de imersão com aumento da imagem de 1000×. As fotos dos
228 cromossomos foram trabalhadas no programa Gimpshop 2.2.8 para correção de
229 contraste e densidade e para montagem do cariótipo de acordo com a morfologia e o
230 tamanho dos cromossomos. Também foi realizada a contagem das células em metáfase
231 para estabelecimento do índice mitótico (número de células em metáfase dividido pelo

232 número de células totais vezes 100). Este índice quando apresenta um valor baixo é um
233 indicador de citotoxicidade celular. Para análise deste parâmetro foram contadas 1.000
234 células por animal.

235

236 2.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

237 O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com dois tratamentos
238 e cinco repetições. Foram realizadas com o auxílio do programa Bioestat 5.0 as análises
239 estatísticas descritivas das variáveis ambientais e fisiológicas; o teste U de Mann-
240 Withney para a comparação das distribuições (média, mediana e desvio padrão) e o teste
241 F para comparação das variâncias entre os animais dos grupos de sol e sombra com
242 nível de significância de 0,05.

243 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

244

245 3.1 VARIÁVEIS AMBIENTAIS

246 De acordo com os valores das variáveis ambientais correspondentes às médias
 247 registradas, foi observada que a elevada temperatura do ar, com pronunciada diferença
 248 de temperatura entre o grupo da sombra e o grupo do sol caracterizou um ambiente de
 249 estresse térmico para os animais (Tabela 1).

250

251 **Tabela 1** Variação das distribuições gerais para as variáveis meteorológicas analisadas
 252 nos ambientes durante o período experimental.

253

Variáveis	Grupo	Média	Desvio padrão
Tar	1 ^a	30,386	±1,5502
	2 ^b	32,091	±2,2481
UR	1 ^a	57,354	±6,6288
	2 ^b	50,711	±8,1739
TGsol	1 ^a	37,111	±4,9448
	2 ^b	42,403	±4,6603
TGsombra	1 ^a	31,603	±1,3301
	2 ^b	33,477	±2,0267

254 As distribuições seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo
 255 teste de Mann-Whitney a 5% de significância. Tar- temperatura do ar; UR- Umidade
 256 relativa do ar; TGsol -temperatura de globo negro ao sol (°C) e TGsombra -
 257 temperatura do globo negro à sombra (°C). Grupo 1 = animais no sol e Grupo 2 =
 258 animais estabulados à sombra.

259

260 Observa-se que a temperatura média ambiental tanto no sol quanto na sombra foi
 261 superior à temperatura de 26°C, considerada limite crítico para a ocorrência de estresse

262 por calor em vacas da raça holandesa (BERMAN et al. 1985). Em vacas leiteiras, a
263 temperatura ambiente é um importante fator determinante para o seu desempenho
264 reprodutivo. Existe grande variação na literatura sobre as temperaturas crítica superior
265 (TCS) e inferior (TCI), que delimitam a faixa de termoneutralidade, pois o conforto
266 térmico também depende da umidade relativa do ar, da adaptação do animal ao
267 ambiente e de seu nível metabólico, que passa pelos níveis nutricionais e de produção
268 (NASCIMENTO et al. 2013).

269 Passini et al. (2009) relatam que animais se encontram em conforto térmico com
270 a média da umidade relativa do ar em 62% e apresentam estresse calórico com média de
271 58%, indicando que, neste presente estudo, as vacas estão em estresse térmico, pois a
272 média da umidade relativa do ar foi inferior a estes valores (57,35 no sol e 50,71 na
273 sombra).

274 Para Marcheto et al. (2002) os investimentos em ambiência devem levar em
275 conta os dados de clima local, pois estes autores avaliando o efeito da temperatura de
276 bulbo seco (TBS), globo negro (GN) e índices de temperatura e umidade (ITU) em
277 vacas em produção; observaram declínio da produção tanto para vacas de alta produção
278 quanto para vacas de baixa produção em altas temperaturas.

279

280 3.2 VARIÁVEIS FISIOLÓGICAS

281 De acordo com os valores das variáveis fisiológicas correspondentes às médias
282 registradas, foi observado que não houve diferenças significativas entre o ambiente de
283 sol e sombra nos valores da frequência respiratória, temperatura de superfície e da
284 temperatura retal. Tabela 2.

285

286 **Tabela 2.** Variação das distribuições gerais da frequência respiratória (FR, m.p.m.),
 287 temperatura retal (TR, °C) e temperatura de superfície (TS, C°), das vacas
 288 Holandesas criadas no setor de bovinocultura da UFERSA, Mossoró- RN
 289 durante o período experimental.
 290

Variáveis	Grupo	Média	Desvio padrão
FR	1 ^a	59,69	±17,487
	2 ^a	63,97	±15,990
TR	1 ^a	38,186	±0,6006
	2 ^a	38,320	±0,4946
TS	1 ^a	37,587	±3,8375
	2 ^a	38,459	±4,3246

291 As distribuições seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo
 292 teste de Mann-Withney a 5% de significância; GRUPO 1 = vacas estabuladas à sombra;
 293 GRUPO 2 = vacas expostas ao sol.
 294

295 No entanto de acordo com os valores das variáveis fisiológicas constantes na
 296 Tabela 2, observa-se que as médias da frequência respiratória (59,69 m.p.m. para grupo
 297 1 e 63,97 m.p.m. para grupo 2) foram elevadas, com números considerados acima do
 298 normal para vacas adultas segundo vários autores. Segundo Randall et al. (2000) o valor
 299 norma situa-se em torno de 24 movimentos por minuto (m.p.m.), em condições de
 300 conforto térmico e para Ferreira et al. (2006), a frequência respiratória normal em
 301 bovinos adultos está entre 24 e 36 movimentos respiratórios por minuto, mas pode
 302 variar entre 12 e 36 movimentos por minutos.

303 A medida da temperatura retal é usada frequentemente como índice de
 304 adaptabilidade fisiológica aos ambientes quentes. (NASCIMENTO et al. 2013). Pois a
 305 temperatura retal é um dos parâmetros que mais se aproxima da temperatura corporal

306 dos animais. É utilizado para identificar se há variações, pois seu aumento indica que os
307 mecanismos de liberação de calor tornaram-se ineficientes (MARTELLO, 2004).

308 Os valores encontrados de temperatura retal (38,18°C e 38,32°C) se
309 encontraram dentro da faixa de normalidade para animais leiteiros, descrito por
310 Robinson (2004), mostrando que, os animais apesar de estarem em estresse térmico,
311 mantiveram sua homeostasia.

312 A temperatura de superfície média dos animais expostos ao sol (37,58°C) foi
313 menor que a dos animais estabulados à sombra (38,45°C). Segundo Martello et al.
314 (2004), a temperatura da superfície corporal de vacas da raça Holandesa, alojadas em
315 instalações climatizadas, pode variar de 31,6°C a 34,7°C, sem indicar que o animal está
316 sofrendo estresse pelo calor. Deste modo observa-se que neste trabalho tanto os animais
317 no ambiente exposto ao sol quanto na sombra estavam em condições de estresse térmico.

318 Além disso, o estresse térmico em vacas de alta produção resulta em redução na
319 ingestão de volumoso e o tempo de ruminação. A redução na ingestão de alimentos em
320 condições de estresse leva ao aumento da temperatura corporal e pode estar relacionada
321 ao enchimento do trato gastrintestinal (SILANIKOVE, 1992).

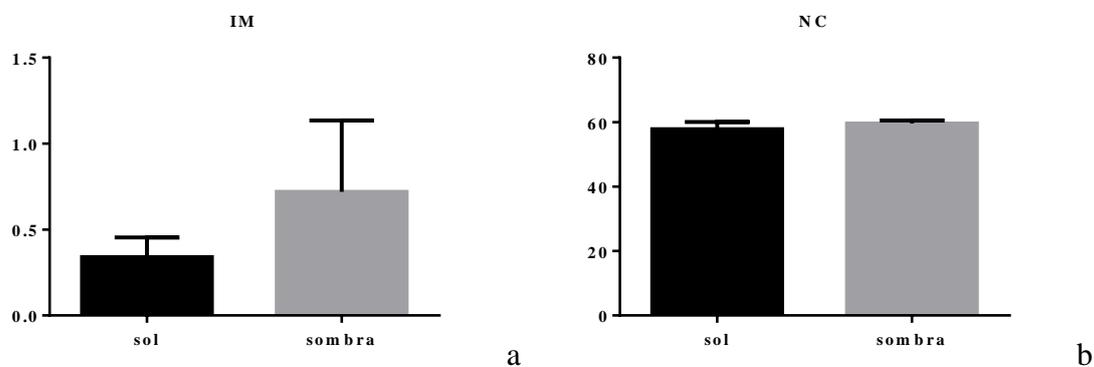
322

323 3.3 VARIÁVEIS CITOGENÉTICAS

324 Foram coletadas das amostras de sangue para análise citogenética e de
325 citotoxicidade de 10 animais, cinco de cada grupo: G1 (sombra) e G2 (sol). Foram
326 analisados o Índice Mitótico (IM) e o Número de Cromossomos (NC).

327 Em relação ao índice mitótico, foi observado que a média do grupo 1 (0,03) foi
328 inferior a do grupo 2 (0,46). Indicando que neste grupo a citotoxicidade celular foi
329 maior, pois quanto menor o índice mitótico maior a citotoxicidade celular. (Figura 5).

330 **Figura 5.** Gráficos das médias e desvio padrão do índice mitótico (IM) e do número de
 331 cromossomos (NC) das células analisadas dos animais durante o período
 332 experimental nos ambientes de sol e sombra.
 333



334
 335 Os resultados estatísticos para os dados de índice mitótico e número de
 336 cromossomos não indicam diferenças entre os dois grupos no teste de hipóteses. O que
 337 pode ser resultado da grande variância encontrada nos dados, pois o teste F para
 338 comparar variâncias demonstrou que com nível de significância ($P < 0,05$) os valores de
 339 IM são significativamente diferentes, mas os valores de NC não (Tabela 3.)

340

341 **Tabela 3.** Variação das distribuições gerais do índice mitótico (IM) e do número de
 342 cromossomos (NC) das vacas Holandesas criadas no setor de bovinocultura
 343 da UFERSA, Mossoró- RN durante o período experimental.
 344

Variáveis	Grupo	Média	Desvio padrão	Teste F
				($P < 0,05$)
IM	1 ^a	0,0340	0,01140	0,33 ^c
	2 ^a	0,4680	0,57738	0,70 ^d
NC	1 ^a	57,80	2,280	58 ^c
	2 ^a	59,80	0,447	60 ^c

345 Distribuições seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste
 346 de Mann-Whitney (a,b) e pelo teste F (c,d) a 5% de significância. b); letra GRUPO 1 =
 347 vacas estabuladas à sombra; GRUPO 2 = vacas expostas ao sol.
 348

349 Através da análise de leucócitos de leitões desmamados da raça Merino e de
350 bezerras da raça Holandês com idade entre seis e nove meses foi determinado que a
351 temperatura ótima para o disparo do choque térmico de leucócitos de bovinos é
352 43,58°C. (AGNEW & COLDITZ, 2008).

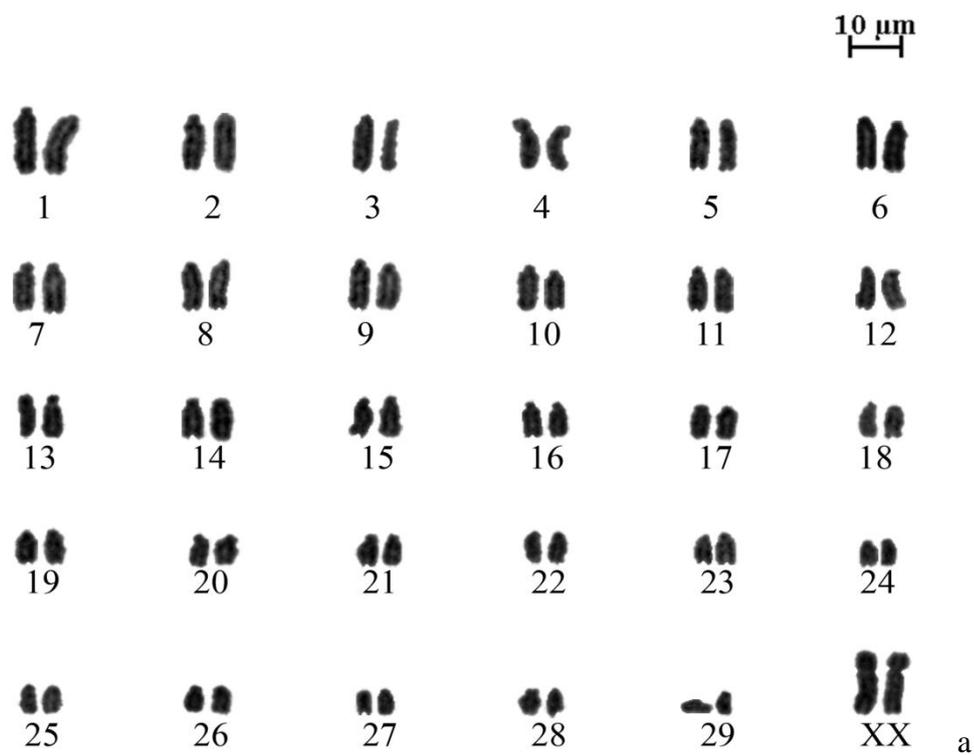
353 Em relação aos cromossomos, apesar de haver pequena variação entre as médias
354 dos números cromossômicos entre os dois grupos experimentais (Figura 5). O número
355 modal do cariótipo observado nesse estudo foi o número diploide $2n=60$ constituído por
356 cromossomos autossômicos acrocêntricos e, nos pares sexuais, por um cromossomo X
357 submetacêntrico (Figura 6). Este resultado é compatível com os dados de bovinos
358 normais, não sendo identificada nenhuma anomalia numérica, tanto no grupo 1 quanto
359 no grupo 2.

360 A variação de idade dos exemplares de vacas holandesas foi de dois a cinco anos
361 no grupo G1 e de quatro a seis no grupo G2. E embora já tenham sido identificadas na
362 literatura científica alterações cromossômicas numéricas (poliploidias) em bovinos das
363 raças simental e nelore de diferentes idades e tenha sido observado que possivelmente
364 ocorra uma correlação entre a idade e o número de poliploidias (LUNA et al., 2012).
365 Neste trabalho não foram identificadas diferenças cromossômicas numéricas do tipo
366 poliploidias em relação a idade dos animais.

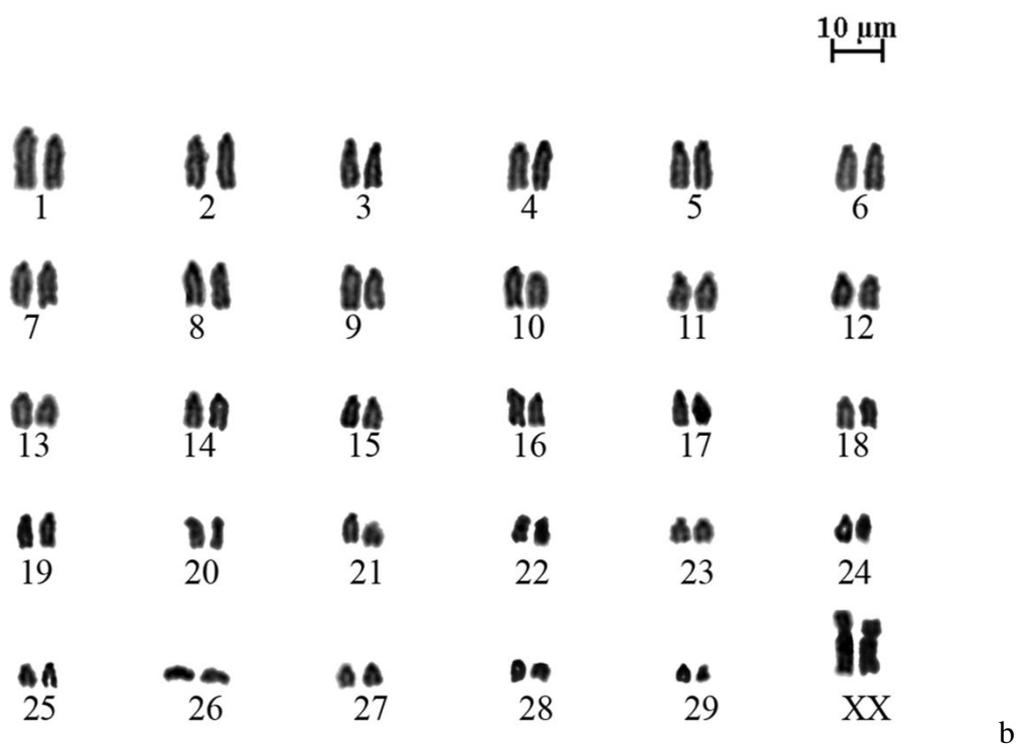
367 Outros autores já identificaram anomalias cromossômicas em bovinos, sendo a
368 mais comum a alteração cromossômica estrutural do tipo translocação robertsoniana.
369 (ROCHA e JORGE, 1989). Este tipo de alteração está ligado a problemas de fertilidade,
370 em machos e fêmeas de bovinos, com intensidade variável de acordo com o
371 acasalamento (GARY et al., 1991; VAINAS et al., 1992).

372

373 **Figura 6.** Cariótipo em coloração convencional de (a) exemplar de vaca do grupo do sol
374 e (b) do grupo da sombra.



375



376

377 .

378 4 CONCLUSÕES

379

380 Durante o período experimental foi observada elevada temperatura do ar, com
381 pronunciada diferença de temperatura entre o grupo do sol e o grupo da sombra
382 caracterizando um ambiente de estresse térmico para os animais.

383 Embora as médias da frequência respiratória tenham sido elevadas, acima do
384 considerado normal para vacas adultas, os valores de temperatura retal se encontraram
385 dentro da faixa de normalidade para animais leiteiros.

386 O índice mitótico dos animais expostos ao sol indicaram citotoxicidade em
387 relação aos animais da sombra, enquanto que o número de cromossomos não indicou
388 diferenças estatísticas entre os ambientes.

389 Os parâmetros estudados demonstraram alto grau de adaptabilidade dos animais
390 ao ambiente semiárido.

391

392 **5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

393

394 AGNEW, L. L. e COLDITZ, I. G. 2008. Development of a method of measuring
395 cellular stress in cattle and sheep. **Veterinary Immunology and Immunopathology**.
396 123, 197–204.

397 AGUIAR, I. S.; BACCARI JR. F. Respostas fisiológicas e produção de leite de vacas
398 holandesas mantidas ao sol e com acesso a sombra natural. **Revista Científica**
399 **Eletrônica de Medicina Veterinária**, Ed. Num. 1, jul, 2003.

400 ARANTES, A. O., AQUINO, B. R., URMAN, F. L., FRANCELINO, P. E., Barbosa, T.
401 C. e BERBER, R. C. A. Efeitos da Condição de Estresse em Bovinos de Corte.
402 **Scientific Electronic Archives**. V. 3.,p. 63-72 .2013.

403 AZEVEDO, M.; PIRES, M.F.A.; STURNINO, H.M.; LANA, A.M.Q.; SAMPAIO I.B.;
404 MONTEIRO J.B.N.; MORATO, L.E. Estimativa de níveis críticos superiores do índice
405 de temperatura e umidade para vacas leiteiras 1/2, 3/4 e 7/8 holandês – zebu em
406 lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 6, p. 2000-2008, 2005.

407 BACCARI JR, F. **Manejo ambiental da vaca leiteira em climas quentes**. Editora
408 UEL. Londrina, PR, 142 p. 2001.

409 BERMAN, A.; FOLMAN, Y.; KAIM, M.. Upper critical temperatures and forced
410 ventilation effects for high-yeld dairy cows in a subtropical climate. **Journal of**
411 **Dairy Science**, v.68,n.6, p.1489-2432. 1985.

412 COSTA, R.M.; MENK, C.F.M. Biomonitoramento de mutagênese ambiental.

413 **Biotecnologia: Ciência e Desenvolvimento**. 2000, v.3, n.12, p.24-26.

- 414 COSTA-E-SILVA, E. V. da; RUEDA, P. M.; CARNEIRO, R. C. P. B.; MACEDO, G.
415 G.; ZÚCCARI, C. E. S. N. Estratégias para avaliar bem-estar animal em animais em
416 reprodução. **Ciências Veterinárias Tropicais**, v. 13, suplemento 1, p. 20 -28, 2010.
- 417 DELFINO, L. J. B.; SOUZA, B. B. de; SILVA, R. M. N. da; SILVA, W. W. Influência
418 bioclimatológica sobre os parâmetros hematológicos de bovinos leiteiros. **Revista**
419 **Agropecuária Científica no Semiárido**. V. 8, n. 2, p. 08-15, abr - jun, 2012.
- 420 GALLAGHER, D.S., GROSZ, M.D., WOMACK, J.E., Skow, L.C., 1993.
421 Chromosomal localization of HSP70 genes in cattle. **Mamm. Genome** 4, 388–390.
- 422 GARY, F.; CONCORDET, D.; BERLAND, H.M.; BERTHELOT, D.R. Does the 1/29
423 Robertsonian translocation affect the fertility of Blonde d’Aquitaine breed bulls?
424 **Theriogenology**, v.36, p.419-25, 1991.
- 425 GROSZ, M.D., WOMACK, J.E., SKOW, L.C., 1992. Syntenic conservation of HSP70
426 genes in cattle and humans. **Genomics** 14, 863–868.
- 427 GRUNERT, E.; BIRGEL, E.H.; VALE, W.G. **Patologia e clínica da Reprodução dos**
428 **Animais Mamíferos Domésticos – Ginecologia**. São Paulo, Livraria Varela, 2005.
- 429 IANNUZZI, L. 2007. Cytogenetics in animal production. **Ital.J.Anim.Sci**. Vol. 6
430 (suppl. 1), 23-28.
- 431 IBGE. **Produção da Pecuária Municipal**. Vol. 39. 2012.
- 432 JÚNIOR, G.N., SANTOS, E.Ba. Evolução da produção leiteira do Brasil. **Revista de**
433 **Veterinária e Zootecnia**. jun.; 20(2 Supl 1): 216-217, 2013.
- 434 JÚNIOR, G.N., SANTOS, E.Ba. Evolução da produção leiteira do Brasil. **Revista de**
435 **Veterinária e Zootecnia**. jun.; 20(2 Supl 1): 218-219, 2013
- 436 LUNA, H.S. Citogenética clássica aplicada ao monitoramento de germoplasma bovino.
437 **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, v.36, n.2, p.84-93, abr./jun.2012.

- 438 MARCHETO, F. G., NÄÄS, I.A., SALGADO, D.D., et al. Efeito das temperaturas de
439 bulbo seco e de globo negro e do índice de temperatura e umidade, em vacas em
440 produção alojadas em sistema de freestall. **Brazilian Journal Veterinary Research**
441 **Animal Science.**, vol.39, n.6, pp. 320-323, 2002
- 442 MARTELLO, L. S.; SAVASTANO JR, H.; PINHEIRO, M. G. Avaliação do
443 microclima de instalações para gado de leite com diferentes recursos de climatização.
444 **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 263-273, maio/ago. 2004.
- 445 MORIMOTO, R.I., TISSIERES, A., GEORGOPOULOS, C., 1994. **Progress and**
446 **perspectives on the biology of heat shock proteins and molecular chaperones.** In:
447 Morimoto, R.I., Tissieres, A., Georgopoulos, C. (Eds.), **The Biology of Heat Shock**
448 **Proteins and Molecular Chaperones.** Cold Spring Harbour Laboratory Press, Cold
449 Spring Harbour, pp. 1–30.
- 450 NASCIMENTO, G.V., CARDOSO, E.A., BATISTA, N.L., SOUZA, B.B. e CAMBUÍ,
451 G.B. Indicadores produtivos, fisiológicos e comportamentais de vacas de leite. **Revista**
452 **Agropecuária Científica no Semiárido.** V. 9, n. 4, p. 28-36, out – dez , 2013.
- 453 NEIVA, J.N.M; TEIXEIRA, M.; TURCO, S.H.N.; OLIVEIRA, S.M.P.; MOURA,
454 A.A.A.N. Efeito do estresse climático sobre os parâmetros produtivos e fisiológicos de
455 ovinos Santas Inês mantidos em confinamento na região litorânea do Nordeste do
456 Brasil. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.33, n.3, p.668-678, 2004.
- 457 PASSINI, R.; FERREIRA, F.A.; BORGATTI, L.M.O.; TERÊNCIO, P.H.; SOUZA,
458 R.T.Y.B.; RODRIGUES, P.H.M. Estresse térmico sobre a seleção da dieta por bovinos.
459 **Revista Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.31, n.3, p.303-309, 2009.

- 460 RANDALL, D.; BURGGREN, W.; FRENCH, K. Usando a energia: enfrentando
461 desafios ambientais. In:_____. **Fisiologia Animal**. 4. Ed. p. 619-674. Rio de Janeiro,
462 RJ: Guanabara Koogan, 2000.
- 463 RITOSSA, F. A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in
464 *Drosophila*. **Experientia** 18, 571–573. 1962.
- 465 ROBERTO, J.V.B.; SOUZA, B.B.; SILVA, A.L.N.; JUSTINIANO, S.V.; FREITAS,
466 M.M.S.; Parâmetros hematológicos de caprinos de corte submetidos a diferentes níveis
467 de suplementação no semi-árido paraibano. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 23, n. 1,
468 p.127-132, jan.-mar. 2010.
- 469 ROBINSON, N. E.; Homeostase, Termorregulação. In: CUNNINGHAM, J. G.;
470 **Tratado de Fisiologia Veterinária**. 3. ed. p. 550-561. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara
471 Koogan, 2004.
- 472 ROCHA, G.T.; JORGE, W. Citogenética de bovinos. **Ciência & Cultura**, v.41, n.7,
473 p.629-45, 1989.
- 474 SILANIKOVE, N. Effects of scarcity and hot environment on appetite and digestion in
475 ruminants: a review. **Livestock Production Science.**, v.30, p.175-194, 1992.
- 476 SWANSON, P. E.; CARROLL,S. B.; ZHANG, X. F.; MICKEY, M. A. Spontaneous
477 Premature Chromosome Condensation, Micronucleus Formation, and Non-Apoptotic
478 Cell Death in Heated HeLa S3 Cells. **American Journal of Pathology**, V. 146, N. 4,
479 P.963 – 971, 1995.
- 480 TISSIÈRES, A., MITCHELL, H.K., TRACY, U.M. Protein synthesis in salivary glands
481 of *Drosophila melanogaster*: relation to chromosome puffs. **J. Mol. Biol.** 85, 389–398.
482 1974.

- 483 VAINAS, E.; BELIBASAKIS, N.; BOSCOS, C. Robertsonian translocation in Sikia
484 Chalkidiky cattle. **Theriogenology**, v.37, p.1085-9, 1992.
- 485 VIDAIR, C.A.; DOXSEY, S.J.; DEWEY, W.C. Heat shock alters centrosome
486 organization leading to mitotic dysfunction and cell death. **Journal of cell Physiology**,
487 n.154, p. 443, 1993.

488 **6 NORMAS DA REVISTA**

489

490 Cap II formatado de acordo com as normas da REVISTA BRASILEIRA DE SAÚDE E

491 PRODUÇÃO ANIMAL - RBSPA

492

493 Brazilian Journal of Animal Health and Production

494 www.rbspa.ufba.br www.periodicos.capes.gov.br

495 71 32836725 rbspa@ufba.br

496