



unopar

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE LEITE E DERIVADOS**

SÍLVIA ANDRÉIA SUBTIL

**ESTRESSE TÉRMICO E PRODUÇÃO DE LEITE EM REGIÃO
DE CLIMA TEMPERADO E SUBTROPICAL**

Londrina
2018

SÍLVIA ANDRÉIA SUBTIL

**ESTRESSE TÉRMICO E PRODUÇÃO DE LEITE EM REGIÃO
DE CLIMA TEMPERADO E SUBTROPICAL**

Dissertação apresentada à UNOPAR, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados.

Orientador: Prof. Dr. Agostinho Ludovico

Londrina

2018

**AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE
TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU
ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA,
DESDE QUE CITADA A FONTE.**

Dados Internacionais de catalogação na publicação (CIP)

**Universidade Pitágoras Unopar
Biblioteca CCBS/CCECA PIZA
Setor de Tratamento da Informação**

S941e Subtil, Sílvia Andréia
Estresse térmico e produção de leite em região de clima temperado e subtropical. / Sílvia Andréia Subtil. Londrina: [s.n], 2018.
61 f.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados). Universidade Pitágoras Unopar.
Orientador: Prof. Dr. Agostinho Ludovico.

1- Leite - Dissertação - UNOPAR 2- Índice de temperatura e umidade (THI) 3- Frações proteicas do leite 4- Produção e qualidade do leite 5- Composição 6- Holandesa I- Ludovico, Agostinho; orient. II- Universidade Pitágoras Unopar.

CDD 637

SÍLVIA ANDRÉIA SUBTIL

ESTRESSE TÉRMICO E PRODUÇÃO DE LEITE EM REGIÃO DE CLIMA TEMPERADO E SUBTROPICAL

Dissertação apresentada à UNOPAR, no Mestrado em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados, área e concentração em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre conferido pela Banca Examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Agostinho Ludovico
(UNOPAR)

Prof^a. Dr.^a Fabíola Cristine de Almeida Rego
(UNOPAR)

Prof. Dr. José Carlos Ribeiro Junior
(UEL)

Londrina, 05 de março de 2018.

Dedico ao meu esposo Sandro e meus filhos João Pedro e Rafael que não somente me apoiaram e incentivaram, mas entenderam a minha ausência.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao Espírito Santo que sempre esteve tocando em mim e fluindo seus dons de conhecimento;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro através da concessão da taxa PROSUP;

Ao Professor e Orientador Dr. Agostinho Ludovico, pelo seu empenho nas coletas de leite e entusiasmo com a pesquisa, norteando todo o trabalho, além da valiosa ajuda na estatística;

Aos professores do Mestrado por toda a dedicação e empenho profissional que nestes dois anos sem dúvida contribuíram para a base de todo o conhecimento necessário para a realização deste trabalho;

Aos colegas de laboratório Bruno, Samuel e Milena que contribuíram e muito para as análises de eletroforese; vocês fazem parte deste trabalho;

Aos proprietários das fazendas dos leites coletados pelo entendimento e confiança na pesquisa;

Aos colegas da turma 11 do Mestrado em Ciências e Tecnologia de Leite e Derivados da UNOPAR, Angélica, Emely, Érika, Flávia, Liliane, Paulyne, Rogério, Rosana e Rafael pela amizade e apoio tanto nos momentos de alegria como nos momentos difíceis; essa trajetória foi feita por todos nós juntos, com certeza essa turma foi muito especial;

Em especial as amigas e colegas Vitória e Gisele que juntamente comigo desafiaram-se ao retorno acadêmico após vários anos de extensão rural, compartilhando de muitos desafios e incertezas nesta linha tênue entre a pesquisa e o trabalho a campo. Com vocês a jornada foi mais fácil, obrigada.

SUBTIL, S. A. **Estresse térmico e produção de leite em região de clima temperado e subtropical.** 2018. 61. f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados) - Unidade Piza, Universidade Pitágoras Unopar, Londrina, 2018.

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos Índice de Temperatura e Umidade (THI), classificação de clima e estações climáticas sobre a produção e qualidade de leite de vacas. No primeiro estudo, foram avaliados os efeitos do THI sobre produtividade e composição de leite em primíparas e múltiparas. Foram utilizados dados de produção e composição do leite do rebanho de uma propriedade comercial em clima temperado obtidos no controle leiteiro mensal durante um período de cinco anos. Os dados meteorológicos para determinação do THI, foram médias de dois dias anteriores ao controle leiteiro, os quais foram obtidos de estação meteorológica da Fundação ABC. No segundo estudo, comparou-se composição de leite, incluindo as frações proteicas, de dois rebanhos comerciais em climas temperado (Cfb) e subtropical (Cfa) nas estações de verão e inverno. As frações proteicas do leite foram determinadas através de eletroforese em gel de policrilamida SDS-PAGE. Os dados analisados em delineamento inteiramente ao acaso e esquema fatorial de 2x2 no segundo estudo, através de análise variância e teste Tukey a 5%. As perdas em produção de leite iniciaram com THI entre 68-71 nas vacas múltiparas. Com THI acima de 80, vacas primíparas apresentaram uma maior tolerância ao calor em relação as vacas múltiparas, com uma queda de produção de leite de 2,89% e 4,27% respectivamente. A gordura foi o componente do leite que mais variou em vacas primíparas com decréscimo de 4,17% no teor e em vacas múltiparas a variação foi maior em relação a proteína com diminuição de 3,26% no teor com THI acima de 80. No segundo estudo, as vacas coletadas em clima Cfa, comparativamente ao clima Cfb, tiveram menor produção de leite (32,23 x 51,74 Kg/dia) e maiores teores de gordura (3,63 x 3,07%), proteína (3,13 x 2,84%) e sólidos totais (12,46 x 11,59%) no leite. O leite produzido por vacas no clima Cfb apresentou teores superiores em 10,23% de CN total e 30,34% de β -CN, enquanto o teor de Y-CN foi 24,85% menor que no clima Cfa. A estação climática resultou em decréscimo de 7,64% no teor de caseína (CN) total em relação ao inverno. As frações α -CN e β -CN foram as responsáveis por este declínio, enquanto a fração γ -CN teve um aumento 37,42% do seu teor no leite durante o verão. Dentre as proteínas do soro, foram observados teores 29,91% e 43,69% maiores de α -lactoalbumina e imunoglobulinas, respectivamente, no leite durante o verão. Conclui-se que as vacas do presente estudo apresentam grau de tolerância ao calor maior do que o relatado em estudos em outras regiões, ocorrendo prejuízos quantitativos e qualitativos na produção de leite com THI a partir de 76, os quais são maiores em vacas múltiparas em clima Cfb e na estação de verão.

Palavras-chave: THI. Frações proteicas. Holandesa. Leite. Composição.

SUBTIL, S. A. **Estresse térmico e produção de leite em região de clima temperado e subtropical.** 2018. 61. f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados) - Unidade Piza, Universidade Pitágoras Unopar, Londrina, 2018.

ABSTRACT

The present study had as objective to evaluate the effects Temperature and Humidity Index (THI), classification of climate and climatic seasons on the production and quality of cow's milk. On the first study, were evaluated the THI's effects on the productivity and composition of milk in primiparous and multiparous. It had been used data from the production and composition of milk from a herd of a commercial property in temperate climate obtained in monthly milk control over a period of five years. The meteorological data for the determination of THI were averages of two days prior of dairy control, which were obtained from the ABC Foundation's weather station. On the second study, it has been compared milk composition, including protein fractions of two commercial herds in temperate climates (Cfb) and subtropical (Cfa) in the summer and winter seasons. The protein fractions of milk were determined through polyacrylamide gel electrophoresis SDS-PAGE. The data analyzed in a completely randomized design and factorial scheme of 2x2 on the second study, through analysis of variance and Tukey test at 5%. Losses in milk production started with THI between 68-71 in multiparous cows. With THI above 80, primiparous cows presented a greater heat tolerance in relation to multiparous cows, with a drop in milk production of 2,89% and 4,27% respectively. The fat was the component of milk that varied most in primiparous cows with decrease of 4,17% in the content and in multiparous cows the variation was bigger in relation to the protein with decrease of 3,26% in the content with THI above 80. On the second study, the cows collected in climate Cfa, compared to the climate Cfb had lower production of milk (32,23 x 51,74 Kg/day) and higher fat contents (3,63 x 3,07%), protein (3,13 x 2,84%) and total solids (12,46 x 11,59%) in the milk. Milk produced by cows in the Cfb climate presented higher level in 10,23% of total CN and 30,34% of β -CN, while the content of γ -CN was 24,85% lower than on the Cfa climate. The climatic season resulted in a decrease of 7,64% in total casein (CN) content compared to winter. The fractions α -CN and β -CN were responsible for this decline, while the fraction had an increase of 37,42% of milk content during the summer. Among the serum proteins, it has been observed contents 29,91% and 43,69% higher of α -lactalbumin and immunoglobulins, respectively, in milk during the summer. It is concluded that the cows from this study present a higher degree of heat tolerance than that reported in studies in other regions, occurring quantitative and qualitative losses in milk production with THI from 76, which are bigger in multiparous cows in Cfb climate and in summer season.

Keywords: THI. Protein Fractions. Dutch, Milk. Composition.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	10
2.1 ESTRESSE TÉRMICO	10
2.1.1 Efeitos do estresse térmico	11
2.2 FRAÇÕES PROTEICAS DO LEITE	13
2.3 MECANISMOS DE TERMORREGULAÇÃO EM VACAS LEITEIRAS	16
2.3.1 Temperatura Retal	20
2.3.2 Frequência Respiratória	20
2.4 ÍNDICE DE TEMPERATURA E UMIDADE (THI)	21
2.4.1 Relação de THI com produção e composição de leite	23
3. OBJETIVOS	25
3.1 OBJETIVO GERAL	25
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
REFERÊNCIAS	26
4. ARTIGO	32
5. CONCLUSÃO GERAL	59
APÊNDICE	60

1. INTRODUÇÃO

Uma das maiores preocupações de produtores de leite em países tropicais é o efeito do estresse térmico em vacas leiteiras de alta produção, que influencia negativamente o bem-estar e a produtividade desses animais; além de causar perdas econômicas diretas, afetando o intervalo entre partos, e atrasando o ciclo reprodutivo (PORCIONATO et al., 2009; BERMAN et al., 2016; GHOSH et al., 2017).

O ambiente térmico pode ser um fator de restrição no desempenho de vacas leiteiras, independentemente do sistema de produção intensivo ou extensivo, o que representa um obstáculo para o setor e obriga os produtores a adotarem medidas de eficácia (PIRES, 2003).

Relatórios do Intergovernamental *Panel on Climate Change* (IPCC) indicam cenários de aquecimento da temperatura média do ar que variam entre 1° e 5,8°C até 2100. Este aumento pode parecer pouco, mas pequenas alterações na média da temperatura do planeta podem resultar em grandes catástrofes para o meio ambiente e para todos os seres vivos (IPCC, 2014).

Já existe consenso de que o processo é irreversível e há necessidade de buscar mecanismos nas próximas décadas de adaptação e ajustes às mudanças. Países tropicais como o Brasil serão drasticamente afetados com impacto direto sobre o setor agropecuário, pois é extremamente dependente das condições do tempo (OLIVEIRA; CARAMORI; GRODZKI, 2007).

O Estado do Paraná possui clima classificado como Cfa e Cfb, segundo a classificação de Köppen (1936) (IAPAR, 2015). O clima Cfa, denominado subtropical, ocorre na região Norte e se caracteriza por temperatura média no mês mais frio inferior a 18°C e temperatura média no mês mais quente acima de 22°C, com verões quentes, geadas pouco frequentes e tendência de concentração das chuvas nos meses de verão, contudo sem estação seca definida. Já o clima Cfb, denominado clima temperado, ocorre na região Centro-sul e se caracteriza por temperatura média no mês mais frio abaixo de 18°C, com verões frescos, temperatura média no mês mais quente abaixo de 22°C e sem estação seca definida.

Para Pires (2003), calcular os prejuízos que o estresse térmico causa aos animais bem como as perdas econômicas resultantes desse processo é

fundamental na tomada de decisões em relação ao manejo dos animais em seu respectivo ambiente.

O estresse térmico é causado por uma combinação de fatores ambientais, tais como a temperatura, umidade relativa, movimento do ar, precipitação e radiação solar. Os indicadores de estresse térmico (THI) são modelos que buscam combinar os efeitos destes fatores ambientais para determinação dos graus de estresse térmico dos animais (MADER et al., 2010; BERMAN et al., 2016).

O primeiro THI foi desenvolvido por Thom (1959) e se destinava a medir o conforto térmico em humanos. Mais tarde, o NRC (1971) publicou outros indicadores, sendo estes ainda os mais utilizados para animais. Recentemente, outros autores desenvolveram modelos incluindo, além da temperatura em bulbo seco, também a temperatura em bulbo úmido, globo negro, velocidade do vento e radiação solar (BUFFINGTON et al., 1981; BAETA et al., 1987; BERMAN et al., 2016).

As vacas leiteiras de alta produção são mais sensíveis ao estresse térmico, pois a quantidade de calor gerado no metabolismo de vacas lactantes é proporcional a sua produtividade, já que esses animais apresentam uma alta eficiência na utilização dos alimentos resultando em uma elevada taxa metabólica (WEST; MULLINIX; BERNARD, 2003; KADZERE et al., 2002).

Várias características dos animais são afetadas pelo estresse do calor, ocorre mudanças no padrão ruminal, ocasionando menor produção total de ácidos graxos voláteis e um aumento na percentagem molar de ácido acético; variação no índice de coagulação do leite, que piora no verão com maior lentidão para o início da coagulação após a adição do coalho, quando comparado com a estação de inverno, além de uma diminuição das taxas de concepção de 20 a 30% durante a estação de verão nos animais em situação de estresse térmico (DE RENSIS; SCARAMUZZI, 2003; BITTANTE et al., 2012; PESCARA 2012; BERNABUCCI et al., 2015). Também a CCS (contagem de células somáticas) é influenciada pelo estresse de altas temperaturas e umidade, aumentando a suscetibilidade do animal a infecções nos meses de temperaturas mais elevadas nas estações mais quentes do ano (ROMA JÚNIOR et al., 2009).

Já é sabido que existe uma estreita relação entre frações proteicas e rendimento de queijo na indústria, bem como com as características de coagulação do leite. Efeitos da estação de verão sobre as frações proteicas do leite em vacas da

raça Holandesa, afetam forte e negativamente a produção e a qualidade dos produtos; esta característica é mais importante para produtos de alta qualidade, tais como os queijos de denominação protegida de origem (DOP) (BERNABUCCI et al., 2010).

O município de Castro-PR é o maior produtor brasileiro de leite, com vacas de elevada produtividade e embora esteja situado em região de clima temperado, ocorrem temperaturas acima da zona de conforto térmico para vacas leiteiras. Assim, no presente estudo quantificou-se as alterações de produtividade e qualidade do leite de animais em estresse térmico, buscando fazer um comparativo entre diferentes climas Cfa e Cfb e estações, uma vez que os mesmos podem apresentar diferentes graus de adaptabilidade.

Diante do exposto, torna-se fundamental que se faça mais estudos em relação aos efeitos do estresse calórico sob os animais e componentes do leite, estabelecendo estratégias como uso de ventiladores e nebulizadores para minimizar a influência do estresse térmico sobre a rentabilidade da fazenda.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 ESTRESSE TÉRMICO

O maior desafio para vacas leiteiras de grande produção em clima quente é dissipar o calor produzido por processos metabólicos. A tolerância ao calor de uma determinada raça depende de seu patrimônio genético e atributos anatômicos e fisiológicos inerentes, portanto, cada raça tem uma capacidade de adaptação ao ambiente em que é exposta (BACCARI JUNIOR, 2015).

O estresse térmico pode ser definido como sendo o estado em que o animal não pode dissipar a quantidade adequada de calor para manter o equilíbrio térmico do corpo. Em áreas geográficas onde a temporada de verão é longa, como no Brasil, os desafios que os animais encontram ao lidar com o estresse térmico são maiores, pois existe uma presença constante de energia solar radiante e alta umidade, resultando em um alívio mínimo do calor (DIKMEN, HANSEN, 2009; SCHÜLLER et al., 2014).

As vacas têm zonas de temperatura ideais dentro do qual nenhuma energia adicional acima de manutenção é gasta para aquecer ou arrefecer o corpo,

a qual é denominada zona termoneutra. Para o gado leiteiro é estimada como sendo 0° a 20°C, com uma temperatura do ar superior crítico a cerca de 25°C. A energia solar e alta umidade relativa do ar comprometem a capacidade dos animais em dissipar o calor corporal para manter o equilíbrio térmico aumentando a temperatura corporal e também o estresse térmico (WEST; MULLINIX; BERNARD, 2003).

Pereira (2005) relata que a zona de conforto térmico dos taurinos (raças bovinas de origem europeia - *Bos taurus*), é de 0°C a 16°C, ao passo que para animais de raças zebuínas varia de 10 a 27°C por serem mais adaptados a regiões tropicais. Porém Berman (2016) encontrou diminuição de 5°C na temperatura limite para a ocorrência de estresse térmico quando a produção de leite aumentou de 35 para 45 kg/vaca/dia.

Quando os fatores ambientais limitam as perdas de calor e impedem o conforto, a vaca entra em estado de estresse térmico, tornando-se incapaz de dissipar o seu calor, aumentando assim a sua temperatura corporal. Isso resulta em diminuição do consumo de alimentos, ruminação e absorção de nutrientes, aumento das exigências nutricionais para manutenção e alterações hormonais, os quais levam a diminuição da produção e alterações na composição do leite (WEST, 2002; BERNABUCCI et al., 2010; BERNABUCCI et al., 2014).

2.1.1 Efeitos do estresse térmico

As respostas das vacas em lactação ao estresse térmico incluem: redução no consumo de alimentos, produção e porcentagem de gordura no leite, aumento da frequência respiratória e hipertermia (BACCARI JUNIOR, 2001). A manutenção da temperatura do corpo dentro dos limites normais impera sobre as funções produtivas como a lactação e a reprodução (BACCARI JUNIOR, 2015).

Efeitos combinados de estressores ambientais podem ser mais críticos para o conforto das vacas e seu desempenho do que medidas individuais tal como a temperatura ambiente (WEST; MULLINIX; BERNARD, 2003).

As vacas leiteiras de alto rendimento são extremamente suscetíveis ao estresse térmico, bem como as vacas no seu pico de produção. Estes animais que já estão sobre enorme pressão metabólica, quando a temperatura ambiental está acima da temperatura corporal, as vacas consideram o risco de estresse térmico e a produção de leite pode ser reduzida em até 50% (BEN SALEM;

BOURAOUI, 2009).

A redução na ingestão de matéria seca diminui os nutrientes acessíveis para a síntese do leite, sendo esta identificada como a principal causa da diminuição da produção do leite, associado a um estado de equilíbrio negativo (WHEELOCK et al., 2010).

Vários autores já relataram que o estresse térmico afeta negativamente a produção de leite (WEST, 2002; ZHU et al., 2016). Rejeb et al. (2012) atribuíram a redução na produção de leite em vacas sob estresse térmico às mudanças no metabolismo, fisiologia e ingestão alimentar.

O estresse calórico pode resultar em um decréscimo de 17% na produção de leite de vacas de 15 kg de leite/dia e de 22% em vacas de 40 kg de leite/dia (PINARELLI, 2003; PORCIONATO et al., 2009). Em outro estudo conduzido no sul do Brasil com gado da raça Holandesa multíparas em estado de estresse térmico severo (THI entre 83 e 90), Garcia et al. (2015) registraram perdas no rendimento leiteiro de 21%.

Cowley et al., (2015) em seu estudo observaram que ocorre um efeito adicional no leite em animais em estresse térmico, excedendo o efeito sobre a ingestão de alimentos, de acordo com os achados de Baumgard e Rhoads (2012). O estudo foi feito em vacas gradualmente aclimatizadas, observou-se uma queda de 20% na produção média do leite em animais estressados (diferença média 2,85 L), indicando que além da ingestão outros fatores são responsáveis pela redução no rendimento do leite sob o estresse térmico, concluindo que o estresse calórico teve maior influência na concentração de proteína no leite do que a restrição alimentar.

Vacas que pariram na estação de verão submetidas a estresse térmico apresentaram uma produção de leite reduzida quando comparadas as vacas que pariram no inverno (DIKMEN et al. 2014).

Bernabucci et al. (2014) observaram em seu estudo que os valores para todos os principais componentes do leite (gorduras, proteínas, sólidos totais) foram menores no verão e maiores no inverno. As frações de caseína com exceção da (gama-caseína) γ -CN apresentaram valores mais baixos no verão e maiores no inverno. A piora na coagulação do leite foi observada na estação do verão. As alterações das propriedades de fabricação de queijo durante a estação quente parecem estritamente relacionada com as mudanças nas frações proteicas do leite, principalmente, com a diminuição de (alfa-caseína e beta-caseína) α -SCN e β -CN .

2.2 FRAÇÕES PROTEICAS DO LEITE

Pelas suas excelentes propriedades nutritivas, tecnológicas e funcionais as proteínas do leite constituem um dos componentes mais valorizados na indústria, sendo as caseínas as proteínas do leite de maior aplicação e valor agregado, seguida pelas proteínas do soro. Vários países têm como sistema de pagamento do leite aos produtores a valorização da proteína, como, Holanda, França, Austrália, Nova Zelândia e Canadá, onde o valor da proteína é mais que o dobro do valor dos demais componentes (SANTOS; FONSECA, 2007).

A função biológica das caseínas na glândula mamária é transportar cálcio, fosfato e aminoácidos para o neonato (DE KRUIF; HOLT, 2003), compreendem cerca de 80% das proteínas do leite e consistem de quatro proteínas principais: α 1-, α 2-, β - e κ -caseína, representando em torno de 38%, 4,10%, 35% e 15%, respectivamente, as quais são constituídas por 199, 207, 209 e 169 aminoácidos, com pesos moleculares de 23, 25, 24 e 19kDa, respectivamente, e menores quantidades pela γ -caseína, que é composta por peptídeos terminais gerados, principalmente, pela proteólise da β -caseína, além de aproximadamente, 8% de fosfato de cálcio coloidal (GOFF, 2009). Silanikove et al. (2000), reportaram que a β -caseína é degradada pela plasmina, em condições de estresse ou restrição alimentar, o que gera o peptídeo 1-28 (γ - caseína) que, por sua vez, bloqueia os canais de potássio junto a membrana apical das células epiteliais mamárias e reduz a síntese do leite e de seus componentes. Possui sequências fosforiladas através das quais pode interagir com fosfato de cálcio, o que a torna capaz de sequestrar fosfato de cálcio, formando minúsculos agrupamentos de íons circundados por uma camada de proteína (HOLT, 2004).

A caseína tem atividade anfipática, ou seja, possui moléculas que apresentam a característica de possuírem uma região hidrofílica (solúvel em meio aquoso), e uma região hidrofóbica (insolúvel em água, porém solúvel em lipídios e solventes orgânicos) (DE KRUIF; GRINBERG, 2002). A conformação das moléculas expõe consideravelmente os resíduos hidrofóbicos, o que resulta em forte associação entre as caseínas e as tornam insolúveis em água (GOFF, 2009). Em torno de 95% da caseína no leite, está presente na forma de partículas coloidais, conhecidas como micelas, que é a responsável pela estabilidade térmica do leite. As frações α -CN e β -CN compreendem a porção hidrofóbica (interna) da micela, e a

fração K, compõe a porção hidrofílica (externa) sendo esta fração proteica a principal responsável pela estabilidade coloidal da micela (FOX; BRODKORB, 2008).

Segundo Smyth et al. (2004), além da função nutricional, a caseína é o meio pelo qual grande quantidade de cálcio pode passar pelo epitélio mamário sem provocar problemas de calcificação.

Na tabela 1 são apresentadas a classificação das caseínas e suas variantes genéticas.

Tabela 1: Principais características físico-químicas das caseínas do leite de vaca

Fração proteica	Porcentagem no leite desnatado	Peso molecular ¹	Variantes genéticas ²
Caseína α S1 (α S0, α S2, α S3, α S4, α S5)	45 - 55	23613	A, B, C, D
Caseína β	25 - 35	24000	A1, A2, A3, B, C, D
Caseína κ	8 - 15	19000	A, B
Caseína - γ	3 - 7	21000	
γ 1		20500	A1, A2, A3, B
γ 2		11800	A1 ou A2, A3, B
γ 3		11500	A1 ou A2 ou A3, B

FONTE: Adaptado de SGARBIERI, 1996

¹ Peso molecular em daltons

² Possui pelo menos um resíduo de aminoácido diferente na cadeia polipeptídica.

Os dois componentes principais das proteínas do soro são α -lactalbumina e β -lactoglobulina. A β -lactoglobulina é o maior peptídeo do soro (45% a 57%), representando, no leite bovino, acerca de 3,2g/L. Apresenta peso médio molecular de 18,4 a 36,8 kDa, o que lhe confere resistência à ação de ácidos e enzimas proteolíticas presentes no estômago, sendo, portanto, absorvida no intestino delgado. É o peptídeo que apresenta maior teor de aminoácidos de cadeia ramificada, com acerca de 25,1%, sendo também importante carreadora de retinol (pró vitamina A) materno para o filhote (DE WIT, 1998). A α -lactalbumina, em termos quantitativos é o segundo peptídeo do soro (15% a 25%) do leite bovino (SHANNON et al., 2003), com peso molecular de 14,2kDa. Caracteriza-se por ser de fácil e rápida digestão. Contém o maior teor de triptofano (6%) entre todas as fontes protéicas alimentares, também rica em lisina, leucina, treonina e cistina (MARKUS et al., 2002). As demais proteínas do soro são: albumina, imunoglobulinas, peptonas de protease e pequenas quantidades de enzimas e proteínas com funções metabólicas específicas, como por exemplo, a lisozima e lactoferrina (WALSTRA et

al., 1999)

As proteínas do soro representam 20% das proteínas totais do leite; são proteínas que permanecem solúveis após a precipitação da caseína a pH 4,6 e temperatura de 20°C (FARRELL JR et al., 2006). A maioria dessas proteínas tem forma globular, com elevada hidrofobicidade e cadeias peptídicas densamente dobradas. São constituídas por quatro grupos principais de proteínas: a β -lactoglobulina (β -LG), a α -lactoalbumina (α -LA), imunoglobulinas (Ig) e a albumina sérica bovina (ASB), representando cerca de 10%, 4%, 2% e 1% respectivamente, da proteína total do leite; das quais a albumina e as imunoglobulinas secretadas fora da glândula mamária (TRONCO, 2008).

As proteínas solúveis do soro do leite apresentam um excelente perfil de aminoácidos, caracterizando-as como proteínas de alto valor biológico, são uma matéria prima de elevado valor nutricional e boas propriedades sensoriais, vem sendo muito utilizadas pelas indústrias de alimentos em diferentes áreas, além de serem amplamente disponíveis, têm baixo custo.

Segundo Bernabucci et al. (2002) em estudo feito com vacas holandesas observou que o leite retirado das vacas no verão teve menores teores de proteína bruta e caseína, e um teor mais elevado das proteínas do soro com um THI sempre superior a 72. A percentagem de proteínas no leite foram 10% menores no verão. Essa redução da proteína do leite no verão foi devido à redução dos teores de caseína, que por sua vez foi causada por uma redução nos conteúdos de α -caseína e β -caseína. Os autores sugerem que o menor conteúdo de α -caseína e β -caseína em leite no verão, podem ser parcialmente devido à redução da disponibilidade de energia e proteína que geralmente ocorre durante o estresse por calor. Em estudos recentes Bernabucci et al. (2015) observaram que as diferenças para κ -CN foram mais atenuadas, com 9,7% menor concentração no leite durante o verão em relação ao inverno; por outro lado, a concentração de γ -CN no leite foi maior durante o verão.

Bertocchi et al. (2014) realizaram um estudo em uma fazenda leiteira, com uma fábrica de queijos para transformar o leite em queijo Grana Padano, observaram que as frações de caseína, com exceção de γ -CN, mostraram os valores mais baixos no verão e os maiores valores no inverno. O teor de IgG e albumina sérica foi maior no verão do que no inverno e na primavera. Um piora das propriedades da coagulação do leite foi observada na estação do verão. A alteração

das propriedades de fabricação de queijo durante a estação quente parece estritamente ligada às alterações das frações da proteína do leite principalmente com a diminuição de α S-CN e β -CN. Enquanto que a grande queda no teor de proteína e gordura registrada durante o verão está relacionada com o impacto negativo das condições quentes sobre a síntese desses componentes do leite.

2.3 MECANISMOS DE TERMORREGULAÇÃO EM VACAS LEITEIRAS

Uma das principais características do rebanho leiteiro do Brasil é a participação de raças com origem de clima temperado, como por exemplo, a Holandesa; animais com elevado potencial genético, especializados em alta produção, o que resulta em uma maior quantidade de calor endógeno, ou seja, estes animais são mais sensíveis ao estresse térmico (MARTELLO et al., 2004; FERREIRA et al., 2006).

Os animais ruminantes são classificados como homeotermos, ou seja, apresentam funções fisiológicas que se destinam a manter a temperatura corporal constante. A manutenção da homeotermia é prioridade para os animais e se sobrepõe às funções reprodutivas e produtivas (MARTELLO et al., 2004). As vacas leiteiras estão dotadas de instintos inatos, entre os quais o da autopreservação ou da sobrevivência e respondem aos desafios do ambiente térmico tentando manter a homeostase (equilíbrio fisiológico) (BACCARI JUNIOR, 2015).

Os mamíferos mantêm sua temperatura corporal acima da temperatura ambiente para facilitar a dissipação do calor corporal através de quatro rotas básicas de troca de calor: condução, convecção, radiação e evaporação. As rotas de dissipação de calor exigem um gradiente térmico para ajudar neste processo, as mais sensíveis à perda de calor são a condução, a convecção e a radiação. A evaporação é considerada uma rota insensível à perda de calor, exigindo um gradiente de vapor/pressão (KADZERE et al., 2002; COLLIER et al., 2006).

Apenas 20% da superfície da vaca leiteira está disponível para a dissipação do calor por condução; o que só ocorre quando o animal estiver deitado, pois é necessário o fluxo de calor de uma superfície estar em contato direto com outra superfície. O contato direto com uma superfície mais fria permite que o animal

transfira energia térmica para a superfície; por este motivo animais tendem a procurar superfícies mais frescas e úmidas para se acostarem (COLLIER et al., 2006).

A transferência de calor de uma superfície fixa pelo movimento do ar ou água é considerada convecção. Os fatores que influenciam a convecção são o tamanho do gradiente, a velocidade de movimento do ar ou da água e grau de isolamento dos animais, como gordura, pelos ou lã, que podem impedir a transferência de calor para a superfície da pele (gordura) ou o fluxo de ar ou água sobre a superfície (KADZERE et al., 2002).

A radiação pode transferir calor entre os objetos sem contato direto. A perda ou ganho do calor radiante ocorre à velocidade da luz, portanto, é imediatamente sentida pelo animal. Segundo Kadzere et al. (2002) a troca de calor por radiação é a quantidade líquida de calor perdido ou obtido através de emissão ou absorção de energia radiante infravermelha. O aumento dos níveis de umidade relativa e nuvens pode inibir a dissipação de calor por radiação, mas também tendem a reduzir a radiação solar recebida. Durante o período de verão, há um ganho líquido de calor de radiação durante horas diurnas e perda líquida de calor por radiação à noite, quando o animal está irradiando para o céu noturno mais frio (FUQUAY, 1981).

A evaporação ocorre quando as condições ambientais fazem com que as perdas de calor por convecção e radiação não sejam suficientes para regular a temperatura interna. De forma simplificada pode-se dizer que um líquido evaporando sobre uma superfície quente extrai calor dessa superfície resfriando-a. A evaporação é conduzida por um gradiente de pressão de vapor, portanto, quando a temperatura do ponto de orvalho ao redor do animal é menor do que a temperatura das superfícies evaporativas do animal ou se houver um aumento na velocidade do ar e um baixo nível de umidade em torno do animal. A perda de calor evaporativa pode ocorrer por duas rotas: pele e superfícies do trato respiratório (BLIGHT; JOHNSON, 1973; FUQUAY, 1981).

O animal perde calor por meio das rotas sensíveis (radiação, condução e convecção) quando a temperatura ambiente se aproxima da temperatura da superfície animal, porque a perda depende de um gradiente de temperatura. Quando a temperatura ambiente sobe acima da temperatura corporal, o fluxo de calor irá se reverter e o animal se tornará um dissipador de calor

(COLLIER et al., 2006).

Há grandes variações na literatura sobre as temperaturas críticas superior e inferior que delimitam a faixa de termoneutralidade para os animais. Huber (1990) reportou a zona de termoneutralidade de 4 a 26°C, para vacas holandesas em lactação. Segundo Berman (1985) a temperatura crítica (TC) superior estaria entre 25 a 26°C para vacas em lactação independentemente do nível de produção. Outro autor, o Fuquay (1997) considerou para o gado europeu o valor de TC superior de 25 a 27°C. Porém, na Holanda, André et al. (2011), observaram efeitos negativos na produção de vacas já a partir de temperatura ambiente média diária de 16 a 20°C e atribuíram os baixos valores a um menor grau de adaptação dos animais. Percebe-se que apesar das variações entre os autores todas as TC superiores permaneceram dentro do intervalo de 20 a 27°C.

Vacas leiteiras de alta produção apresentam uma maior taxa metabólica de repouso quando comparadas a vacas de baixa produção e vacas secas, o que resulta em uma maior susceptibilidade ao estresse térmico. Pela sua alta eficiência na utilização dos alimentos vacas com produção de leite diária acima de 30 Kg tem uma maior produção interna de calor tornando mais difícil a dissipação excedente acumulado no corpo (BACCARI JUNIOR, 2015).

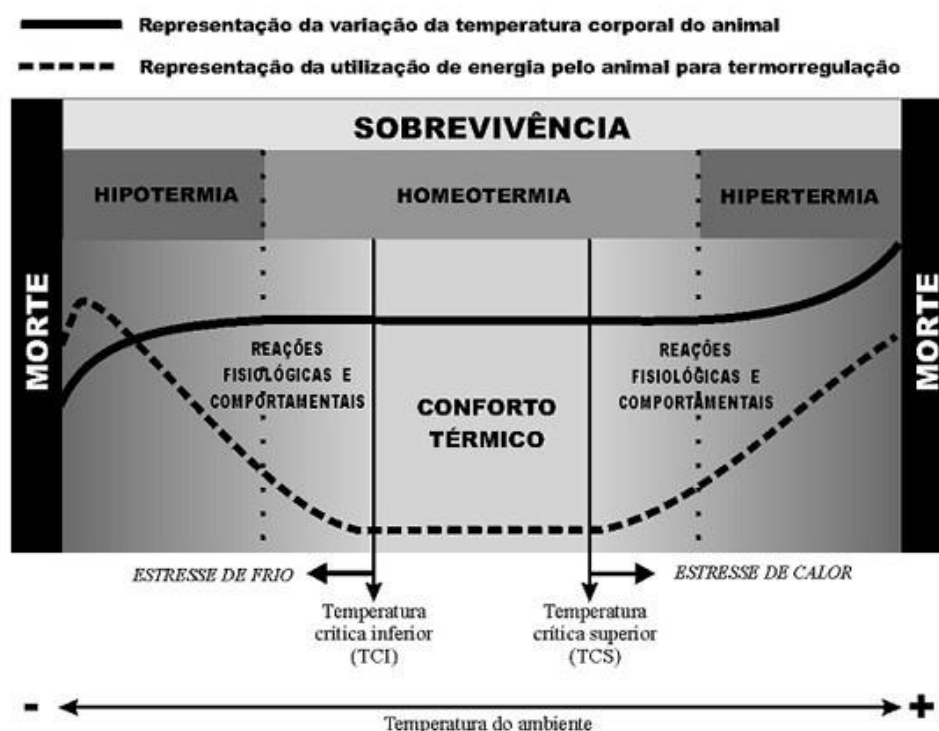
Segundo Salles et al. e Ferreira et al. (2014), apud REZENDE et al., (2015) esses animais sofrem algumas modificações fisiológicas em condições de estresse térmico, por exemplo, aumentam a frequência respiratória, elevam a taxa de sudorese e aumentam a temperatura retal dentre outros.

Os mecanismos fisiológicos específicos para as alterações na síntese dos diferentes componentes do leite em vacas com estresse térmico ainda são objeto de estudos (BAUMGARD; RHOADS, 2013). A diminuição de ingestão de alimentos, o qual possibilita diminuir, a produção de calor na fermentação ruminal, explica apenas aproximadamente 30 a 50% da diminuição na produção de leite, segundo RHOADS et al. (2009). Somado a isso, menor eficiência na digestão e absorção intestinal resulta em menor aporte de nutrientes para o metabolismo pós-absortivo (BAUMGARD; RHOADS, 2013; KADZERE et al., 2002).

Na figura 1 é apresentado o esquema simplificado do processo de termorregulação (SILVA, 2000), onde se observam as temperaturas críticas inferiores (TCI) e superiores (TCS). Além desses limites, o animal desencadeia o processo de termorregulação. Até as temperaturas limites hi (inferior) e hs (superior),

o animal consegue manter a temperatura interna; quando a temperatura ambiente é inferior a h_i e superior a h_s , o animal sobrevive com estresse extremo em hipotermia (inferior) e hipertermia (superior), pois não consegue mais manter a temperatura corporal constante. Quando a temperatura ultrapassa os limites de h_i e h_s o animal sucumbe.

Figura 1: Representação esquemática simplificada do processo de termorregulação.



FONTE: SILVA, 2000

Em função do estresse térmico ocorre a hipertermia, quando o calor acumulado ou armazenado no corpo excede o calor que o organismo consegue dissipar. Nessa situação o centro de apetite é inibido, via temperatura do sangue, há diminuição na ingestão de alimentos com consequente redução da taxa metabólica, produção de leite e porcentagem de gordura (BACCARI JUNIOR, 2001).

As características de pelame também podem ou não facilitar a dissipação de calor para o ambiente. No ambiente tropical é interessante apresentar propriedades que favorecem a perda de calor, assim como, um pelame de cor clara para refletir os raios infravermelhos que são caloríficos (REZENDE et al. 2015).

2.3.1 Temperatura Retal

A temperatura retal é um importante indicador que pode ser utilizado para avaliar o estresse térmico. As variações de temperatura retal podem ser influenciadas por fatores extrínsecos: hora do dia, ingestão de alimentos e água, estação do ano, velocidade do vento e fatores intrínsecos como: idade, raça e estado fisiológico dos animais (PERISSINOTTO et al., 2009).

A temperatura retal no verão e no inverno às 9,15 e 21 horas em vacas da raça holandesa em lactação, criadas em *free stall* foi estudada por Pires et al. (2003), os autores verificaram maior valor no verão em relação ao inverno às 15 horas; concluíram ainda que o ambiente térmico no *free stall*, proporcionou aumento da temperatura corporal no verão, o que pode contribuir para aumentar a temperatura uterina, responsável pela redução da taxa de concepção.

Em estudo avaliando vacas primíparas e multíparas observou-se que as primíparas apresentaram às 13h (temperatura retal) TR maior (39,1°C) se comparada às multíparas (38,8°C) com exceção das 6h, os valores absolutos de TR das primíparas foram superiores aos das multíparas o que indica que a primeira categoria é menos tolerante às condições ambientais (MARTELLO et al., 2004).

Dikmen e Hansen (2009) estudaram oito indicadores para verificar a temperatura retal de vacas Holandesas lactantes confinadas com ventiladores e sprinklers, em ambiente subtropical (Florida-USA). Os dados ambientais foram coletados dentro do confinamento (interno) e os autores concluíram que a temperatura em bulbo seco é um bom preditor de temperatura retal de vacas no clima subtropical. A temperatura de 28,4°C representou o limite superior na qual a temperatura retal é de 38,5°C (normal). Esta temperatura é superior à observada por outros pesquisadores, e os autores sugeriram, o grau de adaptação dos animais como causa.

2.3.2 Frequência Respiratória

O aumento da FR é o primeiro sinal visível de que os animais estão submetidos ao estresse térmico (MARTELLO et al., 2004). A frequência respiratória é um mecanismo eficiente de perda de calor quando considerado por um curto período, porém quando os valores ultrapassam 120 movimentos respiratórios por

minuto, o animal já está sofrendo com a carga excessiva de calor (PERISSINOTO et al., 2009).

Segundo Azevedo, Pires e Saturnino (2005) a frequência respiratória evidenciou ser um indicador de estresse térmico melhor que a temperatura retal. Os autores também observaram uma menor FR dos animais em THI 80; demonstrando uma menor necessidade de utilização das vias respiratórias dos animais para manter a homeotermia. Dentre outros fatores isto, se deve ao fato de os animais terem melhor capacidade de perda de calor pelas vias cutâneas, por intermédio da sudação.

A vaca Holandesa em condições normais de temperatura ambiente apresenta FR de 18 a 28 mov.min⁻¹ a partir de 26°C os movimentos começam a aumentar. Um diagnóstico de estresse térmico nas vacas é obtido quando a sua frequência respiratória é superior a 60-80 movimentos por minuto, ou seja, os animais em taquipneia (BACCARI JUNIOR, 2015).

Em seu estudo West (2002), considerou que um animal entra em estresse térmico quando a sua frequência respiratória for > 80 respirações/minuto, sendo necessário entrar com um sistema de resfriamento, o que vai de encontro ao considerado por Stowell (2000), que classificou vacas com uma taxa de respiração entre 80-90 respirações / min. como vacas submetidas ao estresse por calor. Em estudos mais recentes Garcia et al. (2015) observaram que vacas sob conforto térmico registraram uma taxa respiratória média de 38 respirações /min., enquanto as vacas sob estresse térmico por calor apresentaram valores de cerca de 80 respirações/min.

Martello et al. (2004) constataram em seu experimento menor tolerância das primíparas ao ambiente climático em comparação com as múltiparas, pois, a FR das primeiras indicou condições de início de estresse térmico. A FR de primíparas (68 mov.min⁻¹) foi maior que a das múltiparas (58 mov.min⁻¹) nos horários das 13 e 17h (62,4 e 55,6 mov.min⁻¹), sendo que nos dois horários as vacas apresentaram FR acima da considerada normal (18 a 60 mov.min⁻¹).

2.4 ÍNDICE DE TEMPERATURA E UMIDADE (THI)

Estudos já demonstraram que o desempenho animal é influenciado pelo ambiente térmico, uma vez que afeta os mecanismos de transferência de calor:

condução, convecção, radiação e evaporação. A intensidade com que isso ocorre depende da tolerância ao estresse térmico das diferentes raças, e a sensibilidade às temperaturas ambiente e à umidade relativa do ar (PERISSINOTTO; MOURA, 2007; BOHMANOVA et al., 2007; WEST; MULLINIX; BERNARD, 2003).

O meio ambiente apresenta uma complexa combinação de fatores que podem ser favoráveis ou não ao desenvolvimento de cada ser vivo, os fatores abióticos são: água, ar, luz, calor, frio, chuvas, vento e solo, e os bióticos são a flora e a fauna, os quais sempre agem de forma conjunta. As vacas leiteiras respondem aos desafios do ambiente térmico com seus instintos de autopreservação para manter sua homeostase (equilíbrio fisiológico), portanto sua sobrevivência (BACCARI JUNIOR, 2015).

O índice de temperatura e umidade (THI) é um valor associado a diferentes níveis de estresse térmico, e considera a combinação de temperatura e umidade para determinar o grau de estresse calórico dos animais (BOHMANOVA et al., 2007; WEST; MULLINIX; BERNARD, 2003). O primeiro THI foi desenvolvido por Thom (1959) e se destinava a medir o conforto térmico em humanos. Mais tarde, o NRC (1971) publicou outros indicadores, sendo estes ainda os mais utilizados para animais.

Buscando uma maior eficácia destes indicadores outros autores desenvolveram novos indicadores considerando temperatura de bulbo úmido (WBGT) que corresponde a uma temperatura efetiva muito próxima (LEE, 1980). Buffington et al., (1981) considerou no seu cálculo de THI as temperaturas de bulbo negro (BGHI) mostrando ser mais significativa em áreas sem sombra, demonstrando os efeitos da radiação; no Brasil Baeta et al. (1987) considerou além dos dados de temperatura e umidade a velocidade do vento. O vento tem um importante papel na perda de calor por convecção, pois a velocidade do ar é um importante fator sobre o processo de transferência evaporativa considerando que a temperatura do ar esteja menor que a temperatura animal (FERREIRA, 2010; KADZERE et al., 2002).

Hammami et al. (2013) pesquisaram seis indicadores de estresse térmico para vacas em clima temperado em Luxemburgo-Alemanha. Neste estudo, foi observado um limite inferior da zona de estresse térmico, comparativamente aos outros autores, e os autores atribuem este fato ao grau de adaptabilidade dos animais. Os indicadores que consideram a radiação solar e velocidade do vento foram considerados melhores para avaliar o desconforto das vacas

Berman et al. (2016) publicaram estudo com um novo indicador de estresse térmico (THI), no qual é considerado uma interação de temperatura em bulbo seco e umidade relativa. Os autores afirmam que o modelo tem alta acurácia em ampla situação climática, e é mais sensível para efeitos de umidade no estresse térmico de animais em climas quente e úmidos.

2.4.1 Relação de THI com produção e composição de leite

Vários estudos já demonstraram que a produção de leite diminui com aumento de THI e vice-versa (RAVAGNOLO; MISZTAL, 2000; REYAD et al., 2016). Bouraoui et al. (2002) observaram uma diminuição significativa na composição do leite, gordura e proteína, além de um aumento na contagem de células somáticas em THI 78 no verão quando comparado com THI 68 na primavera.

Porém existem vários fatores que influenciam o início do estresse térmico dos animais, entre eles, a raça, adaptabilidade dos animais, estágio de lactação, sistema de criação, além de clima e estação do ano são importantes afim de que se possa escolher o melhor indicador; para a partir deste, poder tomar as decisões de manejo adequadas aos animais sem grandes perdas econômicas para as fazendas.

Em seu estudo, West, Mullinix e Bernard (2003), verificaram que em estações quentes o THI mínimo para as vacas leiteiras era igual ou superior a 72 e o THI máximo estava bem acima de 76, de modo que a média THI excede facilmente o ponto crítico de 72, sugerindo que as vacas foram expostas continuamente a condições propícias ao estresse por calor. Também concluíram que durante o estresse por calor o efeito da média do THI 2 dias anteriores teve uma maior influência na produção do leite já a temperatura ambiente 2 dias teve maior efeito sobre a ingestão de matéria seca (DMI), e as temperaturas do dia tiveram maior impacto sobre a temperatura do leite da vaca. O consumo de matéria seca e a produção de leite de vacas holandesas e Jersey diminuíram linearmente com os respectivos aumentos na temperatura do ar ou THI durante a estação mais quente, já a temperatura do leite aumentou linearmente.

Bernabucci et al. (2015) observaram que o início dos efeitos do estresse térmico em vacas leiteiras italianas foi com valores de THI 75,72 e 72 para produção de leite, proteína e gordura respectivamente. O THI médio diário foi menor

que 75 durante cerca de 50% dos dias de verão investigados. Hammami et al., (2013) relataram que a produção diária de gordura tendeu a diminuir de forma constante com valores crescentes de THI, o que ocorreu também com a proteína do leite relatado por Gantner et al., (2011). Em outro estudo usando dados da Alemanha foi observado um declínio na produção de proteínas no gado leiteiro da raça Holandesa em THI a partir de 60 (BRÜGEMANN et al., 2011).

Martello et al. (2004) observaram em estudo feito no Brasil com vacas Holandesas multíparas, com produção média de 5.500 Kg leite/ lactação que THIs entre 75 e 76, apesar de serem considerados estressante por diversas fontes de literatura, não foram associados à condição de estresse térmico pelos animais , o que sugere os autores que maior número de investigações acerca dos valores críticos destes índices deve ser feito em condições de clima tropical, para o estabelecimento de parâmetros mais adequados.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Quantificar os efeitos do estresse térmico em vacas de alta produção da raça Holandesa sobre a produtividade e qualidade do leite em clima temperado e subtropical na região sul do Brasil.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar os efeitos do estresse térmico sobre a produção e composição do leite de vacas em clima temperado;

Comparar os efeitos do estresse térmico sobre a composição do leite de verão e inverno em dois climas distintos: clima temperado no município de Castro-PR e clima subtropical no município de Londrina-PR;

Realizar o perfil eletroforético das frações proteicas do leite das vacas em lactação em dois climas, temperado x subtropical e duas estações distintas do ano (verão e inverno) para determinar os efeitos do estresse térmico sobre as diferentes frações proteicas no leite.

REFERÊNCIAS

- ANDRÉ, G.; ENGEL, B.; BERENTSEN, P. B. M.; VELLINGA, T. V.; OUDE LANSINK, A. G. J. M. Quantifying the effect of heat stress on daily milk yield and monitoring dynamic changes using an adaptive dynamic model. **J. Dairy Sci.**, v. 94, n. 9, p. 4502-4513, 2011.
- AZEVEDO, M.; PIRES, M. A. F.; SATURNINO, H. M.; et al. Estimativas de Níveis Críticos Superiores do Índice de Temperatura e Umidade para Vacas Leiteiras $\frac{1}{2}$, $\frac{3}{4}$ e $\frac{7}{8}$ Holandês Zebu em Lactação. **Rev. Bras. Zoot.**, v. 34, n. 6, p. 2000-2008, 2005.
- BACCARI JUNIOR, F. A vaca leiteira e as mudanças climáticas globais. **J. Anim. Behav. Biometeorol.**, v. 3, n. 1, p. 1-8, 2015.
- BACCARI JUNIOR, F. **Manejo ambiental da vaca leiteira em climas quentes**. Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 2001.142p.
- BAETA, F. C.; MEADOR, N. F., SHANKLIN, M. D.; JOHNSON, H. D. Equivalent temperature index at temperatures above the thermoneutral for lactating dairy cows. **ASAE**, n. 874015, 1987.
- BAUMGARD, L. H.; RHOADS, R. P. Effects of heat stress on postabsorptive metabolism and energetic. **Annu. Rev. Anim. Biosci.**, v. 1, n.1, p. 311-337, 2013.
- BAUMGARD, L. H.; RHOADS, R. P. Ruminant production and metabolic responses to heat stress. **J. Anim. Sci.**, v. 90, p. 1855–1865, 2012.
- BEN SALEM, M.; BOURAOU, R. Heat Stress in Tunisia: Effects on dairy cows and potential means of alleviating it. **S. Afr. J. Anim. Sci.**, v. 39, p. 256-259, 2009.
- BERMAN, A. et al. A comparison of THI indices leads to a sensible heat-based heat stress index for shaded cattle that aligns temperature and humidity stress. **Int. J. Biometeorol.**, v. 60, n. 10, p. 1453-1462, 2016.
- BERMAN, A. et al. Upper critical temperatures and forced ventilation effects for high-yielding dairy cows in a subtropical climate. **J. Dairy Sci.**, v. 68, n. 6, p. 1488-1495, 1985.
- BERNABUCCI, U. et al. Effects of the hot season on milk protein fractions in Holstein cows. **Anim. Res.**, v. 51, p. 25-33, 2002.
- BERNABUCCI, U. et al. Effects of Summer season on Milk protein fractions in Holstein cows. **J. Dairy Sci.**, v. 98, n. 3, p. 1815-1827, 2015.
- BERNABUCCI, U. et al. Metabolic and hormonal acclimation to heat stress in domesticated ruminants. **Animal**, v. 4, n. 7, p. 1167-1183, 2010.
- BERNABUCCI, U. et al. The effects of heat stress in Italian Holstein dairy cattle. **J. Dairy Sci.**, v. 97, n. 1, p. 471-486, 2014.

BERTOCCHI, L.; VITALI, A.; LACETERA, N.; NARDONE, G.; VARISCO, G.; BERNABUCCI, U. Seasonal variations in the composition of Holstein cow's milk and temperature-humidity index relationship. **Animal**, p.1-8, 2014.

BITTANTE, G., PENASA, M., CECCHINATTO, A. Invited review: Genetics and modeling of Milk coagulation properties. **J. Dairy Sci.**, v. 95, n. 12, p. 6843-6870, 2012.

BLIGHT, J.; JOHNSON, K. G. Glossary of terms for thermal physiology. **J. Appl Physiol.**, v. 35, p. 941–961, 1973.

BOHMANOVA, J.; MISZTAL, I.; COLE, J. B. Temperature-humidity indices as indicators of milk production losses due to heat stress. **J. Dairy Sci.**, v. 90, p.1947–1956. 2007.

BOURAOUI, R.; LAHMAR, M.; MAJDOUB, A.; DJEMALI, M; BELYEA, R. The relationship of temperature-humidity index with milk production of dairy cows in a Mediterranean climate. **Animal Research**, v. 51 n. 6, p. 479-491, 2002.

BRÜGEMANN, K.; GERNAND, E.; VON BORSTEL, U. U.; KÖNIG, S. Genetic analyses of protein yield in dairy cows applying random regression models with time-dependent and temperature x humidity-dependent covariates. **J. Dairy Sci.**, v. 94, p. 4129–4139. 2011.

BUFFINGTON, D. E.; COLLAZO-AROCHO, A.; CANTON, G. H.; PITT, D.; THATCHER, W. W.; COLLIER, R. J. Black globe-humidity index (BGHI) as comfort equation for dairy cows. **ASAE**, v. 24, n. 3, p. 711–714, 1981.

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

COWLEY, F. C.; BARBER, D. G.; HOULIHAN, A. V.; POPPI, D. P. Immediate and residual effects of heat stress and restricted intake on milk protein and casein composition and energy metabolism. **J. Dairy Sci.**, v. 98, p. 1–13, 2015.

DE KRUIF, C. G.; GRINBERG, V. Y. Micellisation of β -casein. **Colloids Surf. A**, v. 210, p. 183-190, 2002.

DE KRUIF, C. G.; HOLT, C. Casein micelle structure, functions and interactions, In: FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H. (Eds.), **Advanced Dairy Chemistry Proteins**, v. 1, New York: Kluwer Academic, Plenum. 2003, p. 233-276.

DE RENSIS, F.; SCARAMUZZI, R. J. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow: A review. **Theriogenology**, v. 60, p. 1139–1151, 2003.

DE WIT, J. N. Nutritional and functional characteristics of whey proteins in food products. **J. Dairy Sci.**, v. 81, p. 597-608, 1998.

DIKMEN, S.; HANSEN, P. J. Is the temperature-humidity index the best indicator of

heat stress in lactating dairy cows in a subtropical environment? **J. Dairy Sci.**, v. 92, n. 1, p. 109–116, 2009.

DIKMEN, S.; KHAN, F. A.; HUSON, H. J.; SONSTEGARD, T. S.; MOSS, J. I.; DAHL, G. E.; HANSEN, P. J. The SLICK hair locus derived from Senepol cattle confers thermotolerance to intensively managed lactating Holstein cows. **J. Dairy Sci.**, v. 97, p. 5508–5520. 2014.

FARRELL JR, H. M.; MALIN, E. L.; BROWN, E. M.; QI, P. X. Casein micelle structure: What can be learned from milk synthesis and structural biology? **Curr. Opin. Colloid Interface Sci.**, v. 11, p. 135-147, 2006.

FERREIRA, F.; PIRES, M. F. A.; MARTINEZ, M. L.; COELHO, S. G.; CARVALHO, A. U.; FERREIRA, P. M.; FACURY FILHO, E. J.; CAMPOS, W. E. Parâmetros fisiológicos de bovinos cruzados submetidos ao estresse calórico. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 58, n. 5, p. 732-738, 2006.

FERREIRA, L. C. B. **Respostas fisiológicas e comportamentais de bovinos submetidos a diferentes ofertas de sombra**. 2010. 89. p. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas), Universidade Federal de Santa Catarina, 2010.

FOX, P. F.; BRODKORB, A. The casein micelle: Historical aspects, current concepts and significance. **Int. Dairy J.**, v. 18, p. 677–684, 2008.

FUQUAY, J. W. Heat stress as it affects animal production. **J. Animal Sci.**, v. 52, p.164-182, 1981.

FUQUAY, J. W. Heat stress as it affects animal production. **Livestock Environment**, v. 2, p. 1133-1137, 1997.

GANTNER, V.; MIJIÜ, P.; KUTEROVAC, K.; SOLIÜ, D.; GANTNER, R. Temperature-humidity index values and their significance on the daily production of dairy cattle. **Mljekarstvo**, v. 61, p. 56–63, 2011.

GARCIA, A. B.; ANGELI, N.; MACHADO, L.; CARDOSO, F. C.; GONZALEZ, F. Relationships between heat stress and metabolic and milk parameters in dairy cows in Southern Brazil. **Trop. Anim. Health Prod.**, v. 47, p. 889-894, 2015.

GHOSH, C. P.; KESH, S. S.; TUDU, N. K.; DATTA, S. Heat Stress in Dairy Animals - Its Impact and Remedies: A Review. **Int. J. Pure App. Biosci.**, v. 5, n. 1, p. 953-965, 2017.

GOFF, H. D. **Dairy Science and Technology**. 2009. Disponível em: <<https://www.uoguelph.ca/foodscience/dairy-science-andtechnology/dairy-chemistry-and-physics>>. Acesso em: 10 Ago. 2017.

HAMMAMI, H.; BORMANN, J.; M'HAMDI, N.; MONTALDO, H. H.; GENGLER, N. Evaluation of heat stress on production and somatic cell score of Holstein in temperate environment. **J. Dairy Sci.**, v. 96, p. 1844-1855, 2013.

HOLT, C. An equilibrium thermodynamic model of the sequestration of calcium phosphate by casein micelles and its application to the calculation of the partition of salts in milk. **Eur. Biophys. J.**, v. 33, p. 421-434, 2004.

HUBER, J. T. Alimentação de vacas de alta produção sob condições de estresse térmico. In: HUBER, J. T. **Bovinocultura Leiteira**. Piracicaba: FEALQ. 1990. p. 33-48.

IAPAR - INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ. **Cartas Climáticas: Classificação Climática**. 2015. Disponível em: <<http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=597>>. Acesso em: junho 2016.

IPCC. **Alterações Climáticas 2014: Relatório Síntese**. Contribuição dos grupos de Trabalho I, II e III do Quinto Relatório de Avaliação do Painel Intergovernamental sobre Mudança do Clima. Núcleo Writing Team, RK Pachauri e LA Meyer. IPCC, Genebra, Suíça, 2014. 151p. Disponível em: <<http://www.ipcc.ch/report/ar5/syr/>>. Acesso em: 7 jul. 2016.

KADZERE, C. T.; MURPHY, M. R.; SILANIKOVE, N.; MALTZ, E. Heat stress in lactating dairy cows: A review. **Livest. Sci.**, v. 77, p. 59–91, 2002.

KÖPPEN, W. **Das geographic system der klimate**: handbuch der klimatologie. Berlim: Bortraeger, 1936. 44p.

LEE, D.H. Seventy-five years of searching for a heat index. **Environ. Res.**, v. 22, p. 351-356, 1980.

MADER, T. L.; JOHNSON, L. J.; GAUGHAN, J. B. A comprehensive index for assessing environmental stress in animals. **J. Anim. Sci.**, v. 88, p. 2153–2165, 2010.

MARKUS, C. R.; OLIVER, B.; DE HAAN, E. H. F. Whey Protein rich in alfa-lactalbumin increases the ratio of plasma tryptophan to the sum of the other large neutral amino acids and improves cognitive performance in stress - 14 vulnerable subjects. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 75, p. 1051-6, 2002.

MARTELLO, L.S. et al. Respostas Fisiológicas e Produtivas de Vacas Holandesas em Lactação Submetidas a Diferentes Ambientes. **R. Bras. Zootec.**, v. 33, n. 1, p. 181-191, 2004.

NRC - National Research Council. **A Guide to Environmental Research on Animals**. Washington: Natl. Acad. Sci., 1971. 374p.

OLIVEIRA, O.; CARAMORI, P. H.; GRODZKI, L. **Mudanças Globais do Clima: IAPAR e SEAB em busca de soluções**. Documento 29. Londrina: Instituto Agrônomo do Paraná. v. Série.CDD577, 2007. 22p.

PEREIRA, J. C. C. **Fundamentos de bioclimatologia aplicados à produção animal**. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2005.

PERISSINOTTO, M. et al. Conforto térmico de bovinos leiteiros confinados em clima

subtropical e mediterrâneo pela análise de parâmetros fisiológicos utilizando a teoria dos conjuntos fuzzy. **Cienc. Rural**, v. 39, n. 5, p. 1492-1498, 2009.

PERISSINOTTO, M.; MOURA, D. J. Determinação do Conforto Térmico de Vacas Leiteiras utilizando a Mineração de Dados. **Bio. Eng.**, v. 1, n. 2, p. 117-126, 2007.

PESCARA, J., **O efeito do estresse térmico me vacas leiteiras e suas implicações nutricionais**, 2012. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/empr esas/novidades-parceiros/o-efeito-do-estresse-termico-em-vacas-leiteiras-e-suas-implicacoes-nutricionais-79926n.aspx>>. Acesso: 15 fev. 2018.

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

PIRES, M. F. A. Zoneamento Bioclimatológico utilizando o Índice de Temperatura e Umidade, para bovinocultura de leite na Região Sudeste do Brasil. In: SOBRINHO, F. S.; ALVIM, M. J.; BOTREL, M. A.; MACHADO, D. A. (Eds.). **Relatório Técnico da Embrapa Gado de Leite 2001-2003**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2003. 173p.

PORCIONATO, M. A. F. et al. Influência do Estresse Calórico na Produção e Qualidade do Leite. **Rev. Acad., Ciênc. Agrár. Ambient.**, v. 7, n. 4, p. 483-490, 2009.

RAVAGNOLO, O.; MISZTAL, I. Genetic component of heat stress in dairy cattle, parameter estimation. **J. Dairy Sci.**, v. 83, p. 2126-2130, 2000.

REJEB, M.; NAJAR, T.; M'RAD, M. B.; The effect of heat stress on dairy cow's performance and animal behaviour. **Int. J. Plant Anim. Environ. Sci.**, v. 2, p. 29-34. 2012.

REYAD, A. M. et al. Effect of heat stress on milk production and its composition of Holstein Friesian crossbred dairy cows. **Asian J. Med. Biol. Res.**, v. 2, n. 2, p. 190-195, 2016.

REZENDE, S. R.; et al. Caraterísticas de Termorregulação em Vacas Leiteiras em Ambiente Tropical: Revisão. **Vet. Not.**, v. 21, n. 1, p. 18-29, 2015.

ROMA JÚNIOR, L. C.; et al. Sazonalidade do teor de proteína outros componentes do leite e sua relação com programa de pagamento por qualidade. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 61, n. 6, p. 1411-1418, 2009.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. São Paulo: Manole, 2007. 314p.

SCHÜLLER, L. K.; BURFEIND, O.; HEUWIESER, W. Impact of heat stress on conception rate of dairy cows in the moderate climate considering different temperature–humidity index thresholds, periods relative to breeding, and heat load indices. **Theriogenology**, v. 81, p. 1050–1057, 2014.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos proteicos**: propriedades, degradações, modificações. São Paulo: Editora-Livraria Varela, 1996. 517p.

SHANNON, L. K.; CHATTERTON, D.; NIELSEN, K.; LÖNNERDAL, B. Glycomacropeptide and alfa-lactoalbumin supplementation of infant formula affects growth and nutritional status in infant rhesus monkeys. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 77, p. 1261-8, 2003.

SILANIKOVE, N.; SHAMAY, A.; SHINDER, D.; MORAN, A. Stress down regulates milk yield in cows by plasmin induced beta-casein product that blocks k⁺ channels on the apical membranes. **Life Sci.**, v. 67, p. 2201-2212, 2000.

SILVA, R. G. D. **Introdução à bioclimatologia animal**. São Paulo: Nobel, 2000, 286 p.

SMYTH, E.; CLEGG, R. A.; HOLT, C. A biological perspective on the structure and function of caseins and casein micelles. *Int. J. Dairy Technol.*, v. 57, p. 121-126, 2004.

STOWELL, R. R. Heat stress relief and supplemental cooling. In: Dairy Housing and Equipment Systems: Managing and planning for Profitability Conference. **Proceedings...** Pennsylvania: NRAES publication. v. 129, 2000. p. 175-185.

THOM, E. C. The discomfort index. **Weatherwise**, v. 12, n. 2, p. 57-61, 1959.

TRONCO, V. M. **Manual de Inspeção da Qualidade do Leite**. v. 45, 3. ed. Santa Maria: UFSM, 2008. 11p.

WALSTRA, P. Casein sub-micelles: do they exist? **Int. Dairy J.**, v. 9, p. 189-192, 1999.

WEST, J. W. Physiological effects of heat stress on production and reproduction. In: Tri-state dairy nutrition conference, 2002. **Anais...** Fort Wayne: East Ridge, 2002. p. 1-9.

WEST, J. W.; MULLINIX, B. G.; BERNARD, J. K. Effects of hot, Humid Weather on Milk Temperature, Dry Matter Intake, and Milk Yield of Lactating Dairy Cows. **J. Dairy Sci.**, v. 86, n. 1, p. 232-242, 2003.

WHEELOCK, J. B.; RHOADS, R. P.; VANBAALE, M. J.; SANDERS, S. R.; BAUMGARD, L. H. Effect of Heat Stress on Energetic Metabolism in Lactating Holstein Cows. **J. Dairy Sci.**, v. 93, p. 644-655, 2010.

ZHU, W.; ZHANG, B. X.; YAO, K. Y.; YOON, I.; CHUNG, Y. H.; WANG, J. K.; LIU, J. X. Effects of supplemental levels of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on lactation performance in dairy cows under heat stress. **Asian-Aust. J. Anim. Sci.**, v. 29, p. 801-806, 2016.

4. ARTIGO

Estresse térmico e produção de leite em região de clima temperado e subtropical

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos Índice de Temperatura e Umidade (THI), classificação de clima e estações climáticas sobre a produção e qualidade de leite de vacas. No primeiro estudo, foram avaliados os efeitos do THI sobre produtividade e composição de leite em primíparas e múltiparas. Foram utilizados dados de produção e composição do leite do rebanho de uma propriedade comercial em clima temperado obtidos no controle leiteiro mensal durante um período de cinco anos. Os dados meteorológicos para determinação do THI, foram médias de dois dias anteriores ao controle leiteiro, os quais foram obtidos de estação meteorológica da Fundação ABC. No segundo estudo, comparou-se composição de leite, incluindo as frações proteicas, de dois rebanhos comerciais em climas temperado (Cfb) e subtropical (Cfa) nas estações de verão e inverno. As frações proteicas do leite foram determinadas através de eletroforese em gel de policrilamida SDS-PAGE. Os dados analisados em delineamento inteiramente ao acaso e esquema fatorial de 2x2 no segundo estudo, através de análise variância e teste Tukey a 5%. As perdas em produção de leite iniciaram com THI entre 68-71 nas vacas múltiparas. Com THI acima de 80, vacas primíparas apresentaram uma maior tolerância ao calor em relação as vacas múltiparas, com uma queda de produção de leite de 2,89% e 4,27% respectivamente. A gordura foi o componente do leite que mais variou em vacas primíparas com decréscimo de 4,17% no teor e em vacas múltiparas a variação foi maior em relação a proteína com diminuição de 3,26% no teor com THI acima de 80. No segundo estudo, as vacas coletadas em clima Cfa, comparativamente ao clima Cfb, tiveram menor produção de leite (32,23 x 51,74 Kg/dia) e maiores teores de gordura (3,63 x 3,07%), proteína (3,13 x 2,84%) e sólidos totais (12,46 x 11,59%) no leite. O leite produzido por vacas no clima Cfb apresentou teores superiores em 10,23% de CN total e 30,34% de β -CN, enquanto o teor de Y-CN foi 24,85% menor que no clima Cfa. A estação climática resultou em decréscimo de 7,64% no teor de caseína (CN) total em relação ao inverno. As frações α -CN e β -CN foram as responsáveis por este declínio, enquanto a fração γ -CN teve um aumento 37,42% do seu teor no leite durante o verão. Dentre as proteínas do soro, foram observados teores 29,91% e 43,69% maiores de α -lactoalbumina e imunoglobulinas, respectivamente, no leite durante o verão. Conclui-se que as vacas do presente estudo apresentam grau de tolerância ao calor maior do que o relatado em estudos em outras regiões, ocorrendo prejuízos quantitativos e qualitativos na produção de leite com THI a partir de 76, os quais são maiores em vacas múltiparas em clima Cfb e na estação de verão.

Palavras-chave: THI. Frações proteicas. Holandesa. Leite. Composição.

ABSTRACT

The present study had as objective to evaluate the effects Temperature and Humidity Index (THI), classification of climate and climatic seasons on the production and quality of cow's milk. On the first study, were evaluated the THI's effects on the

productivity and composition of milk in primiparous and multiparous. It had been used data from the production and composition of milk from a herd of a commercial property in temperate climate obtained in monthly milk control over a period of five years. The meteorological data for the determination of THI were averages of two days prior of dairy control, which were obtained from the ABC Foundation's weather station. On the second study, it has been compared milk composition, including protein fractions of two commercial herds in temperate climates (Cfb) and subtropical (Cfa) in the summer and winter seasons. The protein fractions of milk were determined through polyacrylamide gel electrophoresis SDS-PAGE. The data analyzed in a completely randomized design and factorial scheme of 2x2 on the second study, through analysis of variance and Tukey test at 5%. Losses in milk production started with THI between 68-71 in multiparous cows. With THI above 80, primiparous cows presented a greater heat tolerance in relation to multiparous cows, with a drop in milk production of 2,89% and 4,27% respectively. The fat was the component of milk that varied most in primiparous cows with decrease of 4,17% in the content and in multiparous cows the variation was bigger in relation to the protein with decrease of 3,26% in the content with THI above 80. On the second study, the cows collected in climate Cfa, compared to the climate Cfb had lower production of milk (32,23 x 51,74 Kg/day) and higher fat contents (3,63 x 3,07%), protein (3,13 x 2,84%) and total solids (12,46 x 11,59%) in the milk. Milk produced by cows in the Cfb climate presented higher level in 10,23% of total CN and 30,34% of β -CN, while the content of γ -CN was 24,85% lower than on the Cfa climate. The climatic season resulted in a decrease of 7,64% in total casein (CN) content compared to winter. The fractions α -CN and β -CN were responsible for this decline, while the fraction had an increase of 37,42% of milk content during the summer. Among the serum proteins, it has been observed contents 29,91% and 43,69% higher of α -lactalbumin and immunoglobulins, respectively, in milk during the summer. It is concluded that the cows from this study present a higher degree of heat tolerance than that reported in studies in other regions, occurring quantitative and qualitative losses in milk production with THI from 76, which are bigger in multiparous cows in Cfb climate and in summer season.

Keywords: THI. Protein Fractions. Dutch, Milk. Composition.

1. INTRODUÇÃO

Uma das maiores preocupações de produtores de leite em países tropicais é o efeito do estresse térmico em vacas leiteiras de alta produção, que influencia negativamente o bem-estar e a produtividade desses animais; além de causar perdas econômicas diretas, afetando o intervalo entre partos, e atrasando o ciclo reprodutivo (PORCIONATO et al., 2009; BERMAN et al., 2016; GHOSH et al., 2017). Relatórios do Intergovernamental *Panel on Climate Change* (IPCC) indicam cenários de aquecimento da temperatura média do ar que variam entre 1° e 5,8°C até 2100. Esse aumento pode parecer pouco, mas pequenas alterações na média da temperatura do planeta podem resultar em grandes catástrofes para o meio

ambiente e para todos os seres vivos (IPCC, 2014).

Vários estudos já analisaram os efeitos das condições climáticas sobre o bem-estar, desempenho e produção de espécies de gado. Altas temperaturas afetam principalmente vacas leiteiras de alta produção; e durante a estação do ano mais quente têm um efeito sobre fisiologia, metabolismo, produção e reprodução animal (JORDAN, 2003; BERNABUCCI et al., 2010).

O maior desafio para vacas leiteiras de grande produção em clima quente é dissipar o calor produzido por processos metabólicos. A tolerância ao calor de uma determinada raça depende de seu patrimônio genético e atributos anatômicos e fisiológicos inerentes, portanto, cada raça tem uma capacidade de adaptação ao ambiente em que é exposta (BACCARI JUNIOR, 2015).

Os animais ruminantes são classificados como homeotermos, ou seja, apresentam funções fisiológicas que se destinam a manter a temperatura corporal constante; a manutenção da homeotermia é prioridade para os animais e se sobrepõe às funções reprodutivas e produtivas (MARTELLO et al., 2004). As vacas leiteiras estão dotadas de instintos inatos, entre os quais o da autopreservação ou da sobrevivência e respondem aos desafios do ambiente térmico tentando manter a homeostase (equilíbrio fisiológico) (BACCARI JUNIOR, 2015).

Os mamíferos mantêm sua temperatura corporal acima da temperatura ambiente para facilitar a dissipação do calor corporal através de quatro rotas básicas de troca de calor: condução, convecção, radiação e evaporação. As rotas de dissipação de calor exigem um gradiente térmico para ajudar neste processo, as mais sensíveis à perda de calor são a condução, a convecção e a radiação. A evaporação é considerada uma rota insensível à perda de calor, exigindo um gradiente de vapor/pressão (KADZERE et al., 2002; COLLIER et al., 2006).

Segundo Salles et al. e Ferreira et al. (2014, apud REZENDE et al., 2015) esses animais sofrem algumas modificações fisiológicas em condições de estresse térmico, por exemplo, aumentam a frequência respiratória, elevam a taxa de sudação e aumentam a temperatura retal dentre outros.

O estresse térmico é causado por uma combinação de fatores ambientais, tais como a temperatura, umidade relativa, movimento do ar, precipitação e radiação solar. Os indicadores de estresse térmico (THI) são modelos que buscam combinar os efeitos destes fatores ambientais para determinação dos

graus de estresse térmico dos animais (MADER et al., 2010).

O primeiro THI foi desenvolvido por Thom (1959) e se destinava a medir o conforto térmico em humanos. Mais tarde, o NRC (1971) publicou outros indicadores, sendo estes ainda os mais utilizados para animais. Recentemente, outros autores desenvolveram modelos incluindo, além da temperatura em bulbo seco, também a temperatura em bulbo úmido, globo negro, velocidade do vento e radiação solar (BAETA et al., 1987; BUFFINGTON et al., 1981; BERMAN et al., 2016).

Tradicionalmente, acredita-se que a síntese do leite começa a diminuir quando o THI atinge 72 (JOHNSON, 1985; DU PREEZ et al., 1990; ARMSTRONG, 1994). Berman (2005) observou que o aumento de produção de 35 para 45 L/ vaca por dia aumentou a sensibilidade destes animais ao estresse térmico e reduziu a temperatura limiar em 5°C. Essa sensibilidade aumentada é provavelmente explicada pelo calor extra, associado à síntese do leite adicional (BERNABUCCI et al; 2014).

Quando a temperatura ambiental está acima da temperatura corporal, as vacas consideram o risco de estresse térmico e a produção de leite pode ser reduzida em até 50% (BEN SALEM; BOURAOUI, 2009). Os mecanismos fisiológicos específicos para as alterações na síntese dos diferentes componentes do leite em vacas com estresse térmico ainda são objeto de estudos (BAUMGARD; RHOADS, 2013). A diminuição de ingestão de alimentos, o qual possibilita diminuir produção de calor na fermentação ruminal, explica apenas aproximadamente 30 a 50% da diminuição na produção de leite, segundo RHOADS et al. (2009). Somado a isso, menor eficiência na digestão e absorção intestinal resulta em menor aporte de nutrientes para o metabolismo pós-absortivo (BAUMGARD; RHOADS, 2013; KADZERE et al., 2002).

Os programas de melhoria genética, voltados a produção, podem aumentar a susceptibilidade de um animal a altas temperaturas ambientais (BERNABUCCI et al., 2014) devido à estreita relação entre metabolismo geração de calor e nível de produção (KADZERE et al., 2002).

Há poucos estudos direcionados aos efeitos da temporada de verão em frações de proteína do leite em vacas Holandesas em clima subtropical e temperado no Brasil. O objetivo deste estudo foi quantificar os efeitos do estresse térmico dos animais em relação não somente a quantidade como a qualidade do

leite que, por conseguinte, vai afetar toda a cadeia de produção de derivados lácteos.

Esse estudo é interessante porque ele representa uma grande e altamente selecionada bacia leiteira do Brasil; fazendas leiteiras localizadas na área de estudo são altamente homogêneas em termos do sistema de produção adotado (intensivo), número de animais e raça (Holandesa).

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados dois estudos os quais estão descritos a seguir.

2.1 Estudo I: Efeito do THI sobre produção e qualidade de leite em clima temperado

O estudo foi realizado com os dados de uma propriedade com produção comercial de leite, no município Castro-PR, cuja sede tem como coordenadas geográficas latitude 24° 47' 28" S, longitude 50° 00' 43" W e altitude de 999m, com clima temperado (Cfb), segundo Köppen (1936).

Os dados de produção e composição do leite foram obtidos de 38.150 registros de controle leiteiro mensal, no qual a média diária de produção de leite foi de 39,02±11,45 kg, número médio de 615 vacas ordenhadas/dia e um total de 1.711 diferentes vacas da raça Holandesa ordenhadas no período de janeiro de 2010 a junho de 2015 conforme descrito na Tabela 1. O controle leiteiro foi realizado pelo Programa de Análise de Rebanhos Leiteiros do Paraná (PARLPR) da Associação Paranaense dos Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH), em Curitiba, Paraná.

As vacas foram mantidas em regime de confinamento total em instalações tipo *free-stall*, com pé direito de 5.5 m altura, com telhas de aluzinco que permitem um maior conforto térmico dos animais por terem uma camada de isolante térmico, com abertura central, cama de areia nas baias e sem ventiladores. As vacas receberam três refeições diárias com ração completa.

Foram ordenhadas três vezes ao dia, e a produção de leite foi determinada pela pesagem e a composição através de análise de amostras coletadas em três ordenhas diárias de todas as vacas. As amostras de leite foram acondicionadas em recipientes plásticos de 70 mL com conservante Bronopol® (2-

bromo-2-nitropropano-1,3-diol) (HORST, 2008, 2010), e encaminhadas ao Laboratório Centralizado da APCBRH para avaliação da composição. As amostras são coletadas mensalmente.

A partir dos dados do controle leiteiro foi caracterizado o rebanho e a composição do leite, conforme demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1: Características zootécnicas e produtivas do rebanho do município de Castro-PR.

Parâmetro	Média	DP ¹
Vacas em lactação	615	105,62
Idade (meses)	54,66	24,43
Número de lactações	2,65	1,72
Dias em lactação	197,54	128,64
Produção 305 dias (kg/leite)	11451,21	2463,580
Produção leite (kg/cab/dia)	39,02	11,47
Gordura (%)	3,35	0,688
Proteína (%)	3,03	0,308
Lactose (%)	4,60	0,264
Sólidos totais (%)	11,91	0,929
Uréia (mg/mL)	14,49	4,020
CCS (x1000/mL) ²	81,26	-
SCS ³	2,70	2,010

¹desvio padrão; ²média geométrica; ³escore de células somáticas

Os teores de gordura, proteína e lactose, foram determinados através de leitura de absorção infravermelha em equipamento automatizado Bentley 2000® (Bentley Instruments Inc.), contagem de células somáticas (CCS) em contador eletrônico, pela técnica densitometria de fluxo no equipamento Somacount 500® (Bentley Instruments Inc.). O teor de sólidos não gordurosos foi determinado por meio da diferença entre o teor de sólidos totais e teor de gordura.

Para obter-se a normalidade da distribuição da CCS no leite foi feito a transformação para uma escala logarítmica em escore de células somáticas (ECS), com base no procedimento desenvolvido por Shook (1993): $ECS = \log_2 (CCS/100) + 3$. Para garantir a consistência das informações, foram eliminadas as observações de teores de proteína, gordura e lactose acima e abaixo de dois e meio desvios-padrão em relação à média destes componentes.

Esses parâmetros de análises do controle leiteiro foram utilizados nos dois estudos.

Para avaliar os efeitos do clima sobre os parâmetros de produção e

composição do leite durante o verão e inverno/2017 foram utilizados dados de mínimo, média e máximo diário de temperatura em bulbo seco e umidade relativa do ar coletados pela Fundação ABC, na Estação Agrometeorológica de Castro no dia 2 antes de cada controle leiteiro mensal realizado.

Os dados foram usados para calcular o índice de temperatura e umidade THI, de acordo com a fórmula de Kelly e Bond (1971): $THI = (1,8 \cdot AT + 32) - (0,55 - 0,55 \cdot RH) \cdot [(1,8 \cdot AT + 32) - 58]$, onde AT= temperatura ambiente expressa como graus Celsius e RH = umidade relativa expressa como fração da unidade. Os valores de THI foram classificados em cinco níveis de acordo com Du Preez et al. (1990), com algumas modificações em relação aos valores de THI em cada nível; conforme descrito na tabela 2.

Tabela 2: Classificação dos valores de THI

THI	Classificação	Grau de Estresse ¹
< 68	1	Sem estresse
68-71	2	Leve
72-75	3	Moderado
76-79	4	Alto
≥ 80	5	Severo

¹ segundo Du Preez et al.(1990)

Os valores de THI calculados durante os cinco anos de dados provenientes do controle leiteiro são apresentados na Figura 1. Indicaram que a média de THI no verão foi de 78,29 mostrando-se a estação mais quente seguida pelo outono e primavera, cujas médias foram THI 74,90 e 74,75.

2.2 Estudo II: Efeitos da região climática e estação do ano na composição do leite.

2.2.1 Coleta, classificação e armazenamento das amostras.

O estudo foi realizado com leite coletado de vacas Holandesas, em duas estações do ano distintas: verão e inverno, em regiões climáticas do Estado do Paraná, segundo a classificação de Köppen (1936) (IAPAR, 2015), clima classificado como Cfa, denominado subtropical com ocorrência na região Norte (Londrina-PR), e se caracteriza por temperatura média no mês mais frio inferior a 18°C e temperatura média no mês mais quente acima de 22°C, com verões quentes, geadas pouco

frequentes e tendência de concentração das chuvas nos meses de verão, contudo sem estação seca definida. Já o clima Cfb denominado clima temperado com ocorrência na região Centro-sul (Castro-PR), se caracteriza por temperatura média no mês mais frio abaixo de 18°C, com verões frescos, temperatura média no mês mais quente abaixo de 22°C e sem estação seca definida.

As vacas do clima temperado (Cfb) conforme já foi relatado no Estudo I foram mantidas em regime de confinamento total em instalações tipo *free-stall* e em clima subtropical (Cfa), as vacas foram mantidas em sistema *compost barn* com ventiladores, e cama de cepilho. Em ambos os rebanhos, as vacas receberam três refeições diárias com ração completa.

As amostras individuais de leite foram retiradas de 68 vacas no clima Cfb e 65 vacas no clima Cfa, nas estações de inverno e verão perfazendo um total de 133 amostras individuais. De cada amostra uma alíquota de 150 mL foi armazenada em frascos plásticos estéreis em seguida congeladas a -20°C até a realização da análise de eletroforese; outra alíquota de 70mL foram acondicionadas em recipientes plásticos com conservante Bronopol® (2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol) (HORST, 2008, 2010), e encaminhadas ao Laboratório Centralizado da APCBRH para avaliação da composição do leite, conforme metodologia descrita no Estudo I.

2.2.2 Determinação das frações proteicas- SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis).

A determinação das frações proteicas do leite foi realizada no Laboratório de Ciência e Tecnologia do Leite- UNOPAR.

O preparo das amostras foi realizado segundo a metodologia de Barbosa (2012) com modificações. Primeiramente as amostras de leite foram descongeladas lentamente a temperatura de 8° C, aquecidas em banho-maria até 30° C e desnatadas por centrifugação a 5.000 rpm durante 10 minutos; em seguida foram refrigeradas a 4°C com posterior descarte do sobrenadante e repetição do procedimento.

A solução tampão de tratamento de amostra foi preparada adicionando-se, em um tubo de ensaio, os volumes de 2,5 ml da solução 0,5 M Tris, 4,0 ml da solução SDS 10 % e de 2,0 ml de glicerol. Em seguida, foram adicionadas

as quantidades de 0,002 g de Azul de Bromofenol e 0,31 g de DTT ao mesmo tubo de ensaio, procedendo, posteriormente, à homogeneização e ao final essa solução foi coada. Para o armazenamento, foram separadas alíquotas de 0,5 ml em tubos eppendorf e congeladas.

Após o desnate, as amostras foram diluídas em água ultra-pura na proporção 1:10 e homogeneizadas. Posteriormente, 10 µL de cada diluição foram colocados em eppendorfs com 25 µL de tampão de tratamento para amostras. Em seguida, procedeu-se ao aquecimento a 95 °C em banho-maria por 5 minutos para a completa desnaturação e estes congelados à -20 °C até o momento da realização das análises por eletroforese.

As amostras foram descongeladas a temperatura ambiente, em seguida, 10 µL foi pipetada individualmente com aplicação no gel de poliacrilamida conforme instruções do fabricante. Procedeu-se, então, à migração molecular pelo método SDS-PAGE de acordo com Laemmli (1970). Os géis de empilhamento (pH 6,8) e de separação (pH 8,8) foram preparados com concentrações de 5% e 12,5% de poliacrilamida, respectivamente. Estabeleceram-se ainda, as medidas de 5,5 cm de altura para o gel de separação por 0,1 cm de espessura. Com o intuito de se obter melhor polimerização e nivelamento, adicionou-se 300 µL de água ultra-pura sobre o gel de separação. Ambos os géis obtiveram polimerização completa quando incubados a 37 °C por 30 min.

Para identificação das frações proteicas foi utilizado nos poços de uma extremidade do gel o padrão *SDS-PAGE Molecular Weight Standards, Broad Range* (Bio-Rad- Catalog Number: 161-0317), com valores conhecidos de pesos moleculares (200, 116, 97, 66, 45, 31, 21,14 e 6 kDa). Para delimitar precisamente o peso molecular da (albumina sérica bovina) BSA, foi feita a diluição desta proteína comercial (Sigma-Altrich). Foi diluído 0,5 gramas do BSA em 50 ml de água ultra pura em um balão volumétrico de 50 ml, procedeu-se a agitação em agitador magnético até a completa diluição. Desta solução retirou-se 100 µl e colocou-se em eppendorf contendo 900 µl de tampão de amostra com posterior agitação, resultando em um padrão de 1mg/ml.

A separação das frações proteicas foi feita em cuba vertical para eletroforese e fonte de tensão PowerPac™ Basic Power Supply (Bio-Rad laboratories inc., USA); a cuba foi colocada em uma bandeja de plástico envolta em gelo; procedeu-se a migração das moléculas em tampão para migração (pH 8,8). A

tensão foi escalonada, iniciou-se com 30 V (voltagem elétrica) até o gel sair completamente do gel de empilhamento, depois a tensão foi aumentada 15 V por minuto por quatro vezes; então a voltagem foi mantida constante de 100 V até o corante de rastreamento atingir o fim do gel (BERNABUCCI et al.; 2015) com tempo médio de migração de 260 minutos.

Após o término da eletroforese os géis foram removidos das placas e lavados com água ultra-pura, e imersos em solução corante: Comassie Brilliant Blue R-250, Álcool Metílico 40% (v/v), Ácido Acético 7% (v/v) e água ultra pura e deixados na solução por 18 h.

Após a coloração, o gel foi enxaguado com água ultra pura e imerso em solução descorante contendo Álcool Metílico 40% (v/v), Ácido Acético 7% (v/v) e água ultra-pura e submetido a 45 rpm por 30 min. A etapa de descoloração foi concluída transferindo-se o gel para outra solução contendo Álcool Metílico 5% (v/v), Ácido Acético 7% (v/v) e água ultra pura pelo período de 12h. Os géis foram armazenados nessa mesma solução, adicionada de 1 % de glicerol.

A foto documentação dos géis foi feita com câmara digital de resolução 23 megapixels com o auxílio de um suporte acrílico para a colocação do gel, transiluminação por painel de led 12 W e temperatura de cor de 6.000K. A quantificação das frações proteicas foi processada pelo software LabImage 1D 4.1 (Kapeplan). A partir da porcentagem de BSA de 1%, o programa calculou a porcentagem das demais frações proteicas presentes no gel.

2.3 Análise estatística

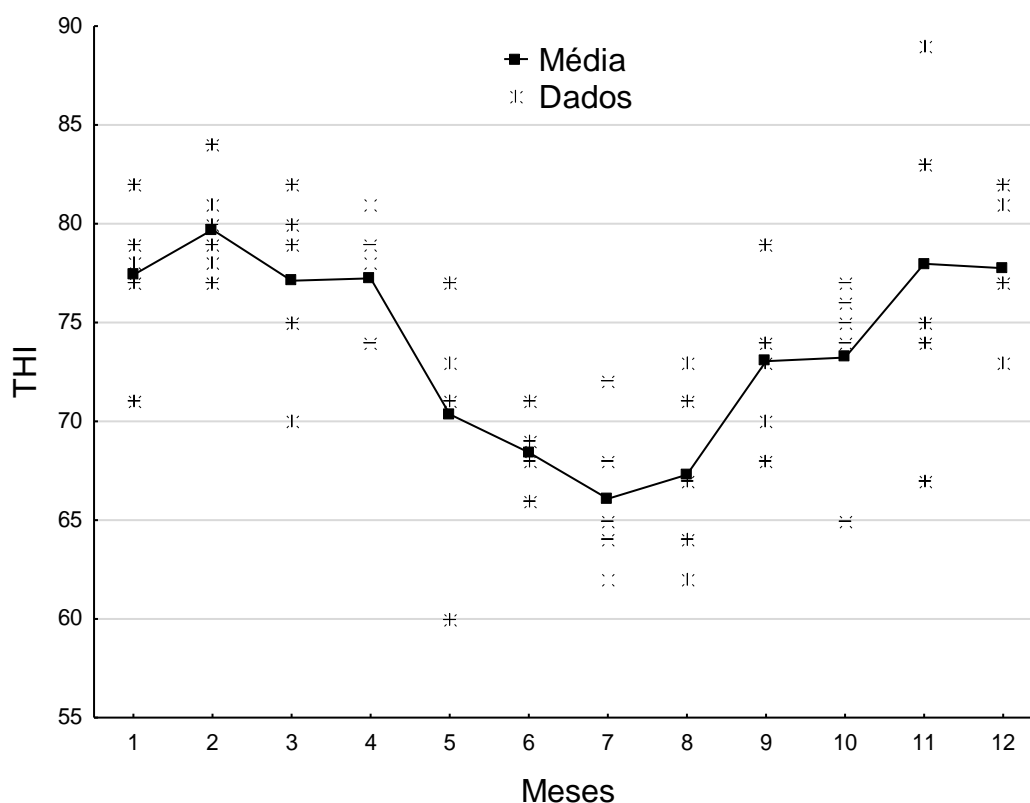
Os dados do Estudo I foram analisados através da estatística descritiva, análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância utilizando o programa Statistica 13.5, no módulo *General Linear Models* – GLM.

No Estudo II os dados de composição centesimal do leite e frações proteicas foram analisados em um esquema fatorial 2x2 através de ANOVA para os efeitos principais e suas interações, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância, utilizando o mesmo programa estatístico.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Estudo I:

Figura 1: Médias mensais e valores mensais de THI, segundo Kelly e Bond (1971), nos dois dias que antecederam o controle leiteiro mensal.



Os valores de THI calculados durante os cinco anos de dados provenientes do controle leiteiro são apresentados na Figura 1. Indicaram que a média de THI no verão foi de 78,29 mostrando-se a estação mais quente seguida pelo outono e primavera, cujas médias foram THI 74,90 e 74,75.

Em estudos recentes De Rensis et al. (2015) definiu o valor de THI < 68 onde as vacas encontram-se fora de perigo térmico com sinais leves de calor; o início do estresse térmico compreende o intervalo de THI entre 68 a 74 e quando os animais apresentam THI ≥ 75 observou-se diminuições drásticas de produção. Comparando-se com os dados obtidos no estudo somente no inverno os animais estariam fora do perigo térmico, pois, apresentaram THI de 67,27.

A maior parte do ano, aproximadamente durante oito meses, os animais ficaram sobre condições de estresse térmico com temperaturas acima de 23°C. A umidade relativa teve como média anual 89,99 e valor mínimo de 81,60, mantendo-se alta; este é um importante indicador para os mecanismos evaporativos

de dissipação de calor, pois em condições de umidade elevada há inibição de evaporação pela pele e pelo trato respiratório, aumentando as condições de estresse dos animais. Sunil Kumar, Kumar e Kataria (2011) observaram em seus estudos que temperaturas do ar acima de 20-25°C em clima temperado, aumentam o ganho de calor pelos animais e induz ao estresse térmico; em clima subtropical esse intervalo de temperatura é de 25-37°C. Os bovinos são marcadamente dependentes do balanço térmico para a perda de calor evaporativa. À temperatura ambiente dentro da gama de conforto térmico, faz com que a perda de calor evaporativa da pele dos animais seja de cerca de 10% da perda de calor sensível, mas esta aumenta exponencialmente em temperaturas mais altas e diminui à medida que a umidade relativa aumenta de 30 para 70% (Maia et al. 2005). Enquanto a umidade relativa do ar afeta a perda de calor latente do animal a velocidade do vento afeta a taxa de perda de calor sensível e latente (DIKMEN; HANSEN, 2009).

No presente estudo, conforme apresentado na Tabela 3, observou-se menor tolerância ao calor das vacas multíparas quando o THI fica acima de 68, causando perda de produção de 2.79%, mesmo com um THI entre 68-71, ou seja, abaixo do ponto 72 considerado crítico para vacas Holandesas segundo Johnson (1980).

Tabela 3: Médias estimadas por quadrados mínimos para produção de leite corrigido à 4% de gordura (kg/vaca/dia) e produção relativa (%), conforme a classificação dos valores THI.

Valores THI ¹	Classificação	Primíparas			Multíparas ²		
		N	Produção	%	N	Produção	%
< 68	1	2144	32,88±0,20 ^a	100	3991	37,20±0,15 ^a	100
68-71	2	1774	32,24±0,22 ^{ab}	98,05	3680	36,16±0,15 ^b	97,21
72-75	3	2601	32,09±0,18 ^{ab}	97,61	4910	36,20±0,13 ^b	97,30
76-79	4	3055	32,17±0,17 ^{ab}	97,84	5902	35,73±0,12 ^b	96,06
≥80	5	2073	31,93±0,20 ^b	97,1	3859	35,61±0,15 ^b	95,73

¹ THI segundo Kelly e Bond (1971); ² até a quinta lactação; ³ médias com letras diferentes na mesma coluna diferem no teste de Tukey com 5% significância.

Tradicionalmente, acredita-se que a síntese do leite começa a diminuir quando o THI atinge 72 (JOHNSON, 1985; DU PREEZ et al., 1990; ARMSTRONG, 1994). Os animais do clima temperado (Cfb) foram expostos seis meses do ano em condições térmicas de THI acima de 75 chegando a 80, o que

resultou em uma queda de produção em vacas multíparas de 1,6L/dia ou 4.27%; pois, os animais têm maior tamanho corporal e uma maior produção de leite.

Em um rebanho de 675 vacas em lactação, sem dúvida há perdas maiores. As vacas multíparas por terem uma produção maior, resultam em um elevado metabolismo gerando assim mais calor (PURWANTO et al.,1990; TITTO,1998). Vacas com produção de leite diária acima de 30 Kg tem uma maior produção interna de calor tornando mais difícil a dissipação desse calor excedente acumulado no corpo (BACCARI JUNIOR, 2015). Sendo está a classe de animais mais desafiada pelo estresse térmico; já que a produção de leite pode ser considerada um indicador direto de bem-estar animal (POLSKY; VON KEYSERLINGK, 2017).

Estando em estado de estresse térmico a queda de produção das vacas multíparas para cada aumento de ponto no THI foi somente 0,13 Kg/ dia. E embora significativo, este resultado ficou abaixo do encontrado em outros estudos, com queda no rendimento leiteiro de 0,69 Kg/dia e 0,2 Kg/dia por ponto de aumento no THI (WEST; MULLINIX; BERNARD, 2003; RAVAGNOLO; MISZTAL, 2000). Isso pode estar relacionado com a temperatura mais amena durante a noite permitindo que os animais dissipassem o calor acumulado durante o dia.

As primíparas também apresentaram início das perdas de produção com THI menor que 72, mas esse resultado só foi significativo em THI acima de 80, com uma queda de produção de 2,9%. As vacas primíparas têm uma superfície maior comparada com a massa corporal interna, geram menos calor metabólico por produzirem menos leite esperando-se que sofram menos do que vacas multíparas (ARMSTRONG, 1994; WEST; MULLINIX; BERNARD, 2003; AGUILAR et al., 2010).

Bohmanova et al (2007), considerou um valor limiar de THI 72, como ponto crítico para o declínio de leite em vacas Holandesas em ambiente, como em climas temperados, conforme observado no presente estudo, esse limiar sobe para 74 em ambiente semiárido e 78 para clima subtropical.

Collier et al. (1981) observaram um período de 24 a 48 horas após as temperaturas elevadas resultarem em queda de produção, o que foi observado pelo presente estudo. Em seu estudo, West, Mullinix e Bernard (2003), também concluíram que durante o estresse por calor o efeito da média do THI 2 dias anterior teve uma maior influência na produção do leite, já a temperatura ambiente de 2 dias anteriores teve maior efeito sobre a ingestão de matéria seca (DMI), e as

temperaturas do dia tiveram maior impacto sobre a temperatura do leite da vaca.

Embora a queda na produção de leite seja um indicador de bem-estar animal; em estudos mais recentes as mudanças na composição do leite podem ser consideradas mais adequadas para uma avaliação imediata de estresse térmico (ZHU et al.,2016). Todas as médias dos teores de gordura, proteína, lactose e sólidos apresentadas nas tabelas 4 e 5 estão de acordo com o estabelecido pela legislação brasileira, que segundo a Instrução Normativa 62 de 29 de dezembro de 2011, que estabelece para leite cru refrigerado valores mínimos de 3,0% de gordura, 2,9% de proteína e 8,4% para sólidos não gordurosos (BRASIL, 2011).

Tabela 4: Médias estimadas por quadrados mínimos para teores (%) de componentes do leite, erro padrão (\pm) e respectivos teores relativos (%), conforme a classificação dos valores médios de THI em vacas primíparas.

THI ²	Class.	N	Gordura ¹	%	Proteína ¹	%	Lactose ¹	%	Sólidos ¹	%
< 68	1	2131	3,60 \pm 0,01 ^a	100	3,08 \pm 0,01 ^a	100	4,75 \pm 0,01 ^a	100	12,41 \pm 0,02 ^a	100
68-71	2	1768	3,53 \pm 0,02 ^{ab}	98,06	3,02 \pm 0,01 ^b	98,055	4,74 \pm 0,01 ^{ab}	99,79	12,27 \pm 0,02 ^b	98,877
72-75	3	2598	3,51 \pm 0,01 ^{bc}	97,50	3,07 \pm 0,01 ^a	99,68	4,77 \pm 0,01 ^a	100,42	12,33 \pm 0,02 ^{ab}	99,36
76-79	4	3049	3,46 \pm 0,01 ^c	96,11	3,02 \pm 0,01 ^b	98,05	4,72 \pm 0,01 ^b	99,37	12,16 \pm 0,02 ^c	97,99
\geq 80	5	2072	3,45 \pm 0,01 ^c	95,83	2,99 \pm 0,01 ^c	97,08	4,75 \pm 0,01 ^a	100,00	12,14 \pm 0,02 ^c	97,82

¹médias com letras diferentes na mesma coluna diferem ao nível de 5% no teste de Tukey; ² THI segundo Kelly e Bond (1971)

Tabela 5: Médias estimadas por quadrados mínimos para teores (%) de componentes do leite, erro padrão (\pm) e respectivos teores relativos (%), conforme a classificação dos valores médios de THI em vacas múltíparas até 5^o lactação.

THI	Class.	N	Gordura ¹	%	Proteína ¹	%	Lactose ¹	%	Sólidos ¹	%
< 68	1	3976	3,31 \pm 0,01 ^b	97,93	3,06 \pm 0,00 ^a	99,67	4,53 \pm 0,00 ^a	99,56	11,83 \pm 0,01 ^a	99,66
68-71	2	3674	3,38 \pm 0,02 ^a	100	3,02 \pm 0,00 ^b	98,37	4,54 \pm 0,00 ^a	99,78	11,87 \pm 0,01 ^a	100
72-75	3	4898	3,29 \pm 0,01 ^b	97,34	3,07 \pm 0,00 ^a	100	4,55 \pm 0,00 ^a	100	11,85 \pm 0,01 ^a	99,83
76-79	4	5892	3,24 \pm 0,01 ^c	95,86	2,99 \pm 0,00 ^c	97,39	4,51 \pm 0,00 ^b	99,12	11,67 \pm 0,01 ^b	98,32
\geq 80	5	3844	3,29 \pm 0,01 ^b	97,34	2,97 \pm 0,00 ^d	96,74	4,54 \pm 0,00 ^a	99,78	11,70 \pm 0,01 ^b	98,57

¹médias com letras diferentes na mesma coluna diferem ao nível de 5% no teste de Tukey; ² THI segundo Kelly e Bond (1971)

O ambiente quente e úmido do clima temperado (Cfb) afetou não somente a produção, mas também a qualidade do leite quando o THI de 68 foi para \geq 80 em vacas primíparas, apresentando menores teores de gordura (3,60 x 3,45%), proteína (3,08 x 2,99%) e sólidos (12,41 x 12,14%) houve uma redução de 4,17; 2,92 e 2,18%. Comparando-se os resultados com vacas múltíparas, observamos que os resultados encontrados não foram significativos para gordura, pois a amplitude de variações não foi considerada relevante. Conforme o aumento de THI

de 68 para ≥ 80 a proteína seguiu em decréscimo (3,06 x 2,97%) o que ocorreu também com os teores de sólidos (11,83 x 11,70%).

O componente do leite mais afetado em primíparas foi à gordura, com um decréscimo de 4,17% em THI ≥ 80 , o que vai de acordo com os estudos de Hammami et al. (2013), que observaram uma tendência a diminuição diária de gordura em forma constante com valores crescentes de aumento de temperatura. A diminuição dos teores de gordura do leite em vacas mantidas sob estresse térmico tem como provável explicação a variação no consumo de forrageiras pelos animais (PORCIONATO, et al., 2009). A diminuição no consumo de volumosos tem como efeito uma alteração na relação acetato/propionato resultando numa alteração na composição do leite (COLLIER, 1985).

Em vacas múltiplas a gordura não teve variação significativa; isso se deu em relação à proteína com uma diminuição de 3,26%, em vacas em estado severo de estresse; de acordo com Garcia et al. (2015), que realizaram seus estudos no sul do Brasil, e observaram que as vacas múltiplas em estado severo de estresse térmico a gordura não foi afetada e sim a proteína do leite. Em THI ≥ 80 a proteína do leite teve um decréscimo significativo de 3,26% sendo o componente do leite com maior variação para esta categoria. Rhoads et al. (2009), também relataram diminuição de proteína no leite de vacas em estresse térmico, atribuindo essa queda a menor síntese de enzimas de formação de caseína, Bouraoui et al. (2002), constatou que quando o THI ultrapassa 72 a gordura do leite e o teor de proteína começam a declinar, já Gantner et al. (2011), relataram um decréscimo de proteína no leite conforme aumento do nível de estresse dos animais. Em outro estudo, feito na Alemanha com gado leiteiro da raça Holandesa, os autores observaram um declínio na produção de proteínas com início em THI 60; esse baixo limite foi associado ao nível fenotípico e uma diminuição variâncias genéticas e herdabilidades (BRÜGEMANN et al., 2011).

3.2 Estudo II:

Conforme mostrado na tabela 6, foi avaliada a influência dos diferentes climas, temperado (Cfb) e subtropical (Cfa) sobre os componentes do leite. Verificou-se que os teores de gordura, proteína, lactose não diferiram significativamente nas estações de verão e inverno, dentro de um mesmo clima.

Quando em comparação, os valores de gordura, proteína e lactose foram maiores significativamente, no verão do clima Cfa. Foi considerado que isso ocorreu em função da maior produtividade dos animais de clima Cfb com média de 48,14 L/vaca/dia em relação à produção média de 30,61L/vaca/dia no clima Cfa; já que a média de THI só variou 1 grau, THI 88 em clima temperado (Cfb) e THI 87 em clima subtropical (Cfa). Pela sua alta eficiência na utilização dos alimentos vacas com produção de leite diária acima de 30 Kg tem uma maior produção interna de calor tornando mais difícil a dissipação desse calor excedente acumulado no corpo (BACCARI JUNIOR, 2015).

Tabela 6: Médias da produção (L/vaca/dia) e composição (g/100 g leite) de leite e dados climáticos médios das propriedades nos climas Cfa e Cfb do estado do Paraná, nas estações de inverno e verão.

	CFb		Cfa		Média	DP
	Verão	Inverno	Verão	Inverno		
N	30	38	37	28		
Gordura (%)	3,01 ^c	3,13 ^{bc}	3,66 ^a	3,58 ^{ab}	3,34	0,76
Proteína (%)	2,70 ^c	2,86 ^{bc}	3,33 ^a	3,10 ^{ab}	3,01	0,48
Lactose (%)	4,57 ^c	4,70 ^{bc}	4,55 ^{ab}	4,73 ^a	4,64	0,23
Sólidos (%)	11,33	11,63	12,52	12,37	11,97	1,09
Uréia (mg/mL)	20,03	15,51	-	15,93	17,05	2,97
CCS ¹ (x1000/mL)	399,10	98,39	603,81	347,46	359,26	-
Produtiv. vacas	48,14 ^a	54,59 ^a	30,61 ^b	34,44 ^b	42,14	16,67
Temperatura(°C) ²	33,00	23,65	32,50	20,00	27,49	5,48
U. R ³ (%)	82,33	84,18	77,00	88,55	82,64	4,14
THI ⁴	88,00	73,00	87,00	68,00	79,28	8,50

¹ média geométrica; ² médias de temperatura máxima de dois dias anteriores a coleta; ³ média diária de dois dias anteriores a coleta; ⁴ média diária de dois dias anteriores a coleta de THI segundo Kelly e Bond (1971), considerando temperatura máxima e umidade relativa média diária.

Pode-se sugerir que as vacas do clima temperado por serem altamente produtivas, obtiveram maior efeito estressor sobre os componentes do leite em comparação com os animais do clima subtropical; de acordo com Berman et al. (2016), que observaram uma diminuição de 5°C na temperatura limite para a ocorrência de estresse térmico quando a produção de leite aumentou de 35 para 45 kg/vaca/dia.

Em relação ao inverno no clima Cfb a média de THI foi 73, ou seja, acima do limiar de 72; definido por Ravagnolo e Misztal (2000), onde os níveis de rendimento de leite, proteínas e gordura começam a diminuir; no clima subtropical

(Cfa) o THI no inverno teve como média 68, ou seja, essas vacas estavam em conforto térmico.

A média de THI na estação de verão se manteve nos dois climas estudados bem próximos 88 (Cfb) e 87 (Cfa); mas relacionando com a queda na produção de leite, as vacas em clima temperado com THI 88, registraram uma diminuição de produção de 6,45 L a menos no verão, diferindo significativamente das vacas de clima subtropical, que com THI 87, obtiveram uma redução nos níveis de produção de 3,83 L. A redução de 1 ponto no THI para menos fez com que as vacas no clima subtropical não reduzissem tanto a produção; isso talvez se explique pelo fato desses animais terem em média uma produção de leite no verão 30,61 L gerando assim menos calor metabólico e suportando mais o estresse térmico quando comparadas as vacas de clima temperado com uma produção de média no verão de 48,14 L. Segundo Ravagnolo e Misztal (2000) existe uma correlação negativa entre o THI diário e rendimento de leite para cada aumento de unidade de THI acima de 69 há uma diminuição de 0,41 kg por vaca por dia.

Os sólidos totais do leite não tiveram diferença significativa nas estações de inverno e verão nos dois climas.

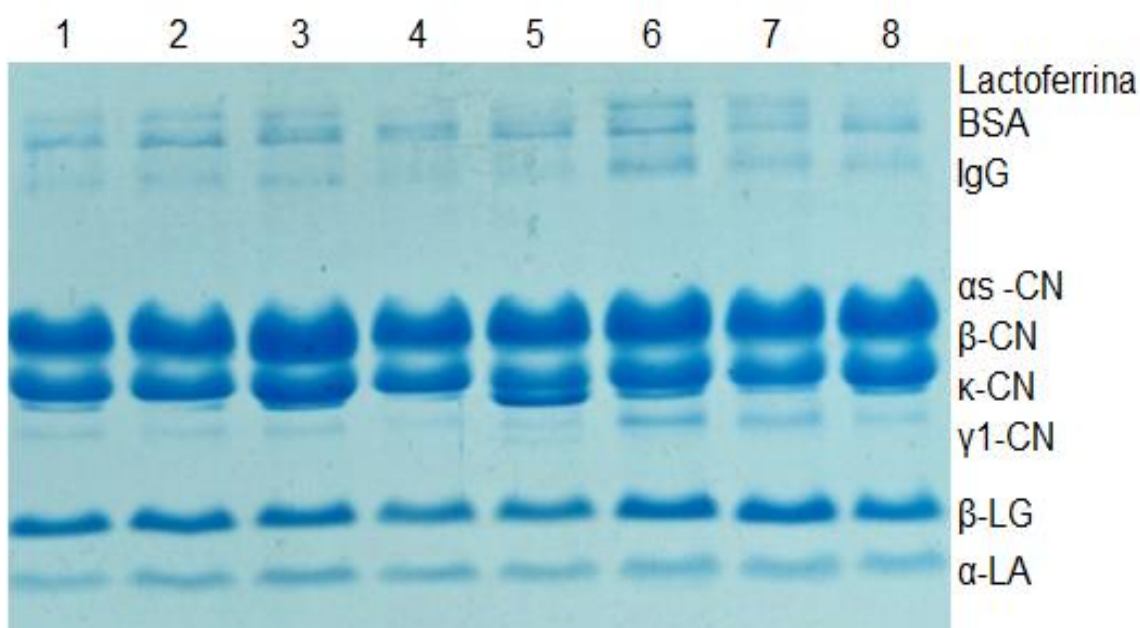
Em relação à CCS, as amostras de leite do clima Cfa no verão não estão de acordo com a legislação brasileira com valores acima do recomendado (400.000 células/mL) (BRASIL, 2011). Os menores níveis em clima Cfb, podem estar relacionados pela alta tecnologia usada nas propriedades do município de Castro, já que é o município de maior produção de leite do Brasil, e segundo maior em termos de produtividade de leite (IBGE, 2016). Os índices elevados de contagem de células somáticas (CCS), durante o verão provavelmente sejam resultado do estresse térmico destes animais, pois durante o verão estiveram submetidos a um THI com média de 88, ou seja, severamente estressados. Nickerson (2014), afirmou que altas temperaturas e umidade são muito favoráveis para o crescimento de bactérias causadoras de mastite como estreptococos e coliformes; a menor imunidade durante o estresse térmico favorece o aumento da possibilidade de ataque de doenças. Em estudo recente, Das et al. (2016), concluíram que a maior frequência de mastite em vacas leiteiras durante o estresse térmico pode ter como motivo o fato de altas temperaturas facilitarem a sobrevivência e a multiplicação de vetores patogênicos, essa população é associada as condições úmidas a quentes.

As proteínas do leite de acordo com as suas propriedades físico-

químicas e estruturais são classificadas em quatro subgrupos: caseínas, proteínas do soro, proteínas das membranas dos glóbulos de gordura e enzimas e fatores de crescimento (SGARBIERI, 1996; LOURENÇO,2000).

Na Tabela 7, estão apresentados os resultados das concentrações das frações proteicas, analisadas no estudo.

Figura 3: Gel SDS-PAGE com amostras de diferentes vacas no inverno clima Cfa.



FONTE: Da Autora

A função da biológica das caseínas na glândula mamaria é transportar cálcio, fosfato e proteína para o neonato (DE KRUIF; HOLT, 2003), compreendem cerca de 80% das proteínas do leite e consistem de quatro proteínas principais: α s1-, α s2-, β - e κ -caseína, representando acerca de 38%, 4,10%, 35% e 15%, respectivamente.

Tabela 7: Médias da concentração (g/100 g leite) e porcentagem da proteína total (parêntesis) das frações proteicas no leite de vacas, conforme o clima e a estação do ano.

	Clima ^{1, 2}		Estação ¹		Média	DP ³
	CFa	CFb	Verão	Inverno		
N	48	58	52	54	-	-
Proteína total	3,123 ^a	2,844 ^b	2,979	2,963	2,971	0,343
Caseínas						
g/100 g leite	1,985	2,002	1,886 ^B	2,103 ^A	1,995	0,450
g/100 g proteína	64,729 ^b	71,349 ^a	65,629 ^B	71,061 ^A	68,346	9,903
α-Caseína						
g/100 g leite	1.078	1.063	0,996 ^B	1.140 ^A	1,069	0,296
g/100 g proteína	34,263	37,107	33,148 ^B	38,487 ^A	35,817	9,124
β-Caseína						
g/100 g leite	0.646 ^b	0.770 ^a	0.674 ^B	0.753 ^A	0,714	0,166
g/100 g proteína	20,646 ^b	26,911 ^a	22,631 ^B	25,506 ^A	24,069	5,401
k-Caseína						
g/100 g leite	0.198	0.154	0.194	0.155	0,174	0,133
g/100 g proteína	5,298	5,494	6,516	5,220	5,862	4,139
Y-Caseína*						
g/100 g leite	0,105 ^a	0.073 ^b	0,100 ^A	0.077 ^B	0,089	0,059
g/100 g proteína	3,521 ^a	2,646 ^b	3,519 ^A	2,560 ^B	3,112	2.133
α-Lactoalbumina**						
g/100 g leite	0.291 ^a	0.132 ^b	0.206	0.202	0,204	0,152
g/100 g proteína	9,443 ^a	4,648 ^b	6,827	6,819	6,823	4,914
β-Lactoglobulina						
g/100 g leite	0.556 ^a	0.497 ^b	0.593 ^A	0.456 ^B	0,524	0,162
g/100 g proteína	17,778	17,554	19,953 ^A	15,359 ^B	17,656	5,221
Soro Albumina						
g/100 g leite	0.165 ^a	0.099 ^b	0.140	0.119	0,129	0,073
g/100 g proteína	5,359 ^a	3,547 ^b	4,737	4,001	4,369	2,472
Imunoglobulina***						
g/100 g leite	0.114	0.084	0.120 ^A	0.082 ^B	0,099	0,071
g/100 g proteína	3,601	3,018	3,963 ^A	2,758 ^B	3,306	2,295

*efeito de interação onde concentração no leite (g/100 g de leite) e concentração na proteína total (g/100 g de proteína) no clima Cfb na estação de inverno foram menores ($p < 0,05$) e demais tratamentos foram semelhantes ($p > 0,05$); ** efeito de interação onde concentração no leite (g/100 g de leite) e concentração na proteína total (g/100 g de proteína) no clima Cfb na estação de verão foram menores ($p < 0,05$) e no clima Cfa na estação de verão foram maiores ($p < 0,05$); *** efeito de interação onde a concentração na proteína total (g/100 g de proteína) no clima Cfb na estação de inverno foi menor ($p < 0,05$) e no clima Cfb na estação de verão foi maior ($p < 0,05$);

¹ Médias seguidas de letras minúsculas ou maiúsculas diferentes na mesma linha diferem no clima e estação, respectivamente, com 5% de significância; ² classificação de clima conforme Köppen (1936);

³ desvio padrão.

No presente estudo, as proteínas totais do leite diferiram significativamente entre os climas, tendo uma diferença para menos de 8,93% (3,12% x 2,84%) em clima subtropical (Cfb). As percentagens de caseínas diferiram, tanto no clima como nas estações do ano; o maior valor foi encontrado no clima Cfb 71,35% v.64,32%, sendo 6,62% maior do que no clima Cfa; em relação às estações do ano no verão as caseínas obtiveram um decréscimo de 5,43% (71,06% v 65,62%), ficando claro os efeitos do estresse térmico já que os animais estavam na classificação 5 ou seja altamente estressado. Bernabucci et al. (2002) relatou uma diferença de concentração de caseínas no verão comparado com a primavera de 72,4% v. 77,7%. Rhoads et al. (2009) também relataram uma diminuição da proteína do leite em vacas aquecidas por calor devido a uma menor síntese de enzimas de formação de caseína Cowley et al. (2015) relataram que o estresse térmico era o único fator que afetava as proporções individuais de frações de caseína, causando uma mudança na síntese mamária da caseína. O que parece ter ocorrido no nosso estudo.

A fração β -CN também diferiu significativamente entre climas e estações do ano; observamos um decréscimo de 11,27% no verão x inverno; em relação ao clima, as vacas de maior produção (51L/vaca/dia) do clima Cfb, demonstraram um acréscimo de 23,28% desta fração. O decréscimo desta fração pode afetar as propriedades de coagulação do leite. Remeuf (1994) descreveu uma relação positiva entre a concentração de β -caseína e a proporção relativa de coagulação do leite. Em relação à γ -CN, observamos um acréscimo desta fração no verão em relação ao inverno de 27,25%. Em seus estudos Silanikove et al. (2000) relataram uma estreita relação entre a redução da síntese do leite e de seus componentes causada pela degradação da β -caseína pela plasmina, em condições de estresse ou restrição alimentar, o que gera o peptídeo 1-28 (γ - caseína), que, por sua vez, bloqueia os canais de potássio junto a membrana apical das células epiteliais mamárias. A fração κ - CN, não diferiu significativamente entre climas e estações. Bernabucci et al. (2002) encontrou uma diminuição na porcentagem de caseína no verão em relação a primavera de (P<0,01) 2,18 vs. 2,58% devido ao decréscimo da α -CN e igualmente a β -CN. Em estudos recentes Bernabucci et al. (2015) observaram que as diferenças para κ -CN foram mais atenuadas, com 9,7% menor concentração no leite durante o verão em relação ao inverno; por outro lado, a concentração de γ -CN no leite foi maior durante o verão. Bertocchi et al. (2014)

realizaram um estudo em uma fazenda leiteira, com uma fábrica de queijos para transformar o leite em queijo Grana Padano, observaram que as frações de caseína, com exceção de γ -CN, mostraram os valores mais baixos no verão e os maiores valores no inverno. Um piora das propriedades da coagulação do leite foi observada na estação do verão. A alteração das propriedades de fabricação de queijo durante a estação quente parece estritamente ligada às alterações das frações da proteína do leite principalmente com a diminuição de α S-CN e β -CN.

Em relação às proteínas séricas β -LG e IgG diferiram entre os climas, e apresentaram um acréscimo no verão de 23% e 30%, respectivamente; a fração soro albumina (BSA), diferiu entre os climas, sendo 33,8% maior em clima subtropical (Cfa); Já as α -LA obtiveram um aumento altamente significativo, quando em comparação dos climas, registrando uma alta de 50,77% no clima subtropical (Cfa). Pode-se inferir que a provável causa deste aumento tenha sido o nível de CCS, dos animais principalmente no verão, as vacas do clima Cfa registraram como média na estação de verão 603,81 (média geométrica), acima do aceitável pela legislação brasileira. Urech et al. (1999) concluíam em seus estudos que este aumento das proteínas séricas geralmente é associado a presença de mastite subclínica ou clínica, e com maior atividade da plasmina do leite; os animais deste clima obtiveram uma CCS 226,49 (média geométrica) o que poderia explicar este aumento; conforme estudo de Shuster et al. (1991) que observaram um aumento da BSA durante a infecção intramamária dos animais; em outro estudo Rhoads et al. (2009) relacionaram o aumento da albumina com uma desidratação suave dos animais em condições de calor, e a não alteração das imunoglobulinas em condições de estresse térmico sugere uma adaptação metabólica dos animais para manter a pressão oncótica do plasma. Bertocchi et al. (2014) também observaram que vacas estressadas no verão apresentaram um aumento no teor de IgG e albumina sérica quando comparadas ao inverno e primavera. O que vai de acordo com os dados encontrados neste estudo, confirmando que os animais estavam severamente estressados.

4. CONCLUSÃO

O estresse térmico não somente reduziu a produção de leite dos animais, mas também afetou vários componentes, alterando a qualidade. As vacas

altamente produtivas foram mais afetadas pelo estresse calórico em relação às vacas de menor produção, associado a maior produção de calor metabólico. Vacas múltiparas mostraram-se menos tolerantes ao estresse térmico, sendo o limite crítico de THI em clima temperado 68-71. O componente do leite que mais variou para essa categoria com um decréscimo de 3,26% no verão foi à proteína. Já nas primíparas houve maior variação na porcentagem de gordura com um decréscimo de 4,17% no verão. Os componentes do leite gordura e proteína foram maiores nas duas estações no clima Cfa; sugerimos que as vacas do clima Cfb tiveram um maior efeito estressor sobre os componentes do leite. A diminuição da caseína observada durante o período do verão teve como principais responsáveis à diminuição das frações α -CN e β -CN.

REFERÊNCIAS

- AGUILAR, I.; TSURUTA, S.; MISZTAL, I. Computing options form multiple-trait test-day random regression models while accounting for heat tolerance. **J. Anim. Breed. Genet.**, n. 127, p. 235–241, 2010.
- ARMSTRONG, D. V. Heat stress interaction with shade and cooling. **J. Dairy Sci.**, v. 77, p. 2044–2050, 1994.
- BACCARI JUNIOR, F. A vaca leiteira e as mudanças climáticas globais. **J. Anim. Behav. Biometeorol.**, v. 3, n. 1, p. 1-8, 2015.
- BAETA, F. C.; MEADOR, N. F., SHANKLIN, M. D.; JOHNSON, H. D. Equivalent temperature index at temperatures above the thermoneutral for lactating dairy cows. **ASAE**, n. 874015, 1987.
- BARBOSA, R. S. et al. Caracterização eletroforética de proteínas e estabilidade do leite em vacas submetidas à restrição alimentar. **Pesq. Agropec. Bras.**, v. 47, n; 4, p. 621-628, 2012.
- BAUMGARD, L. H.; RHOADS, R. P. Effects of heat stress on postabsorptive metabolism and energetic. **Annu. Rev. Anim. Biosci.**, v. 1, n.1, p. 311-337, 2013.
- BEN SALEM, M.; BOURAOUI, R. Heat Stress in Tunisia: Effects on dairy cows and potential means of alleviating it. **S. Afr. J. Anim. Sci.**, v. 39, p. 256-259, 2009.
- BERMAN, A. Estimates of heat stress relief needs for Holstein dairy cows. **J. Anim. Sci.**, v. 83, p. 1377–1384, 2005.
- BERMAN, A. et al. A comparison of THI indices leads to a sensible heat-based heat stress index for shaded cattle that aligns temperature and humidity stress. **Int. J. Biometeorol.**, v. 60, n. 10, p. 1453-1462, 2016.

BERNABUCCI, U. et al. Effects of the hot season on milk protein fractions in Holstein cows. **Anim. Res.**, v. 51, p. 25-33, 2002.

BERNABUCCI, U. et al. Effects of Summer season on Milk protein fractions in Holstein cows. **J. Dairy Sci.**, v. 98, n. 3, p. 1815-1827, 2015.

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

BERNABUCCI, U. et al. The effects of heat stress in Italian Holstein dairy cattle. **J. Dairy Sci.**, v. 97, n. 1, p. 471-486, 2014.

BERTOCCHI, L.; VITALI, A.; LACETERA, N.; NARDONE, G.; VARISCO, G.; BERNABUCCI, U. Seasonal variations in the composition of Holstein cow's milk and temperature-humidity index relationship. **Animal**, p.1-8, 2014.

BOHMANOVA, J.; MISZTAL, I.; COLE, J. B. Temperature-humidity indices as indicators of milk production losses due to heat stress. **J. Dairy Sci.**, v. 90, p.1947–1956. 2007.

BOURAOUI, R.; LAHMAR, M.; MAJDOUB, A.; DJEMALI, M; BELYEA, R. The relationship of temperature-humidity index with milk production of dairy cows in a Mediterranean climate. **Anim. Res.**, v. 51 n. 6, p. 479-491, 2002.

BRASIL. **Instrução Normativa 62 de 29 de dezembro de 2011**. MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2011.

BRÜGEMANN, K.; GERNAND, E.; VON BORSTEL, U. U.; KÖNIG, S. Genetic analyses of protein yield in dairy cows applying random regression models with time-dependent and temperature x humidity-dependent covariates. **J. Dairy Sci.**, v. 94, p. 4129–4139. 2011.

BUFFINGTON, D. E.; COLLAZO-AROCHO, A.; CANTON, G. H.; PITT, D.; THATCHER, W. W.; COLLIER, R. J. Black globe-humidity index (BGHI) as comfort equation for dairy cows. **ASAE**, v. 24, n. 3, p. 711–714, 1981.

COLLIER, R. J.; ELEY R. M.; SHARMA, A. K.; PEREIRA, R. M.; BUFFINGTON, D. E. Shade management in subtropical environment for milk yield and composition in Holstein and Jersey cows. **J. Dairy Sci.**, v. 64, p. 844–849, 1981.

COLLIER, R. J. Nutritional, metabolic and environmental aspects of lactation. In: LARSON, B. L. (Ed.). **Lactation**. Iowa: State University Press, 1985. p. 80-128.

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

COWLEY, F. C.; BARBER, D. G.; HOULIHAN, A. V.; POPPI, D. P. Immediate and residual effects of heat stress and restricted intake on milk protein and casein composition and energy metabolism. **J. Dairy Sci.**, v. 98, p. 1–13, 2015.

DE KRUIF, C. G.; HOLT, C. Casein micelle structure, functions and interactions, In: FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H. (Eds.), **Advanced Dairy Chemistry Proteins**, v. 1, New York: Kluwer Academic, Plenum. 2003, p. 233-276.

DE RENSIS, F.; GARCIA-ISPIERTO, I.; LÓPEZ-GATIUS, F. Seasonal heat stress: Clinical implications and hormone treatments for the fertility of dairy cows. **Theriogenology**, v. 84, p. 659–666, 2015.

DIKMEN, S.; HANSEN, P. J. Is the temperature-humidity index the best indicator of heat stress in lactating dairy cows in a subtropical environment? **J. Dairy Sci.**, v. 92, n. 1, p. 109–116, 2009.

DU PREEZ, J. H.; HATTINGH, P. J.; GIESECKE, W. H.; EISENBERG, B. E. Heat stress in dairy cattle and other livestock under Southern African conditions. III. Monthly temperature-humidity index mean values and their significance in the performance of dairy cattle. **J. Vet. Res.**, v. 57, p. 243–248, 1990.

GANTNER, V.; MIJÜ, P.; KUTEROVAC, K.; SOLIÜ, D.; GANTNER, R. Temperature-humidity index values and their significance on the daily production of dairy cattle. **Mljekarstvo**, v. 61, p. 56–63, 2011.

GARCIA, A. B.; ANGELI, N.; MACHADO, L.; CARDOSO, F. C.; GONZALEZ, F. Relationships between heat stress and metabolic and milk parameters in dairy cows in Southern Brazil. **Trop. Anim. Health Prod.**, v. 47, p. 889-894, 2015.

GHOSH, C. P.; KESH, S. S.; TUDU, N. K.; DATTA, S. Heat Stress in Dairy Animals - Its Impact and Remedies: A Review. **Int. J. Pure App. Biosci.**, v. 5, n. 1, p. 953-965, 2017.

HAMMAMI, H.; BORMANN, J.; M'HAMDI, N.; MONTALDO, H. H.; GENGLER, N. Evaluation of heat stress on production and somatic cell score of Holstein in temperate environment. **J. Dairy Sci.**, v. 96, p. 1844-1855, 2013.

HORST, J. A. **Manual de Operações de Campo**. Curitiba: Programa de Análise de Rebanhos Leiteiros do Paraná - APCBRH, 2008.

HORST, J. A. **Manual de Coleta de Amostras: Componentes e CCS**. Curitiba: Programa de Análise de Rebanhos Leiteiros do Paraná - APCBRH, 2010.

IAPAR - INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ. **Cartas Climáticas: Classificação Climática**. 2015. Disponível em: <<http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=597>>. Acesso em: junho 2016.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção da pecuária municipal (PPM) 2016**. 2016. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html>>. Acesso em: 30 nov. 2017.

IPCC. **Alterações Climáticas 2014: Relatório Síntese**. Contribuição dos grupos de Trabalho I, II e III do Quinto Relatório de Avaliação do Painel Intergovernamental

sobre Mudança do Clima. Núcleo Writing Team, RK Pachauri e LA Meyer. IPCC, Genebra, Suíça, 2014. 151p. Disponível em: <<http://www.ipcc.ch/report/ar5/syr/>>. Acesso em: 7 de julho 2016.

JOHNSON, H. D. Environmental management of cattle to minimize the stress of climatic change. **Int. J. Biometeorol.**, v. 24, p. 65-78, 1980.

JOHNSON, H. D. Physiological responses and productivity of cattle. In: YOUSEF, M. K (Ed.). **Stress Physiology in Livestock: Basic Principles**. v. 1. Florida: CRC Press. 1985. p. 4–19.

JORDAN, E. R. Effects of heat stress on reproduction. **J. Dairy Sci.**, v. 86, n. E. Suppl., p. E104-E114, 2003.

KADZERE, C. T.; MURPHY, M. R.; SILANIKOVE, N.; MALTZ, E. Heat stress in lactating dairy cows: A review. **Livest. Sci.**, v. 77, p. 59–91, 2002.

KELLY, C. F.; BOND, T. E. Bioclimatic factors and their measurements. In: **National Academic of Sciences: a guide to environmental research on animals**. NAS, Washington: NAS. p. 71-92, 1971.

KÖPPEN, W. **Das geographic system der klimate**: handbuch der klimatologie. Berlim: Bortraeger, 1936. 44p.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v. 227, p. 680-685, 1970.

MADER, T. L.; JOHNSON, L. J.; GAUGHAN, J. B. A comprehensive index for assessing environmental stress in animals. **J. Anim. Sci.**, v. 88, p. 2153–2165, 2010.

MAIA A. S. C.; DA SILVA, R. G., LOUREIRO, C. M. B. Sensible and latent heat loss from the body surface of Holstein cows in a tropical environment. **Int. J. Biometeorol.**, v. 50, p. 17–22. 2005

MARTELLO, L.S. et al. Respostas Fisiológicas e Produtivas de Vacas Holandesas em Lactação Submetidas a Diferentes Ambientes. **R. Bras. Zootec.**, v. 33, n. 1, p. 181-191, 2004.

NICKERSON, S. C. **Management strategies to reduce heat stress, prevent mastitis and improve milk quality in dairy cows and heifers**. UGA Extension Bulletin. 2014. Disponível em: <<http://extension.uga.edu/publications/detail.cfm?number=B1426>>. Acesso em: 26 fev. 2018.

NRC - National Research Council. **A Guide to Environmental Research on Animals**. Washington: Natl. Acad. Sci., 1971. 374p.

POLSKY, L.; VON KEYSERLINGK, M. A. G. Invited review: Effects of heat stress on dairy cattle welfare. **J. Dairy Sci.**, v. 100, n. 11, p. 8645–8657, 2017.

PORCIONATO, M. A. F. et al. Influência do Estresse Calórico na Produção e

Qualidade do Leite. **Rev. Acad., Ciênc. Agrár. Ambient.**, v. 7, n. 4, p. 483-490, 2009.

PURWANTO, B. P.; et al. Diurnal patterns of heat production and heart rate under thermoneutral conditions in Holstein Friesian cows differing in milk production. **J. Agric. Sci.**, v. 114, n. 2, p. 139-142, 1990.

RAVAGNOLO, O.; MISZTAL, I. Genetic component of heat stress in dairy cattle, parameter estimation. **J. Dairy Sci.**, v. 83, p. 2126-2130, 2000.

REMEUF F., Relation entre caractéristiques physicochimiques et aptitudes fromagères des laits, **Rec. Med. Vet.**, n. 170 p. 359–365, 1994.

REZENDE, S. R.; et al. Caraterísticas de Termorregulação em Vacas Leiteiras em Ambiente Tropical: Revisão. **Vet. Not.**, v. 21, n. 1, p. 18-29, 2015.

RHOADS, M. L.; RHOADS, R. P.; VAN BAALE, M. J.; COLLIER, R. J.; SANDERS, S. R.; WEBER, W. J.; CROOKER, B. A.; BAUMGARD, L. H. Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: 1. Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. **J. Dairy Sci.**, v. 92, p. 1986–1997, 2009.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos proteicos**: propriedades, degradações, modificações. São Paulo: Editora-Livraria Varela, 1996. 517p.

SHUSTER, D. E. et al. Suppression of milk production during endotoxin-induced mastitis. **J. Dairy Sci.**, v. 74, p. 3763-74, 1991.

SILANIKOVE, N.; SHAMAY, A.; SHINDER, D.; MORAN, A. Stress down regulates milk yield in cows by plasmin induced beta-casein product that blocks k⁺ channels on the apical membranes. **Life Sci.**, v. 67, p. 2201-2212, 2000.

SUNIL KUMAR, B. V.; KUMAR, A.; KATARIA, M. Effect of heat stress in tropical livestock and different strategies for its amelioration. **J. Stress Physiol. Biochem.**, v. 7, n. 1, p. 45-54, 2011.

SHOOK, G. E. Genetic improvement of mastitis through selection on somatic cell count. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.**, v. 9, p. 563-581, 1993.

THOM, E. C. The discomfort index. **Weatherwise**, v. 12, n. 2, p. 57–61, 1959.

TITTO, E.A.L. Clima: influência na produção de leite. Ambiência na produção de leite em clima quente. In: Simpósio brasileiro de ambiência na produção de leite, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 10-23.

URECH E., PUHAN Z., SCHÄLLIBAUM M., Changes in milk protein fraction as affected by subclinical mastitis, **J. Dairy Sci.**, v. 82 p. 2402–2411, 1999.

WEST, J. W.; MULLINIX, B. G.; BERNARD, J. K. Effects of hot, Humid Weather on Milk Temperature, Dry Matter Intake, and Milk Yield of Lactating Dairy Cows. **J. Dairy Sci.**, v. 86, n. 1, p. 232-242, 2003.

ZHU, W.; ZHANG, B. X.; YAO, K. Y.; YOON, I.; CHUNG, Y. H.; WANG, J. K.; LIU, J. X. Effects of supplemental levels of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on lactation performance in dairy cows under heat stress. **Asian-Aust. J. Anim. Sci.**, v. 29, p. 801-806, 2016.

5. CONCLUSÃO GERAL

O estresse térmico animal sem dúvida traz grandes prejuízos econômicos para as fazendas leiteiras, bem como resulta em um decréscimo na qualidade dos produtos lácteos. Em um país tropical de clima quente e úmido como o nosso, mensurar o impacto do calor, entender seus efeitos e ter sucesso na ambiência dos animais, faz toda a diferença na lucratividade final, e pode ser o limiar entre o lucro ou prejuízo no negócio do leite.

APÊNDICE

Tabela 1: Médias de THI, temperatura, umidade relativa e velocidade do vento de dois dias que antecederam as coletas do controle leiteiro mensal em Castro-PR.

Mês	THI ¹	DP ²	°C	DP ²	RH ⁴	DP ²	Vento ³	DP ²
1	77,41	3,37	25,34	1,78	97,02	3,09	1,38	0,52
2	79,70	2,39	27,16	1,94	89,67	8,80	1,16	0,61
3	77,12	3,83	25,49	2,40	93,79	3,52	1,44	0,63
4	77,23	2,82	25,78	1,60	87,25	4,26	1,27	0,35
5	70,36	5,75	21,54	3,49	87,42	4,16	1,32	0,44
6	68,42	1,85	20,36	1,03	95,84	3,11	1,81	0,66
7	66,08	3,54	19,13	2,23	89,42	7,46	1,08	0,57
8	67,30	4,01	19,89	2,41	89,91	7,42	1,76	0,70
9	73,04	3,82	23,46	2,59	86,54	7,14	1,37	0,50
10	73,23	4,41	23,20	2,81	92,48	5,72	1,23	0,46
11	77,98	7,59	26,83	4,95	81,60	8,80	1,75	0,88
12	77,75	3,17	26,25	2,55	88,42	9,43	1,70	0,47
Média	74,12	6,11	23,89	3,79	89,99	7,70	1,43	0,63

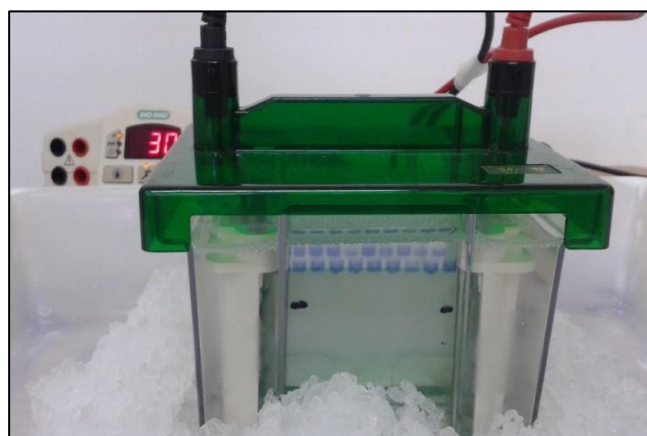
¹ THI segundo Kelly e Bond (1971); ² desvio padrão; ³ velocidade do vento m/segundo; ⁴ umidade relativa

Tabela 2: Médias estimadas por quadrados mínimos para produção diária (kg/vaca/dia) de componentes do leite, erro padrão (\pm) e respectivos teores relativos (%), conforme a classificação dos valores médios de THI em vacas primíparas.

THI ²	Class.	N	Gordura ¹	%	Proteína ¹	%	Lactose ¹	%	Sólidos ¹	%
< 68	1	2131	1,69 \pm 0,01	100	1,08 \pm 0,01 ^a	100	1,69 \pm 0,01	100	4,37 \pm 0,03 ^a	100
68-71	2	1768	1,66 \pm 0,01	98,36	1,05 \pm 0,01 ^b	96,76	1,66 \pm 0,01	98,36	4,27 \pm 0,03 ^{ab}	97,63
72-75	3	2598	1,67 \pm 0,01	98,92	1,07 \pm 0,01 ^{ab}	98,36	1,67 \pm 0,01	98,92	4,29 \pm 0,02 ^{ab}	98,09
76-79	4	3049	1,67 \pm 0,01	99,04	1,06 \pm 0,01 ^{ab}	97,76	1,67 \pm 0,01	99,04	4,28 \pm 0,02 ^{ab}	97,77
\geq 80	5	2072	1,67 \pm 0,01	99,05	1,04 \pm 0,01 ^b	95,92	1,67 \pm 0,01	99,05	4,24 \pm 0,03 ^b	96,90

¹médias com letras diferentes na mesma coluna diferem ao nível de 5% no teste de Tukey; ² THI segundo Kelly e Bond (1971)

Figura 1: Cuba vertical de eletroforese



Fonte: Da autora

Tabela 3: Médias estimadas por quadrados mínimos para produção diária (kg/vaca/dia) de componentes do leite, erro padrão (\pm) e respectivos teores relativos (%), conforme a classificação dos valores médios de THI nos dois dias que antecederam a coleta do controle leiteiro mensal, em vacas multíparas até 5^o lactação.

THI ²	Class.	N	Gordura ¹	%	Proteína ¹	%	Lactose ¹	%	Sólidos ¹	%
< 68	1	3976	1,93 \pm 0,01 ^a	100	1,27 \pm 0,01 ^a	100	1,93 \pm 0,01 ^a	100	4,95 \pm 0,02 ^a	100
68-71	2	3674	1,84 \pm 0,01 ^b	95,69	1,20 \pm 0,01 ^c	94,64	1,85 \pm 0,01 ^b	95,66	4,75 \pm 0,02 ^{bc}	96,10
72-75	3	4898	1,89 \pm 0,01 ^b	97,66	1,24 \pm 0,01 ^b	99,08	1,89 \pm 0,01 ^b	97,66	4,83 \pm 0,02 ^b	97,65
76-79	4	5892	1,86 \pm 0,01 ^b	96,20	1,20 \pm 0,01 ^c	95,02	1,86 \pm 0,01 ^b	96,20	4,73 \pm 0,02 ^c	95,59
\geq 80	5	3844	1,85 \pm 0,01 ^b	95,70	1,18 \pm 0,01 ^c	93,41	1,85 \pm 0,01 ^b	95,70	4,70 \pm 0,02 ^c	94,89

¹médias com letras diferentes na mesma coluna diferem ao nível de 5% no teste de Tukey; ² THI segundo Kelly e Bond (1971).