

Parâmetros ruminais de bezerros da raça Holandesa submetidos a estresse térmico por calor e pela amplitude térmica até os 28 dias de idade

Sabrina Evelin Ferreira⁽¹⁾, Mariana Brito Gomes⁽²⁾, Luiz Felipe Martins Neves⁽³⁾, Camila Sousa da Silva⁽⁴⁾, Sandra Gesteira Coelho⁽⁵⁾, Wanessa de Araújo Carvalho⁽⁶⁾, Mariana Magalhães Campos^(6,7)

⁽¹⁾Bolsista Pibic CNPq, Graduanda em Medicina Veterinária – UFJF, Juiz de Fora, MG. E-mail: ferreira.sabrinae@gmail.com, ⁽²⁾Mestre em Zootecnia - EV/UFMG, Belo Horizonte, MG, ⁽³⁾Doutor em Zootecnia – EV/UFMG, Belo Horizonte, MG, ⁽⁴⁾Pós doutoranda – Embrapa Gado de Leite, Coronel Pacheco, MG, ⁽⁵⁾Professora titular da Escola de Veterinária – UFMG, Belo Horizonte, MG, ⁽⁶⁾Pesquisadora Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, ⁽⁷⁾Orientadora

Resumo- O presente estudo avaliou os efeitos do estresse térmico por calor e pela amplitude térmica em parâmetros ruminais de bezerros holandeses com 28 dias de idade. Para tal, os bezerros foram alojados em câmara climática com controle de temperatura e umidade e submetidos a três condições climáticas distintas: zona termoneutra, com temperatura (T°) de 22 °C e umidade relativa (UR) de 65% (ITU = 66); estresse por calor (T° = 22 °C e UR = 65%; ITU = 82); e amplitude térmica (9 horas em estresse por calor, 3 horas em zona termoneutra, 9 horas em estresse pelo frio (T° = 14 °C, UR = 65%; ITU=54) e, novamente, 3 horas em zona termoneutra). Amostras de líquido ruminal foram coletadas aos 28 dias de idade para avaliação do pH e das concentrações de acetato, propionato, butirato, concentração total de ácidos graxos de cadeia curta, relação acetato: propionato, relação acetato: butirato e nitrogênio amoniacal (N-NH₃). O estresse causado por amplitude térmica não promoveu alterações nos parâmetros ruminais de bezerros da raça Holandesa na fase de aleitamento. Por outro lado, bezerros submetidos a estresse térmico por calor apresentaram menor concentração de acetato e N-NH₃ em relação àqueles mantidos em zona termoneutra, demonstrando que o estresse térmico pelo calor influencia os parâmetros ruminais de bezerros em aleitamento.

Termos para indexação: alterações de temperatura, bezerros em aleitamento, ITU, saúde ruminal.

Rumen parameters of Holstein calves subjected to heat stress and thermal amplitude up to 28 days of age

Abstract- The present study evaluated the effects of heat stress and thermal amplitude on ruminal parameters of Holstein calves up to 28 days of age. For this purpose, the calves were placed in a climate-controlled chamber and subjected to three distinct climate conditions: thermoneutral zone, thermoneutral zone, with temperature (T°) of 22 °C and relative humidity (RH) of 65% (THI = 66); heat stress (T° = 22 °C and RH = 65%; THI = 82); and thermal amplitude (9 hours in heat stress, 3 hours in thermoneutral zone, 9 hours in cold stress (T° = 14 °C, RH = 65%; THI=54) and again 3 hours in thermoneutral zone). Rumen fluid samples

were collected at 28 days of age to evaluate pH and concentrations of acetate, propionate, butyrate, total short-chain fatty acid concentration, acetate: propionate ratio, acetate: butyrate ratio and ammoniacal nitrogen (N-NH₃). Stress caused by thermal amplitude does not promote significant changes in ruminal parameters of pre-weaning Holstein calves. On the other hand, calves submitted to heat stress showed lower acetate and N-NH₃ concentrations compared to those kept in a thermoneutral zone, demonstrating that heat stress influences the rumen parameters of calves in the pre-weaning phase.

Index terms: temperature variations, pre-weaning calves, rumen health, THI.

Introdução

O estresse térmico pelo calor tem efeitos marcantes sobre o desempenho de vacas leiteiras de alta produção, podendo reduzir em 0,335 kg/dia a produção de leite (Gantner et al., 2017). Do mesmo modo, animais jovens podem ter seu desempenho (Wang et al., 2020) e consumo de matéria seca (CMS) comprometidos pelo estresse térmico pelo calor, diminuindo em até 12% o CMS (O'Brien et al., 2010).

Sabe-se que, além de impactar negativamente o desempenho e consumo de alimentos, o estresse térmico por calor causa alterações na microbiota e fermentação ruminal (Tajima et al., 2007). Em se tratando de bezerros em aleitamento, modificações no padrão de fermentação poderiam interferir na saúde ruminal e desenvolvimento do neonato em ruminante funcional (Arshad et al., 2021) e ter consequências extremas sobre o sucesso da vida produtiva. Contudo, ainda são escassos na literatura os efeitos do estresse térmico sobre os parâmetros ruminais de bezerros em aleitamento. Além disso, é possível que a fermentação ruminal de bezerros submetidos ao estresse pelas variações em amplitude térmica responda de modo diferente daqueles mantidos unicamente em condições de estresse térmico por calor.

Objetivou-se, assim, analisar os efeitos do estresse térmico por calor e pela amplitude térmica sobre os parâmetros ruminais de bezerros leiteiros da raça Holandesa aos 28 dias de vida. Diante dos resultados apresentados, esta publicação vai ao encontro dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) contidos na Agenda 2030, proposta pela Organização das Nações Unidas, da qual o Brasil é signatário, nos seguintes objetivos específicos: ODS 2: “Acabar com a fome, alcançar a segurança alimentar e melhoria da nutrição e promover a agricultura sustentável; ODS 12: “Assegurar padrões de produção e de consumo sustentáveis”.

Material e métodos

Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Embrapa Gado de Leite, sob o protocolo nº 4115231121. O experimento foi conduzido no Laboratório Multiusuário de Bioeficiência e Sustentabilidade da Pecuária (LMBS), da Embrapa Gado de Leite, localizado em Coronel Pacheco - MG.

Foram utilizados 52 bezerros da raça Holandesa (22 machos e 30 fêmeas) com peso vivo inicial médio de 35,3 kg ± 4,63 kg. Após o nascimento, os bezerros foram submetidos à cura de umbigo com solução de iodo 10% e receberam colostro em quantidade

correspondente a 10% do peso vivo. A segunda colostragem foi realizada oito horas após a primeira, sendo fornecido 5% do peso vivo ao nascimento. Após o período de colostragem, os bezerros foram alojados em câmara climática com controle de temperatura (T°) e umidade relativa (UR) e submetidos a três condições climáticas distintas: zona termoneutra (grupo controle; $n = 6$ machos e 11 fêmeas), amplitude térmica ($n = 7$ machos e 10 fêmeas) e estresse térmico por calor ($n = 9$ machos e 9 fêmeas). No grupo controle (zona termoneutra), os animais foram mantidos a 22°C e 65% de umidade (ITU = 66) durante 24 horas/dia. O grupo estresse térmico por calor permaneceu 15 horas por dia em zona termoneutra (das 15h31min às 6h30min) e 9 horas por dia em estresse por calor ($T^{\circ} = 32^{\circ}\text{C}$, UR = 65%; ITU=84), das 6h31min às 15h30min. O grupo amplitude térmica foi submetido a variações entre a zona termoneutra, estresse térmico por calor e estresse térmico pelo frio (14°C , 65% umidade; ITU=54), no qual os animais foram submetidos ao estresse térmico por calor durante 9 horas/dia (6h31min - 15h30min), à zona termoneutra por 3 horas/dia (15h31min - 18h30min), estresse térmico pelo frio por 3 horas/dia (das 18h31min - 3h30min) e novamente à zona termoneutra por 3 horas/dia (3h31min - 6h30min).

A dieta líquida foi composta por leite integral (6 L/dia) fornecido diariamente em dois aleitamentos, às 7h30min e 14h30min. Água e concentrado formulado com farelo de milho, farelo de soja e núcleo mineral (20% de proteína bruta, 4,05 Mcal/kg MS) foram fornecidos *ad libitum* desde o primeiro dia de vida em baldes identificados, com 20% de sobras permitida.

Para avaliação dos parâmetros ruminiais, foram coletadas amostras de líquido ruminal aos 28 dias de idade, 3 horas após o aleitamento da manhã, utilizando sonda oroesofágica. Após a coleta, as amostras foram filtradas em gaze e a avaliação do pH se deu por meio de pHmetro portátil (pHmetro T-1000, Tekna, Araucária, Brasil). As concentrações de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no ambiente ruminal foram determinadas a partir de uma alíquota de 10mL de líquido ruminal segundo procedimento descrito por Lage et al. (2020). Uma segunda alíquota (10 mL) foi utilizada para a determinação das concentrações de nitrogênio amoniacal - N-NH_3 (Chaney; Marbach, 1962). A absorbância foi medida em 630 nm (Thermo Fisher Scientific, Madison, WI, EUA) após destilação em Kjeldahl com óxido de magnésio e cloreto de cálcio de acordo com o Método 920.03 (Association of Official Analytical Chemists, 2012).

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com três tratamentos (condições climáticas) e 17 repetições (com exceção do grupo estresse por calor, para o qual $n = 18$). Os dados foram analisados através do PROC GLIMMIX do SAS (*Statistical Analysis Systems*, versão 9.3) e as médias dos tratamentos estresse térmico por calor e pela amplitude térmica foram comparadas com o grupo controle (zona termoneutra) utilizando o teste Dunnett. As diferenças entre médias foram consideradas significativas quando $P < 0,05$.

Resultados e discussão

Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) na concentração ruminal de propionato, butirato e total de AGCC ou nas relações acetato:propionato e acetato:butirato entre bezerros submetidos ao estresse térmico por calor ou amplitude térmica em relação aos animais mantidos na zona termoneutra. No entanto, os bezerros submetidos ao estresse térmico

por calor apresentaram menor concentração de acetato e N-NH₃ no rúmen ($P < 0,05$) em comparação aos animais na zona termoneutra (Tabela 1).

Tabela 1. Efeito do estresse térmico por calor e amplitude térmica sobre parâmetros ruminais de bezerros da raça Holandesa nos primeiros 28 dias de vida.

Item	Zona Termoneutra	Estresse por Calor	Estresse pela Amplitude Térmica	EPM	P-valor
pH	6,25	6,10	6,31	0,02	0,63
Acetato, mmol/mL	22,40 ^a	13,27 ^b	21,50 ^a	0,14	0,01
Propionato, mmol/mL	11,37	6,98	8,31	0,20	0,23
Butirato, mmol/mL	4,25	2,61	3,49	0,20	0,26
Relação A:P ¹	1,97	1,90	2,59	0,10	0,07
Relação A:B ²	5,26	5,04	6,16	0,14	0,57
AGCC total (mmol/mL)	38,91	23,60	34,20	0,15	0,07
N-NH ₃ (mg/dL)	13,87 ^a	7,69 ^b	17,50 ^a	0,15	0,01

¹Acetato:propionato; ²Acetato:butirato. Diferenças consideradas significativas pelo teste de Dunnet a $P < 0,05$.

Em relação à produção de ROS, podemos observar uma diferença significativa entre animais Gir e HPB após a primeira infestação por carrapatos (Figura 3). Essa produção aumenta gradativamente de acordo com a exposição ($P < 0,05$, Two-Way Anova) sendo que animais Gir apresentam maiores níveis após a segunda infestação. Esses radicais livres possuem papéis ambivalentes, amplificando a inflamação do hospedeiro (Hernandez et al., 2022), que por sua vez facilita o ingurgitamento do carrapato e desestabiliza seu metabolismo energético, afetando o ingurgitamento e seu ciclo de vida.

Tajima et al. (2007) reportaram diminuição da proporção de acetato e um aumento na proporção de butirato em novilhas expostas a temperaturas mais altas, concluindo que a temperatura e umidade do ambiente em que os animais estão inseridos influenciam a composição bacteriana ruminal devido ao seu impacto sobre o consumo de alimentos. Estas observações podem justificar a menor concentração de acetato e N-NH₃ encontrada em nosso estudo, já que alterações na microbiota ruminal podem modificar o perfil de fermentação ruminal. No entanto, Gaafar et al. (2021) observaram maior concentração de nitrogênio amoniacal no rúmen de bezerros sob estresse térmico, o que difere de nossos resultados em que bezerros estressados por calor apresentaram redução da concentração de N-NH₃ no rúmen. Estas diferenças provavelmente estão relacionadas ao consumo de água, concentrado e composição da dieta.

Conclusões

O estresse térmico por calor influencia os parâmetros ruminais de bezerros da raça Holandesa na fase de aleitamento, apresentando menor concentração ruminal de acetato e amônia em comparação a animais mantidos em zonas termoneutras. O estresse por amplitude térmica não promove alterações nos parâmetros ruminais de bezerros da raça Holandesa na fase de aleitamento.

Agradecimentos

Agradecimento a toda equipe da Embrapa Gado de Leite, em especial à doutora Mariana Magalhães e aos funcionários do Campo Experimental José Henrique Bruschi. À Msc. Mariana Brito, ao doutor Luiz Felipe e ao aluno de pós-graduação Saulo Moreira.

Referências

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC International**. 19th ed. Gaithersburg, 2012.

ARSHAD, M. A.; HASSAN, F.-U.; REHMAN, M. S.; HUWS, S. A.; CHENG, Y.; DIN, A. U. Gut microbiome colonization and development in neonatal ruminants: strategies, prospects, and opportunities. **Animal Nutrition**, v. 7, n. 3, p. 883-895, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2021.03.004>.

CHANEY, A. L.; MARBACH, E. P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, v. 8, n. 2, p. 130-132, 1962. DOI: <https://doi.org/10.1093/clinchem/8.2.130>.

GAAFAR, H. M. A.; EL-NAHRAWY, M. M.; MESBAH, R. A.; SHAMS, A. Sh.; SAYED, S. K.; ANAS, A. A. Badr. Impact of heat stress on growth performance and some blood and physiological parameters of suckling friesian calves in Egypt. **International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences**, v. 11, n. 3, p. 545-565, 2021. DOI: <https://doi.org/10.26502/ijpaes.202121>.

GANTNER, V.; BOBIC, T.; GANTNER, R.; GREGIC, M.; KUTEROVAC, K.; NOVAKOVIC, J.; POTOČNIK, K. Differences in response to heat stress due to production level and breed of dairy cows. **International Journal Biometeorology**, v. 61, p. 1675-1685, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00484-017-1348-7>.

LAGE, C. F. A.; COELHO, S. G.; DINIZ NETO, H. C.; MALACCO, V. M. R.; RODRIGUES, J. P. P.; SACRAMENTO, J. P.; TEIXEIRA, V. A.; MACHADO, F. S.; PEREIRA, L. G. R.; TOMICH, T. R.; CAMPOS, M. M. Relationship between feed efficiency indexes and thermography, blood, and ruminal parameters in pre-weaning dairy heifers. **PLoS ONE**, v. 15, n. 7, e0236118, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236118>.

O'BRIEN, M. D.; RHOADS, R. P.; SANDERS, S. R.; DUFF, G. C.; BAUMGARD, L. H. Metabolic adaptations to heat stress in growing cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 38, n. 2, p. 86-94, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2009.08.005>.

TAJIMA, K.; NONAKA, I.; HIGUCHI, K.; TAKUSARI, N.; KURIHARA, M.; TAKENAKA, A.; MITSUMORI, M.; KAJIKAWA, H. I.; AMINOV, R. Influence of high temperature and humidity on rumen bacterial diversity in Holstein heifers. **Anaerobe**, v. 13, n. 2, p. 57-64, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2006.12.001>.

WANG, J.; LI, J.; WANG, F.; XIAO, J.; WANG, Y.; YANG, H.; LI, S.; CAO, Z. Heat stress on calves and heifers: a review. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 11, article 79, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40104-020-00485-8>.