



Conforto térmico na reprodução de bubalinos criados em condições tropicais

Thermal comfort on reproductive processes of water buffaloes raised under tropical conditions

A.R. Garcia¹

¹Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP, Brasil.
Correspondência: alexandre.garcia@embrapa.br

Resumo

O aumento da demanda por alimentos, a restrição dos recursos naturais e o aquecimento global são atuais desafios para a produção animal. Uma vez que a população de bubalinos domésticos (*Bubalus bubalis*) é majoritariamente criada em países da zona intertropical, o estresse térmico constitui um problema real para sua produção. Por isso, alternativas estratégicas devem ser adotadas, a fim de garantir aos animais conforto térmico e bem-estar. Entre elas, as ações mais ecológicas e efetivas estão relacionadas ao manejo do ambiente. Uma vez que os búfalos são animais de epiderme escura e pouco refletivos à radiação solar, o oferecimento de sombra natural nas pastagens ajuda a prevenir a radiação direta sobre os animais e facilita sua termorregulação. Entre as consequências positivas da adoção dos sistemas silvipastoris estão a redução dos índices bioclimatológicos no microclima das pastagens e o aumento no conforto animal, o qual leva a um desenvolvimento folicular mais satisfatório, ao aumento nas taxas de concepção após inseminação artificial em tempo fixo, ao desenvolvimento fetal adequado e a partos normais.

Palavras-chave: bem-estar animal, búfalo, eficiência reprodutiva, sistemas silvipastoris.

Abstract

*Increasing demands for food, restriction of natural resources and global warming are contemporaneous challenges for livestock production. The domestic buffalo population (*Bubalus bubalis*) is mostly concentrated in countries of intertropical zone and crescent thermal stress is a real problem to the buffalo production. Therefore, strategic alternatives must be adopted in order to ensure thermal comfort and animal welfare. The most ecological and effective actions are related to environmental management. Since buffaloes have dark epidermis and are almost unreflective to the solar radiation, providing natural shadow in the paddocks helps to prevent direct radiation on the animals and benefits thermoregulation process. Positive consequences of silvopastoral systems adoption are reduced bioclimatic indexes on pastures and higher animal comfort, which is involved in satisfactory folliculogenesis, increases in conception rates after fixed time artificial insemination, normal fetal development and parturition.*

Keywords: animal welfare, buffalo, reproductive efficiency, silvopastoral systems.

Introdução

A população mundial de búfalos domésticos (*Bubalus bubalis*) é estimada em 168 milhões de animais. Desses, 161 milhões de animais são encontrados na Ásia (95,83%), 3,7 milhões estão na África, quase exclusivamente concentrados no Egito (2,24%), 3,3 milhões na América do Sul (1,96%), 500 mil na Europa (0,30%) e 34 mil na Austrália (0,02%; Borghese e Mazzi, 2005). Apesar de os búfalos serem criados entre as latitudes 45°N e 40°S, considera-se que aproximadamente 85% deles estejam exclusivamente na zona intertropical do planeta (entre os paralelos 23°26'N e 23°26'S), a qual é caracterizada por temperaturas médias elevadas durante a maior parte do ano e, não raramente, alta umidade relativa do ar.

Atualmente, o mundo passa por mudanças significativas e as estimativas socioeconômicas apontam para um aumento da população dos atuais sete bilhões para mais de nove bilhões de pessoas em 2050. Esse fenômeno, associado à urbanização e ao aumento da riqueza, criará demanda por produtos variados e de elevada qualidade. Ainda, o cenário futuro aponta para maior competição por terra, água e energia, com aumento da vulnerabilidade dos sistemas de produção animal. Com os eventos associados ao aquecimento global, a produção de alimentos se dará em condições de aumento de temperatura e mudanças nos padrões de precipitação pluviométrica. Por isso, a capacidade de adaptar os sistemas de produção e os recursos genéticos afetará a forma como os principais países produtores de alimentos se posicionarão em um novo contexto mundial, não muito distante dos dias atuais. E, evidentemente, esse cenário influenciará também a bubalinocultura.

De forma geral, o estresse pode ser definido como qualquer fator ou alteração de ambiente que quebre a homeostase, a qual é um complexo e dinâmico equilíbrio que rege o correto funcionamento dos organismos vivos. O estresse impede os animais de expressarem todo seu potencial genético, gerando redução no desempenho e prejuízos à eficiência reprodutiva. Entre os fatores que podem ser causa de desequilíbrio da homeostase, os mais importantes são enfermidades clínicas, privações nutricionais, incorreto manejo do rebanho, transporte e estresse térmico, seja pelo frio ou pelo calor. Considera-se que as condições climáticas ideais para o crescimento e a reprodução dos búfalos são temperatura do ar entre 13 e 18°C, associada à umidade relativa do



ar média entre 55 e 65%, insolação de média intensidade e velocidade do vento entre 5 e 8 km/h (Marai e Haebe, 2010). Assim, com base nas características climáticas dos países onde a grande maioria do contingente bubalino é criada, pode-se presumir que o real problema da bubalinocultura esteja relacionado ao estresse pelo calor. Com base no exposto, o objetivo do presente trabalho foi abordar os efeitos do estresse térmico nos processos reprodutivos de bubalinos e apontar algumas estratégias que podem ser adotadas para reduzir o impacto do calor ambiental sobre a eficiência reprodutiva dos rebanhos, com ênfase nos aspectos relacionados às fêmeas.

A quebra da homeostase pelo calor ambiental

Os búfalos são animais homeotérmicos e, como tal, são capazes de manter a sua temperatura corpórea dentro de uma estreita faixa, valendo-se para isso de alguns artifícios fisiológicos e comportamentais que auxiliam na termorregulação. A temperatura do ar é um dos fatores climáticos com maior influência sobre o ambiente físico em que o animal se encontra. Temperaturas ambientes acima de 30°C são consideradas prejudiciais para a produção de búfalas leiteiras (Titto et al., 1997), pois influenciam a temperatura corpórea e, conseqüentemente, o metabolismo animal. A temperatura corpórea expressa, portanto, a condição instantânea do animal quanto ao seu estado de retenção ou dissipação do calor e pode ser considerada como um índice que mede a capacidade de adaptação do animal a ambientes quentes. Diferentes faixas de temperatura interna têm sido descritas para bubalinos, com algumas variações associadas a idade, condição fisiológica e sistemas de manejo adotados (Tab. 1).

Tabela 1. Temperatura retal de bubalinos criados em distintas condições de manejo, sob diferentes latitudes.

| Categoria | Temperatura retal (°C) | Local | Coordenadas geográficas | Condição de manejo | Referência |
|---|--------------------------------|------------------------|-------------------------|--|-----------------------------|
| Bezerros (até 6 meses) | 38,3 ± 0,26 a 39,3 ± 0,36 | Belém, PA, Brasil | 01°25'S; 48°26'W | sistema silvipastoril (18-21% de área sombreada) | Moraes Júnior et al. (2010) |
| Machos (7 a 9 meses) | 38,50 ± 0,37 a 40,57 ± 0,10 | Karnal, Índia | 29°70'N; 76°98'E | estabulação aberta, sem sombreamento | Das et al. (1999) |
| Machos jovens (1 a 1,5 ano) | 38,8 a 39,2 | Salvaterra, PA, Brasil | 00°40'S; 48°33'W | pastagem cultivada, com árvores remanescentes | Lourenço Junior (1998) |
| Machos castrados (2 anos) | 38,13 | Maringá, PR, Brasil | 23°25'S; 51°57'W | confinados em baias individuais | Barbosa et al. (2007) |
| Machos jovens (1 a 2 anos) | 38,48 | Karnal, Índia | 29°70'N; 76°98'E | estabulação fechada | Haque et al. (2012) |
| Machos adultos (3 a 4 anos) | 37,20 | Karnal, Índia | 29°70'N; 76°98'E | estabulação fechada | Haque et al. (2012) |
| Fêmeas adultas não lactantes e não gestantes (2,5 anos) | 39,30 ± 0,37 | Los Banos, Filipinas | 14°15'N; 121°24'E | confinadas em baias individuais | Koga et al. (2004) |
| Fêmeas adultas não lactantes e não gestantes (4 a 5 anos) | 38,2 ± 0,1 a 38,8 ± 0,1 | Belém, PA, Brasil | 01°26'S; 48°26'W | a pasto, sem sombra nem água para banho | Silva et al. (2011b) |
| Fêmeas adultas não lactantes e não gestantes (4 a 5 anos) | 38,2 ± 0,1 a 38,6 ± 0,1 | Belém, PA, Brasil | 01°26'S; 48°26'W | sistema silvipastoril | Silva et al. (2011b) |
| Fêmeas adultas não lactantes e não gestantes (6 a 7 anos) | 38,94 ± 0,56 a 39,11 ± 0,48 | Belém, PA, Brasil | 01°25'S; 48°26'W | a pasto, sem sombra, com água para banho | Garcia et al. (2011b) |
| Fêmeas adultas não lactantes e não gestantes (6 a 7 anos) | 38,62 ± 0,48 a 38,68 ± 0,32 | Belém, PA, Brasil | 01°25'S; 48°26'W | sistema silvipastoril (20% de área sombreada) | Garcia et al. (2011b) |
| Fêmeas adultas lactantes (5,4 anos) | 38,41 ± 0,43 | Belém, PA, Brasil | 01°44'S; 48°40'W | a pasto, em integração várzea/terra firme | Barbosa et al. (2011) |



Em termos bioclimatológicos, um animal pode ter sua temperatura corpórea elevada quando absorve quantidade excessiva de calor do meio, quando sua capacidade de dissipação do calor corpóreo é reduzida, ou quando uma associação de ambos os fatores se estabelece. Independentemente da causa, as consequências dessa elevação de temperatura se manifestam na forma de uma cascata de eventos, de modo a tentar ajustar o organismo animal ao desafio imposto.

A temperatura corpórea é regulada por ação do sistema nervoso autônomo, sendo que o hipotálamo, um órgão localizado no diencéfalo, funciona como um termostato e controla o sistema hipotalâmico-hipofisário-adrenal (HHA). Sob condição de estresse, o hipotálamo secreta o hormônio liberador de corticotrofinas (CRH), o qual atua sobre a hipófise, aumentando a síntese de pró-opiomelanocortina (POMC) e promovendo a liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), de β -endorfina e do hormônio melanotrófico (MSH). O ACTH, por sua vez, tem como alvo o córtex das glândulas adrenais, e a ligação do ACTH aos seus receptores pode desencadear tanto a secreção de glicocorticoides quanto de esteroides sexuais. O ACTH estimula a síntese e a secreção de corticosterona ou cortisol pelo córtex da adrenal e tem efeito de retroalimentação negativa sobre a liberação do CRH. A ativação desse "sistema de estresse" visa melhorar a capacidade adaptativa do organismo e aumentar suas chances de superação dos desafios ambientais, mantendo a homeostase. Atualmente, sabe-se que a ativação do eixo HHA pode afetar diretamente o hipotálamo, a hipófise e as gônadas, com reflexos diretos na reprodução animal. A ativação do eixo HHA reduz a secreção do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), das próprias gonadotrofinas, principalmente do hormônio luteinizante (LH), além de diminuir a função dos testículos, dos folículos ovarianos e do corpo lúteo (Tilbrook et al., 2000).

Como o estresse térmico afeta as búfalas?

O calor ambiental é comum nas estações quentes do ano, em boa parte do planeta. Contudo, nas regiões tropicais, altas temperaturas ambientais são características praticamente constantes. As temperaturas máximas do ar, por exemplo, em região de tipo climático quente e úmido (Afi, segundo Köppen) superam as recomendadas para criação de bubalinos ao longo de todo o ano. Da mesma forma, nessas regiões, o índice de temperatura e umidade do ar (ITU) entre nove e 18 horas ultrapassa os 75 pontos (Roque et al., 2012), valor considerado como aceitável para promover o conforto bubalino. Ou seja, praticamente durante todo o tempo em que a radiação solar é presente, os búfalos criados em regiões tropicais podem sentir algum tipo de desconforto, o que pode levar ao estresse.

As búfalas apresentam ciclos estrais com duas ou três ondas foliculares, sendo que o diâmetro do folículo dominante varia de $13,4 \pm 0,13$ a $15,5 \pm 0,16$ mm em fêmeas adultas (Baruselli et al., 1997) e de $13,42 \pm 2,69$ a $15,02 \pm 1,28$ mm em novilhas (Garcia et al., 2011b). Contudo, o estresse térmico reduz o diâmetro dos folículos dominantes, além de atenuar a relação de dominância, com aumento do número de folículos de maior diâmetro durante uma onda folicular e regressão retardada dos folículos subordinados. O estresse térmico também prejudica o crescimento de folículos médios, em virtude da emergência mais precoce e regressão mais tardia da segunda onda folicular. Essas alterações podem levar ao aparecimento mais precoce do folículo pré-ovulatório e ao aumento da duração de dominância, ambos negativamente correlacionados com a taxa de concepção (Roth, 2008).

Estudos *in vivo* e *in vitro* apontam que os oócitos são sensíveis ao estresse térmico em várias fases do desenvolvimento folicular. O estresse pelo calor tem um efeito deletério sobre a qualidade dos oócitos de búfalas, os quais podem ser mais sensíveis ao calor do que os oócitos de bovinos (Neglia et al., 2003). Por isso, perturbações na fisiologia dos oócitos durante todo o período de desenvolvimento folicular podem potencialmente gerar oócitos com menor competência para a fertilização e subsequente desenvolvimento (Roth, 2008). O calor ambiental excessivo também tem efeito adverso nas taxas de detecção das ovulações, e eleva as taxas de ovulação silenciosas de 14,4 para 50%, além de reduzir as taxas de concepção de búfalas acasaladas em monta natural, de 74 para 46% (Barkawi et al., 1998). Mesmo quando estão ciclando normalmente, as búfalas criadas em regiões de clima quente apresentam menor interação com rufões ou outras fêmeas, fazendo com que a detecção visual do estro seja prejudicada. De fato, a eficiência da detecção visual do estro em fêmeas bubalinas cíclicas criadas na Amazônia brasileira é de 56,52%, mesmo sendo realizada por observadores experientes, e a visualização de montas é efetiva em apenas 17,39% dos casos de estro (Garcia et al., 2006a).

Quando se manifesta de forma mais intensa, a supressão das ovulações durante o período mais quente do ano leva as búfalas a apresentarem um quadro conhecido como "anestro de verão". Durante esse período, as búfalas permanecem sexualmente inativas, sem quaisquer sinais de cio (Das e Khan, 2010). Aparentemente, esse efeito pode ser causado pela elevada secreção de prolactina durante os meses quentes do ano, a qual suprime a secreção de progesterona em razão de um inadequado desenvolvimento luteínico (Roy e Prakash, 2007).

Como o comportamento sexual depende da produção de hormônios gonadais, a busca pelo parceiro é suprimida quando um agente estressor atua. Machos submetidos a estresse têm sua atividade sexual deprimida, devido à menor produção de testosterona. Do mesmo modo, o estresse entre fêmeas interfere na produção de LH, impede a ovulação e o comportamento estral (Squires, 2003). Outro ponto que sofre a interferência do calor ambiental é o comportamento das fêmeas no local de pastejo. Na região Sudeste do Brasil, a distribuição da



manifestação de estros com aceitação de monta é uniforme ao longo dos quatro períodos do dia (manhã = de 6:01 h às 12 h, tarde = de 12:01 h às 18 h, noite = de 18:01 h à 0 h e madrugada = de 0:01 h às 6 h), sendo praticamente equitativa entre os períodos. Assim, 25,8% das montas ocorrem durante a manhã, 21,4% durante a tarde, 24,7% durante a noite e 28,1% durante a madrugada (Porto Filho, 2000). Quando as búfalas são mantidas a pleno sol em clima tropical úmido, curiosamente, o tempo despendido para o pastejo e para a ruminação na posição deitada são maiores do que para fêmeas criadas em sistemas silvipastoris, principalmente no período da manhã, compreendido das seis às 10 horas (Santos, 2010). Isso faz com que os animais mantidos com acesso à sombra tenham maior tempo de ócio, o que confere maior oportunidade para que os eventos reprodutivos ocorram, como manifestações estrais ou montas naturais, uma vez que, durante o tempo de pastejo e ruminação, as atividades de alimentação para manutenção são priorizadas.

Outro desafio imposto pelo estresse térmico aos animais é a capacidade de manter os balanços energético, endócrino e mineral. A disponibilidade de eletrólitos séricos ajuda a manter a homeostase durante o estresse térmico, pois os animais mobilizam minerais nos processos termorregulatórios ativos e passivos, na tentativa de manter estável a temperatura do núcleo corpóreo. Contudo, essa mobilização durante o estresse térmico afeta negativamente o desempenho e reduz a fertilidade dos animais (Singh et al., 2012). De fato, a exposição de novilhas bubalinas a quatro horas de calor intenso (40°C) durante dezesseis dias consecutivos reduz a aldosterona plasmática, o que leva à maior excreção urinária de sódio, potássio, magnésio e fósforo. Já a sudorese acarreta sensíveis perdas de potássio, cloreto, fósforo e magnésio. No estresse calórico, o aumento dos níveis basais de insulina se eleva, fazendo com que os níveis de glicose caiam. Paralelamente, ocorrem diminuição do colesterol sérico e aumento na síntese de esteroides adrenais devido à elevação de ACTH durante o período de estresse. O estresse eleva os níveis de proteínas plasmáticas totais a fim de manter o volume plasmático. Os valores séricos da enzima transaminase glutâmico-oxalacética (TGO) também se elevam no estresse calórico, devido a sua liberação, como resultado da degeneração de fibras musculares esqueléticas (Singh et al., 2012).

O calor ambiental também promove alterações sensíveis no perfil hematológico quando os animais se encontram sob condição de estresse térmico. Ao serem mantidas sem acesso à sombra e em áreas de índice de temperatura de globo negro e umidade (ITGU) médio de $89,1 \pm 2,8$, as búfalas leiteiras apresentam elevação no número de hemácias, principalmente no período menos chuvoso do ano, como reflexo da hemoconcentração estabelecida após maior perda de água por sudorese. Ainda, ocorre elevação no número de leucócitos (leucocitose), em virtude da maior secreção endógena de corticosteroides (Silva et al., 2011a). Paralelamente, a exposição de búfalas leiteiras ao estresse térmico agudo (45°C, 55% UR, por 3 h) causa significativa redução no índice de estimulação mitótica induzida *in vitro* dos linfócitos. Por isso, levanta-se a hipótese de que a exposição mais prolongada ao estresse térmico seria responsável por uma redução da reatividade das células imunes, as quais gradativamente perderiam sua capacidade de proliferação como resposta aos níveis cada vez maiores de cortisol (Mukherjee et al., 2011). Assim, o estresse calórico é um dos fatores que causa redução na imunidade dos animais e, não por coincidência, observa-se aumento na ocorrência de enfermidades quando os animais são expostos a condições extremas ou a ambientes estressantes.

O estresse calórico exerce influência nos níveis hormonais de búfalos. O cortisol, hormônio liberado pelo córtex da adrenal em situações de risco, é significativamente elevado em situações nas quais búfalas adultas são criadas sem acesso à área de sombra para descanso, quando comparadas a animais criados em sistemas silvipastoris em regiões de clima tropical ($1,9 \pm 0,2$ vs. $1,7 \pm 0,3$ µg/dL; $P < 0,05$), com diferenças mais marcantes no período do ano em que as chuvas são menos frequentes e a radiação solar é mais intensa. Do mesmo modo, o maior calor ambiental reduz expressivamente as concentrações de tri-iodotironina (T3) e tiroxina (T4) no período menos chuvoso do ano (Silva, 2010). A T3 e a T4 são hormônios produzidos pela tireoide e que têm atividade anabólica. Sua liberação tem como consequência a geração de calor endógeno e, portanto, a redução observada em animais submetidos a estresse térmico é justificada pela tentativa individual de diminuir a geração e o acúmulo de calor corpóreo. Um efeito adverso da redução na liberação de T3 e T4 é a diminuição gradual da libido, ou seja, do interesse e da energia destinados às atividades reprodutivas, vitais para a reprodução e preservação da espécie.

O estresse calórico também tem influência negativa direta sobre os hormônios da reprodução. Durante o verão, há redução nos níveis circulantes de estradiol ($33,29 \pm 0,67$ vs. $31,4 \pm 0,6$ pg/mL; $P < 0,05$), mas com elevação considerável do cortisol. A redução no estradiol pode ser atribuída à menor capacidade esteroidogênica dos folículos sob estresse térmico, o que leva à menor atividade da aromatase nas células da granulosa e à redução na produção de androstenediona pelas células da teca (Megahed et al., 2008). Durante os meses de inverno na Índia, a concentração de progesterona plasmática de novilhas bubalinas *repeat breeders* varia de $0,20 \pm 0,00$ a $3,04 \pm 0,34$ ng/mL, sendo significativamente maior do que as concentrações registradas nos meses de verão ($0,20 \pm 0,00$ a $1,48 \pm 0,13$ ng/mL). Ainda durante o verão, a alta secreção de prolactina contribui para reduzir a secreção de hormônios gonadais, como a progesterona, e, consequentemente, diminuir a fertilidade (Roy e Prakash, 2007).

Molecularmente, as células respondem ao estresse por meio da produção de um conjunto específico de proteínas, chamadas de *heat shock proteins* (HSP; Lindquist, 1986). Essas proteínas permitem que as células se



adaptem às mudanças graduais em seu ambiente, sendo observadas em todos os tecidos. Uma das principais funções das HSP é proteger as proteínas intracelulares contra a desnaturação. Por isso, as HSP são frequentemente usadas como marcadores de estresse e de adaptação, em diferentes sistemas fisiológicos. A HSP70 é a proteína mais comumente produzida após o estresse térmico (Beckham et al., 2004) e pode servir como um eficiente marcador prognóstico. Além dessa função, as HSPs exercem um efeito estimulador no sistema imune e a sua expressão foi também detectada em gametas e embriões em fase inicial de desenvolvimento (Wilkerson e Sarge, 2009). O gene HSPA-1A é responsável pela codificação da proteína HSP70.1, cuja expressão confere termotolerância contra diversos tipos de agentes estressores, como agentes químicos, nutricionais e ambientais. Por isso, a expressão gênica do HSPA-1A durante o desenvolvimento embrionário inicial constitui um importante marcador da normalidade de embriões bovinos (Camargo et al., 2007). A análise filogenética revelou que o gene HSPA-1A é altamente conservado e apresenta homologia de 98% entre bovinos e bubalinos (Sharma et al., 2012). Recentemente, foi comprovado também em bubalinos que a expressão gênica do HSPA-1A é importante para o crescimento dos ovócitos, o desenvolvimento e a sobrevivência embrionária (Sharma et al., 2012), sendo, portanto, relacionada ao sucesso da gestação (Haque et al., 2012). Por isso, o gene HSPA-1A também poderia ser usado como um biomarcador de respostas ao estresse durante o desenvolvimento embrionário.

Fisiologicamente, durante os primeiros dois terços da gestação, a taxa de crescimento da placenta é maior que a do feto, sendo que a situação se inverte no terço final. Desequilíbrios durante o período gestacional, incluindo aqueles causados pelo estresse térmico, afetam o peso ao nascimento e a taxa de sobrevivência dos bezerros. Dados brasileiros indicam que o peso médio ao nascimento de bezerros bubalinos é de 32,7 kg (Cassiano et al., 2003), embora registros em rebanhos menores e sob sistema de produção mais intensificado apontem para $38,92 \pm 3,78$ kg de média, sendo $39,65 \pm 4,36$ kg para machos e $37,84 \pm 2,43$ kg para fêmeas (Garcia et al., 2006b). Estudos demonstraram que fetos submetidos a jejum materno agudo são capazes de se adaptar à diminuição da taxa sérica de glicose materna por oxidação compensatória de aminoácidos. No entanto, os fetos expostos ao estresse por calor não são capazes de ativar essa via metabólica, e a quantidade de aminoácidos disponíveis para o feto durante o estresse calórico permanece reduzida. Além do decréscimo na taxa de glicose materna, o estresse calórico durante os períodos iniciais da gestação reduz a taxa de crescimento da placenta, o que afeta negativamente o aporte de nutrientes para o feto, comprometendo o tamanho e o peso ao nascimento (Wells, 2002). Outra explicação para a redução do peso ao nascimento seria que, ao ativarem os mecanismos de termorregulação, como a evaporação respiratória, as fêmeas gestantes promovem o redirecionamento de parte considerável do fluxo sanguíneo de alguns órgãos internos, entre eles o útero, para órgãos envolvidos com a dissipação do calor, reduzindo o aporte de nutrientes para o feto (Bell et al., 1989).

Estratégias para reduzir o estresse calórico em condições tropicais

A característica mais relevante da subfertilidade ou da infertilidade por estresse calórico é a sua natureza multifatorial, em virtude de a hipertermia levar a instabilidades funcionais celulares no sistema reprodutivo. Portanto, estratégias de diversas naturezas têm sido propostas para minimizar ou prevenir os efeitos do estresse, principalmente em animais criados em ambiente tropical.

Uma das formas de reduzir os efeitos nocivos do estresse térmico em búfalos tem sido a suplementação dietética. O estresse térmico reduz a ação da catalase sérica e da superóxido dismutase, mas aumenta os níveis da glutatona e do cortisol, além de elevar a peroxidação lipídica. O uso diário de bicarbonato de sódio (15 g/dia), carbonato de potássio (12,5 g/dia), vitamina C (10 g/dia) e óxido de zinco (160 mg/dia) como suplementos alimentares é capaz de modular parcialmente os efeitos nocivos do calor sobre a fisiologia de bubalinos adultos de ambos os sexos (Kumar et al., 2011).

Outra vertente de pesquisa tem sido baseada no uso de antioxidantes injetáveis como tratamento termoprotetor para animais expostos ao calor excessivo. A ideia tem como fundamento o uso de agentes exógenos para a neutralização dos efeitos negativos da oxidação celular causada pelos radicais livres, os quais são produzidos com maior intensidade em situações de estresse. Testes foram realizados no Egito, em região de clima árido (BWh, segundo Köppen), onde as médias mensais para temperatura máxima e umidade relativa do ar no verão variam de 17,6 a 39,7°C e de 16,2 a 61,2%, respectivamente. Um composto de selênio e vitamina E foi aplicado semanalmente, durante seis semanas, em búfalas em reprodução, no início do verão e do inverno. As búfalas passaram por observação diária deaios e foram acasaladas por monta natural controlada. A atividade antioxidante da superóxido dismutase aumentou progressivamente nos animais tratados enquanto o estresse oxidativo, aferido pela atividade da peroxidação lipídica e pelos níveis de óxido nítrico, diminuiu significativamente. A taxa de prenhez no inverno foi de 90%, enquanto no verão foi de 62,5% para o grupo que recebeu placebo e de 75% para os animais que haviam recebido selênio e vitamina E (Megahed et al., 2008). Por isso, abre-se a possibilidade da administração de antioxidantes logo no início da estação de calor mais intenso, a fim de contornar os efeitos da infertilidade de verão que acomete algumas búfalas criadas em região de clima quente.

O selênio e a vitamina E também apresentam efeitos positivos durante a gestação e no pós-parto.



Fisiologicamente, os níveis de cortisol são crescentes durante a gestação. Contudo, as búfalas que recebem aplicações de selênio e vitamina E por via intramuscular apresentam níveis mais baixos de cortisol, do sexto mês de gestação ao parto, e durante os primeiros 45 dias após o nascimento dos bezerros. Este efeito é mais pronunciado nas fêmeas que recebem o composto em aplicações sistemáticas ao longo da gestação, quando comparado a uma única aplicação no pré-parto. A peroxidação lipídica torna-se significativamente menor nos animais que recebem antioxidantes e os níveis de superóxido dismutase são mais elevados, o que indica que a administração de selênio e vitamina E tem efeitos benéficos na redução das injúrias causadas pelo estresse oxidativo em animais gestantes (Dimri et al., 2010) e, conseqüentemente, favorece o bezerro durante a vida intrauterina.

Como o anestro de verão nas búfalas é decorrente do funcionamento subótimo do eixo hipotálamo-hipofisário-gonadal, a elevação das concentrações circulantes de hormônios hipofisários e gonadais previamente ao início da estação de temperaturas mais amenas parece ser fundamental para a reativação ovariana. Por isso, estratégias de aplicação hormonal também têm sido testadas, com o intuito de reverter o anestro causado pelo estresse calórico. Para búfalas criadas na Índia, aplicações de prostaglandina e de progesterona, esta última em pessários vaginais implantados por oito a 14 dias, demonstraram certa eficiência. A prostaglandina é útil em 30% dos casos de anestro de verão, quando as fêmeas não demonstram sinais de estro, mas possuem corpo lúteo. Nesses casos, o agente luteolítico pode restabelecer a manifestação estral, com conseqüente concepção. Já as búfalas em anestro verdadeiro necessitam de incremento nos níveis de progesterona circulante, mesmo que estejam na estação desfavorável. A elevação da progesterona acima dos valores basais por, no mínimo, 10 dias é suficiente para sensibilizar o eixo hipotálamo-hipofisário-gonadal e reativar a ciclicidade ovariana, culminando em ovulação (Singh, 2003).

Contudo, aplicações de fármacos não parecem ser o meio mais econômico e prático para suplantiar os problemas reprodutivos advindos do estresse calórico, quer seja pelo seu custo operacional, quer seja pela necessidade de contenção frequente dos animais ou pela dependência de insumos que essas estratégias impõem ao produtor rural. Considerando que o estresse calórico afeta os animais de maneira sistêmica, é razoável pressupor que estratégias mais abrangentes possam trazer resultados mais satisfatórios para a manutenção da homeostase animal. Assim, sem desconsiderar a importância das intervenções sobre o indivíduo, as ações integradas, que contemplem o animal e o meio ambiente, podem ser mais efetivas, mais duradouras e com custos fixos que se diluem ao longo dos anos.

Como o búfalo é um animal de intensa pigmentação epidérmica, a superfície de sua pele apresenta cor preta, característica da espécie. Isso tem um efeito benéfico para o animal, pois a melanina protege a derme contra a penetração de raios ultravioleta, nocivos à saúde. Contudo, pelo fato de serem escuros, os búfalos têm baixa refletividade e facilmente absorvem a radiação solar. Ao nascer, são dotados de abundantes pelos, que, com o avançar da idade, sofrem natural rarefação. Ainda, possuem um sistema de termorregulação evaporativa menos eficiente que os bovinos (Joshi et al., 1968), devido a sua limitada capacidade de transpiração (Marai e Haebe, 2010). Por isso, boas medidas para manter a homeostase incluem, em primeiro lugar, evitar que os animais estejam expostos à intensa radiação direta e, na seqüência, facilitar os mecanismos de perda de calor para o ambiente. Em ambos os casos, a intervenção do homem com práticas de manejo têm resultados positivos.

O sistema de produção é um espaço artificializado pelo homem para a manutenção dos animais e deve reproduzir de maneira mais favorável possível para o indivíduo aquelas condições sob as quais ele se encontraria na natureza. Na produção de alimentos, o intuito dessa similaridade tem conotação econômica e, em última análise, objetiva fazer com que os animais expressem o máximo de seu potencial zootécnico e reprodutivo. Partindo desse princípio, a oferta de sombra em áreas de pastagens já seria essencial, a fim de atender questões produtivas e de bem-estar animal. O uso de sombreamento é o método mais simples e eficiente para reduzir o impacto da radiação solar sobre os animais (Baccari Junior et al., 1983), e a sombra ofertada pode ser natural ou artificial. No caso de animais de corte, a recomendação mínima é de 8 a 10 m² de sombra por animal, quando criados em pastagens ou em confinamento. Para animais leiteiros, em virtude de seu comportamento gregário, o mínimo de 6 m² por animal deve ser adotado (Titto, 2008).

É sabido que fêmeas bovinas em lactação preferem passar mais tempo à sombra em dias de maiores níveis de radiação solar e permanecem pelo menos de duas a três horas à sombra, no período do dia em que os níveis de radiação solar são mais elevados. Ainda, as vacas preferem se abrigar em sombras que bloqueiem, no mínimo, 50% da radiação solar direta (Schütz et al., 2009). Isso faz com que a escolha do método para sombreamento, quer seja artificial ou natural, tenha grande relevância no momento da implantação do sistema produtivo.

Dispositivos para sombreamento artificial têm sido usados para provimento de sombra diretamente aos animais, seja em estabulações ou a pasto, ou em adaptações de instalações rurais. No segundo caso, telas com 80% de fator de sombreamento instaladas sobre telhados de galpões do tipo *free stalls* são capazes de reduzir a radiação sobre a estrutura, principalmente nos momentos mais quentes do dia. Búfalos mantidos em galpões com essa modificação apresentam menor consumo de água (29,71 ± 0,86 vs. 34,14 ± 1,06 L/animal/dia; P < 0,01), menores níveis de cortisol sérico (2,14 ± 0,24 vs. 3,38 ± 0,37 ng/ml; P < 0,01) e temperatura retal mais baixa (39,14 ± 0,07°C vs. 40,00 ± 0,10°C; P < 0,01) que animais mantidos em áreas cobertas com telhado sem o



referido anteparo (Khongdee et al., 2012).

Outra característica dos bubalinos, além de se abrigarem à sombra, é de buscarem água para imersão nos momentos mais quentes do dia. Isso ocorre principalmente quando o índice de temperatura e umidade atinge o valor de 85, o que é comum nas regiões tropicais, e a partir de quando o desconforto dos búfalos é maior (Ablas et al., 2007). Contudo, a água é um recurso natural finito, seu suprimento tem se tornado escasso e a agropecuária é uma atividade com reconhecida grande demanda hídrica (Doreau et al., 2012). Por isso, o uso de áreas naturais de banhados ou de tanques artificiais para acesso dos animais tem se tornado proibitivo. Ademais, a temperatura do ar sob a copa das árvores pode ser de 2 a 3°C inferior à observada a pleno sol, em virtude da interferência positiva da folhagem na passagem da radiação solar (Moraes Júnior et al., 2010). Assim, o uso de sombreamento natural parece ser ecologicamente mais recomendável para proteger os animais e, ao mesmo tempo, favorecer o meio ambiente para trocas térmicas nos locais onde a produção bubalina se desenvolve.

Por isso, a investigação científica para agregação de essências florestais à produção de bubalinos e bovinos em sistemas silvipastoris vem sendo desenvolvida desde 1978 pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-Embrapa. Os primeiros arranjos silvipastoris foram implantados com pastagens de quicuío-da-amazônia (*Brachiaria humidicola*) em associação a seringueiras (*Hevea brasiliensis*), em Belém do Pará. Em 1995, um capim mais exigente, o colônio (*Panicum maximum*), foi introduzido no sistema de produção, em associação ao cultivo de seringueiras e de palma de óleo (*Elaeis guineensis*). No ano de 2002, foi a vez de a grama estrela africana (*Cynodon nlemfuensis*) ser testada, consorciada a duas espécies florestais exóticas, uma de madeira de alto valor agregado, o mogno africano (*Khaya ivorensis*), e a outra de propriedades repelentes e medicinais, o nim indiano (*Azadirachta indica*). A partir de 2006, o quicuío-da-amazônia passou a ser testado com a acácia mangium (*Racosperma mangium*), uma árvore capaz de produzir madeira de excelente qualidade, produtos apícolas e tanino. Em 2008, foram iniciados os trabalhos que associaram o gênero *Panicum* à produção de bacaba (*Oenocarpus bacaba*), uma palmácea cujo fruto é muito apreciado para alimentação humana, na forma de cremes, sorvetes e doces. Em todos os arranjos supracitados, o búfalo foi o componente animal usado para produção de leite ou carne (Lourenço Junior et al., 2010).

Considera-se que 12% de área sombreada na pastagem seja um valor de alta disponibilidade de sombra para animais de produção (Paranhos da Costa e Cromberg, 1997). Experimentos realizados com búfalas adultas em sistemas silvipastoris, com 18 a 21% de área sombreada, demonstraram que a copa das árvores protege os animais da incidência direta da radiação solar, reduz a frequência cardíaca dos animais ($64,43 \pm 8,26$ vs. $60,20 \pm 6,52$; $P < 0,05$) e sua temperatura retal, além de diminuir o ganho de calor ambiental e, conseqüentemente, a intensidade da termólise. Em 71,4% das observações, as búfalas criadas no sistema com sombra tiveram índice de conforto térmico mais próximo do ideal, quando comparadas àquelas criadas sem acesso à sombra (Garcia et al., 2011a).

A incorporação de árvores nas pastagens localizadas em regiões de clima quente e úmido favorece o microclima e confere melhores condições de conforto térmico, pois o sombreamento é capaz de reduzir o ITGU em relação às áreas a pleno sol. Esse efeito é notado tanto no período da tarde, com radiação solar mais intensa ($89,1 \pm 2,8$ vs. $84,7 \pm 2,2$; $P < 0,05$), quanto no período da manhã ($78,2 \pm 1,3$ vs. $75,8 \pm 1,3$; $P < 0,05$). Áreas com menores ITGUs conferem maior conforto térmico para búfalas adultas, e decréscimos nesse índice se correlacionam com redução na temperatura da superfície corporal ($r = 0,90$; $P < 0,05$), da temperatura retal ($r = 0,59$; $P < 0,05$), da frequência respiratória ($r = 0,48$; $P < 0,05$) e da frequência cardíaca dos animais ($r = 0,30$; $P < 0,05$) durante o período menos chuvoso do ano (Silva et al., 2011b). Ainda, a redução nos níveis de cortisol circulante é significativa para as búfalas criadas com acesso a áreas de sombra (Silva, 2010). Portanto, esses dados em conjunto denotam o maior grau de conforto térmico dos animais quando protegidos da radiação solar direta.

O índice de conforto de Benezra (ICB) foi criado para avaliar o nível de conforto térmico de bovídeos criados nas regiões tropicais; quanto mais próximo de 2,0 for, maior o conforto térmico do animal no momento (Benezra, 1954). Durante ensaio realizado com búfalas criadas com ou sem acesso à área de sombreamento natural, para verificar o impacto do conforto térmico na taxa de concepção após inseminação artificial em tempo fixo, as búfalas foram sincronizadas com o protocolo Ovsynch. Os animais foram monitorados durante 35 dias em períodos correspondentes às fases de pré-sincronização (Pré-Sinc), de sincronização (Sinc) e de inseminação (IATF). Na fase Pré-Sinc, o sistema silvipastoril conferiu melhor nível de conforto térmico às búfalas ($2,46 \pm 0,75$ vs. $2,30 \pm 0,66$; $P < 0,01$). Na fase Sinc, o ICB não diferiu estatisticamente ($2,02 \pm 0,29$ vs. $1,97 \pm 0,52$; $P > 0,05$), enquanto na fase IATF, o ICB registrado para animais- controle ou com acesso à sombra foi de $2,02 \pm 0,33$ e $2,23 \pm 0,33$ ($P < 0,05$), respectivamente. A taxa de concepção das búfalas com acesso à sombra foi de 53,84%, numericamente superior à taxa de 43,33% observada nos animais-controle ($P > 0,05$). A ausência de diferença estatística nas taxas de concepção entre grupos coincide com a igualdade de conforto dos animais durante a fase Sinc. Assim, as variações de conforto animal nos dias compreendidos pelo processo de sincronização do estro parecem ser mais relevantes para o sucesso da inseminação artificial que aquelas ocorridas anteriormente à sincronização ou no próprio ato da inseminação (Garcia et al., 2007).

Outra ação interessante do conforto térmico durante a sincronização do estro reside sobre seus efeitos no desenvolvimento folicular. Durante o processo de sincronização de estros, as búfalas mantidas em conforto térmico não apresentam elevação no número de folículos ovarianos em desenvolvimento, em uma mesma onda



folicular (Matos, 2008). Contudo, as búfalas com melhores níveis de ICB apresentam folículos médios com maior diâmetro entre os dias sete e nove do protocolo de sincronização (Garcia et al., 2010). Esse fato é relevante porque, muito provavelmente, um dos folículos médios nessa fase tornar-se-á o folículo ovulatório ao final do protocolo. E um folículo ovulatório com maior diâmetro pode ser mais competente para formar um corpo lúteo com mais tecido luteal e, conseqüentemente, com maior capacidade de produção de progesterona e manutenção da gestação.

Considerações finais

Compreender a fisiologia dos búfalos e os mecanismos envolvidos nas respostas desses animais aos desafios impostos pelo calor ambiental é imprescindível para permitir o desenvolvimento de novas tecnologias capazes de elevar a saúde e o bem-estar animal. Quanto maior for o cabedal de informações sobre o estresse calórico, como consequência advirão o aumento nos limites individuais de produtividade e a elevação da eficiência dos sistemas de produção.

Ao se adotarem técnicas de manejo do ambiente que incorporem às pastagens o componente florestal, atende-se, em parte, a um modelo de produção bubalina mais sustentável. As consequências positivas do plantio de árvores nas pastagens para o ecossistema não foram abordadas neste texto, mas as vantagens para o componente animal são evidentes. Além de ganhos no desempenho, os ganhos em eficiência reprodutiva foram ilustrados e estão basicamente relacionados a um importante fator: o conforto térmico, capaz de manter a homeostase. É sabido que outros fatores além dos elementos climáticos contribuem para a maior ou menor sensação de bem-estar físico e psicológico dos animais. Contudo, nos países tropicais, onde a produção de bubalinos é executada predominantemente a pasto e, portanto, com os animais mantidos desabrigados na maior parte do tempo, o clima e o ambiente exercem um papel fundamental nesse processo. A chave mestra para as respostas sistêmicas ainda parece ser a liberação de cortisol e suas inúmeras relações com diferentes órgãos.

Além dos estudos sobre conforto térmico, que devem avançar, outro desafio para um futuro próximo é o estabelecimento de sistemas de informação e análise de dados capazes de valorizar e identificar animais com fenótipos mais adaptados a situações extremas. Animais que sejam capazes de digerir alimentos que não são usados em outras cadeias de produção nem na alimentação humana, com menor potencial de emissão de gases, que consumam proporcionalmente menos água, que se adaptem a sistemas integrados de produção e que tenham maior capacidade termorregulatória parecem ser ideais a serem buscados, em nome de uma produção animal mais eficiente, inteligente e sustentável.

Referências

- Ablas DS, Titto EAL, Pereira AMF, Titto CG, Leme, TMC.** Comportamento de bubalinos a pasto frente a disponibilidade de sombra e água para imersão. *Ciênc Anim Bras*, v.8, p.167-175, 2007.
- Baccari Junior F, Johnson HD, Hahn GL.** Environmental heat stress on growth plasma T3 and postheat compensatory effects on Holstein calves. *Proc Soc Exp Biol Med*, v.173, p.312-318, 1983.
- Barbosa DLM, Garcia AR, Matos LB, Silva GR, Araújo CV, Rodrigues LFS.** Parâmetros fisiológicos de búfalas (*Bubalus bubalis*) criadas em sistema de integração várzea/terra-firme na Amazônia Oriental. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 48, 2011, Belém. Anais... Belém: SBZ, 2011. p.1-3. Resumo.
- Barbosa OR, Oliveira RA, Sirena RM, Quenehenn IM, Tesolin LC, Caniato R.** Comparação nas respostas termorregulatórias de búfalos e bovinos em confinamento. 2. Temperatura retal e frequência respiratória. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 44, 2007, Jaboticabal. Anais... Jaboticabal: SBZ, 2007. p.1-3. Resumo.
- Barkawi AH, Khattab RM, El-Wardani MA.** Reproductive efficiency of Egyptian buffaloes in relation to oestrous detection systems. *Anim Reprod Sci*, v.51, p.225-231, 1998.
- Baruselli PS, Mucciolo RG, Visitin JA, Viana WG, Arruda RP, Madureira EH, Oliveira CA, Molero-Filho JR.** Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in buffalo (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology*, v.47, p.1531-1547, 1997.
- Beckham JT, Mackanos MA, Crooke C, Takahashi T, O'Connell-Rodwell C, Contag CH, Jansen ED.** Assessment of cellular response to thermal laser injury through bioluminescence imaging of heat shock protein 70. *Photochem Photobiol*, v.79, p.76-85, 2004.
- Bell AW, McBride BW, Slepatis R, Early RJ, Currie WB.** Chronic heat stress and prenatal development in sheep: 1: conceptus growth and maternal plasma hormones and metabolites. *J Anim Sci*, v.67, p.3289-3299, 1989.
- Benezra MV.** A new index measuring the adaptability of cattle to tropical conditions. *J Anim Sci*, v.13, p.1015, 1954.
- Borghese A, Mazzi M.** Buffalo population and strategies in the world. In: FAO. Buffalo production and research. Roma: FAO, 2005. p.1-39.



- Camargo LS, Viana JH, Ramos AA, Serapião RV, Sa WF, Ferreira AM, Guimarães MF, Vale Filho VR.** Developmental competence and expression of the Hsp 70.1 gene in oocytes obtained from *Bos indicus* and *Bos taurus* dairy cows in a tropical environment. *Theriogenology*, v.68, p.626-632, 2007.
- Cassiano LAP, Mariante AS, McManus C, Marques JRF, Costa NA.** Caracterização fenotípica de raças bubalinas nacionais e do tipo Baio. *Pesq Agrop Bras*, v.38, p.1337-1342, 2003.
- Das GK, Khan FA.** Summer anoestrus in buffalo - a review. *Reprod Domest Anim*, v.45, p.483-494, 2010.
- Das SK, Upadhyay RC, Madan ML.** Heat stress in Murrah buffalo calves. *Livest Prod Sci*, v.61, p.71-78, 1999.
- Dimri U, Ranjan R, Sharma MC, Varshney VP.** Effect of vitamin E and selenium supplementation on oxidative stress indices and cortisol level in blood in water buffaloes during pregnancy and early postpartum period. *Trop Anim Health Prod*, v.42, p.405-410, 2010.
- Doreau M, Corson MS, Wiedemann SG.** Water use by livestock: a global perspective for a regional issue? *Anim Frontiers*, v.2, p.9-16, 2012.
- Garcia AR, Gonçalves KS, Nahúm BS, Matos LB, Barbosa DLM, Simões AR, Monteiro PJC.** Eficiência da detecção de estros em fêmeas bubalinas (*Bubalus bubalis*) criadas na Amazônia. In: Congresso Estadual de Medicina Veterinária, 17, 2006, Gramado. Anais... Gramado: SOVERGS, 2006a. p.3051-3056.
- Garcia AR, Matos LB, Lourenço Junior JB, Nahúm, BS, Araújo CV, Santos AX.** Variáveis fisiológicas de búfalas leiteiras criadas sob sombreamento em sistemas silvipastoris. *Pesq Agropec Bras*, v.46, p.1409-1414, 2011a.
- Garcia AR, Matos LB, Lourenço Junior JB, Nahúm BS, Costa NA.** Increased reproductive efficiency of dairy buffaloes due to silvopastoral system adoption in the Eastern Amazon. *Rev Vet*, v.21, supl.1, p. 914-915, 2010.
- Garcia AR, Matos LB, Nahúm BS, Lourenço Junior JB, Gonçalves KS, Miyasaki MYA.** Importância de sistemas silvipastoris no conforto térmico de búfalas submetidas a protocolos de inseminação artificial em tempo fixo. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, 59, 2007, Belém. Anais... São Paulo:SBPC/UFGA, 2007. Resumo. Online.
- Garcia AR, Nahúm BS, Silva DF, Ferreira EM, Cunha MCS, Costa OP, Gonçalves KS.** Retenção de placenta em búfalos do rio (*Bubalus bubalis*). In: Congresso Estadual de Medicina Veterinária, 17, 2006, Gramado. Anais... Gramado: SOVERGS, 2006b. Resumo.
- Garcia AR, Silva GR, Nahúm BS, Pessoa JS, Gonçalves AA, Santos AX.** Follicular features in Murrah, Mediterranean and Crossbred buffalo heifers submitted to exogenous control of ovulation. *Acta Sci Vet*, v.39, suppl, p.s379, 2011b. Resumo.
- Haque N, Ludri A, Hossain SA, Ashutosh M.** Comparative studies on temperature threshold for heat shock protein 70 induction in young and adult Murrah buffaloes. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*, v.96, p.920-929, 2012.
- Joshi BC, McDowell RE, Sadhu DP.** Body surface evaporation rates at low and high temperatures in Murrah buffalo. *J Dairy Sci*, v.51, p.1689-1692, 1968.
- Khongdee T, Sripoon S, Vajrabukka C.** The effects of high temperature and roof modification on physiological responses of swamp buffalo (*Bubalus bubalis*) in the tropics. *Int J Biometeorol*, 2012. In press. Epub ahead of print.
- Koga A, Sugiyama M, Del Barrio AN, Lapitan RM, Arenda BR, Robles AY, Cruz LC, Kanai Y.** Comparison of the thermoregulatory response of buffaloes and tropical cattle, using fluctuations in rectal temperature, skin temperature and haematocrit as an index. *J Agric Sci*, v.142, p.351-355, 2004.
- Kumar BVS, Kataria M, Kumar A.** Amelioration of heat stress by feeding electrolytes, ascorbic acid and zinc in buffaloes. *Buffalo Bul*, v.30, p.229-239, 2011.
- Lindquist S.** The heat-shock response. *Annu Rev Biochem*, v.55, p.1151-1191, 1986.
- Lourenço Junior JB.** Variáveis produtivas, fisiológicas e de comportamento de zebuínos e bubalinos e fatores do ambiente físico em pastagem cultivada da ilha de Marajó. 1998. 159f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, Belém, PA, 1998.
- Lourenço Junior JB, Garcia AR, Costa NA, Nahúm BS, Silva MB.** Effects of silvopastoral systems on the production of buffaloes on Eastern Amazon, Brazil. In: World Buiatrics Congress, 26, 2010, Santiago. Proceedings... Santiago: Kenes Latin America, 2010. p.48-49. Resumo.
- Marai IFM, Haebe AAM.** Buffalo's biological functions as affected by heat stress - a review. *Livest Sci*, v.127, p.89-109, 2010.
- Matos LB.** Conforto térmico e eficiência da inseminação artificial em tempo fixo em búfalas leiteiras mantidas em sistemas silvipastoris na Amazônia Oriental. 2008. 81f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal do Pará, Belém, PA, 2008.
- Megahed GA, Anwar MM, Wasfy SI, Hammadeh ME.** Influence of heat stress on the cortisol and oxidant-antioxidants balance during oestrous phase in buffalo-cows (*Bubalus bubalis*): thermo-protective role of antioxidant treatment. *Reprod Domest Anim*, v.43, p.672-677, 2008.
- Moraes Júnior RJ, Garcia AR, Santos NFA, Nahúm, BS, Lourenço Junior JB, Araújo, CV, Costa NA.**



- Conforto ambiental de bezerros bubalinos (*Bubalus bubalis* Linnaeus, 1758) em sistemas silvipastoris na Amazônia Oriental. *Acta Amazonica*, v.40, p.629-640, 2010.
- Mukherjee J, Pandita S, Huozha R, Ashutosh M.** In vitro immune competence of buffaloes (*Bubalus bubalis*) of different production potential: effect of heat stress and cortisol. *Vet Med Int*, v.2011, 5p., 2011.
- Neglia G, Gasparrini B, Palo RD, Rosa CD, Zicarelli L, Campanile G.** Comparison of pregnancy rates with two estrus synchronization protocols in Italian Mediterranean buffalo cows. *Theriogenology*, v.60, p.125-133, 2003.
- Paranhos da Costa MJR, Cromberg VU.** Alguns aspectos a serem considerados para melhorar o bem-estar de animais em sistema de pastejo rotacionado. In: Peixoto AM, Moura JC, Faria VC. Fundamentos do pastejo rotacionado. Piracicaba: FEALQ, 1997. p.273-296.
- Porto Filho RM.** Emprego da radiotelemetria na detecção do estro em fêmeas bubalinas: luteólise durante duas fases do ciclo estral, ultra-sonografia da ovulação e perfis hormonais. 2000. 112f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2000.
- Roque TJLR, Nascimento TS, Carvalho MVL, Manno MC, Lima KRS, Costa JLL, Cordeiro CC, Santos RIR.** Zoneamento climático da Mesorregião Metropolitana de Belém e seu uso na produção de búfalos no estado do Pará. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 49, 2012, Brasília. Anais... Brasília: SBZ, 2012. CD-ROM.
- Roth Z.** Heat stress, the follicle, and its enclosed oocyte: mechanisms and potential strategies to improve fertility in dairy cows. *Reprod Domest Anim*, v.43, suppl.2, p.238-244, 2008.
- Roy KS, Prakash BS.** Seasonal variation and circadian rhythmicity of the prolactin profile during the summer months in repeat-breeding Murrah buffalo heifers. *Reprod Fertil Dev*, v.19, p.569-575, 2007.
- Santos NFA.** Bem-estar e comportamento de fêmeas bubalinas da raça Murrah, em sistemas tradicional e silvipastoril, em Belém, Pará. 2010. 125f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural da Amazônia/Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, 2010.
- Schütz KE, Rogers AR, Cox NR, Tucker CB.** Dairy cows prefer shade that offers greater protection against solar radiation in summer: Shade use, behaviour, and body temperature. *Appl Anim Behav Sci*, v.116, p.28-34, 2009.
- Sharma G, Nath A, Prasad S, Singhal S, Singh N, Gade N, Dubey P, Saikumar G.** Expression and characterization of constitutive heat shock protein 70.1 (HSPA-1A) gene in *in vitro* produced and *in vivo*-derived buffalo (*Bubalus bubalis*) embryos. *Reprod Domest Anim*, v.47, p.975-983, 2012.
- Silva JAR.** Avaliação do estresse térmico em búfalas Murrah criadas em dois diferentes sistemas de manejo nas condições climáticas da Amazônia Oriental. 2010. 124f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, 2010.
- Silva JAR, Alencar AA, Lourenço Junior JB, Viana RB, Santos NFA, Garcia AR.** Perfil hematológico de búfalas da raça Murrah, criadas ao sol e à sombra, em clima tropical da Amazônia Oriental. *Acta Amazonica*, v.41, p.425-430, 2011a.
- Silva JAR, Araújo AA, Lourenço Junior JB, Santos NFA, Garcia AR, Nahúm BS.** Conforto térmico de búfalas em sistema silvipastoril na Amazônia Oriental. *Pesq Agropec Bras*, v.46, p.1364-1371, 2011b.
- Singh C.** Response of anestrous rural buffaloes (*Bubalus bubalis*) to intravaginal progesterone implant and PGF₂alpha injection in summer. *J Vet Sci*, v.4, p.137-141, 2003.
- Singh SP, Hooda OK, Kundu SS, Singh S.** Biochemical changes in heat exposed buffalo heifers supplemented with yeast. *Trop Anim Health Prod*, v.44, p.1383-1387, 2012.
- Squires EJ.** Applied animal endocrinology. Walingford: CABI Publishing, 2003. p.192-229.
- Tilbrook AJ, Turner AI, Clarke IJ.** Effects of stress on reproduction in non-rodent mammals: the role of glucocorticoids and sex differences. *Rev Reprod*, v.5, p.105-113, 2000.
- Titto EAL.** Instalações para bovinos leiteiros em ambientes tropicais. In: Workshop sobre Ambiência na Produção de Leite, 1, 2008, Nova Odessa. Anais... Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, 2008. CD-ROM.
- Titto EAL, Russo HG, Lima CG.** 1997. 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.
- Wells JC.** Thermal environment and human birth weight. *J Theor Biol*, v.214, p.413-425, 2002.
- Wilkerson DC, Sarge KD.** RNA polymerase II interacts with the Hsp1b promoter in mouse epididymal spermatozoa. *Reproduction*, v.137, p.923-929, 2009.