

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

JULIANA RODRIGUES POZZI ARCARO

**Efeitos do sistema de resfriamento adiabático evaporativo em
free-stall sobre a produção, fisiologia, comportamento e
ocorrência de mastite em vacas em lactação**

PIRASSUNUNGA
2005

JULIANA RODRIGUES POZZI ARCARO

**Efeitos do sistema de resfriamento adiabático evaporativo em
free-stall sobre a produção, fisiologia, comportamento e
ocorrência de mastite em vacas em lactação**

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

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Orientadora: Prof^a. Dr^a Elizabeth O. da Costa Freitas Guimarães

Se eu pudesse deixar algum presente a você, deixaria aceso o sentimento de amar a vida dos seres humanos. A consciência de aprender tudo o que foi ensinado pelo tempo afora. Lembraria os erros que foram cometidos para que não mais se repetissem. A capacidade de escolher novos rumos. Deixaria para você, se pudesse, o respeito àquilo que é indispensável. Além do pão, o trabalho. Além do trabalho, a ação. E, quando tudo o mais faltasse, um segredo: o de buscar no interior de si mesmo a resposta e a força para encontrar a saída.

Mahatma Gandhi

Dedico este trabalho:

Aos meus pais, Décio e Maria Lúcia, por terem me ensinado a lutar sempre sem nunca desistir e as minhas irmãs Márcia e Cláudia pelo amor que nos une.

Onde estás, felicidade? Em tudo
quanto acabado, me faz dizer *Foi bom, mas tão bom, que
nem senti o tempo passar...*

Alfredo Bosi

Ofereço este trabalho:

*Ao Irineu, meu marido pelo
incentivo e dedicação e aos meus filhos
Nathália, Adriana ("In memoriam") e João
Guilherme*

*À Profª Drª Elizabeth de Oliveira da Costa Freitas
Guimarães, pelo incentivo, dedicação e orientação
na execução deste trabalho. Pesquisadora da mais
alta competência profissional, por quem tenho
profunda admiração e com tive o privilégio de
compartilhar desta conquista.*

Agradecimentos

Ao Instituto de Zootecnia, pela cessão dos animais e instalações utilizados neste trabalho.

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos pela oportunidade de cursar a pós-graduação

Aos funcionários do CAPTA Bovinos de Leite, Edmar Rodrigues Dagrella, Creusa Maria Soares Dagrella, Ana Maria Baião, Antonio Donizette Olivato, Dercilio Ribeiro da Silva, Antonio Claret Mazieri, Paulo César Almussa, Antonio de Camargo Rosa e Tereza Lídia de Oliveira que trabalham com o rebanho leiteiro pela presteza e dedicação.

À pesquisadora Cláudia Rodrigues Pozzi pelo seu empenho e profissionalismo

À pesquisadora Soraia Vanessa Matarazzo pela amizade e apoio

À médica veterinária Helena Fagundes pela valiosa colaboração na condução desse experimento

Aos bolsistas da FAPESP, João Leonel e Aristóteles pelo auxílio nas colheitas dos dados

Ao Dr Felício Garino Júnior pela grande colaboração nas análises microbiológicas

Ao Prof Dr. César Gonçalves de Lima pelas análises estatísticas.

À Conceição, secretária da pós-graduação, pela disponibilidade e paciência.

Aos funcionários da Biblioteca da FZEA/USP pela grande colaboração e atenção dispensada.

Aos Professores da Pós-graduação da FZEA/USP pela atenção dispensada.

À Fundação de Apoio à Pesquisa Agropecuária (FAPESP) pelo apoio financeiro para execução desse trabalho

A todos que direta ou indiretamente colaboraram para a realização desse trabalho os meus sinceros agradecimentos

RESUMO

ARCARO, J.R.P. **Efeitos do sistema de resfriamento adiabático evaporativo em *free-stall* sobre a produção, fisiologia, comportamento e ocorrência de mastite em vacas em lactação.** 2005.123 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2005.

O trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência do sistema de resfriamento adiabático evaporativo (SRAE), acionado em diferentes horários, em instalação do tipo *free-stall* e a interação entre o ambiente e a ocorrência de mastite bem como seus reflexos nas respostas produtivas, fisiológicas e comportamentais de vacas em lactação. Foram utilizadas 28 vacas em lactação, multíparas, das raças Holandesa Preta e Branca e Parda Suíça, com produção média diária de 23 kg de leite/animal por dia distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado. O período experimental de 56 dias teve início em 20 de janeiro de 2003. Os tratamentos foram: *controle* (sem SRAE); *Dia* (SRAE acionado das 7 às 19 h); *Noite* (SRAE acionado das 19 às 7 h) e *24 horas* (SRAE acionado durante 24h). Os equipamentos foram acionados toda vez que a temperatura atingiu 22°C. A temperatura de bulbo seco (TBS), umidade relativa do ar (UR) e a temperatura de globo negro (TGN) foram mensuradas ao longo das 24 horas. A frequência respiratória (FR), a temperatura retal (TR) e temperatura do pelame (TP) foram tomadas duas vezes por semana às 7, 13 e 21 h. A ordenha foi realizada às 7 e às 19 h. Amostragens semanais de leite e sangue foram realizadas para análise da composição do leite (gordura, proteína, lactose e contagem de células somáticas) e determinações hormonais de cortisol, tiroxina (T₄) e triiodotironina (T₃). Para análise comportamental foram observadas, semanalmente, as atividades (ingestão de água, alimento, ruminação e ócio, em pé ou deitada) de cinco animais de cada tratamento, por um período de 24 horas, em intervalos de 10 minutos. Para avaliação da ocorrência de mastite clínica e subclínica foram feitos exames semanais de TAMIS (caneca de fundo preto) e *California Mastitis Test* (CMT). Foram colhidas amostras de leite de todos os quartos para identificação microbiológica dos agentes causais da mastite. A climatização do *free-stall* utilizado no tratamento *dia* conseguiu manter a temperatura dentro da faixa de termoneutralidade até as 12 h, mas a partir da 17 h

a TBS do tratamento *dia* foi significativamente maior que o tratamento *controle* e *24 horas*. As TGN, UR e ITU permaneceram acima da termoneutralidade. Foi observada uma correlação linear positiva entre a temperatura retal e as TP. Nos animais do tratamento *controle* os níveis de cortisol encontravam-se acima dos níveis normais. O consumo de matéria seca dos animais submetidos ao tratamento *noite* foi maior ($P < 0,05$), entretanto, isso não refletiu na produção de leite. Os animais do tratamento *controle* e *24 horas* permaneceram o menor tempo se alimentando, gastaram mais tempo em ócio, e levaram menos tempo ruminando. Na fase pré-experimental a maior frequência de isolamento bacteriano foi para *Staphylococcus* coagulase negativa. No tratamento *noite* e *dia*, houve uma diminuição na proporção de casos positivos de mastite subclínica da fase pré-experimental em relação à última semana da fase experimental. Na última semana da fase experimental houve uma diminuição de *Staphylococcus* coagulase negativa e aumento da ocorrência de *Corynebacterium* sp.

Palavras-chave: resfriamento adiabático evaporativo; produção leiteira; fisiologia; comportamento animal; mastite.

ABSTRACT

ARCARO, J.R.P. **Effects of the adiabatic evaporative cooling system in free-stall on the production, physiological, behavior on the occurrence of mastitis in dairy cows.** 2005. 123 f. Ph.D Thesis – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2005.

The purpose of this research was to compare the efficiency of three different schedule for using an adiabatic evaporative cooling with misting system (AEC) in a *free-stall* and its influence on the occurrence of clinical and sub clinical mastitis, as well as, on the physiological and milk production parameters on lactating cows. A total of 28 Brown Swiss and Holstein multiparous cows were random allocated in four groups. At starting of the experiment the daily average of milk production was 23 kg per animal. The overall experimental period was of 56 days, starting from January 20th. Treatments were: control group (without AEC); Day (AEC turned on from 7 to 19 h); Night (AEC turned on from 19 to 7 h) and 24 h (AEC turned on during 24h). Every time the temperature reached 22°C the AEC automatically start functioning. The dry bulb temperature (DBT), relative humidity (RH) and black globe temperature (BGT) were measured hourly inside and outside of facilities through a period of 24 hours. The respiratory frequency (RF), rectal temperature (RT) and skin temperature (ST) were registered twice a week at 7, 13 e 21 h. The milking was performed at 7 and 19 h. The samples of milk and blood were weekly taken to be performed the milk composition analyses (fat %, protein %, lactose %, somatic cell counts) as well as to hormonal analyses of cortisol, thyroxin (T₄) e triiodothyronine(T₃) levels. To be performed the behavior analyses five animals, from each group, were weekly observed, each 10 minutes during a 24h period, in respect to the following activities: water and food ingestion, ruminating, and time in resting on foot or lying. The results of the strip cup and California Mastitis Test (CMT) were weekly registered to evaluate the occurrence of clinical and subclinical mastitis. Milk samples were aseptically collected from the quarters of all animals to be submitted to microbiological examination to etiologic mastitis microorganisms identification. The *free-stall* cooling used in the day group kept the temperature under the thermoneutrality range till 12 h, however from 17 h in the day group the DBT was statistically higher than in *control* and *24 h* groups. It was detected significant

difference among the groups ($P < 0.05$) in respect to the following parameters: BGT, RH e temperature-humidity index (THI) that was higher than the thermoneutrality range. It was observed a positive linear correlation between rectal temperature and PT. The cortisol levels among the *control* group animals were higher than the normal values. In spite of the dry matter consume by the animals of *night* group were higher ($P < 0.05$), the same was not observed in respect of milk production. The animals of the control group stayed less time eating stayed longer lazily and less time ruminating. *Staphylococcus* coagulase negative was the most commonly isolate before the experimental period. It was observed a reduction on subclinical mastitis frequency in the animals of *day* and *night* groups when compared to the last week of the experimental period. It was observed a reduction on *Staphylococcus* coagulase negative frequency and increased *Corynebacterium* sp occurrence in the last week of the experimental period.

Keywords: adiabatic evaporative cooling; dairy cows; milk production; physiological parameters; animal behavior; mastitis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Produção de calor e temperatura dos homeotermos versus temperatura ambiente.....	23
Figura 2-	Representação gráfica das trocas térmicas realizadas entre o animal, solo e atmosfera.....	24
Figura 3-	Porcentagens da perda total por vias evaporativas e não evaporativas em vacas da raça Holandesa e Jersey.....	25
Figura 4-	Desempenho do resfriamento adiabático evaporativo representado pelo gráfico psicrométrico.....	28
Figura 5-	Ativação do eixo hipotálamo – hipófise – adrenal durante o estresse	35
Figura 6-	<i>Free-stall</i> climatizado com nebulização (a) e ventilação (b), Nova Odessa (SP).....	52
Figura 7 -	Controle automático do SRAE por nebulização instalado no <i>free-stall</i> , Nova Odessa (SP).....	53
Figura 8-	Estação meteorológica mantida em área próxima ao <i>free-stall</i> para registros externos.....	55
Figura 9-	Registrador digital utilizado nas medidas de temperatura e umidade relativa do ar no interior do <i>free-stall</i>	56
Figura 10-	Médias das temperaturas de bulbo seco registradas nos diferentes horários, nos tratamentos <i>controle</i> , <i>dia</i> , <i>noite</i> e <i>24 horas</i> , entre janeiro e março de 2003 - Nova Odessa (SP).....	62
Figura 11-	Valores médios da umidade relativa do ar registrada para cada tratamento em diferentes horários entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP)	64
Figura 12-	Temperaturas médias de globo negro registradas em diferentes horários para cada tratamento entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP).....	65
Figura 13-	Temperaturas médias do índice de temperatura e umidade registrada em diferentes horários para cada tratamento entre janeiro e março de 2003.....	67
Figura 14-	Valores médios da temperatura retal de vacas em lactação, em cada tratamento, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP).....	68

Figura 15-	Equação de regressão ajustada para temperatura retal em função dos horários de avaliação nos tratamentos adotados.....	68
Figura 16-	Valores médios da frequência respiratória, em diferentes horários, de vacas em lactação, em cada tratamento, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP).....	69
Figura 17-	Equação de regressão para FR em função dos horários de avaliação nos tratamentos adotados	70
Figura 18-	Valores médios da temperatura do pelame tomada da região do dorso, em diferentes horários, de vacas em lactação, em cada tratamento, entre janeiro e março de 2003.....	71
Figura 19-	Valores médios do cortisol plasmático ($\mu\text{g}/\text{dL}$) de 28 vacas em lactação, mantidas em <i>free-stall</i> climatizado, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP).....	75
Figura 20-	Valores médios do T_4 plasmático ($\mu\text{g}/\text{mL}$) de 28 vacas em lactação, mantidas em <i>free-stall</i> climatizado, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP)	76
Figura 21-	Valores médios de T_3 plasmático ($\mu\text{g}/\text{dL}$) de 28 vacas em lactação mantidas em <i>free-stall</i> climatizado, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP).....	77
Figura 22-	Valores médios (minutos) da atividade ingestão de alimentos das vacas em lactação nos intervalos das 7 às 19 h e 19 às 7 h, Nova Odessa (SP).....	78
Figura 23-	Valores médios (minutos) da atividade ingestão de água das vacas em lactação nos intervalos das 7 às 19 h e das 19 às 7 h, Nova Odessa (SP).....	79
Figura 24-	Valores médios (minutos) da atividade ruminando deitada das vacas em lactação no intervalo das 7 às 19 h e 19 às 7 h, Nova Odessa (SP).....	80
Figura 25-	Valores médios (minutos) da atividade ócio deitada das vacas em lactação no intervalo das 7 às 19 h e 19 às 7 h, Nova Odessa (SP).....	80
Figura 26-	Valores médios (minutos) da atividade ócio em pé das vacas em lactação no intervalos das 7 às 19 h e 19 às 7 h, Nova Odessa (SP).....	81

Figura 27-	Diferença (%) dos quartos mamários negativos (semana pré-experimental e última semana da fase experimental) ao teste de CMT de 28 vacas em lactação, mantidas em <i>free-stall</i> , entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP).....	82
Figura 28-	Resultados negativos aos exames microbiológicos dos quartos mamários de 28 vacas em lactação mantidas em <i>free-stall</i> climatizado, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP).....	83
Figura 29-	Resultados positivos aos exames microbiológicos dos quartos mamários de 28 vacas em lactação mantidas em <i>free-stall</i> climatizado, entre e janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP).....	84
Figura 30-	Freqüência de <i>Staphylococcus sp</i> isolados das 672 amostras de leite dos quartos mamários de 28 vacas em lactação, mantidas em <i>free-stall</i> climatizado na fase pré-experimental, Nova Odessa (SP)...	85
Figura 31-	Freqüência de isolamento de <i>Staphylococcus coagulase positivo</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> nos quartos mamários de 28 vacas em lactação mantidas em <i>free-stall</i> climatizado, durante a fase pré-experimental, Nova Odessa (SP).....	86
Figura 32-	Isolamento de <i>Staphylococcus aureus</i> da fase pré-experimental e da última semana da fase experimental dos quartos mamários das vacas em lactação, Nova Odessa (SP).....	88
Figura 33-	Isolamento de <i>Corynebacterium sp</i> da fase pré-experimental e da última semana da fase experimental dos quartos mamários das vacas em lactação, Nova Odessa (SP)	88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Efeitos e local de ação dos hormônio glicocorticóides	34
Tabela 2-	Composição percentual do concentrado utilizado durante o período experimental, Nova Odessa (SP).....	54
Tabela 3-	Quantidade de energia e proteína da dieta fornecida aos animais dos tratamentos controle, dia, noite e 24 horas durante o período experimental.....	54
Tabela 4-	Temperatura (°C) de bulbo seco registrada em diferentes horários no <i>free-stall</i> climatizado, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP).....	61
Tabela 5-	Umidade relativa do ar (%) registrada em diferentes horários no <i>free-stall</i> climatizado, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP).....	63
Tabela 6-	Temperatura de globo negro (°C), registrada em diferentes horários no <i>free-stall</i> climatizado, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP).....	64
Tabela 7-	Índice de temperatura e umidade para cada tratamento, registrados em diferentes horários, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP).....	66
Tabela 8-	Temperatura do pelame (°C) tomada da região do dorso, em diferentes horários de vacas em lactação, mantidas em <i>free-stall</i> climatizado, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP).....	70
Tabela 9-	Temperatura do pelame (°C) tomada da região da glândula mamária, em diferentes horários, de vacas em lactação, mantidas em <i>free-stall</i> climatizado, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP).....	72
Tabela 10-	Temperatura do pelame tomada da região da malha branca e negra, em diferentes horários, de vacas em lactação, mantidas em <i>free-stall</i> climatizado, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP).....	72
Tabela 11-	Consumo estimado de matéria seca (CMS) e consumo de matéria seca por kg de peso vivo (CMS/kgPV) de vacas em lactação submetidas aos tratamentos em <i>free-stall</i> climatizado, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP).....	73

Tabela 12-	Valores médios da produção e composição do leite em porcentagem (gordura, lactose, proteína e sólidos totais), das vacas em lactação submetidas aos tratamentos, Nova Odessa (SP).....	74
Tabela 13-	Teores dos hormônios cortisol, T ₃ e T ₄ no soro plasmático de 28 vacas em lactação, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP).....	74
Tabela 14-	Valores médios (minutos) de atividades observadas em vacas em lactação mantidas em <i>free-stall</i> climatizado, nos horários das 7 às 19 h e 19 às 7 h, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP).....	78
Tabela 15-	Ocorrência de mastite clínica e subclínica (%) em 28 vacas em lactação e 112 quartos mamários na semana pré-experimental e na última semana da fase experimental, Nova Odessa (SP).....	82
Tabela 16-	Resultados microbiológicos das 672 amostras de leite dos quartos mamários das 28 vacas mantidas em <i>free-stall</i> climatizado durante a semana pré-experimental.....	85
Tabela 17-	Isolamentos bacteriano (%) em 672 amostras de leite dos quartos mamários de 28 vacas em lactação nos diferentes tratamentos na semana pré-experimental e na última semana da fase experimental, Nova Odessa (SP).....	87

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C = grau centígrado

% = porcentagem

U\$ = dólar

CO₂ = gás carbônico

m³ = metro cúbico

min = minuto

Kg = quilograma

h = horas

HPB = Holandês Preto e Branco

Fe⁺ = íon ferro

mg = miligrama

mL = mililitro

m² = metro quadrado

m = metro

DNA = ácido desoxirribonucléico

µg = micrograma

dL = decilitro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.1 Bem-estar.....	21
2.2 Estresse.....	21
2.3 Estresse climático.....	21
2.3.1 Zona Termoneutra.....	21
2.3.2 Mecanismos de troca de calor.....	23
2.4 Índices de conforto térmico.....	26
2.5 Temperatura de globo negro (TGN).....	26
2.6 Formas de minimizar o estresse calórico.....	27
2.7 Respostas comportamentais.....	30
2.8 Respostas fisiológicas.....	33
2.8.1 Respostas hormonais.....	33
2.8.1.1 Glicocorticosteróides.....	33
2.8.1.2 Hormônios tireoideanos.....	35
2.8.2 Consumo de alimentos, água, produção e composição do leite.....	36
2.8.3 Temperatura retal e frequência respiratória.....	39
2.8.4 Temperatura do pelame.....	40
2.9 Ocorrência de mastite.....	41
3 OBJETIVOS	49
3.1 Objetivo geral.....	49
3.2 Objetivos específicos.....	49
4 MATERIAL E MÉTODOS	50
4.1 Animais.....	50
4.2 Tratamentos.....	51
4.3 Alimentação.....	53
4.4 Manejo.....	54
4.5 Coleta dos dados.....	55

4.5.1 Indicativos de conforto térmico.....	55
4.5.2 Respostas fisiológicas.....	56
4.5.2.1 Temperatura retal.....	56
4.5.2.2 Temperatura do pelame.....	57
4.5.2.3 Freqüência respiratória.....	57
4.6 Respostas comportamentais.....	57
4.7 Produção e composição do leite.....	57
4.8 Análise hormonal.....	58
4.9 Identificação microbiológica dos agentes causais da mastite.....	58
4.10 Análise estatística.....	59
5 RESULTADOS.....	61
5.1 Variáveis meteorológicas.....	61
5.1.1 Temperatura de bulbo seco (TBS).....	61
5.1.2 Umidade relativa do ar (UR).....	63
5.1.3 Temperatura de globo negro (TGN).....	64
5.1.4 Índice de temperatura e umidade (ITU).....	66
5.2 Variáveis fisiológicas.....	67
5.2.1 Temperatura retal (TR) e Freqüência respiratória (FR).....	67
5.2.2 Temperatura do pelame.....	70
5.3 Consumo de matéria seca (CMS).....	73
5.4 Produção e composição do leite.....	74
5.5 Concentrações hormonais.....	74
5.6 Comportamento animal.....	77
5.7 Ocorrência de mastite.....	81
6 DISCUSSÃO.....	89
6.1 Variáveis meteorológicas.....	89
6.1.1 Temperatura de bulbo seco (TBS).....	89
6.1.2 Umidade relativa do ar (UR).....	90
6.1.3 Temperatura de globo negro.....	91
6.1.4 Índice de temperatura e umidade (ITU).....	91
6.2 Variáveis fisiológicas	92

6.2.1. Temperatura retal (TR) e frequência respiratória (FR).....	92
6.2.2 Temperatura do pelame.....	93
6.3 Consumo de matéria seca (CMS).....	94
6.4 Produção e composição do leite.....	95
6.5 Concentrações hormonais.....	96
6.6 Comportamento animal.....	97
6.6 Ocorrência de mastite.....	100
7 CONCLUSÕES.....	106
REFERÊNCIAS.....	107
ANEXOS.....	122

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o quinto maior produtor de leite no mundo, produzindo 22 bilhões de litros em 2004 (BRASIL, 2004). A questão da competitividade, nos últimos anos, passou a ser tema central das discussões sobre estratégias empresariais e políticas governamentais na cadeia produtiva do leite. Para aumentar a competitividade de nosso produto, a atividade leiteira tem sido orientada na adoção de tecnologias, visando o crescimento da produtividade, através da importação de animais e sêmen, tal prática fez com que fossem introduzidos nos rebanhos animais de raças especializadas, originados de clima temperado. Esses animais mais produtivos são, também, mais exigentes nutricionalmente, e, portanto apresentam metabolismo mais acelerado, com maior produção de calor endógeno, sendo então, mais susceptíveis aos efeitos do meio ambiente.

O Brasil possui cerca de dois terços de seu território situado na faixa tropical do planeta, onde predominam altas temperaturas do ar, em virtude da elevada radiação solar incidente. A temperatura média do ar situa-se acima dos 20°C, sendo que a temperatura máxima, nas horas mais quentes do dia, apresenta-se acima dos 30°C por grande parte do ano. O ambiente térmico representa, portanto, um fator de restrição para a eficiência máxima de produção, principalmente nos sistemas intensivos (BACCARI JÚNIOR, 2001).

A produção de leite em ambiente tropical pode ser melhorada a partir do uso de tecnologias que possam garantir o manejo adequado do rebanho. Os animais domésticos são homeotérmicos, necessitam manter sua temperatura interna dentro dos limites estreitos e para isso estabelecem uma troca constante de energia térmica com o meio ambiente. Quando os bovinos leiteiros são expostos a temperaturas fora de sua zona de termoneutralidade fazem ajustes metabólicos para manter a homeotermia.

O clima assume importância em função das mudanças de temperatura e umidade que podem influenciar direta ou indiretamente na tríade de fatores determinantes (hospedeiro, agente e ou meio ambiente) que afetam a susceptibilidade à mastite (RADOSTITIS, O.M.; LESLIE, K.E.; FETROW, J., 1994).

A mastite é uma doença que afeta um grande número de animais no mundo. No Canadá e EUA, cerca de 50% das vacas têm um ou mais quartos infectados. Na Dinamarca estima-se que a mastite custa 30 a 40% das intervenções

veterinárias e nos EUA estima-se uma perda econômica com mastite de aproximadamente U\$ 185 vaca por ano. Prejuízos causados especialmente por: 70% de perda devido à redução na produção dos quartos com mastite subclínica; 8% pela perda de leite descartado por alterações e ou pela presença de resíduos após tratamento; 8% pelos gastos com tratamento; 14% por morte ou descarte do animal ou desvalorização comercial dos animais por apresentar quartos atrofiados.

Levantamentos feitos em rebanhos leiteiros do estado de São Paulo e Minas Gerais revelam que 72% das vacas apresentaram mastite subclínica em pelo menos um quarto e a taxa de quartos afetados foi de 46%, a porcentagem de animais com mastite clínica foi de 17,45% (COSTA et al., 1995). Os prejuízos por mastite subclínica em propriedades, nestas mesmas regiões, corresponderam em média a U\$ 317,00 por vaca/ano (COSTA et al., 1999).

Aspectos relacionados ao bem-estar animal, até a pouco ignorados, passaram a ser relevante, visto que viabilizam a expressão de fatores complexos, primordiais à produção de leite, genética, nutrição e a sanidade animal.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Bem-estar

O bem-estar animal é o estado de harmonia entre o animal e seu ambiente caracterizado por condições físicas e fisiológicas ótimas e alta qualidade de vida do animal. Se o organismo falha ou tem dificuldade de se adaptar ao ambiente, isso é uma indicação de comprometimento do bem-estar (BROOM, 1991). Segundo Warriss (2000), as pessoas desejam obter alimentos de origem animal com qualidade, oriundos de animais que foram mantidos em todo o ciclo de produção em sistemas que promovam o seu bem-estar, e que sejam sustentáveis e ambientalmente corretos.

2.2 Estresse

A definição de estresse, segundo Selye (1936) é o estado do organismo que após a atuação de agentes de qualquer natureza, responde com uma série de reações não específicas de adaptação.

O estresse caracteriza-se pela soma dos mecanismos de defesa do organismo em resposta a um estímulo provocado por um agente agressor ou estressor, externo ou interno, para manter a homeostasia, provocando respostas comportamentais, fisiológicas e imunológicas (BACCARI JÚNIOR, 1998). Os agentes agressores podem ser de origem mecânica (traumatismos, cirúrgicos ou não), físicos (calor, frio, eletricidade, som, vento), químicos, biológicos (nutrição, agentes infecciosos) e psicológicos (manejo) (BACCARI JÚNIOR, 2001).

2.3 Estresse climático

2.3.1 Zona Termoneutra

O estresse climático é causado pelos elementos climáticos (temperatura, umidade, radiação solar, vento) que podem afetar o crescimento, a produção de leite e a reprodução dos animais.

Os bovinos, dependendo da raça, nível de produção, estágio fisiológico e plano nutricional, apresentam uma faixa de temperatura ambiente na qual se encontram em conforto térmico, isto é, não sofrem estresse por frio ou calor denominada de zona termoneutra.

O animal, quando está na zona de conforto, não usa o seu sistema termorregulador, seja para fazer termólise ou termogênese, nessa condição o gasto de energia para manutenção é mínimo, ocorrendo a maior eficiência produtiva. Quando a temperatura corporal ultrapassa os valores críticos (mínimo ou máximo), o organismo reage com modificações fisiológicas e comportamentais na tentativa de manter-se na zona de conforto térmico (TITTO, 1998).

A zona de conforto entre os pontos A e A' é uma faixa restrita para a maioria dos ruminantes, onde a produtividade é máxima (Figura 1). Nesta faixa, 75% do calor trocado entre o peso vivo e o ambiente é dissipado por condução, convecção e radiação (NÄÄS, 1989).

Fuquay (1997) considerou para o gado europeu o valor da temperatura crítica máxima entre 25 a 27°C. De acordo com Nääs (1989), em função da umidade relativa do ar e radiação solar local, a temperatura crítica máxima pode ser restrita a 21°C. Huber (1990) considerou como adequadas para o conforto térmico de vacas Holandesas em lactação temperatura do ar entre 4 e 26°C.

Quando a temperatura ambiente for maior que 29°C e umidade relativa correspondente a 40%, as produções das vacas das raças Holandesa, Jérsy e Pardo Suíça equivalem a 97, 83 e 98% da produção de leite normal e quando a umidade relativa é igual a 90%, a produção de leite foi 69, 75 e 83% da produção normal (WEST, 2003).

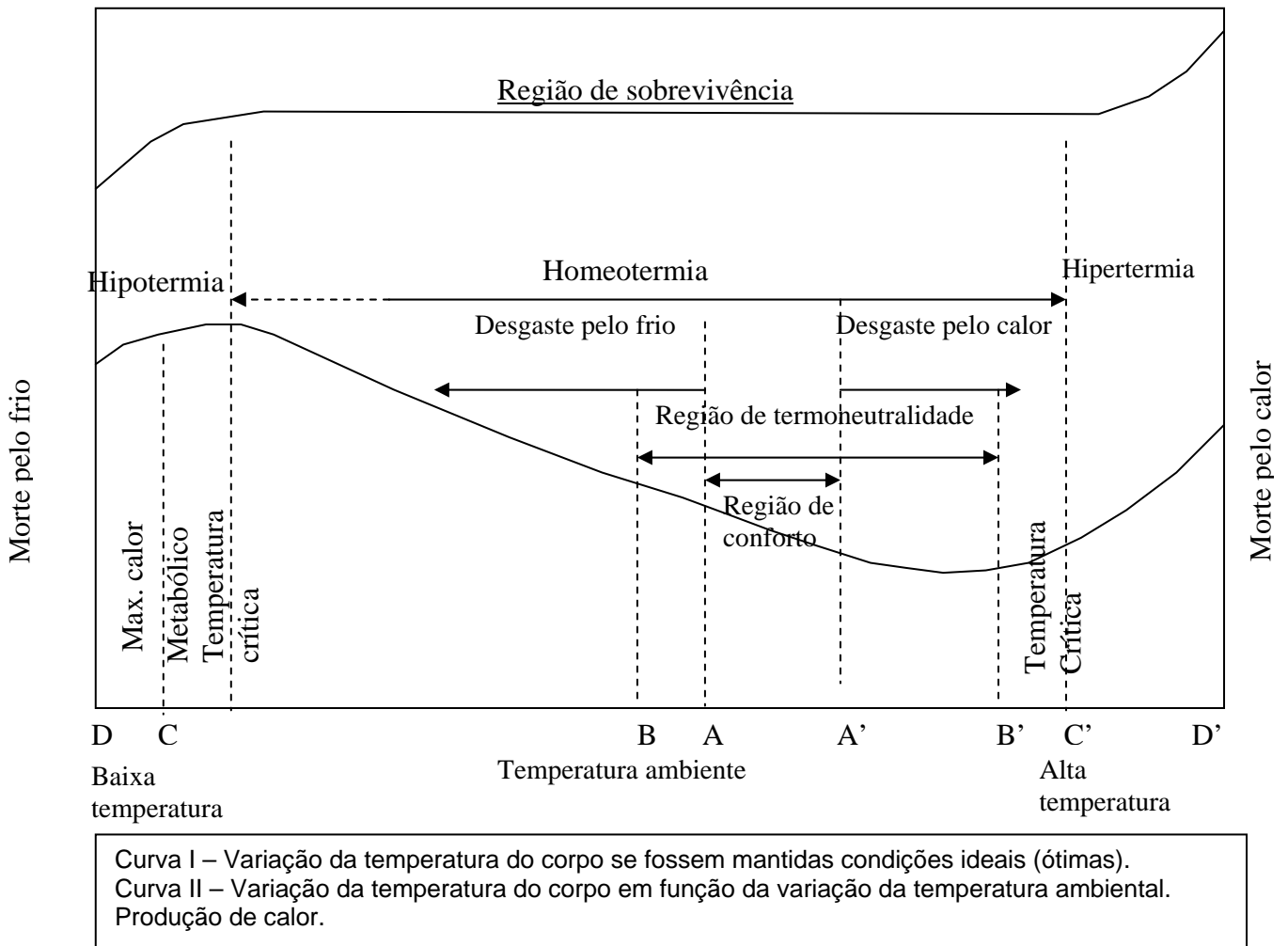


Figura 1 - Produção de calor e temperatura dos homeotermos versus temperatura ambiente (NÄÄS, 1989).

2.3.2 Mecanismos de troca de calor

Pode-se considerar que os mecanismos básicos de perda de calor são representados pelos meios não evaporativos (condução, convecção, radiação) e meios evaporativos (respiração e transpiração), conforme ilustra a Figura 2.

Quando a temperatura ambiente excede a temperatura crítica, ou seja, for maior que 21 a 27°C, o gradiente de temperatura torna-se pequeno para que o resfriamento não evaporativo seja efetivo. Nestes casos o animal lança mão dos mecanismos evaporativos para manter o balanço térmico, e a evaporação através da sudorese e ou respiração tornam-se os mecanismos primários de dissipação de calor, sendo que 80% do calor corporal é perdido desta forma (SHEARER; BEEDE, 1990).

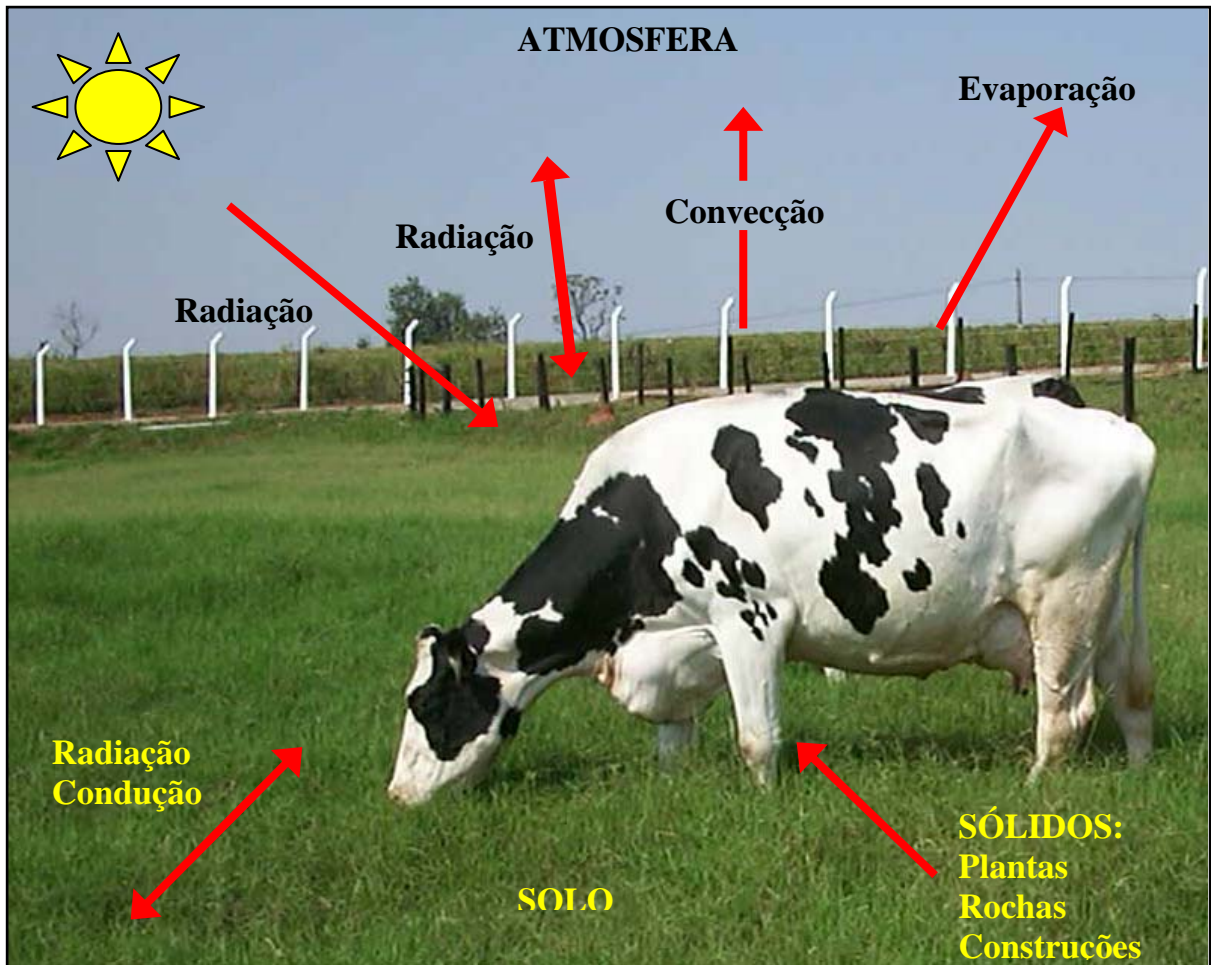


Figura 2-Representação gráfica das trocas térmicas realizadas entre o animal, solo e atmosfera.

A pele perde água por secreção ativa de suor ou por difusão da água através da epiderme, fazendo com que o excesso de calor seja dissipado por evaporação, mecanismo de proteção do corpo contra o superaquecimento, cada grama de água evaporada representa 582 calorias perdidas (JOHNSON, 1987).

As perdas por condução são aquelas que ocorrem pelo contato físico do corpo do animal com uma superfície de temperatura mais baixa, sendo que na atividade leiteira os locais mais comuns de ocorrerem essas trocas são as lagoas de resfriamento, barro ou piso cimentado. O resfriamento por convecção ocorre quando se expõe a camada de ar mais quente ao redor do animal, por ar mais fresco e pode ser promovido com a ajuda de ventiladores. A perda por radiação ocorre quando o animal emite radiação para o meio ambiente, esse mecanismo é mais eficiente para aquisição de calor (MACHADO, 1998).

Os meios evaporativos são importantes quando a temperatura do ar ultrapassa o limite crítico superior (Figura 3). Assim, o centro termoregulador, sediado no hipotálamo, dá início a termólise, especialmente por via evaporativa, por aumento da freqüência respiratória, que em geral apresenta-se superior a 40 movimentos respiratórios por minuto, podendo atingir níveis alarmantes de dispnéia, da ordem de mais de 100 movimentos por minuto (TITTO, 1998).

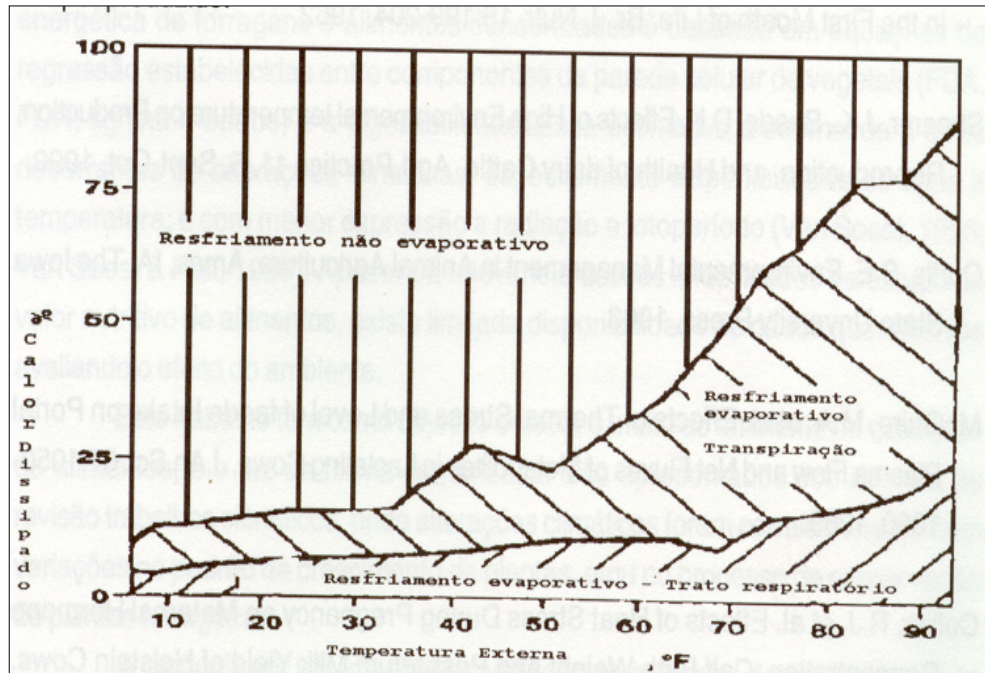


Figura 3 - Porcentagens da perda total de calor por vias evaporativas e não evaporativas em vacas da raça Holandesa e Jersey.

Ao umedecer o corpo do animal utilizando aspersores, as gotas de água evaporam, e nesse processo retiram calor da superfície corporal, aumentando o conforto do animal. Porém esse sistema se mostra mais vantajoso em climas secos (VALTORTA; GALLARDO, 1996).

Quando a vaca utiliza o ofego está sujeita a vários agravantes representados pela produção de calor advinda da movimentação da musculatura torácica, excessiva eliminação de CO_2 , com conseqüente alcalose respiratória. Além disto, a taquipinéia resulta apenas em cerca de 25% da perda total de calor corporal (McDOWELL, 1975).

2.4 Índices de conforto térmico

Os quatro fatores ambientais que definem as temperaturas efetivas compreendem a temperatura de bulbo seco, umidade relativa do ar, radiação solar e velocidade do vento. O índice de temperatura e umidade (ITU) engloba os efeitos combinados de temperatura de bulbo seco e de bulbo úmido e está relacionado com desempenho dos animais (JOHNSON, 1980).

Cargill e Stewart (1966) observaram que as mesmas variáveis psicrométricas causadoras do desconforto térmico em humanos, também causaram certo desconforto em vacas leiteiras, acarretam decréscimos na produção de leite. Verificou-se que, em um ITU de 76 ou 77, a produção de leite declinou.

Igono et al. (1992) determinaram para vacas da raça Holandesa em clima quente e seco (Arizona - USA), valores críticos mínimo, médio e máximo de ITU foram 64, 72 e 76, respectivamente. Segundo Johnson (1980) vacas da raça Holandesa em lactação apresentaram um declínio na produção de leite a partir de ITU igual a 72. Du Preez et al. (1990 a,b) consideram ITU inferior a 70 (ausência de estresse), entre 70 e 72 (alerta, alcançando o nível crítico), entre 72 e 78 (alerta, acima do ponto crítico), 78 a 82 (perigo) e superior a 82 (emergência).

Armstrong e Welchert (1994) determinaram que valores de ITU abaixo de 72 são considerados situação de conforto para bovinos; entre 72 a 78, estresse ameno; de 79 a 88, estresse moderado; e de 89 a 98 estresse severo. Valores acima de 98 são considerados situação de perigo, sendo associado à morte no rebanho.

Em trabalhos realizados no Brasil por Martello (2002), Perissinoto (2003) e Matarazzo (2004) em animais alojados em *free-stall* não encontraram alterações nas variáveis fisiológicas (TR e FR) e na produção de leite de vacas alojadas em *free-stall* climatizado com índice de temperatura e umidade considerado estressante.

2.5 Temperatura de globo negro (TGN)

O termômetro de globo negro fornece, em uma só medida, a indicação dos efeitos combinados da temperatura do ar, temperatura radiante e velocidade do vento (BOND; KELLY, 1955). O termômetro de globo negro absorve o máximo de radiação infravermelha e prevê uma medida indireta do calor radiante do ambiente. Zoa-Mboe et al. (1989) verificaram que vacas em lactação expostas à radiação solar

direta com temperatura de globo negro média de 37°C das 8 às 18 horas apresentaram decréscimo na produção de leite de 9,2% quando comparadas às vacas com acesso à sombra com temperatura de globo negro média de 29,2°C.

Marcheto et al. (2002) avaliando os efeitos da temperatura de globo negro na produção de leite de vacas alojadas em *free-stall*, utilizando dois grupos de vacas, mais produtivas (29 kg/leite/dia) e com produção média de 14 kg/leite/dia, encontraram uma diminuição na produção de leite de 0,52 kg/dia em função do aumento da temperatura de globo negro.

2.6. Formas de minimizar o estresse calórico

Quando os meios naturais não são suficientes para promover melhorias no ambiente torna-se necessário à utilização de meios artificiais, o aumento da taxa de ventilação, a fim de eliminar o calor produzido pelos animais, evitando uma temperatura excessivamente elevada dentro da instalação. A ventilação desses ambientes pode promover melhorias nas condições termo-higrométricas, representando um fator de conforto térmico de verão ao incrementar trocas de calor por convecção e evaporação. Sempre que os meios naturais não proporcionarem os índices de renovação de ar ou abaixamento de temperatura necessária, algum tipo de sistema de condicionamento do ambiente deve ser adotado (SILVA, 2000).

O sistema de resfriamento adiabático evaporativo (SRAE) tem-se expandido rapidamente em climas quentes, devido à sua relativa simplicidade técnica, fatores que têm resultado na sua aceitação por muitos criadores (LIN et al., 1998).

O SRAE consiste em mudar o ponto de estado psicrométrico do ar, para maior umidade e menor temperatura, mediante o contato do ar com uma superfície umedecida ou líquida. Como a pressão de vapor do ar insaturado a ser resfriado é menor que a da água de contato, ocorre a vaporização da água. A energia necessária para esta mudança de estado vem do calor sensível contido no ar e na água, resultando em decréscimo da temperatura de ambos, e, conseqüentemente, do ambiente. O ponto de estado A representa o ar não saturado na fase inicial de acionamento de SRAE. Se houvesse saturação, o ponto de estado se deslocaria até o ponto B, entretanto isso não ocorre devido à eficiência dos sistemas e o ponto desloca-se somente até C (Figura 4). Nesse processo, a temperatura do bulbo

úmido permanece constante, mas ocorre redução na temperatura do bulbo seco e aumento na umidade relativa (WIERSMA; STOTT, 1983)

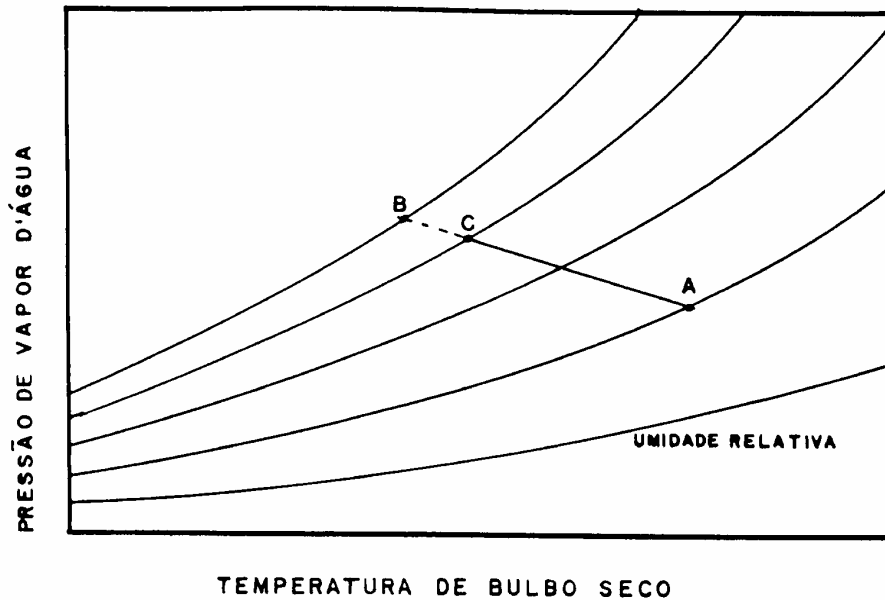


Figura 4 - Desempenho do resfriamento adiabático evaporativo representado pelo gráfico psicrométrico (SILVA, 1998).

Para Whitaker (1979) a eficiência de aplicação do sistema de resfriamento adiabático evaporativo depende da diferença entre as temperaturas de bulbo seco e úmido (depressão psicrométrica), que é característica para cada local. O uso do SRAE permitiu uma queda de 4 a 7°C na temperatura em determinada região dos Estados Unidos, o que correspondeu a uma depressão psicrométrica ao meio dia de 7 e 9°C. Acredita-se que a eficiência do sistema seja maior em climas quentes e secos, devendo ser tomados os devidos cuidados com diferentes manejos, principalmente em regiões úmidas.

O SRAE do ar pode ser obtido por vários processos, entre eles destacam-se: a nebulização e a aspersão. A diferença entre a nebulização e a aspersão consiste no diâmetro da gota e a pressão na qual esses sistemas operam. A nebulização permite a formação de gotículas extremamente pequenas, que aumentam a superfície de contato de uma gota d'água exposta ao ar, assegurando uma evaporação mais rápida. Os sistemas de nebulização são agrupados em "misting" (nebulização de baixa a média pressão) e "fogging" (nebulização de alta pressão).

Um nebulizador bem calibrado com água limpa é capaz de dividir uma gota d'água em 611 gotículas com diâmetro de 0,5 mm e área total 850 vezes maior; esses sistemas operam com uma pressão de 1100 a 1380 kPa (MARQUES, 1992; BUCKLIN; BRAY 1998). Quando os animais são borrifados com gotículas de água (formando uma névoa), torna-se desejável que essa névoa permaneça no microambiente que circunda o animal, para que seja removida pelos ventiladores, resfriando o ambiente. A nebulização associada à movimentação do ar proporcionada por ventiladores, acelera a evaporação, e evita que a pulverização ocorra em um só local (ARMSTRONG, 1994).

A aspersão, quando comparada a nebulização, apresenta um tamanho de gota maior, umedecendo os pêlos dos animais; os aspersores devem possuir um raio de ação de 180° e distância de 2,5 m entre si. Na Flórida os sistemas são delineados para borrifar água por 30 a 120 segundos a intervalos de 15 minutos, enquanto os ventiladores de 35 m³/min de capacidade ficam funcionando continuamente à velocidade de 120 a 180 m/min; esses sistemas operam com uma pressão de 69 kPa (HEAD, 1995).

No Brasil, Matarazzo (2004) avaliando a intermitência de 12,14 e 16 min do SRAE por aspersão na linha de alimentação em *free-stall* encontrou os melhores índices de conforto para as vacas em lactação no tratamento onde os equipamentos ficavam ligados por 1 min e 25 segundos com uma pausa de 14 minutos e 35 segundos. Cabe ressaltar que a região avaliada apresentava clima quente e úmido, devendo ser tomados os devidos cuidados para não proporcionar umidade excessiva.

Igono et al. (1985) utilizaram aspersão de água em vacas Holandesas durante o verão e encontraram acréscimos de 0,7 kg de leite quando compararam com os sem aspersão. Turner et al. (1992) compararam os efeitos da nebulização sobre a produção de leite e os resultados obtidos demonstraram benefícios de 15,8% na produção de leite, quando os animais foram submetidos ao resfriamento.

Perissinoto (2003) comparando o SRAE por nebulização e por aspersão em *free-stall* não encontrou diferença nos parâmetros fisiológicos (temperatura retal, frequência respiratória e temperatura do pelame) e produção de leite de vacas da raça Holandesa.

As modificações ambientais proporcionadas pelos sistemas de resfriamento e mesmo as diferenças existentes entre os *lay-outs* das instalações têm

sido incorporadas aos modelos de predição de balanço térmico de vacas leiteiras expostas às situações de estresse térmico (SPAIN, J.N.; SPIERS, D.E.; SAMPSON, J.D., 2001). É possível que a perda de calor possa ser maior durante o período noturno, uma vez que as vacas tendo sido expostas a temperaturas diárias intensas, conseqüentemente apresentem um maior gradiente de dissipação do calor acumulado (SCOTT, I.M.; JOHSON, H.D.; HANN, G.L., 1983).

Chastain e Turner (1994) relataram que o aumento na carga térmica vivenciada pelo animal durante o dia poderia ter efeitos limitados sobre o desempenho da vaca se a temperatura ambiental noturna fosse suficientemente baixa para permitir uma dissipação de calor efetiva. Assim quando a temperatura do ar no período noturno correspondente a 21°C por um intervalo de 3-6 horas, poder-se-ia minimizar o estresse e o decréscimo na produção de leite (IGONO et al. 1992).

Foram avaliados três rebanhos comerciais no estado do Missouri (EUA) com as seguintes características: no *free-stall* A os ventiladores permaneceram ligados 24 horas; no *free-stall* B os ventiladores eram acionados das 18h às 6h e finalmente, no *free-stall* C os ventiladores permaneciam ligados 24 horas sendo que os animais tinham livre acesso aos piquetes no período noturno. As instalações apresentavam sistema de resfriamento adiabático evaporativo montado sobre a linha do cocho para molhar os animais e facilitar o resfriamento. Os resultados encontrados mostraram que o *free-stall* A proporcionou menor temperatura máxima; *free-stall* B uma menor temperatura mínima e o *free-stall* C temperaturas intermediárias. Foi verificada uma correlação entre o balanço térmico animal no período do dia e a produção de leite. Os resultados obtidos sugeriram que as condições ambientais noturnas afetaram de maneira significativa à produção de leite (SPAIN, J.N.; SPIERS, D.E.; SAMPSON, J.D., 2001).

Por essas razões, alguns estudos têm indicado que apenas o condicionamento do ambiente no período noturno poderia aumentar a perda de calor pelo animal e melhorar o desempenho produtivo em níveis superiores quando comparado com o resfriamento de ambiente durante o dia.

2.7 Repostas comportamentais

O estresse calórico pode ser evidenciado pelas alterações no comportamento do animal. Em alguns casos, mudanças nos padrões do

comportamento são as únicas indicações de que o estresse está presente. A procura de sombra durante o verão, a mudança dos padrões usuais de postura corporal, movimentação, diminuição de ingestão de alimentos, a relutância das fêmeas em montar umas as outras quando em cio, alterações estas realizadas pelo animal com o objetivo de reduzir a produção de calor ou promover a perda de calor, evitando estoque adicional de calor corporal Pires et al. (1998).

O comportamento alimentar é influenciado pelas condições ambientais, em que animais submetidos ao estresse calórico reduzem o número de refeições diárias, a duração das refeições e a taxa de consumo de matéria seca por refeição (GRANT; ALBRIGHT, 1995). O padrão de procura de alimentos por bovinos confinados é bem característico, com dois momentos principais: início da manhã e final da tarde, e o tempo dispendido, diariamente, nessa atividade, por vacas leiteiras estabuladas tem sido cerca de 4,5 horas (CAMARGO, 1988). Esse comportamento alimentar é fortemente afetado pelo clima, geralmente o consumo diminui quando a temperatura ultrapassa 26°C, e em pastejo essa situação é mais evidente, com uma inversão dos hábitos alimentares. Quando a temperatura ambiente supera os 32°C, os animais interrompem o pastejo entre a ordenha do dia e da tarde, e utilizam apenas 7h e 30 min por dia para pastar, entre os períodos de entardecer e a ordenha do dia seguinte (BEEDE; COLLIER, 1986). Vacas estabuladas apresentam de 10 a 12 períodos de alimentação, com aproximadamente 68% ocorrendo entre 6 e 18 horas (VASILATOSE; WANGSNESS, 1980).

Vacas estabuladas embora em ambiente completamente diferente do natural, o ritmo diurno do padrão alimentar é semelhante aquele do pastejo, somente o tempo de alimentação é sensivelmente inferior (FRASER; BROOM, 1990). Os animais estabulados são estimulados a procurar o alimento nos momentos da oferta (CAMARGO, 1988). Damasceno (1999) verificou que o alimento fornecido às 12 horas não causou nenhum estímulo aos animais. Coincidentemente, nesse horário a radiação solar na área de alimentação era intensa.

A ruminação é uma atividade que permite a regurgitação, mastigação e a passagem do alimento previamente ingerido, para o interior do rúmen. Os estímulos da ruminação podem permitir o descanso fisiológico e a recuperação física normalmente providenciados pelo sono profundo em outras espécies, uma vez que as vacas gastam bem menos tempo dormindo que outras espécies (ALBRIGHT,

1987). As vacas preferem ruminar deitadas, com o peito junto ao solo. Em temperaturas elevadas os animais passam a ruminar mais tempo em pé, devido ao estresse calórico (DAMASCENO et al., 1999). O tempo total de ruminação pode variar de 4 a 9 horas, vacas confinadas em *free-stall* preferem desempenhar essa atividade no período da noite e gastam 31,3% do tempo ruminando isso equivale a 6 horas e 50 minutos (CAMARGO, 1988).

O aumento do consumo de água durante o estresse térmico visa à reposição das perdas sudativas e respiratórias, além de um possível resfriamento corporal, através do contato da água com as mucosas do trato digestivo (TITTO et al., 1998). Possa (1989) observou que apesar dos bovinos concentrarem a frequência de ingestão de água nos horários mais quentes do dia, eles também aumentam a frequência de idas ao bebedouro em outros horários.

Vacas em lactação necessitam de mais água em relação ao seu peso vivo do que outras categorias de animais, pois o leite contém 87% de água. O hábito no consumo de água segue o de consumo de alimento, sendo que o pico de consumo coincide com o consumo de alimento, mesmo quando o alimento é oferecido várias vezes por dia. Picos de consumo também são verificados logo após a ordenha (CAMPOS, 2000).

Ócio pode ser definido como o período em que o animal não está comendo, ruminando ou ingerindo água, o tempo gasto pelos animais nesta atividade está entre 5 h e 48 min e 12 h e 48 min. No verão os animais substituem as atividades de ingestão de alimento e ruminação pelo ócio, numa tentativa de reduzir a produção de calor metabólico Costa, M (1985). Shultz (1984) mostrou que a porcentagem de vacas em ócio, durante o dia, foi maior no verão (42,5%) e primavera (40,5%) que no inverno (35%).

Os animais reagem ao estresse térmico por meio de modificações posturais, a permanência em pé por longos períodos pode caracterizar uma condição de estresse, o tempo de permanência na posição deitada, em um período de 24 horas, é, geralmente, em torno de 8 a 14 horas (KRON; MUNHSGAARD, 1993).

Frazzi et al. (1998) observaram que as vacas submetidas ao ambiente climatizado durante os meses mais quentes do ano (julho a setembro) permaneciam por longos períodos descansando nas camas do *free-stall* ou nas áreas adjacentes aos cochos de alimentação, semelhante ao que ocorre quando as temperaturas são

mais amenas. Os animais tenderam a permanecer no interior do *free-stall* nas horas mais quentes do dia sempre para obter abrigo dos raios solares. Durante a noite, saiam à procura de um ambiente mais agradável e em condição de estresse térmico os animais permaneceram por muito mais tempo em pé que deitados.

2.8 Respostas fisiológicas

2.8.1 Respostas hormonais

O estresse térmico além de acarretar mudanças nas reações fisiológicas e comportamentais, também desencadeia alterações agudas e crônicas nas concentrações plasmáticas de cortisol e hormônios tireoideanos, triiodotironina (T_3) e tiroxina (T_4).

Os hormônios esteróides e tireoideanos regulam uma variedade de processos envolvidos no desenvolvimento, diferenciação, crescimento, reprodução e adaptação às mudanças no meio ambiente.

2.8.1.1 Glicocorticosteróides

As glândulas adrenais são dois órgãos endócrinos, bilateralmente simétricos, localizados próximos ao pólo anterior dos rins, respondem rapidamente às mudanças ambientais. Cada glândula é dividida em duas entidades separadas, o córtex e a medula. O córtex produz hormônios esteróides como: o cortisol, a corticosterona, os esteróides sexuais e a aldosterona, enquanto que a medula secreta os hormônios adrenalina e noradrenalina (CUNNINGHAM, 2004).

Os hormônios do córtex adrenal, particularmente os glicocorticóides são componentes essenciais da adaptação ao estresse severo, supressão da resposta imune com lise celular dos linfócitos, diminuição do número de leucócitos circulantes e migração dos leucócitos tissulares (GRANNER, 1994). Alguns dos efeitos dos hormônios glicocorticóides foram agrupados na Tabela 1.

Tabela 1- Efeitos e local de ação dos hormônios glicocorticóides

EFEITOS	LOCAL DE AÇÃO
Estimula a neoglicogênese	Fígado
Aumenta o glicogênio hepático	Fígado
Aumenta a glicose sanguínea	Fígado
Facilita a lipólise	Tecido adiposo
Inibe a secreção de corticotrofina	Hipotálamo e hipófise anterior
Bloqueia a resposta inflamatória	Múltiplos locais
Suprime a resposta imune	Macrófagos, linfócitos

Fonte: De Hedge GA, Colby HD, Goodman RL; Clinical Endocrine Physiology, 1987

A ativação do eixo hipotálamo – pituitária – adrenal com conseqüente aumento das concentrações de cortisol no plasma é uma das respostas do animal à condição de estresse (Figura 5).

O cortisol plasmático pode aumentar dentro de 20 minutos após a exposição ao estresse térmico atingindo um platô dentro de duas horas (CHRISTISON; JONHSON, 1972). A concentração de cortisol aumenta no plasma de vacas durante o estresse térmico quando comparada às mantidas a 22°C (WISE et al., 1988).

A exposição ao estresse térmico em períodos curtos aumenta os níveis plasmáticos de cortisol, enquanto que a exposição prolongada leva a uma diminuição dos níveis de cortisol (DU PREEZ, 2000). Níveis de cortisol entre 28,40 a 4,73 µg/dL foram encontrados em vacas com mastite subclínica Domingues et al.(1999). As concentrações normais de cortisol para bovinos encontram-se em torno de 0,35 µg/dL Smith (1993).

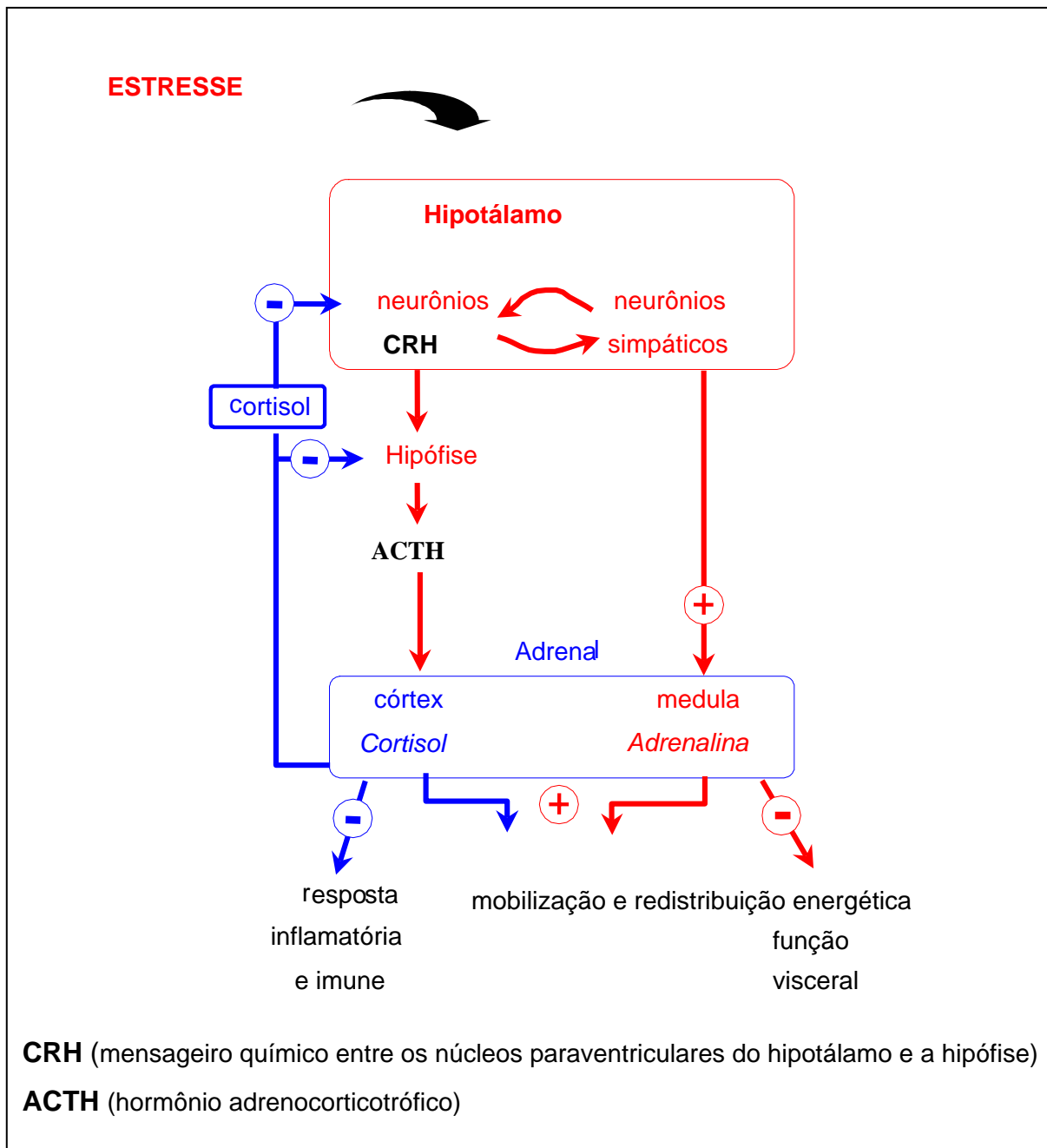


Figura 5- Ativação do eixo hipotálamo – hipófise – adrenal durante o estresse

2.8.1.2 Hormônios tireoideanos

A glândula tireóide é composta de dois lobos situados caudalmente cada um ao lado da traquéia. O lobo anterior produz o hormônio tireotropina que atua primariamente na glândula tireóide para produzir a tiroxina (T_4) e triiodotironina (T_3).

Os hormônios tireoideanos atuam em todos os órgãos e vias metabólicas e seus principais efeitos incluem: o desenvolvimento de vários tecidos entre eles o

sistema nervoso central, consumo de oxigênio, frequência cardíaca, metabolismo de carboidratos, proteínas e gorduras (BARRA et al., 2004). Atua também na atividade de termogênese (HABEED et al., 1992). Os hormônios tireoideanos afetam o metabolismo dos carboidratos, incluindo aumento da absorção intestinal de glicose e facilitando o movimento da glicose para o interior das células adiposas e musculares. Os hormônios tireoideanos e do crescimento são essenciais para o crescimento e desenvolvimento normais (CUNNINGHAM, 2004)

A principal forma do hormônio tireoideano secretado pela tireóide é a tiroxina (T_4) e uma menor quantidade é secretada como triiodotironina (T_3) (BARRA et al., 2004). A concentração basal de T_4 e T_3 no plasma sanguíneo declina nas condições de estresse térmico. Essa modificação na atividade tireoideana é consistente com diminuição da taxa metabólica, ingestão de alimentos, crescimento e produção de leite. Starling e Silva (1998) estudando a variação estacional nas concentrações do cortisol e dos hormônios tireoideanos de ovinos da raça Corriedale, em ambiente tropical, verificaram que os hormônios foram afetados pela temperatura e umidade relativa do ar, havendo uma resposta imediata do cortisol e um período de latência na resposta dos hormônios tireoideanos ao estresse calórico.

Os autores observaram que a média da relação $T_4:T_3$ aumentou, indicando uma menor conversão do T_4 para T_3 . A menor concentração de T_4 demonstrou uma diminuição na taxa de secreção desse hormônio pela glândula tireóide.

Moraes et al. (2002) encontraram valores normais de T_3 e T_4 em vacas em lactação no verão no Município de Quixeramobim no estado do Ceará, as médias, porém foram menores nos rebanhos menos adaptados e nas épocas de maiores temperatura e umidade relativa do ar, embora estes valores estivessem dentro da faixa de normalidade. As concentrações de triiodotironina (T_3) variam de 41 a 70 $\mu\text{g/dL}$ e da tiroxina (T_4) variam de 3,6 a 8,9 $\mu\text{g/mL}$ Smith (1993).

2.8.2 Consumo de alimentos, água, produção e composição do leite

A prioridade para manter a temperatura corporal dentro dos limites normais impera sobre as funções produtivas, como a lactação. As respostas das vacas leiteiras, em lactação, ao estresse térmico incluem: a) redução na ingestão de matéria seca, produção e porcentagem de gordura no leite; b) aumento das necessidades de manutenção; c) diminuição da atividade, especialmente durante o

dia; d) aumento da freqüência cardíaca e respiratória; e) temperatura corporal elevada; f) aumento da taxa de sudorese e aumento do consumo de água.

Os requerimentos de manutenção de vacas em produção aumentam cerca de 30% se as temperaturas são elevada de 26 para 40°C pelo período de 6 horas. O consumo de matéria seca diminui cerca de 55% do consumo para vacas mantidas na zona de termoneutralidade, e assim, a produção de leite é reduzida para valores inferiores a 55% daqueles verificados para animais em condição termoneutralidade (HEAD, 1995). O estresse térmico em vacas de alta produção resulta em redução na ingestão de volumoso e tempo de ruminação, a diminuição na ingestão de volumosos contribui para o decréscimo na produção de ácidos graxos voláteis e pode produzir alterações nas taxas de acetato: propionato, com diminuição do pH ruminal (COLLIER et al., 1982)

O efeito estacional adverso sobre a produção de leite foi demonstrado por vários pesquisadores. De acordo com Chandler (1987), nos meses de verão, em grande número de rebanhos nos Estados Unidos, as vacas apresentaram diminuição de 2,3 a 4,6 kg de leite por dia.

A diminuição na produção de leite como resposta ao estresse térmico não leva a perda total da produção, mas uma vez cessada a condição de estresse, a quantidade de leite volta a aumentar, porém se faz lentamente e sem retornar ao nível anterior pré-estresse (TITTO, 1998).

Arcaro Júnior et al. (2000), trabalhando com 18 vacas em piquetes com sombra artificial produzida por tela de propileno 80%; sombra artificial acrescida de ventilação forçada, ou sombra com ventilação e aspersão encontraram aumentos significativos na produção de leite dos animais submetidos ao tratamento sombra artificial mais ventilação e aspersão.

KEISTER et al. (2002) verificaram em trabalho realizado no Arizona que vacas Jersey produziram mais leite em galpão climatizado com SRAE com nebulização que as vacas que permaneceram em galpão que não recebeu nebulização. Em trabalho realizado na Flórida com vacas submetidas à climatização por nebulização não foram encontrados efeitos na produção de leite e na redução efetiva da temperatura do ar (Taylor et al., 1986). Fuquay et al. (1997), Martello (2002) e Matarazzo (2004) não encontraram diferença na produção de leite de vacas submetidas a tratamentos com climatização e sem climatização por nebulização.

Aguiar et al. (1996) verificaram que o estresse brando pelo calor deprimiu a produção de leite de vacas Holandesas (com produção diária média de 17 kg) entre 3,6 a 4,5% nas fases termoneutras subsequentes ao estresse, após alguns dias de termoneutralidade as vacas recuperam total ou parcialmente a produção de leite. Os autores observaram que as vacas recuperam a produção parcial ou total, (estresse brando) desde que tenham ficado anteriormente alguns dias em condições de termoneutralidade

Dentre os efeitos causados pelas altas temperaturas e umidades, a redução do consumo de alimentos é o fator mais importante na queda de desempenho do animal. McGuire (1989) ¹ citado por Machado (1998) afirmou que, com temperatura de 30°C o consumo de alimentos é 90% daquele observado com 25°C, sendo que a 40°C o consumo é 67% do normal. O mesmo autor concluiu que um único registro de altas temperaturas pode ter influência no consumo por até 8 dias. A redução de ingestão de alimentos resulta em um decréscimo da produção de calor e é uma estratégia usada pelo animal para manter a sua temperatura corporal constante (HUBER, 1995)

Em consequência de sua ação sobre o consumo, o estresse calórico tem efeitos marcantes sobre o metabolismo da glândula mamária e da composição do leite. Alguns efeitos são resultados de alterações (redução) na síntese, absorção e mobilização dos metabólitos (glicose, ácidos graxos voláteis, lipídeos, aminoácidos, etc.) a partir do trato digestivo, fígado e tecido adiposo, e sua utilização pela glândula mamária (HEAD, 1989). Com a temperatura em torno de 36°C, há um decréscimo de 0,54% e 0,44% na percentagem de gordura e proteína do leite, respectivamente, segundo Rodriguez et al. (1985).

Head (1989) afirmou que o estresse térmico causou decréscimos na produção e no teor de constituintes do leite, como a gordura, proteína, ácido cítrico, cálcio e potássio. O estresse térmico prolongado foi associado ao aumento da ocorrência de mastite, contagem de células somáticas no leite e o escore do California Mastite Teste (ROUSSEL et al., 1969; WEGNER et al., 1976).

¹McGUIRE, M.A. et al. Effects of thermal stress and level of feed intake on portal plasma flow and net fluxes of metabolites in lactating Holstein cows. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.67, p.1050-1060, 1989

2.8.3 Temperatura retal e frequência respiratória

A capacidade do animal de resistir às condições de estresse calórico tem sido avaliada fisiologicamente por alterações na temperatura retal e frequência respiratória (PERERA, 1986). A manutenção da temperatura corporal é determinada pelo equilíbrio entre a perda e o ganho de calor. A temperatura corporal obedece a um ritmo ou ciclo circadiano, ou seja, um ritmo que se repete a cada 24 horas, com a máxima entre 17 e 19 horas e a mínima entre 4 e 6 horas. A temperatura retal é um indicador do balanço térmico e pode ser usada para avaliar a adversidade do ambiente térmico que pode afetar o crescimento, lactação e reprodução de vacas leiteiras (SILANIKOVE, 2000). A referência fisiológica da temperatura retal em bovinos sob condições termoneutras está entre 38 – 39,5°C (STOBER, 1993).

Em condições de termoneutralidade, a frequência respiratória normal da vaca em lactação varia de 18 a 28 movimentos por minuto e começa a elevar-se significativamente a partir da temperatura crítica maior que 26°C (ANDERSON, 1988). Berman et al. (1985) encontraram frequências respiratórias de 50 a 60 movimentos por minuto quando a temperatura ambiente ultrapassou 25°C em condições subtropicais. O aumento da frequência respiratória por um período de tempo, caracteriza-se por um método eficiente de perda de calor, entretanto se esse mecanismo passa a ser exigido por um período prolongado, pode interferir na ingestão de alimentos e ruminação, proporcionar um aumento do calor endógeno em função da atividade muscular (ofegação), desviar energia de outros processos metabólicos, o aumento da frequência respiratória causa uma diminuição da pressão parcial de CO₂ (pCO₂) no sangue, conseqüentemente ocorrerá uma diminuição da concentração de ácido carbônico resultando em uma alcalose respiratória (BENJAMIN, 1981).

Pires et al. (1998) verificaram temperatura retal e frequência respiratória mais elevadas no verão que no inverno, provavelmente em decorrência de temperaturas ambientais e umidade relativa mais elevada nessas estações.

Turner et al. (1992) encontraram a temperatura retal média 0,58°C inferior, movimentos respiratórios 21,3% inferiores e a produção de leite 15,8% maior para os animais mantidos no tratamento com nebulização em relação aos animais do grupo controle. Frazzi et al. (1997) observaram que a utilização do SRAE

associado à ventilação as vacas não apresentaram aumentos na temperatura retal, e foram registradas diminuições na taxa respiratória.

2.8.4 Temperatura do pelame

A pele protege o organismo do frio e do calor, e sua temperatura depende principalmente das condições de temperatura ambiente, umidade relativa do ar, velocidade do vento e radiação solar. Quando os raios solares atingem a superfície corporal, uma proporção é absorvida e outra refletida. A capacidade de uma superfície para absorver radiação é denominada de absorvidade. Esta varia de 0 (zero) a 1, onde o valor 0 indica nenhuma absorção, 0,5 indica que 50 % da radiação é absorvida e 1 indica absorção total. Assim uma vaca Holandesa preta absorverá mais que o dobro de calor que uma vaca branca (HANSEN; LANDER, 1988).

Na Flórida vacas Holandesas predominantemente brancas produziram mais leite ao sol e à sombra que suas pares predominantemente pretas. A produção de leite ao sol foi de 3,9 kg/vaca/dia a mais nas vacas de pelagem branca, sendo de 2,1 kg/vaca/dia a sombra. Estimando o balanço térmico para a radiação em vacas Holandesas ao sol e a sombra, Silva (1998) relatou que o tipo mais vantajoso de animal para climas quentes é o que apresenta pelagem branca sob epiderme negra, como na raça Holandesa a pigmentação da epiderme acompanha a da pelagem, seria vantajoso animal predominantemente branco para um regime de estabulação e se o regime for de pasto, dar preferência a animais predominantemente pretos.

Conforme relatado por Baccari Júnior (2001), quando a temperatura da pele é mais elevada que a do ambiente, o organismo cede calor às moléculas de ar dando início à troca térmica. Quando a temperatura do ar for mais elevada que a da superfície do corpo, este ganhará calor, invertendo-se o mecanismo. Dessa maneira, quando se abaixa à temperatura do ambiente onde a vaca se encontra esta dissipará mais calor, resfriando a sua temperatura corporal.

Cappa et al. (1989), avaliando a temperatura da superfície da pele de vacas Holandesas em lactação em dois ambientes térmicos, verificaram que na condição de temperatura elevada entre 27 e 28°C encontraram a temperatura de pele de 37,5°C e quando a temperatura estava entre 23 e 24°C, na zona de termoneutralidade, a temperatura de pele foi de 36,7°C. Segundo Martello et al.

(2002), a temperatura da pele de vacas Holandesas alojadas em instalações climatizadas pode variar de 31,6°C às 6 horas a 34,7°C às 13 horas, sem indicar que o animal esteja sofrendo de estresse térmico.

2.9 OCORRÊNCIA DE MASTITE

A mastite é um processo inflamatório da glândula mamária, podendo se manifestar nas formas clínica, com alterações visíveis da glândula mamária e ou da secreção, ou subclínica (COSTA et al., 1995). É uma das principais doenças que acomete bovinos leiteiros, causando prejuízos aos produtores e à indústria. No Brasil estima-se a perda de 2,8 bilhões de litros de leite/ano (FONSECA; SANTOS, 2000).

Durante o curso da mastite, ocorre uma migração de células brancas, os leucócitos, para a glândula mamária, e o resultado final desse processo é o aumento da contagem de células somáticas (CCS) no leite. As células somáticas referem-se aos leucócitos, especificamente linfócitos, macrófagos, neutrófilos polimorfonucleares e uma pequena porcentagem de células epiteliais e hemácias que estão presentes no leite. Essa população local de células somáticas serve como um dos mais importantes mecanismos de defesa da glândula mamária contra as infecções. Vários estudos mostram uma correlação entre a contagem de células somáticas e a ocorrência de mastite (DROKE et al., 1993; KALOGRIDOU-VASSILIADOU et al., 1992).

O diagnóstico da mastite clínica pode ser feito pela sintomatologia, como inflamação do úbere, secreção láctea com grumos, sangue, pus, entretanto, para a mastite subclínica recursos indiretos de diagnóstico se fazem necessários (COSTA, 2000).

A prova mais utilizada para detectar a mastite clínica é o tamis (teste da caneca de fundo preto). O *Califórnia Mastitis Test* (CMT) é utilizado para detectar mastite subclínica (COSTA et al., 2001). O CMT é um método indireto de avaliação da quantidade de células somáticas do leite e se baseia na atuação de um detergente aniônico sobre a membrana celular provocando a sua ruptura, liberação dos ácidos nucléicos e a sua gelificação com o detergente (ROSENBERG, 1983). O CMT é uma prova de triagem para detecção de mastite subclínica, sendo indicado para monitorar rebanhos a campo. De acordo com Fagliari et al. (1983), amostras

reagentes ao CMT nos graus 1+, 2+ e 3+ concordaram com o exame bacteriológico em 22,4%, 74,4% e 85,6%, respectivamente.

A mastite subclínica é 15 a 40 vezes mais prevalente que a forma clínica; usualmente precede a clínica, é de longa duração, reduz significativamente a produção e leite, altera a composição do leite e constitui importante fonte de infecção de patógenos que podem provocar a sua disseminação no rebanho (PHILPOT; NICKERSON, 1991). Estima-se que para cada caso clínico da enfermidade ocorram 35 casos de mastite subclínica (FONSECA; SANTOS, 2000).

Bueno et al. (2002), examinando animais em propriedades localizadas no estado de Goiás, encontraram freqüências médias de mastite clínica de 7,64% e 2,25%, e subclínica, 63,68% e 34,31%, respectivamente em relação ao número de animais e quartos mamários. Por outro lado Costa et al. (1995) encontraram em 28 propriedades localizadas no estado de São Paulo e Minas Gerais ao examinarem 2419 vacas HPB e mestiças, em diferentes estágios de lactação, 17,45 % e 6,48% e 72,56% e 46,54%, respectivamente, para mastite clínica e subclínicas em animais e quartos.

A mastite pode ser de natureza fisiológica, traumática, alérgica, metabólica, e infecciosa, sendo esta última a mais importante, pois numerosos microrganismos tem sido isolados da glândula mamária (COSTA et al., 2001).

A glândula mamária normal é protegida por uma variedade de mecanismos de defesas naturais frente às infecções. Estes mecanismos podem ser não imunológicos (inespecíficos) ou imunológicos Giraudo (1996). As primeiras linhas de defesa da glândula mamária são as barreiras físicas que incluem o canal e o esfíncter do teto, os quais possuem propriedades defensivas como um mecanismo de oclusão relativamente eficiente, a roseta de "Furstenberg" e ainda proteínas bactericidas (PRESTES et al., 2002). A segunda linha de defesa glandular está constituída pelo sistema imunológico, o qual envolve a imunidade celular e humoral (GIRAUDO, 1996). A imunidade celular é conferida pelos leucócitos que incluem: granulócitos (neutrófilos polimorfonucleares-PMN, basófilos e eosinófilos), fagócitos, linfócitos (células T e células B) e monócitos (GIRAUDO, 1996). Uma vez que o agente atravessou o canal do teto e alcança a cisterna mamária, passa a atuar especialmente os fatores solúveis e as células fagocíticas da imunidade inespecífica. Dentre os fatores solúveis destaca-se a enzima lactoperoxidase que possui ação bactericida. A lactoferrina, também, é encontrada no leite e seu papel é o de

competir com as bactérias pelo íon Fe^{+} essencial ao metabolismo bacteriano (TIZARD, 2002). Embora a imunidade celular tenha um papel importante no desencadeamento e manutenção da resposta imune através de linfocinas, a fagocitose em si encontra-se muito prejudicada pela saturação das células fagocíticas com micelas de caseína e glóbulos de gordura. Além disso, a população local de células produtoras de anticorpos é reduzida na glândula mamária. Por isto, a maior parte das células imunitárias presentes neste órgão tem origem sistêmica, chegando à glândula como consequência de uma agressão infecciosa.

A quantidade de anticorpos presentes no leite produzido por uma glândula mamária normal é muito reduzida (menos de 1 mg/mL), mas durante a inflamação estas concentrações podem atingir 80 mg/mL, isto porque durante o processo inflamatório há um aumento da permeabilidade vascular, que facilita a passagem de imunoglobulinas do sangue para o leite.

A glândula mamária é particularmente susceptível a novas infecções no início da sua involução, após a secagem e no início da lactação. Muitas das mastites clínicas que ocorrem no início da lactação são originadas de infecção ocorrida durante a fase de secagem. Novas infecções durante o período de secagem podem reduzir a produção da lactação subsequente em 35% (PRESTES 2002).

A mastite contagiosa é a mais prevalente, os patógenos têm sido classificados em dois grupos distintos: contagiosos e ambientais. Os contagiosos necessitam do animal para sobreviver, multiplicam-se na glândula mamária, canal do teto ou sobre a pele, são transmitidos de uma vaca infectada para uma vaca sadia, principalmente durante a ordenha, sendo os principais agentes os *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulase negativo* e *Corynebacterium* sp.

A mastite contagiosa ocorre em diferentes formas de acordo com o microrganismo envolvido, a patogenicidade e a capacidade de invasão tecidual e a resposta do hospedeiro está relacionada com a resistência da glândula mamária (BLOOD; RADOSTITS, 1991). Philpot (2002) ressaltou que as infecções contagiosas tendem a ser subclínicas de longa duração e apresentam elevada contagem de células somáticas, enquanto que a ambiental se faz principalmente na forma clínica, tem curta duração e tem baixa contagem de células somáticas.

Os microrganismos do gênero *Staphylococcus* constituem um dos mais importantes agentes causadores das mastites contagiosas devido a sua capacidade

de penetração e instalação profunda nos tecidos da glândula mamária, formação de microabcessos, resistência à fagocitose e sobrevivência no interior dos fagócitos, dificultando dessa maneira a ação dos antibióticos utilizados no tratamento da mastite (ARAÚJO et al., 1996).

Brabes et al. (1999), estudando 127 cepas de microrganismos do gênero *Staphylococcus* provenientes de amostras de leite de cinco propriedades localizadas no estado de São Paulo e Minas Gerais, encontraram uma alta prevalência de *Staphylococcus aureus* (40,15%), seguidos de *S. chromogenes* (11,81%), *S. sciuri* (9,45%), *S. simulans* (7,08%), *S. hyicus* (6,30%), *S. xylosum* (4,27%), *S. warneri* (2,36%), *S. epidermidis* (0,79%).

O *Staphylococcus aureus* é o mais importante patógeno da glândula mamária (MENDONÇA et al., 1999) destacando-se como o microrganismo de maior ocorrência nos rebanhos mundiais, sendo de difícil tratamento. Algumas cepas de *Staphylococcus aureus* podem produzir uma baixa resposta celular da glândula mamária por causar depressão do sistema imune. Estes microrganismos têm a capacidade de resistir à fagocitose podendo contribuir para a manutenção na glândula mamária no estágio de portador (SUTRA, 1990).

A maioria das cepas de *Staphylococcus aureus* produz enterotoxinas, resistentes ao calor, sendo responsáveis pela alta ocorrência de intoxicação alimentar no mundo (OLIVEIRA et al., 2003). A contagem de células somáticas está aumentada, porém a não ser que se utilize a caneca telada ou os testes indiretos e que a palpação seja realizada de forma regular, a doença poderá passar despercebida até que parte da capacidade da glândula esteja perdida (MENDONÇA et al., 1999).

Costa et al. (2000), examinando 11 805 animais de propriedades localizadas em sete bacias leiteiras no estado de São Paulo verificaram que em todas as bacias leiteiras os microrganismos predominantes eram *Staphylococcus* sp, *Streptococcus* sp e *Corynebacterium* sp, variando de um mínimo de 62,2%, na bacia leiteira da Alta Paulista, a um máximo de 91% na bacia do Vale do Ribeira, correspondendo em média de 81% de todos os casos de mastite. BARBALHO; MOTA. (2001) encontraram em 104 amostras de leite provenientes de 43 vacas, o correspondente a 38,76% de *Staphylococcus* sp, que foram isolados com maior frequência de vacas com mastite subclínica.

A coagulase livre é uma enzima produzida por algumas espécies de estafilococos, principalmente o *Staphylococcus aureus* em plasma de coelho. Este teste tem sido largamente utilizado para identificação dos *Staphylococcus* coagulase positivo de outras espécies não produtoras de coagulase, *Staphylococcus* coagulase negativo.

As infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus* coagulase-negativo são consideradas menos importantes e estes agentes são associados com quadros de mastites branda e leucocitose, mas podem, muitas vezes, causar mastite clínica intensa (TIMMS; SCHULTTZ, 1984). Benites et al. (2001), examinando fragmentos do parênquima de 140 glândulas mamárias de vacas em lactação, provenientes de abatedouros, encontraram 54,29% de *Staphylococcus* coagulase negativo, seguidos de *Staphylococcus* coagulase positivo (6,43%). Esses mesmos autores não encontraram diferença entre os tipos de processos inflamatórios crônicos e inflamatórios crônicos associados ao processo de reparo da glândula mamária causados por *Staphylococcus* coagulase negativo ou por *Staphylococcus* coagulase positivo. Os processos de reparo substituem permanentemente o tecido glandular por tecido conjuntivo havendo conseqüentemente perda do tecido glandular produtor na atual lactação, bem como em lactações posteriores.

Laffranchi et al. (2001) encontraram resultados microbiológicos positivos em 23,02% das amostras de leite de 88 vacas primíparas oriundas de quatro rebanhos localizados no estado de São Paulo e Paraná. Foram isolados *Staphylococcus* coagulase negativos em 316 amostras (61,14%), *Corynebacterium bovis* em 56 amostras (12,25%), *Streptococcus* sp em 41 amostras (8,97) e *Staphylococcus* coagulase positivo em 38 amostras (8,31%). Os autores observaram uma diminuição acentuada do número de vacas e dos quartos afetados, que posteriormente tendeu a estabilizar, provavelmente devido à persistência dos microrganismos ou ocorrência de novas infecções. Os *Streptococcus* foram isolados com maior freqüência no 1º dia pós-parto, ocorrendo um decréscimo até o 14º dia, ao contrário, as infecções por *Corynebacterium bovis* aumentaram gradativamente a partir do parto.

Janosi e Baltay (2004), em levantamento realizado em 3300 vacas com baixa contagem de células somáticas, encontraram 2714 quartos com CMT positivo. Foram isolados microrganismos em 57,6% desses quartos, sendo os patógenos

mais prevalentes *Staphylococcus* coagulase negativo (41%) e *Staphylococcus aureus* (32,5%).

Os agentes ambientais são oportunistas e os principais são *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* etc (COSTA et al., 2000).

Streptococcus uberis tem sido a espécie mais comumente isolada dos casos de mastite por estreptococos ambientais (TODHUNTER et al., 1995). Este microrganismo é ubiqüitário, isolado do solo, dos lábios, vagina, rúmen, fezes, pele do teto do animal, logo, expondo continuamente a glândula mamária a este agente durante a lactação e o período seco (Hogan e Smith, 2003). A taxa de novas infecções é máxima durante as duas primeiras semanas do período seco e durante as ultimas semanas antes do parto, sendo, também maior a taxa de novas infecções durante o início da lactação em relação ao final. Em média 60% das infecções causadas por *Streptococcus* duram aproximadamente 30 dias e cerca de 18% das infecções se mantêm por mais de 100 dias. Os quartos tornam-se infectados por este agente principalmente no intervalo entre ordenhas e 70% da extremidade dos tetos apresentam-se positivos antes da ordenha (LEIGH, 1999).

Meaney (1992), comparando a prevalência de infecções no parto em novilhas mantidas confinadas e a pasto, verificou que a prevalência foi 2.4 vezes maior em novilhas confinadas (18,8%), quando comparado com os animais a pasto (8%); 70% das infecções nas novilhas a pasto e 98% das confinadas foram causadas por patógenos ambientais ou nenhum patógeno foi isolado.

Todhunter et al. (1995) verificaram aumento de infecção intramamária por estreptococos ambientais no período do verão em propriedade leiteira em regime de confinamento. A maior ocorrência foi de estreptococos ambientais (50%) nas propriedades leiteiras que mantinham os animais em sistema de confinamento em relação ao regime a pasto (44,10%) e semiconfinamento (23,20%), durante os meses de verão. Bartlett et al. (1992) verificaram que animais mantidos em sistema de *tie-stall* estão mais associados com a ocorrência de mastite por estreptococos ambientais do que animais mantidos em regime de confinamento *free-stall*.

Pardo et al. (1998), examinando 83 vacas primíparas da raça Holandesa de 12 propriedades de alta produtividade da região norte do Paraná no período pós-parto, observaram predominância de *Staphylococcus* coagulase negativa (35,29%), seguidos por *Streptococcus* ssp (8,82%), *Actinomyces pyogenes* (7,35%), *E.coli*

(7,35%), *Mycoplasma bovinogenitalia* (5,88%) *Staphylococcus coagulase positiva* em 4,41%, e *Criptococcus neoformans* (1,47%).

A interação que ocorre entre a vaca e o ambiente externo estressante, bem como a não adaptação a este ambiente, e falhas nos mecanismos de resistência favorecem ao estabelecimento e persistência das infecções intramamárias Pires (2000).

Giesecke (1985) demonstrou que o estresse afeta a integridade das células intramamárias, sendo um fator de contribuição para a mastite. O estresse em vacas de leite é parte do esforço contínuo do animal em manter seu estado de homeostasia. No caso do estresse agudo, em que ocorre um aumento da liberação de adrenalina, é evidente que a secreção de adrenalina pode interferir na saúde do úbere através dos seus efeitos sobre os leucócitos e sobre a estasia do leite, causando regressão da glândula mamária, contração do teto e o seu fechamento, criando condições favoráveis para a invasão, sobrevivência e proliferação de bactérias.

O estresse térmico prolongado foi associado ao aumento da ocorrência de mastite, contagem de células somáticas no leite e o escore do Califórnia Mastite Teste (ROUSSEL et al., 1969; WEGNER et al., 1976) O estresse térmico prolongado foi associado ao aumento da ocorrência de mastite, contagem de células somáticas no leite e o escore do Califórnia Mastite Teste (ROUSSEL et al., 1969; WEGNER et al., 1976).

Deste modo, observa-se um aumento na contagem de células somáticas e na ocorrência de mastite clínica durante os meses mais quentes do ano. Essa observação sugere que o estresse calórico pode aumentar a suscetibilidade a infecções pela diminuição da resistência do animal, ou pelo aumento da exposição aos agentes patogênicos, resultante de condições que favorecem seu crescimento e propagação no ambiente (PIRES, 2000).

Elvinger et al. (1991) em trabalho realizado na Flórida verificou um aumento significativo na contagem de células somáticas de vacas (não infectadas e infectadas) com *Staphylococcus* sp, sujeitas a estresse calórico em galpões com ambiente termorregulados. Keister et al. (2002) verificaram que a incidência de mastite de vacas Jersey alojadas em curral climatizado com sistema de nebulização foi menor quando comparados aos animais que permaneceram em ambiente não climatizado, durante o verão no Arizona.

Shearer e Beede (1990) referiram que a temperatura elevada e a umidade relativa alta influenciam a sobrevivência e proliferação dos patógenos no ambiente. Aumento do tempo de exposição aos patógenos, associado com o estresse e/ou outro fator que compromete a resistência do animal representa maior risco de infecção do úbere.

Deve-se considerar a mastite como sendo o resultado final da interação entre os fatores, resistência natural ou susceptibilidade de cada indivíduo; higiene do ambiente, que condiciona a maior concentração de microorganismos a que a vaca esta exposta, virulência do agente infeccioso; estratégias de manejo, incluindo alimentação e funcionamento dos equipamentos de ordenha (PHILPOT 2002).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a eficiência do sistema de resfriamento adiabático evaporativo (SRAE) acionado em diferentes horários em instalação do tipo *free-stall* e a interação entre o meio ambiente e a ocorrência de mastite clínica e subclínica em vacas lactantes

3.2 Objetivos específicos

- ✓ Avaliar a eficiência do SRAE por intermédio da temperatura de bulbo seco (TBS), umidade do ar (UR), e índice de temperatura e umidade (ITU);
- ✓ Avaliar os efeitos do SRAE sobre os parâmetros fisiológicos, temperatura retal (TR), frequência respiratória (FR) e temperatura do pelame (TP);
- ✓ Avaliar os efeitos do SRAE sobre a produção e composição do leite (gordura %, proteína %, lactose % e contagem de células somáticas);
- ✓ Avaliar os efeitos do SRAE sobre os níveis hormonais de cortisol, triiodotironina (T₃) e tiroxina (T₄) e a ocorrência de mastite;
- ✓ Avaliar as respostas comportamentais de vacas em lactação submetidas ao SRAE acionado em diferentes horários em instalação do tipo *free-stall*;
- ✓ Avaliar os efeitos do SRAE acionado em diferentes horários sobre a ocorrência de mastite clínica e subclínica.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O presente ensaio foi conduzido no Centro de Análise e Pesquisa Tecnologia do Agronegócio Bovinos de Leite do Instituto de Zootecnia, localizado no município de Nova Odessa a altitude de 550 m, coordenadas 22^o 42' de latitude Sul e 47^o 18' de longitude oeste. O clima da região é do tipo CWA classificação Köppen (subtropical, com chuvas de verão e verão quente).

4.1 Animais

Foram utilizadas para as avaliações dos tratamentos 28 vacas multíparas sendo 24 da raça Holandesa Preta e Branca e quatro Pardo Suíça, com peso médio de 600 kg. Os animais foram selecionados de acordo com a produção de leite (média de 23 kg de leite/animal por dia) e 60 dias de lactação, de maneira que os tratamentos fossem homogêneos. As vacas permaneceram do dia da parição, até completar os 60 dias em piquete de grama estrela (*Cynodon dactylon*) com área de 500 m², providos de sombra natural, bebedouro e cocho com cobertura de telha de cimento amianto de 2,44 m de largura em toda a extensão.

A instalação do tipo *free-stall* tinha capacidade para alojar 30 animais e apresentava as seguintes características construtivas: 36 m de comprimento e 12 m de largura, laterais abertas, com corredor central de 2,5 m, pé direito de 3,80 m, e área de circulação de 2,9 m e telhado de duas águas com cobertura de telha de barro. A linha de alimentação compreendia toda extensão do galpão, possuía seis bebedouros de alvenaria de 0,30 x 0,60 m junto ao cocho de alimentação e eram abastecidos por uma caixa d'água de 0,60 x 1,90 m. O piso era de concreto, sendo que a limpeza era feita duas vezes ao dia, no momento da ordenha. A cama de descanso dos animais possuía 1,10 m de largura e 2,12 m de comprimento. O *free-stall* foi dividido com cortina plástica azul em três seções, onde foram alocados os sete animais de cada tratamento.

4.2 Tratamentos

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro tratamentos e sete repetições:

- Climatização das 7-19h (*Dia*);
- Climatização das 19-7h (*Noite*);
- Climatização durante 24h (*24 horas*);
- *Controle* (sem climatização)

Foram utilizados três ventiladores, com diâmetro de 0,9 m, espaçados a cada 12 m, equipado com motor de $\frac{1}{2}$ CV, vazão de 300m^3 , 495 RPM, com capacidade de produzir movimentação de ar de até 5m/s. O sistema de nebulização foi montado na direção da cama a uma altura de 2,5 m do dorso do animal e constituída por cano PVC, com espaçamento entre bicos de 2,3 m. As **Figuras 6 a e b** apresentam uma vista da instalação com a posição dos ventiladores e linha da nebulização.

Os animais do tratamento controle permaneceram no mesmo galpão em frente ao *free-stall*, tinham acesso ao bebedouro e à sombra natural.



Figura 6- Free-stall climatizado com nebulização (a) e ventilação (b), Nova Odessa (SP)

Os equipamentos foram acionados por um termostato localizado no *free-stall*, cada vez que a temperatura do bulbo seco fosse superior a 22°C. O ciclo de funcionamento do sistema de nebulização foi 1,0 minuto ligado por 4 minutos de

descanso (Figura 7).

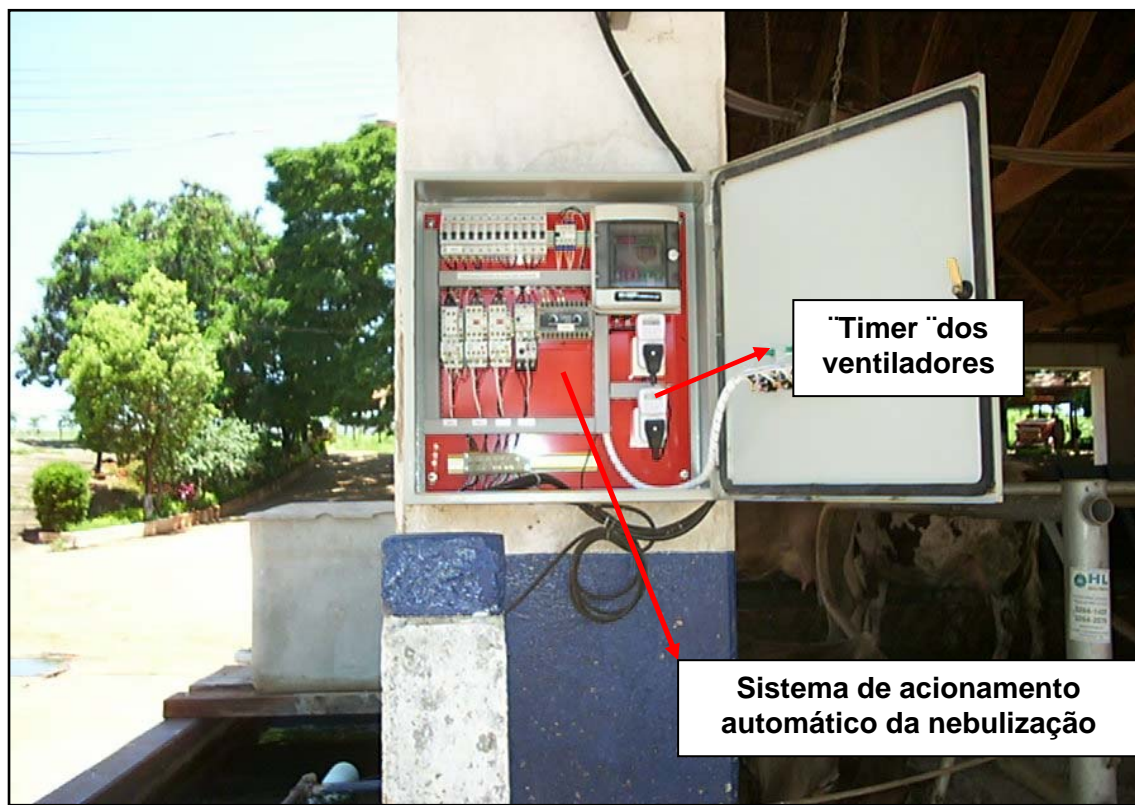


Figura 7- Controle automático do SRAE por nebulização instalado no *free-stall*, Nova Odessa (SP)

4.3 Alimentação

As vacas receberam como alimentação, milho verde picado, representando 50% da matéria seca total e os 50% restantes de polpa cítrica, um composto de grão de milho moído, farelo de soja e minerais (**Tabela 2**) os quais foram fornecidos na forma de dieta completa e de maneira a atender às exigências nutricionais para a manutenção e produção de leite de acordo com o NRC (1989).

Tabela 2 - Composição percentual do concentrado utilizado durante o período experimental, Nova Odessa (SP).

Ingredientes	(%)
Milho triturado	40
Farelo de Soja	55
Uréia	3
Mistura mineral ¹	2

Mistura mineral¹: cloreto de sódio (47,36%), fosfato bicálcico (50,0%), sulfato de zinco (1,50%), sulfato cúbrico (0,60%), sulfato ferroso anidro (0,50%), sulfato de cobalto (0,03%), iodeto de potássio (0,01%)

Tabela 3 - Quantidade de energia e proteína da dieta fornecida aos animais dos tratamentos *controle*, *dia*, *noite* e *24 horas* durante o período experimental.

	NDT (g/dia)	EL _{lac} (Mcal/dia)	EL _g (Mcal/dia)	PB (g/dia)	PND (g/dia)	PDR (g/dia)
<i>Controle</i>	12301	27,7	17,7	2909	939	1970
<i>Dia</i>	12603	28,3	18,1	2949	959	1990
<i>Noite</i>	13173	29,3	18,4	2876	952	1923
<i>24 horas</i>	12241	27,6	17,6	2901	935	1966

NDT = nutrientes digestíveis totais; EL_{lac} = energia líquida de lactação; EL_g = energia líquida de ganho, PB= proteína bruta; PND= proteína não degradada no rúmen; PDR= proteína degradada no rúmen

Os alimentos foram pesados diariamente e fornecidos duas vezes ao dia, sendo a primeira refeição às 7 horas e a outra refeição às 16 horas. As sobras foram pesadas diariamente, e, uma vez por semana foram colhidas as amostras das sobras e do oferecido para determinação da matéria seca, proteína bruta, fibra bruta, extrato etéreo, matéria mineral, conforme metodologia da A.O.A.C. (1990), fibra detergente ácido e fibra detergente neutro, Goering e Van Soest (1970) para avaliação da dieta.

4.4 Manejo

Os animais foram ordenhados diariamente, duas vezes ao dia (7 e às 19 h) em ordenhadeira mecânica. O controle leiteiro foi realizado diariamente, durante todo período experimental.

4.5 Coleta dos dados

4.5.1 Indicativos de conforto térmico

Ambiente Externo: Os dados meteorológicos, incluindo temperatura de bulbo seco (TBS), umidade relativa do ar (UR %) e temperatura do globo negro (TGN) foram registradas diariamente por uma mini-estação meteorológica às 7, 11, 12 e 21 h, sendo que o horário das 21 h coincidia com o último horário da coleta das medidas fisiológicas (TR, FR e TP) dos animais (Figura 8).



Figura 8- Estação meteorológica mantida em área próxima ao *free-stall* para registros externos.

- **Instalações:** Dentro do *free-stall*, em cada tratamento, foram tomadas medidas de temperatura e umidade relativa do ar, com um registrador digital automático, durante período de 24 h (Figura 9). O mesmo procedimento foi adotado para o registro da temperatura do globo negro. O Índice de temperatura e umidade (ITU) foi calculado, utilizando-se a equação descrita por (McDOWELL; JOHNSTON, 1971).

- $ITU = ts - 0,55 (1-UR) (ts-58)$, em que:
- ts = temperatura de bulbo seco em graus Fahrenheit, °F;
- UR = umidade relativa do ar expressa como um valor decimal



Figura 9- Registrador digital utilizado nas medidas de temperatura e umidade relativa do ar no interior do *free-stall*.

4.5.2 Respostas fisiológicas

4.5.2.1 Temperatura retal

A medida da temperatura retal (TR) foi obtida duas vezes por semana às 7, 13 e 21 h de três animais de cada tratamento, sorteados no início do experimento, sendo dois da raça Holandesa Preta e Branca e um da raça Pardo Suíça. A temperatura retal foi tomada com termômetro clínico digital, inserido no reto do animal.

4.5.2.2 Temperatura do pelame

A temperatura do pelame (TP) no dorso, da glândula mamária e da malha negra e branca foi mensurada duas vezes por semana às 7, 13 e 21 h de três animais em cada tratamento. A leitura foi realizada com termômetro de infravermelho empregando-se o valor de emissividade ($\varepsilon = 0,9$) para as medidas no pelame negro e ($\varepsilon = 0,5$) para o pelame branco, conforme descrito por Baêta e Souza (1985).

4.5.2.3 Frequência respiratória

A medida da frequência respiratória (FR) foi realizada duas vezes por semana às 7, 13 e 21 h de três animais de cada tratamento, mediante contagem dos movimentos do flanco, durante 15 segundos.

4.6 Respostas comportamentais

As avaliações dos padrões comportamentais como as atividades de ingestão de água ou alimentos, ruminação e ócio foram realizados por observação visual. Foram sorteados cinco animais de cada tratamento que foram observados semanalmente, por um período de 24 horas, em intervalos de 10 minutos. A partir destes dados determinou-se o tempo, em minutos, e em porcentagem em que os animais exerceram cada atividade. Os horários destinados à ordenha dos animais foram desconsiderados da análise.

4.7 Produção e composição do leite

Diariamente foram medidas as produções de leite de cada vaca, a cada ordenha e colhidas amostras semanais para a determinação dos componentes do leite (gordura, proteína, lactose, sólidos totais) e contagem de células somáticas. A análise da composição do leite foi efetuada em equipamento de absorção infravermelho (BENTHEY INSTRUMENTS, 1995).

4.8 Análise hormonal

Amostras semanais de sangue foram colhidas da veia coccídea de cada vaca para a determinação plasmática dos hormônios - cortisol, triiodotironina (T₃) e tiroxina (T₄). As concentrações de T₃, T₄ e cortisol foram determinadas no laboratório de Dosagens Hormonais da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo por radioimunoensaio (RIE) em fase sólida, utilizando-se o sistema comercial (kit) coat-a-count/DPC². Neste método, o hormônio contido no soro é retido em anticorpo aderido à parede do tubo (fase sólida). Sem necessidade de extração prévia os hormônios marcados com ¹²⁵I (iodo radioativo) são usados como competidores, e a radioatividade remanescente é medida em contador gama. As amostras foram feitas em duplicatas.

4.9 Identificação microbiológica dos agentes causais da mastite

No período de adaptação dos animais aos tratamentos (6 dias) e na última semana experimental foram realizados os exames de tamis (caneca telada) Radostitis (1994), o CMT ("Califórnia Mastitis Test") Schalm e Noorlander (1957) e colhidas amostras de leite assepticamente de todos os quartos mamários, diariamente. Após esse período os exames e as amostras foram colhidos semanalmente.

O teste de tamis foi realizado sobre uma caneca telada, no qual se desprezou os primeiros jatos de leite para verificar alterações, presença de grumos, soro, caracterizando um processo de mastite. A prova de CMT, utilizada para diagnosticar mastite subclínica, foi realizada sobre um suporte com quatro divisões onde se adicionou ao leite, um detergente aniônico, alquil-lauril-sulfonato de sódio, capaz de emulsionar os lipídios das membranas dos leucócitos presentes no leite liberando o DNA que determinará a formação de um composto gelificado correspondente à quantidade de células presentes, à intensidade da reação. Antes da colheita os tetos foram lavados com água e solução desinfetante, seco com papel toalha descartável e submetida à anti-sepsia com algodão embebido em

² Medlab

álcool iodado (1000 ml de álcool 70% : 20 ml iodo 2,5%). A seguir o leite foi colhido em frascos estéreis e as amostras congeladas.

As amostras foram cultivadas em ágar sangue de carneiro incubadas em aerobiose a 37°C por 72 horas com leituras às 24, 48 e 72 horas e ágar MacConkey, sendo incubadas a 37°C por 48 horas. As técnicas microbiológicas para a identificação das bactérias foram empregadas conforme descrito por Murray et al. (1999). As provas para identificação de *Staphylococcus sp* foram manitol, plasma coagulase, uréia, acidificação aeróbica de glicose, maltose, trealose, xilose, lactose, sacarose e rafinose. O *Corynebacterium sp* foi identificado pelas provas da catalase, uréia, acidificação aeróbica de glicose, maltose, lactose e sacarose (COSTA et al., 1985). Para identificação de *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae* e *Streptococcus dysgalactiae* foram utilizadas as provas da catalase, esculina, CAMP test.

4.10 Análise estatística

Para a análise das variáveis ambientais (TBS, UR, ITU, TGN) adotou-se um delineamento experimental em blocos casualizados, com os dias sendo usados como repetições. O modelo de análise incluiu como causas de variação os tratamentos (*controle, dia, noite e 24 horas*), os horários (7, 12, 14, 17 e 21 h) e a interação entre os tratamentos e os horários.

Para as variáveis fisiológicas (TR, FR e TP) adotou-se um delineamento experimental inteiramente casualizado com os animais sendo usados como repetições. O modelo incluiu como causas de variação, os tratamentos (*controle, dia, noite e 24 horas*), os horários (7, 13 e 21 h).

Para a análise dos níveis hormonais adotou-se um delineamento experimental inteiramente casualizado com os animais sendo usados como repetição. O modelo inclui como causas de variação: os tratamentos (*controle, dia, noite e 24 horas*), e as semanas.

O delineamento experimental adotado para a avaliação do comportamento foi o inteiramente casualizado, utilizando os animais como repetições. Para analisar o efeito dos tratamentos nas variáveis comportamentais foram calculados os valores médios das respostas nos dias avaliados. Empregou-se o SAS/LAB para verificar as pressuposições da análise de variância (ANOVA)

para cada comportamento. Uma vez que as pressuposições da ANOVA foram satisfeitas, para todas as atividades analisadas a comparação de médias foi feita pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

Para a produção de leite (PL) e teores de gordura, proteína, lactose e sólidos totais adotaram-se um delineamento experimental inteiramente casualizado, sendo as comparações das médias analisadas pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%. Foi adotada a ordem de lactação como covariável para ajuste da produção de leite.

As análises foram realizadas com o procedimento para modelos mistos (proc mixed) do SAS (1998), admitindo-se um modelo com medidas repetidas no tempo.

Os quartos mamários apresentando ou não infecção mamária foram analisados utilizando-se o SOFTWARE INSTAT GRAPHPAD.

5 RESULTADOS

5.1 Variáveis meteorológicas

5.1.1 Temperatura de bulbo seco (TBS)

Na Tabela 4 estão apresentados os valores médios e erros padrões da média verificados para a temperatura de bulbo seco (°C), nos diferentes horários avaliados.

Tabela 4 - Temperatura (°C) de bulbo seco registrada em diferentes horários no *free-stall* climatizado, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP).

Tratamentos	Horários				
	7 h	12 h	14 h	17 h	21 h
<i>Controle</i>	21,7 ± 0,25*a	29,4 ± 0,24b	31,4 ± 0,24b	29,6 ± 0,28a	24,5 ± 0,19b
<i>Dia</i>	21,5 ± 0,25a	24,1 ± 0,24a	27,9 ± 0,24a	30,9 ± 0,28b	24,3 ± 0,19b
<i>Noite</i>	21,3 ± 0,25a	29,3 ± 0,24b	31,0 ± 0,24b	30,3 ± 0,28ab	24,6 ± 0,19b
<i>24 horas</i>	21,5 ± 0,25a	29,1 ± 0,24b	30,8 ± 0,24b	30,1 ± 0,28a	24,9 ± 0,19b

a,b Médias seguidas por letras minúsculas distintas nas colunas diferem pelo *Teste t de Student* (P < 0,05)
* erro padrão da média

Em relação à temperatura de bulbo seco, verificou-se que houve uma diferença significativa entre os tratamentos e na interação tratamento e hora (P < 0,05), sendo assim os tratamentos apresentaram comportamentos diferentes sobre a temperatura de bulbo seco em função dos horários avaliados.

Às 7 h os valores médios de (TBS) nos tratamentos *controle*, *dia*, *noite* e *24 horas* foram 21,7, 21,5, 21,3 e 21,5°C, respectivamente, não diferindo entre si. Às 12 h, somente o tratamento *dia* apresentou a temperatura de bulbo seco dentro da faixa de termoneutralidade (24,1°C) nos demais tratamentos as temperaturas ficaram acima dos 29°C (Figura 10). Houve um efeito significativo de TBS (P < 0,05) no tratamento *dia* quando comparado às temperaturas do tratamento *controle* (29,4°C), *noite* (29,3°C) e *24 horas* (29,1°C), mas não foi observada diferença entre as temperaturas dos tratamentos *controle*, *noite* e *24 horas*.

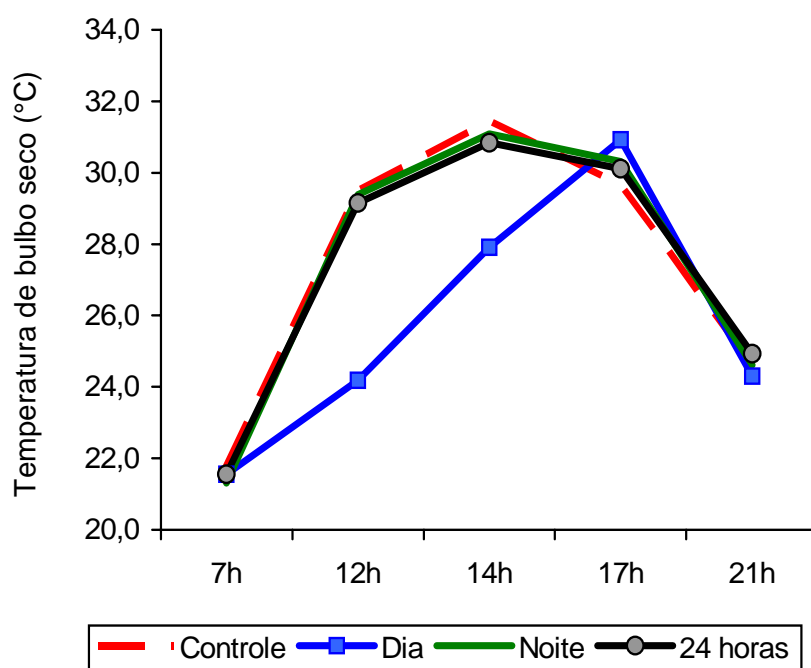


Figura 10 - Médias das temperaturas de bulbo seco registradas nos diferentes horários, nos tratamentos *controle*, *dia*, *noite* e *24 horas*, entre janeiro e março de 2003 - Nova Odessa (SP).

No horário das 14 h, os valores de TBS foram 31,4, 27,9, 31,0 e 30,8°C para o tratamento *dia*, *controle*, *noite* e *24 horas* respectivamente. A TBS do tratamento *dia* foi significativamente menor ($P < 0,05$) quando comparado aos tratamentos *controle*, *noite* e *24 horas*. Às 17 h a TBS do tratamento *dia* (30,9°C) foi maior que as do tratamento *controle* (29,6°C), *noite* (30,3°C), mas não diferiu do tratamento *24 horas* (30,1°C). Às 21 h não houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre os tratamentos *dia* (24,3°C) em comparação com a TBS dos tratamentos *controle* (24,5°C), *noite* (24,6°C) e *24 horas* (24,9°C). O equipamento de climatização do tratamento *dia* permitiu uma diminuição da temperatura nos horários mais quentes do dia às 12 e 14 horas de 5,3°C e 3,5°C, quando comparado ao *controle*, mas o equipamento de climatização não conseguiu manter essa diferença de temperatura, uma vez que às 17 h a TBS atingiu 30,9°C.

5.1.2 Umidade relativa do ar (UR)

Na Tabela 5 são apresentados os valores médios da umidade relativa do ar (UR) em diferentes horários para cada tratamento (*controle*, *dia*, *noite* e *24 horas*).

Tabela 5 - Umidade relativa do ar (%) registrada em diferentes horários no *free-stall* climatizado, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP)

Tratamentos	Horários				
	7 h	12 h	14 h	17 h	21 h
<i>Controle</i>	86,5±1,94*a	47,5 ± 0,81a	43,1 ± 0,86a	47,5 ± 1,67a	70,0 ± 1,69a
<i>Dia</i>	90,6±1,94a	70,0 ± 0,81b	64,8 ± 0,86b	52,0 ± 1,65b	90,0 ± 1,69b
<i>Noite</i>	96,5±1,94b	64,6 ± 0,81c	56,1 ± 0,86c	58,0 ± 1,65c	83,5 ± 1,69c
<i>24 horas</i>	88,5±1,94a	59,3 ± 0,81d	51,2 ± 0,86d	53,7 ± 1,65b	75,0 ± 1,69d

a,b,c,d Médias seguidas por letras minúsculas distintas nas colunas diferem pelo *Teste t de Student* (P<0,05)

* erro padrão da média

Foram verificadas diferenças (P<0,05) entre os tratamentos e horário para a UR. A interação tratamento e horário de avaliação foi significativa (P>0,05) para todos os intervalos de avaliação.

Às 7 h foram registradas as médias mais altas de UR em todos os tratamentos, sendo a UR do tratamento *noite* (96,5%) significativamente maior (P<0,05) que a do tratamento *controle* (86,5%) e *24 horas* (88,5%). Foram verificadas diferenças (P<0,05) entre os tratamentos nos horários das 12, 14, 17 e 21 h. Com exceção das 17 h, os maiores valores de UR foram registrados sempre para o tratamento *dia*. Os menores valores de UR foram registrados às 14 h sendo observadas diferenças significativas (P<0,01) entre os tratamentos *dia* (64,6%), *24 horas* (51,2%), *noite* (56,1%) e *controle* (43,1%). Às 21 h registrou-se aumento da UR, os índices alcançaram de 75% para o tratamento *24 horas* e 83,5% para o tratamento *noite* e 90% para o tratamento *dia*.

Os valores médios da UR obtidos em registrador digital nos tratamentos *controle*, *dia*, *noite* e *24 horas* em diferentes horários encontram-se representados na Figura 11.

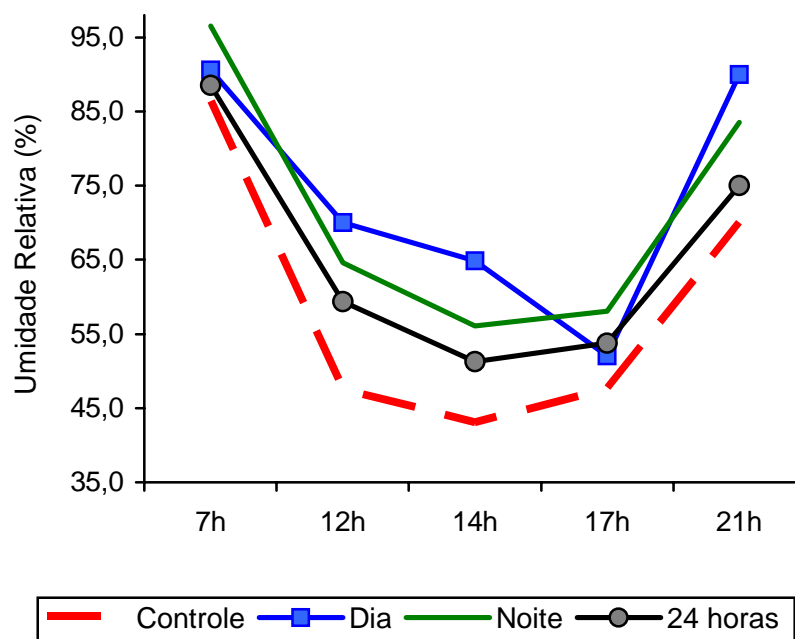


Figura 11- Valores médios da umidade relativa do ar registrados, para cada tratamento, em diferentes horários, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP).

5.1.3 Temperatura de globo negro (TGN)

Na Tabela 6 estão os valores médios verificados para a temperatura de globo negro (°C) nos diferentes horários. Foram encontradas diferenças ($P < 0,05$) entre os tratamentos, hora e a interação entre tratamento e hora foi significativa para os intervalos das 7, 12 e 21 h.

Tabela 6- Temperatura de globo negro (°C), registrada em diferentes horários no *free-stall* climatizado, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP)

Tratamentos	Horários				
	7 h	12 h	14 h	17 h	21 h
<i>Controle</i>	22,4 ± 0,29*a	30,4 ± 0,33c	33,6 ± 1,01a	29,4 ± 0,37a	24,7 ± 0,08bc
<i>Dia</i>	22,6 ± 0,29a	30,2 ± 0,33bc	31,0 ± 1,01a	29,3 ± 0,37a	25,0 ± 0,08c
<i>Noite</i>	23,5 ± 0,29b	31,2 ± 0,33a	32,0 ± 1,01a	30,0 ± 0,37a	24,6 ± 0,08b
<i>24 horas</i>	22,1 ± 0,29a	30,1 ± 0,33bc	31,0 ± 1,01a	29,0 ± 0,37a	24,0 ± 0,08a

a,b,c - Médias seguidas por letras minúsculas distintas nas colunas diferem pelo *Teste t de Student* ($P < 0,05$)
* erro padrão da média

Às 7 h os valores médios de (TGN) nos tratamentos *controle*, *dia*, *noite* e *24 horas* foram respectivamente 22,4, 22,6, 23,5, e 22,1°C, sendo que o tratamento *noite* apresentou a maior temperatura ($P<0,05$). Temperaturas superiores a 30°C foram observadas às 12 em todos os tratamentos, sendo que o tratamento *controle*, *dia* e *24 horas* apresentaram às menores ($P<0,05$) temperatura de globo negro (30,4, 30,2 e 30,1°C). Às 14 h os valores médios de TGN foram 33,6, 31,0, 32,0, 31,0°C, respectivamente para os tratamentos *controle*, *dia*, *noite* e *24 horas*, mas não foi observado diferença significativa entre os tratamentos (Figura 12). Não houve diferença entre os tratamentos para a temperatura de globo negro no horário das 17 h, os valores registrados foram 29,4, 29,3, 30,0 e 29,0°C para os tratamentos *controle*, *dia*, *noite* e *24 horas* respectivamente. Às 21 h foi observada diferença significativa ($P<0,05$) entre os tratamentos, sendo que o tratamento *24 horas* apresentou a menor TGN (24,0°C) quando comparado aos demais. O tratamento *noite* apresentou a menor TGN ($P<0,05$) em relação ao tratamento *dia*.

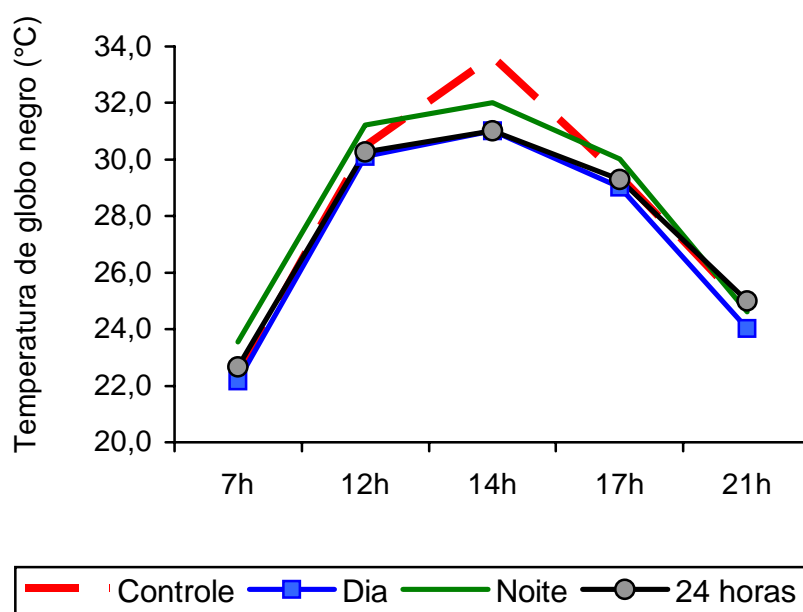


Figura 12- Temperaturas médias de globo negro registradas em diferentes horários para cada tratamento, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP)

5.1.4 Índice de temperatura e umidade (ITU)

Na Tabela 7 são apresentados os valores médios do índice de temperatura e umidade (ITU) nos diferentes horários. Foram constatadas diferenças ($P < 0,05$) entre os tratamentos e horário para o ITU. Com exceção das 7h, a interação tratamento e horário foi significativa ($P < 0,05$) para os demais intervalos.

Tabela 7- Índice de temperatura e umidade para cada tratamento, registrados em diferentes horários, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP).

Tratamentos	Horários				
	7 h	12 h	14 h	17 h	21 h
<i>Controle</i>	70,1 ± 0,26*a	76,9 ± 0,26a	78,6 ± 0,26a	76,8 ± 0,26a	73,0 ± 0,26a
<i>Dia</i>	69,9 ± 0,26a	72,2 ± 0,26b	79,2 ± 0,26b	78,4 ± 0,26b	74,1 ± 0,26b
<i>Noite</i>	70,1 ± 0,26a	79,3 ± 0,26c	80,5 ± 0,26c	79,4 ± 0,26c	74,4 ± 0,26b
<i>24 horas</i>	70,0 ± 0,26a	77,5 ± 0,26d	77,3 ± 0,26d	79,4 ± 0,26c	77,7 ± 0,26d

a,b,c,d Médias seguidas por letras minúsculas distintas nas colunas diferem pelo *Teste t de Student* ($P < 0,05$)
* erro padrão da média

Às 7 h os valores médios de ITU não diferiram ($P < 0,05$) entre os tratamentos, sendo verificados para o *controle*, *dia*, *noite* e *24 horas* respectivamente 70,1, 69,9, 70,1 e 70 unidades.

No horário das 12 h o tratamento *noite* apresentou o maior valor de ITU (79,3) e diferiu ($P < 0,05$) dos tratamentos *dia* (72,2), *24 horas* (77,5) e *controle* (76,9). Às 14 h observou-se esse mesmo comportamento, sendo o maior valor de ITU (80,5) verificado para o tratamento *noite*, diferindo ($P < 0,05$) dos tratamentos *controle* (78,6), *dia* (79,2) e *24 horas* (77,3).

Às 17 h os tratamentos *noite* (79,4) e *24 horas* (79,4) apresentaram valores de ITU significativamente maiores ($P < 0,05$) que os tratamentos *dia* (78,4) e *controle* (76,8). Às 21 h o valor de ITU para o tratamento *controle* (73,0) foi significativamente ($P < 0,05$) menor que os tratamentos *dia* (74,1), *noite* (74,4) e *24 horas* (77,7), não foi observada diferença ($P < 0,05$) entre os tratamentos *dia* e *noite* (Figura 13).

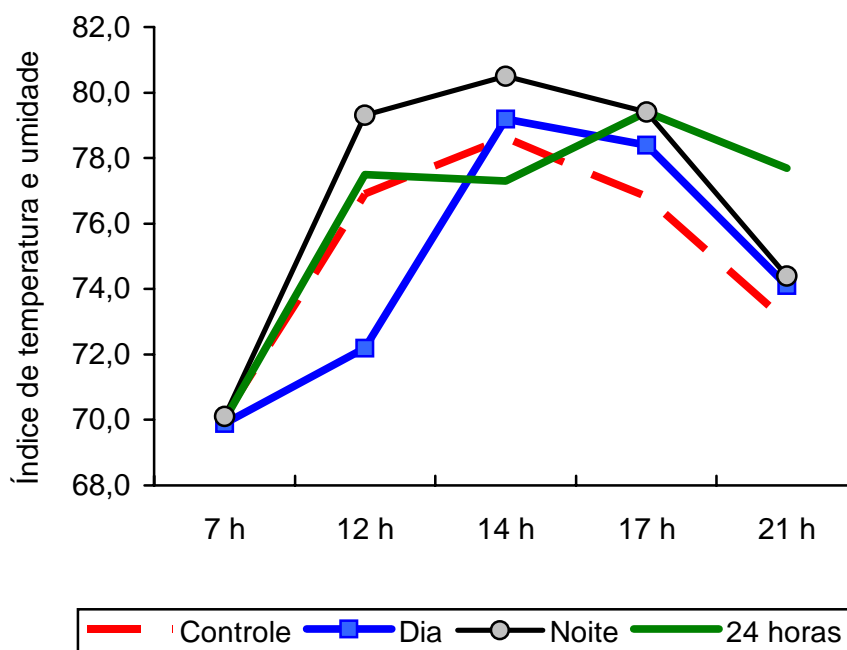


Figura 13- Temperaturas médias do índice de temperatura e umidade registrado em diferentes horários para cada tratamento, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP)

5.2 Variáveis fisiológicas

5.2.1 Temperatura retal (TR) e frequência respiratória (FR)

Os valores médios verificados para a TR durante o período experimental são apresentados na Figura 14. Foram constatadas diferenças ($P < 0,05$) entre os tratamentos e horários para a TR. Entretanto, a interação tratamento e horário de avaliação não foi significativa ($P < 0,01$), sendo assim, os tratamentos tiveram os mesmos comportamentos sobre a TR nos horários avaliados.

A temperatura retal do tratamento *controle* ($39,1^{\circ}\text{C}$) e do tratamento *dia* ($38,9^{\circ}\text{C}$) foi significativamente maior que do tratamento *noite* ($38,5^{\circ}\text{C}$) e *24 horas* ($38,5^{\circ}\text{C}$).

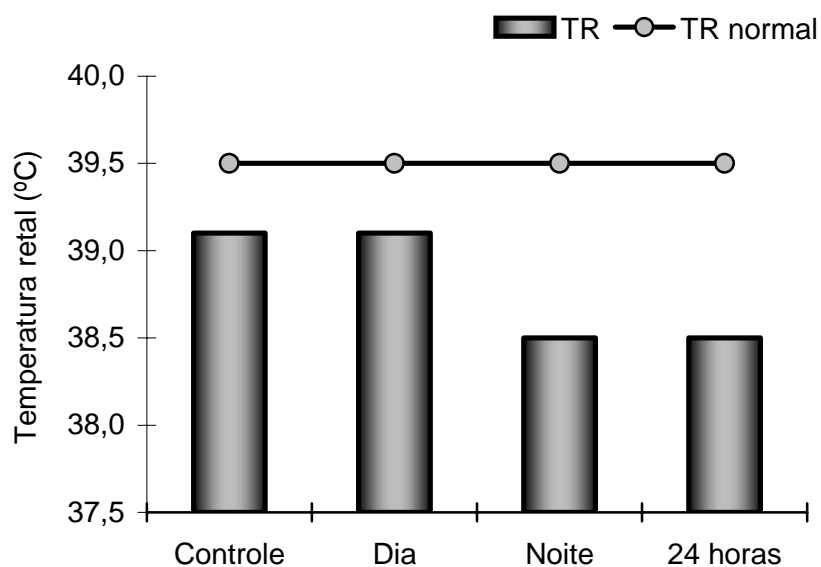


Figura 14- Valores médios da temperatura retal de vacas em lactação, em cada tratamento, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP).

Os resultados observados entre os horários de avaliação mostraram efeito quadrático ($P < 0,05$) para todos os tratamentos. O maior valor estimado para a TR ($39,1^{\circ}\text{C}$) foi verificado às 2,6 h (Figura 15).

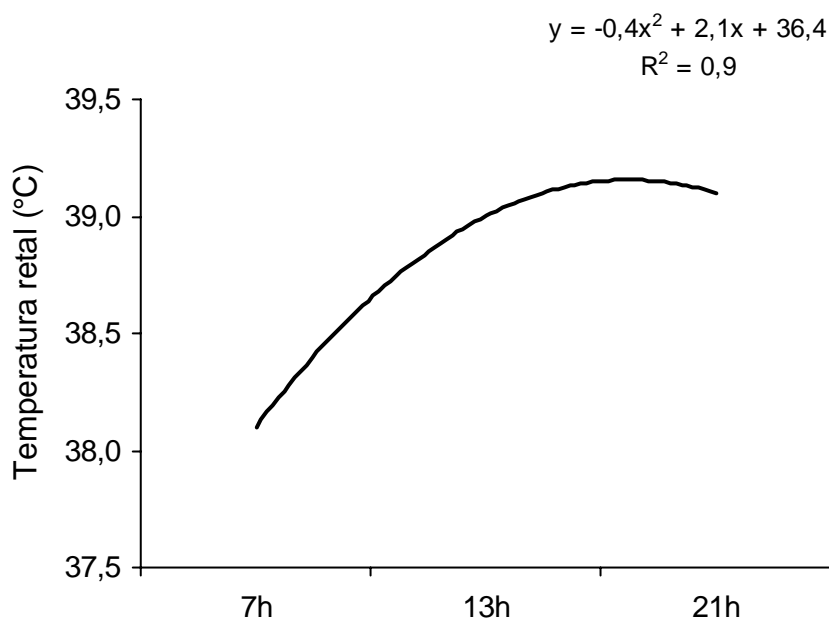


Figura 15 – Equação de regressão ajustada para temperatura retal em função dos horários de avaliação nos tratamentos adotados.

Os valores médios verificados para a frequência respiratória (FR) durante o período experimental são apresentados na Figura 16. Não foi observada diferença significativa entre os tratamentos ($P < 0,05$) para a FR. Os valores médios encontrados foram 64, 64, 52 e 50 mov/min, respectivamente, para os tratamentos *controle*, *dia*, *noite* e *24 horas*.

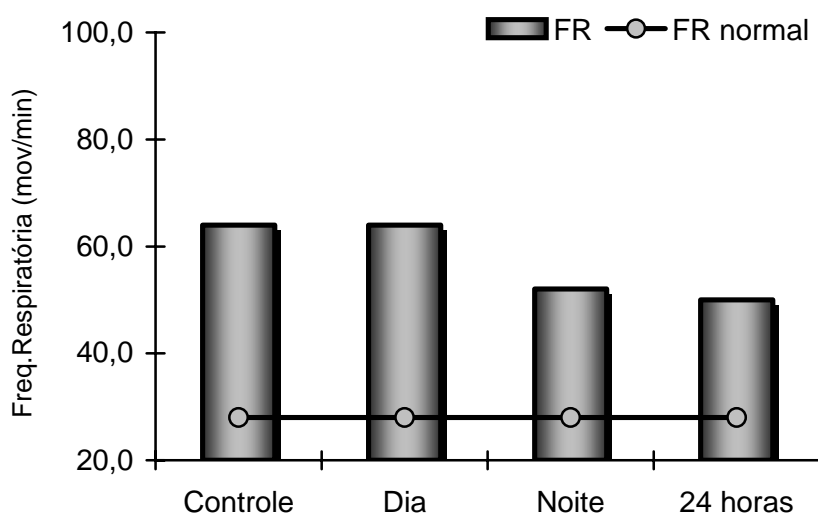


Figura 16 - Valores médios da frequência respiratória, em diferentes horários, de vacas em lactação, em cada tratamento, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP).

Foram constatadas diferenças ($P < 0,05$) entre os horários para a FR, entretanto, a interação tratamento e horário de avaliação não foi significativa ($P < 0,01$), sendo assim, os tratamentos tiveram os mesmos comportamentos sobre a FR nos horários avaliados. Os resultados observados entre os horários de avaliação mostraram efeito quadrático ($P < 0,05$) para todos os tratamentos. O maior valor estimado para a FR (61 mov/min) foi verificado às 2,6 h (Figura 17).

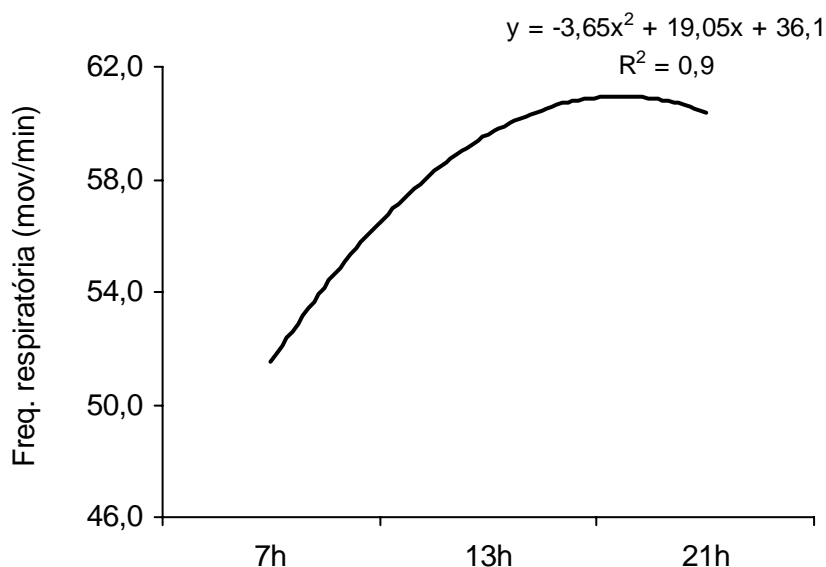


Figura 17 - Equação de regressão ajustada para FR em função dos horários de avaliação nos tratamentos adotados

5.2.2 Temperatura do pelame

Os valores médios da temperatura do pelame tomada da região do dorso durante o período experimental encontram-se na Tabela 8.

Tabela 8- Temperatura do pelame (°C) tomada da região do dorso, em diferentes horários de vacas em lactação, mantidas em *free-stall* climatizado, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP)

Tratamentos	Horários		
	7 h	13 h	21 h
<i>Controle</i>	31,2 ± 0,30*a	35,3 ± 0,38a	32,6 ± 0,56a
<i>Dia</i>	32,2 ± 0,30b	34,5 ± 0,38abc	34,0 ± 0,56a
<i>Noite</i>	32,6 ± 0,30b	35,0 ± 0,38ab	32,6 ± 0,56a
<i>24 horas</i>	30,2 ± 0,30c	33,6 ± 0,38c	32,4 ± 0,56a

a,b,c Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna diferem ($P < 0,05$) pelo *Teste t Student*
*erro padrão da média

Verificou-se presença de interação entre o tratamento e horário. O desdobramento mostrou-se significativo para os horários das 7 e 13 h. Na Figura 18 está representada as médias das temperaturas do pelame da região do dorso nos diferentes tratamentos, em cada horário avaliado.

A temperatura do pelame tomada às 7 h foi significativamente maior ($P < 0,05$) para o tratamento *noite* ($32,6^{\circ}\text{C}$) e *dia* ($32,2^{\circ}\text{C}$) do que para os tratamentos *controle* ($31,2^{\circ}\text{C}$) e *24 horas* ($30,2^{\circ}\text{C}$). Às 13 h a temperatura na região do dorso no tratamento *24 horas* foi menor ($P < 0,05$) que o do tratamento *controle* e *noite*, entretanto não diferiu do tratamento *dia*. Às 21 h os tratamentos não diferiram ($P > 0,05$) entre si, sendo os valores $32,6$, $34,0$, $32,6$ $32,4^{\circ}\text{C}$, respectivamente, para o *controle*, *dia*, *noite* e *24 horas*.

A temperatura do pelame da região do dorso dos animais submetidos ao tratamento *dia* e *24 horas* apresentou uma diminuição de $0,8^{\circ}\text{C}$ e $1,7^{\circ}\text{C}$ respectivamente, quando comparados ao *controle* às 13 h.

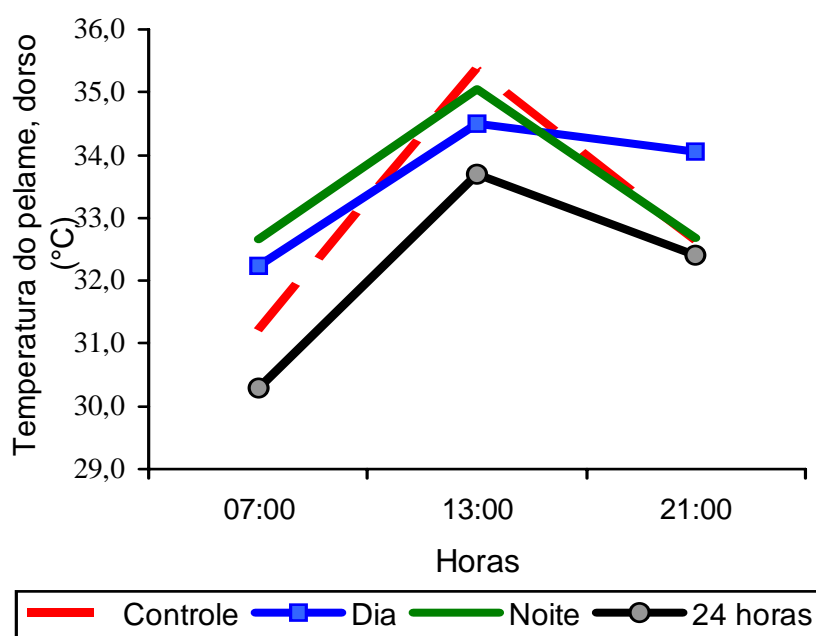


Figura 18- Valores médios da temperatura do pelame tomada da região do dorso, em diferentes horários, de vacas em lactação, em cada tratamento, entre janeiro e março de 2003.

Os valores médios da temperatura do pelame tomada da região da glândula mamária durante o período experimental encontram-se na Tabela 9.

Os resultados dos registros de temperatura do pelame tomada da região da glândula mamária indicaram presença de interação tratamento e horário (Tabela 9). Entretanto, o desdobramento da interação mostrou-se significativa ($P < 0,05$) apenas para o horário das 21 h, sendo que o tratamento *dia* apresentou a maior

temperatura. Os valores foram 35,2, 36,4, 35,0 e 35,0°C respectivamente, para o controle, dia, noite e 24 horas.

Tabela 9- Temperatura do pelame (°C) tomada da região da glândula mamária, em diferentes horários, de vacas em lactação, mantidas em *free-stall* climatizado, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP)

Tratamentos	Horários		
	7 h	13 h	21 h
<i>Controle</i>	34,0 ± 0,41*a	36,5 ± 0,84a	35,2 ± 0,50a
<i>Dia</i>	34,9 ± 0,41a	36,7 ± 0,84a	36,4 ± 0,50b
<i>Noite</i>	34,7 ± 0,41a	36,1 ± 0,84a	35,0 ± 0,50a
<i>24 horas</i>	34,1 ± 0,41a	35,2 ± 0,84a	35,0 ± 0,50a

a,b,c Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna diferem ($P < 0,05$) pelo *Teste t Student*
* erro padrão da média

Os valores médios da temperatura do pelame tomada da malha negra e da malha branca durante o período experimental encontram-se na Tabela 10. Os resultados dos registros de temperatura do pelame tomada da malha negra e malha branca indicaram presença de interação ($P < 0,05$) tratamento e horário.

Tabela 10- Temperatura do pelame (°C) tomada da região de malha branca e negra, em diferentes horários, de vacas em lactação, mantidas em *free-stall* climatizado, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP)

	Malha Negra			Malha Branca		
	7 h	13 h	21 h	7 h	13 h	21 h
<i>Controle</i>	31,1 ± 0,44ab	35,7 ± 0,44a	32,5 ± 0,44b	29,3 ± 0,54a	34,0 ± 0,38a	30,9 ± 0,38a
<i>Dia</i>	32,0 ± 0,44b	34,5 ± 0,44b	34,3 ± 0,44a	31,9 ± 0,54b	34,0 ± 0,38a	33,4 ± 0,38b
<i>Noite</i>	33,0 ± 0,44c	34,9 ± 0,44ab	33,2 ± 0,44b	30,2 ± 0,54a	33,3 ± 0,38a	31,0 ± 0,38a
<i>24 horas</i>	30,8 ± 0,44a	34,6 ± 0,44b	32,5 ± 0,44b	29,5 ± 0,54a	33,3 ± 0,38a	30,7 ± 0,38a

a,b,c Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna diferem ($P < 0,05$) pelo *Teste t Student*
* erro padrão da média

Às 7 h a temperatura do pelame da malha negra apresentou diferença significativa ($P < 0,05$), sendo que a maior temperatura foi registrada no tratamento *noite* (33,0°C). Às 13 h foi verificada diferença significativa ($P < 0,05$) na temperatura da malha negra para o tratamento *controle* (35,7°C) e *noite* (34,9°C). Às 21 h o

tratamento *dia* apresentou a maior temperatura 34,3°C quando comparado ao *controle* (32,5°C), *noite* (33,2°C) e *24 horas* (32,5°C).

A temperatura da malha branca às 7 h foi significativamente maior para o tratamento *dia* (31,9°C) quando comparada com o tratamento *controle* (29,3°C), *noite* (30,2°C) e *24 horas* (29,5°C). Não foi verificada diferença significativa ($P < 0,05$) entre os tratamentos às 13 h. Às 21 h a temperatura do pelame da malha branca foi maior para o tratamento *dia* (33,4°C) quando comparada com os tratamentos *controle* (30,9°C), *noite* (31,0°C) e *24 horas* (30,7°C) (Tabela 10).

5.3 Consumo de matéria seca (CMS)

Os resultados médios do consumo diário estimado de matéria seca (CMS) e consumo de matéria seca por quilograma de peso vivo (CMS/kgPV) encontram-se na Tabela 11. Os animais mantidos no tratamento *noite* apresentaram maior consumo de matéria seca ($P < 0,05$) em relação aos demais tratamentos. Não houve diferença significativa entre os tratamentos *controle*, *dia* e *24 horas*.

Tabela 11- Consumo estimado de matéria seca (CMS) e consumo de matéria seca por kg de peso vivo (CMS/kgPV) de vacas em lactação submetidas aos tratamentos em *free-stall* climatizado, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP).

Tratamentos	CMS (kg/dia)	CMS/ kg PV
<i>Controle</i>	18,3 ± 1,38*a	3,4 ± 0,051bc
<i>Dia</i>	18,8 ± 1,38ab	3,6 ± 0,051ab
<i>Noite</i>	20,0 ± 1,38 c	3,7 ± 0,051a
<i>24 horas</i>	18,2 ± 1,38 ab	3,3 ± 0,051c

a,b Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna diferem ($P < 0,05$) pelo *Teste de Tukey*

* erro padrão da média

Quando a variável analisada foi consumo de matéria seca por quilograma de peso vivo (CMS/kgPV) verificou-se que o tratamento *noite* (3,7%) apresentou maiores valores quando comparados com *24 horas* (3,3%) e *controle* (3,4%), entretanto, não foi observada diferença entre os tratamentos *noite* (3,7%) e *dia* (3,6%).

5.4 Produção e composição do leite

Os valores médios da produção e composição do leite das vacas em lactação submetidas aos diferentes tratamentos estão sumarizados na Tabela 12.

Quando avaliados os resultados médios da produção de leite da manhã, noite e a produção total não foram observadas diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os tratamentos. Não foram observadas diferenças significativas ($P < 0,05$) da composição de leite (proteína, gordura, lactose e sólidos totais) entre os tratamentos.

Tabela 12- Valores médios da produção e composição do leite em porcentagem (gordura, lactose, proteína e sólidos totais), das vacas em lactação submetidas aos tratamentos, Nova Odessa (SP).

	Tratamentos			
	Controle	Dia	Noite	24 horas
Produção de leite (Dia), kg	9,4 ± 1,46*a	10,1 ± 1,48a	9,9 ± 1,62a	9,3 ± 1,53a
Produção de leite (Noite), kg	9,3 ± 1,65a	10,1 ± 1,48a	10,1 ± 1,55a	9,5 ± 1,68a
Produção de Leite (Total), kg	18,7 ± 3,10a	20,3 ± 2,93a	20,0 ± 3,16a	18,8 ± 3,27a
Gordura (%)	3,9 ± 0,13a	3,7 ± 0,13a	3,8 ± 0,13a	3,7 ± 0,13a
Proteína (%)	3,0 ± 0,09a	3,1 ± 0,09a	3,3 ± 0,09a	3,1 ± 0,09a
Lactose (%)	4,3 ± 0,09a	4,6 ± 0,09a	4,6 ± 0,09a	4,6 ± 0,09a
Sólidos Totais (%)	12,2 ± 0,27a	12,5 ± 0,27a	12,8 ± 0,27a	12,5 ± 0,27a

a,b, Médias seguidas de letras distintas na mesma linha diferem ($P < 0,01$) pelo Teste t de Student

* erro padrão da média

5.5 Concentrações hormonais

As concentrações médias plasmáticas dos hormônios, cortisol, T_3 e T_4 encontram-se na Tabela 13.

Tabela 13- Teores dos hormônios cortisol, T_3 e T_4 no soro plasmático de 28 vacas em lactação, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP).

Níveis hormonais	Tratamentos			
	Controle	Dia	Noite	24 horas
Cortisol ($\mu\text{g/dL}$)	1,1 ± 0,13*a	0,8 ± 0,13ac	0,6 ± 0,13b	0,7 ± 0,13bc
Tiroxina (T_4), $\mu\text{g/mL}$	2,7 ± 0,14a	3,1 ± 0,14a	2,8 ± 0,14a	2,9 ± 0,14a
Triiodotironina (T_3), ng/dL	50,2 ± 5,01a	57,6 ± 5,01a	59,4 ± 5,0a	54,4 ± 5,01a

a,b Médias seguidas de letras distintas na mesma linha diferem ($P < 0,01$) pelo Teste t Student

* erro padrão da média

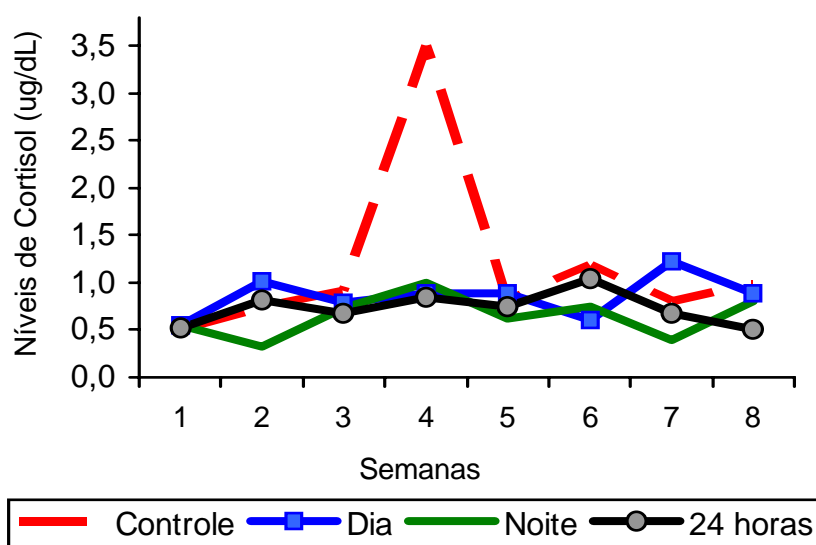


Figura 19- Valores médios do cortisol plasmático ($\mu\text{g/dL}$) de 28 vacas em lactação, mantidas em *free-stal* climatizado, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP).

Não foram constatadas diferenças significativas entre os diferentes tratamentos para T_4 . Foi encontrada diferença significativa ($P < 0,01$) entre as médias das semanas e interação tratamento e semana.

Quando comparados os tratamentos em cada uma das semanas, observou-se diferença significativa somente nas duas primeiras semanas, sendo que as concentrações médias de T_4 na primeira semana no tratamento *24 horas* ($3,4 \mu\text{g/mL}$) foi significativamente maior que para os tratamentos *controle* ($1,6 \mu\text{g/mL}$), *dia* ($1,5 \mu\text{g/mL}$) e *noite* ($1,3 \mu\text{g/mL}$).

Na segunda semana foi observada diferença significativa ($P < 0,05$) entre os tratamentos *controle* ($3,1 \mu\text{g/mL}$) e *manhã* ($4,0 \mu\text{g/mL}$) e entre os tratamentos *manhã* ($4,0 \mu\text{g/mL}$) e *noite* ($2,8 \mu\text{g/mL}$) (Figura 20).

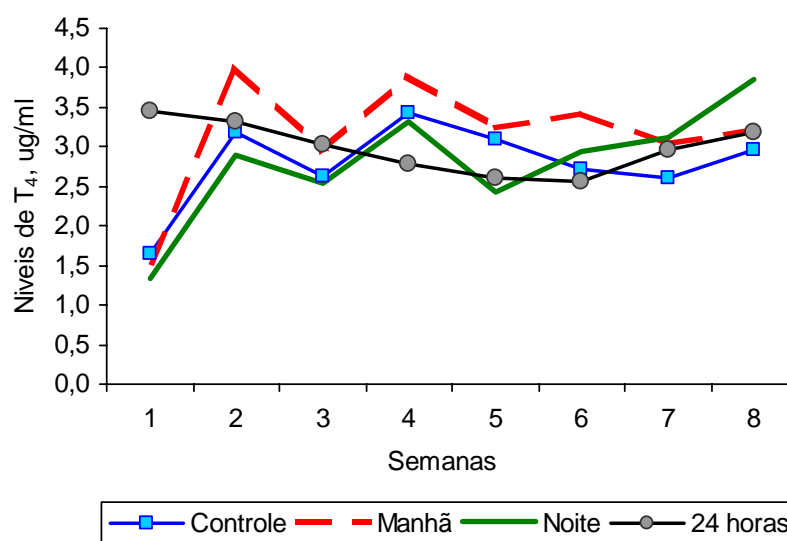


Figura 20- Valores médios do T₄ plasmático (µg/mL) de 28 vacas em lactação, mantidas em *free-stall* climatizado, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa(SP)

Foram encontradas diferenças significativas para os teores hormonais de T₃ para os diferentes tratamentos e semanas ($P < 0,01$) e interação significativa ($P < 0,01$) entre tratamento e semana. A diferença entre as médias dos tratamentos ocorreu, somente nas semanas 3,4,5 e 7, conforme ilustra a Figura 21.

Na terceira semana foram observadas diferenças significativas ($P < 0,05$) entre as concentrações de T₃ para os tratamentos *controle* (34,8 ng/dL) e *dia* (38,1 ng/dL), quando comparados aos tratamentos *noite* (68,9 ng/dL) e *24 horas* (69,1 ng/dL), mas não foi observada diferença entre os tratamentos *controle* e *dia* e nem entre os tratamentos *noite* e *24 horas*.

Na quarta semana foram observadas diferenças significativas ($P < 0,05$) entre as concentrações de T₃ nos tratamentos *controle* (51,9 ng/dL) e *manhã* (72,1 ng/dL), mas não foram observadas diferenças entre os tratamentos *controle*, *noite* (61,8 ng/dL) e *24 horas* (60,5 ng/dL).

Na quinta semana foram verificadas diferenças entre os teores hormonais de T₃ para os tratamentos *24 horas* (60,5 ng/dL), *dia* (52,6 ng/dL), *noite* (61,8 ng/dL), mas não foi observada diferença entre os tratamentos *controle* (59,9 ng/dL) e *noite* (61,8 ng/dL).

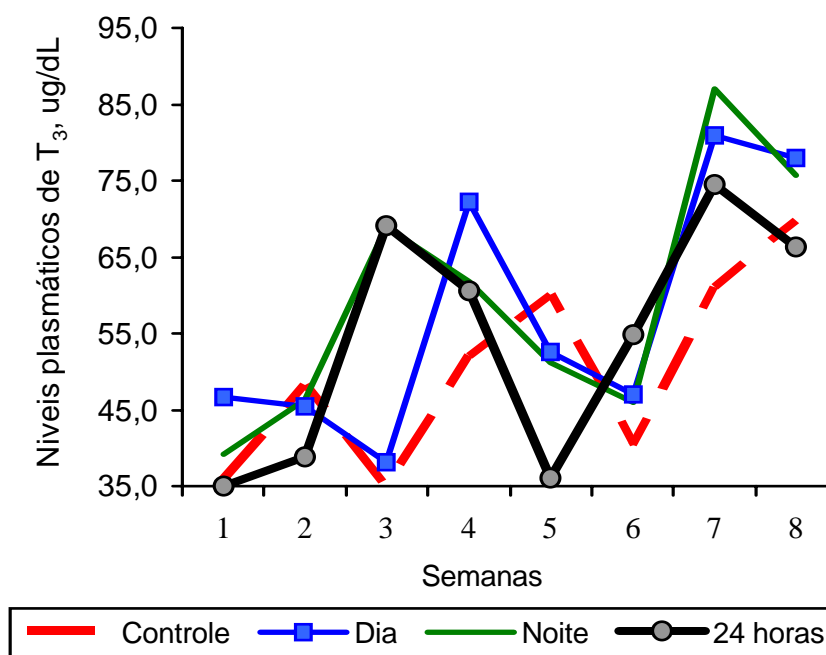


Figura 21- Valores médios de T₃ plasmático (µg/dL) de 28 vacas em lactação mantidas em *free-stall* climatizado, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP).

5.6 Comportamento animal

Os animais foram avaliados durante 1280 minutos, sendo que os horários destinados à ordenha foram desconsiderados da análise. A Tabela 14 apresenta o tempo, em minutos, em que os animais realizaram atividades de ingestão de alimentos, água, ruminação e ócio entre os intervalos de horários das 7 às 19 h e das 19 às 7 h.

Foram verificadas diferenças ($P < 0,05$) entre os tratamentos para ingestão de alimentos nos intervalos de horários avaliados. O tempo gasto nesta atividade foi significativamente ($P < 0,05$) maior das 7 às 19 horas em todos os tratamentos.

Tabela 14- Valores médios (minutos) de atividades observadas em vacas em lactação mantidas em *free-stall* climatizado, nos horários das 7 às 19 h e 19 às 7 h, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP).

	<i>Controle</i>		<i>Dia</i>		<i>Noite</i>		<i>24 horas</i>	
	Diurno	Noturno	Diurno	Noturno	Diurno	Noturno	Diurno	Noturno
Comendo	239,0	51,5	290,2	69,5	313,1	75,3	232,5	63,3
	±16,01a	±16,01a	±16,01b	± 16,01a	±16,01b	± 16,01a	±16,01a	±16,01a
Bebendo	14,5	3,0	10,7	7,0	26,8	3,8	11,3	3,0
	±2,28a	± 2,28a	± 2,28a	± 2,28a	± 2,28b	± 2,28a	±2,28a	±2,28a
Ruminado em pé	66,2	60,0	67,7	51,2	39,2	55,5	57,7	62,0
	±13,29a	±13,29a	±13,84a	± 13,29a	±13,29a	± 13,29a	±13,29a	±13,29a
Ruminando deitada	117,5	219,2	120,0	244,2	137,4	248,2	90,1	196,6
	±13,84a	±13,84a	±13,84a	± 13,84a	±13,84a	± 13,84a	±13,84a	±13,84b
Ócio em pé	116,5	50,7	100,7	58,5	75,8	56,9	126,6	57,0
	± 8,68a	± 8,68a	± 8,68a	± 8,68a	± 8,68b	± 8,68a	± 8,68c	± 8,68a
Ócio deitada	104,0	232,7	69,7	189,7	74,8	173,3	144,1	205,2
	±20,75b	±20,75a	±20,75a	± 20,75a	±20,75a	± 20,75a	±20,75b	±20,75a

ab Médias seguidas por letras minúsculas distintas nas linhas diferem pelo Teste de Tukey ($P < 0,05$)

* erro padrão da média

Os animais do tratamento *noite* (313,1 min) e do tratamento *dia* (290,2 min) gastaram mais tempo se alimentando do que os animais do tratamento *controle* (239,1 min) e *24 horas* (232,5 min). Não houve diferenças entre os tratamentos no intervalo das 19 às 7 horas (Figura 22).

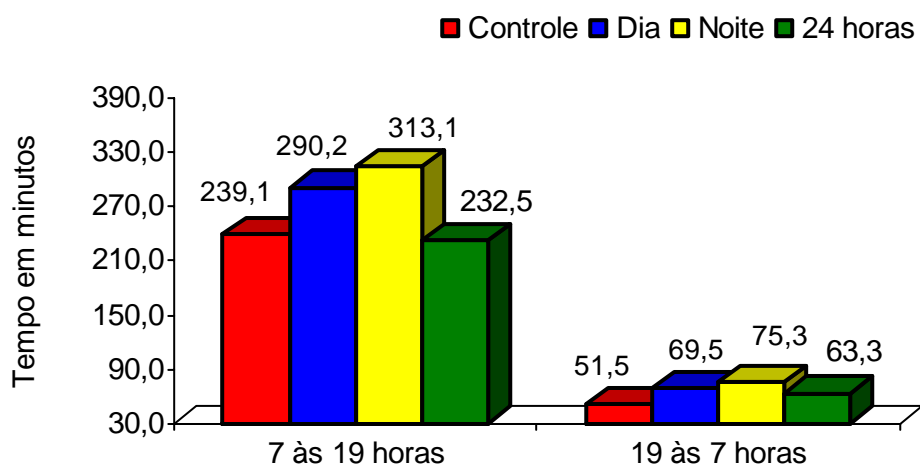


Figura 22- Valores médios (minutos) da atividade ingestão de alimentos das vacas em lactação no intervalo das 7 às 19 h e 19 às 7 h, Nova Odessa (SP).

A ingestão de água apresentou diferença significativa ($P < 0,05$) entre os tratamentos e intervalo de horários avaliados. Os animais gastaram mais tempo ingerindo água no intervalo das 7 às 19 h. Não houve diferença entre os tratamentos para a variável bebendo no período das 19 às 7 h. Verificou-se que os animais mantidos no tratamento *noite* passaram 30,6 minutos bebendo água o que corresponde a 2,3% do tempo gasto ingerindo água em relação aos tratamentos *controle* que permaneceram 17,5 minutos (1,3% do tempo gasto), tratamento *dia* 17,7 minutos (1,3% do tempo gasto) e tratamento *24 horas* com 14,3 minutos (1,1 % do tempo gasto). Não foram observadas diferenças entre os tratamentos *dia*, *controle* e *24 horas* (Figura 23).

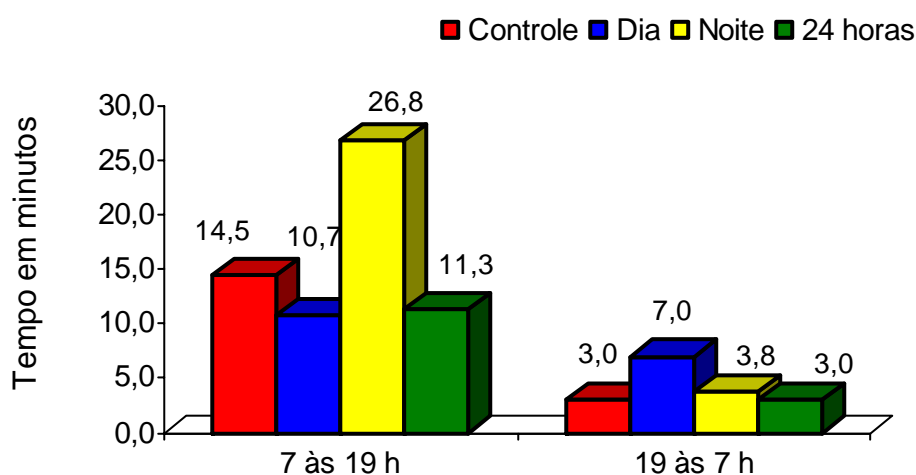


Figura 23- Valores médios (minutos) da atividade ingestão de água das vacas em lactação no intervalo das 7 às 19 h e 19 às 7 h, Nova Odessa (SP)

Não foram observadas diferenças ($P < 0,05$) entre os tratamentos para a variável ruminando em pé nos intervalos de horários. Para o comportamento ruminando deitada foi verificada diferença ($P < 0,05$) para os tratamentos e para os intervalos avaliados. Os animais permaneceram mais tempo na atividade ruminando deitada no período das 19 às 7 h. Durante o período das 19 às 7 h as vacas do tratamento *noite* gastaram mais tempo ruminando deitada (248,2 min) do que as vacas do tratamento *24 horas* (196,6 min), não houve diferença entre os tratamentos *dia* (244,2 min) e o *controle* (219,2 min). Não houve diferença entre os tratamentos no período das 7 às 19 h (Figura 24).

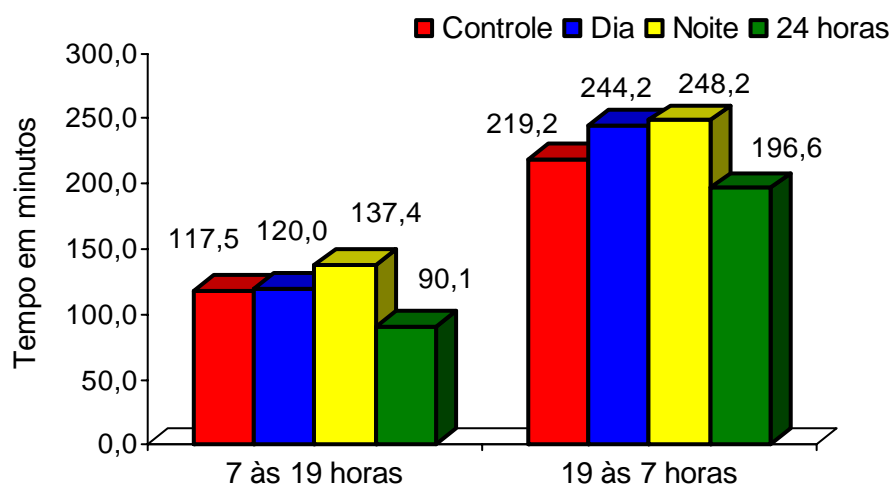


Figura 24- Valores médios (minutos) da atividade ruminando deitada das vacas em lactação no intervalo das 7 às 19h e 19 às 7h, Nova Odessa (SP).

Foram observadas diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os tratamentos para as atividades ócio deitada nos intervalos dos horários avaliados das 7 às 19 h e das 19 às 7 h. As vacas de todos os tratamentos permaneceram mais tempo em ócio na posição deitada no período das 19 às 7 h. Não houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre os tratamentos para período das 19 às 7 h (Figura 25). Para o intervalo das 7 às 19 h os animais do tratamento *24 horas* e *controle* permaneceram mais tempo em ócio deitada (205,2 e 232,7 minutos respectivamente) quando comparado às do tratamento *dia* (189,7 min) e *noite* (173,3 min).

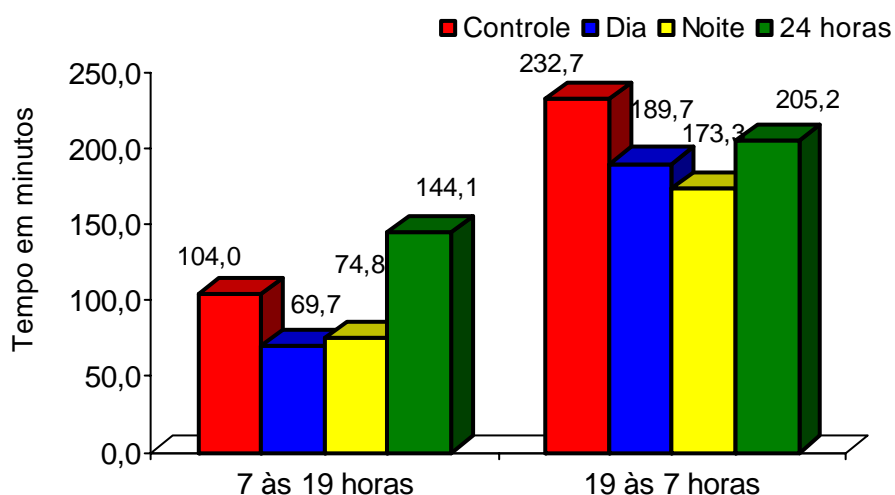


Figura 25- Valores médios (minutos) da atividade ócio deitada das vacas em lactação no intervalo das 7 às 19h e 19 às 7h, Nova Odessa (SP).

Foram observadas diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os tratamentos para as atividades ócio em pé nos intervalos avaliados (Figura 26).

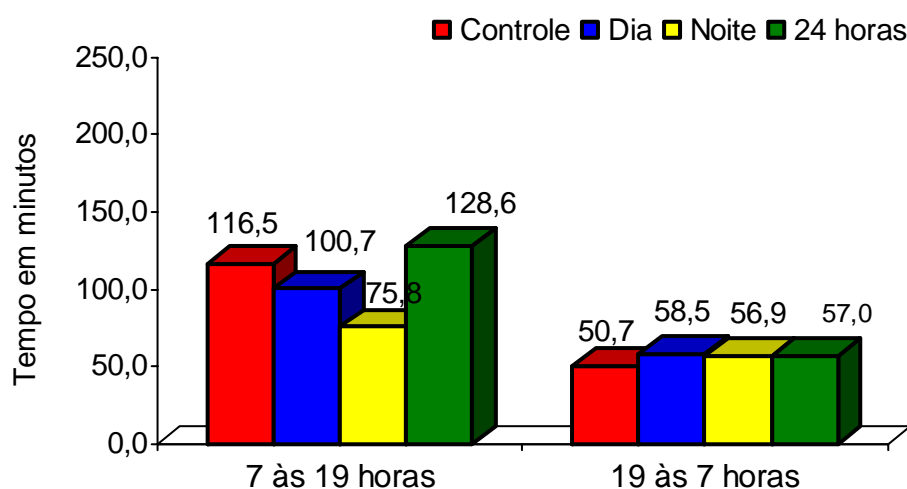


Figura 26- Valores médios (minutos) da atividade ócio em pé das vacas em lactação no intervalo das 7 às 19 h e 19 às 7 h, Nova Odessa (SP).

As vacas de todos os tratamentos permaneceram mais tempo na atividade ócio em pé no período das 7 às 19 h do que no período das 19 às 7 h. Não houve diferença entre os tratamentos no período das 19 às 7 h. As vacas do tratamento *noite* no período das 7 às 19 h permaneceram menos tempo em ócio em pé (75,8 min) quando comparadas aos tratamentos *controle* (116,5 min), *dia* (100,7 min) e *24 horas* (126,6 min), não houve diferença entre os tratamentos *controle* e *dia*.

5.7 Ocorrência de mastite

A porcentagem de mastite clínica e subclínica, em relação ao número de animais e quartos mamários, da semana pré-experimental e da última semana da fase experimental são apresentados na Tabela 15.

Na fase pré-experimental 3,5% dos animais e 1,8% dos quartos mamários apresentavam mastite clínica. Na última semana da fase experimental o número de animais e quartos mamários com mastite clínica permaneceram o mesmo da semana pré-experimental.

Tabela 15- Ocorrência de mastite clínica e subclínica (%) em 28 vacas em lactação e 112 quartos mamários na semana pré-experimental e na última semana da fase experimental, Nova Odessa (SP).

	ANIMAIS		QUARTOS	
	1ª semana	9ª semana	1ª semana	9ª semana
TAMIS	1 (3,5%)	1 (3,5%)	2 (1,8%)	2(1,8%)
CMT	22 (78,5%)	19 (67%)	73 (65,1%)	45(40,1%)
TOTAL	28	28	112	112

A freqüência de mastite subclínica na fase pré-experimental em relação ao número de animais e quartos mamários foram 78,5 e 65,1% respectivamente. Houve uma diminuição da porcentagem de animais e quartos mamários afetados com mastite subclínica com 67,8 e 40,1%.

A Figura 27 ilustra a diferença de quartos com CMT negativo nos diferentes tratamentos da semana pré-experimental em relação à última semana da fase experimental.

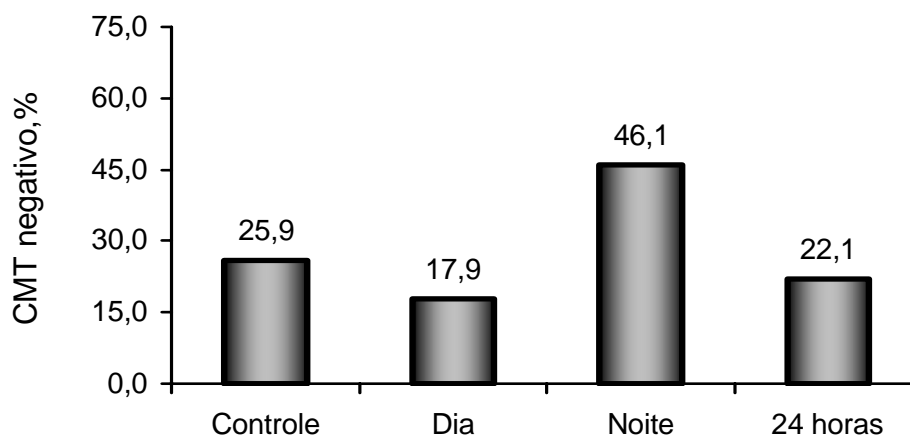


Figura 27- Diferença (%) dos quartos mamários negativos (semana pré-experimental e última semana da fase experimental) ao teste de CMT de 28 vacas em lactação, mantidas em *free-stall*, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP)

A diferença de quartos mamários negativos ao teste de CMT da fase pré-experimental em relação à última semana da fase experimental foi de 46,1% para o tratamento *noite*, 25,9% para o tratamento *controle*, 17,9% para os tratamentos *dia* e 22,1 % para o tratamento *24 horas* (Figura 27).

Os resultados negativos e positivos aos isolamentos microbiológicos realizados nas amostras de leite dos quartos analisados na semana pré-experimental e na última semana da fase experimental são apresentados nas Figuras 28 e 29.

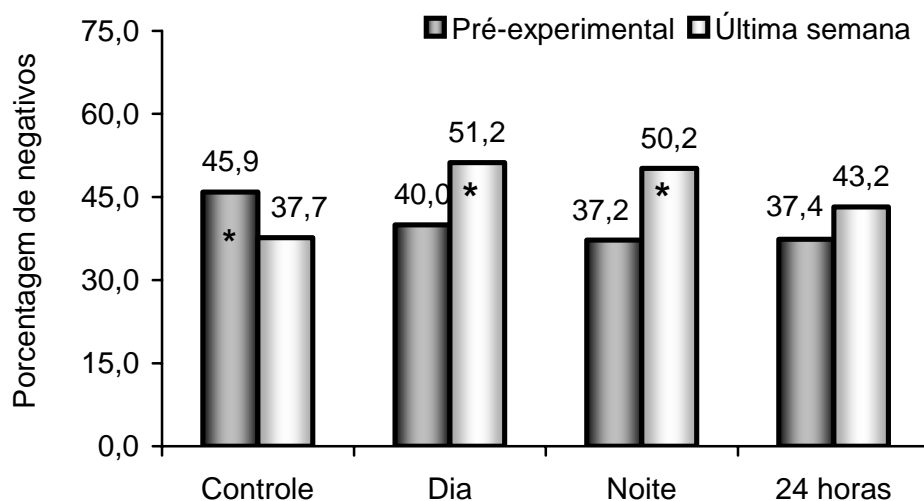


Figura 28- Resultados negativos aos exames microbiológicos dos quartos mamários de 28 vacas em lactação mantidas em *free-stall* climatizado, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP).

A porcentagem de quartos mamários negativos ao isolamento microbiológico na fase pré-experimental para os tratamentos *controle*, *dia*, *noite* e *24 horas* foi de 45,9, 40,0, 37,2 e 37,4% (Figura 28). Quando comparadas às porcentagens de quartos mamários negativos, ao isolamento microbiológico, da fase pré-experimental em relação à última semana da fase experimental observamos uma diminuição significativa ($P < 0,05$) na porcentagem de quartos negativos para o tratamento *controle* (45,9% vs 37,7%). Nos tratamentos *dia* (40% vs 51,2%) e *noite* (37,2% vs 50,2%), foi constatada uma diminuição significativa dos quartos mamários onde não foram isolados agentes infecciosos. Não foi observada diferença significativa nos quartos mamários negativos do tratamento *24 horas* (37,4% vs 43,2%)

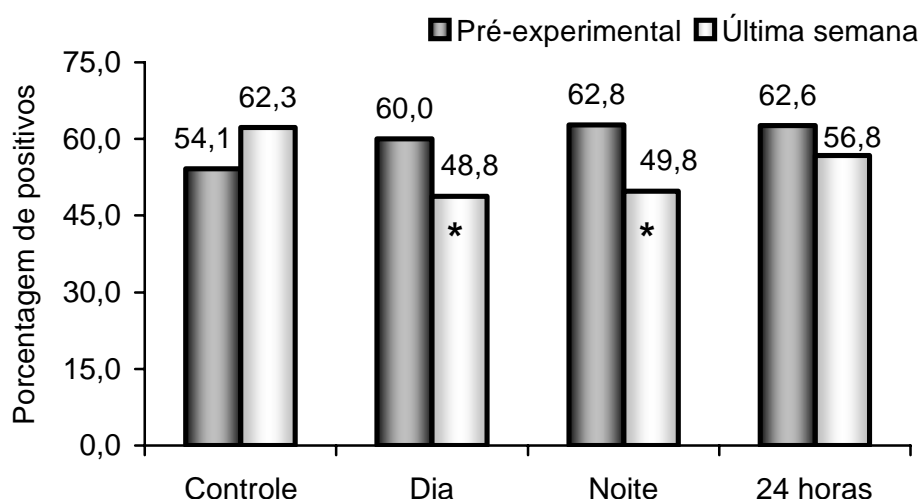


Figura 29- Resultados positivos aos exames microbiológicos dos quartos mamários de 28 vacas em lactação mantidas em *free-stall* climatizado, entre janeiro e março de 2003, Nova Odessa (SP).

Não foram observadas diferenças na proporção de quartos mamários positivos quando da análise microbiológica do leite no tratamento *controle* (54,1% vs 62,3%) e *24 horas* (62,6% vs 56,8%). Foram observadas diferenças ($P < 0,05$) nos tratamentos *noite* (62,8% vs 49,8%) e *dia* (60% vs 48,8%), com redução da proporção de casos positivos da fase pré-experimental em relação à última semana da fase experimental (Figura 29).

Na Tabela 16 são apresentadas as freqüências de isolamentos dos principais microrganismos nas amostras de leite colhidas dos quartos mamários nos diferentes tratamentos, durante a fase pré-experimental. Os principais microrganismos isolados nas 168 amostras de leite de cada tratamento foram: *Staphylococcus* coagulase - negativa, *Staphylococcus* coagulase - positiva, *Streptococcus* sp e *Corynebacterium* sp.

Na fase pré-experimental a maior freqüência de isolamento foi de *Staphylococcus* coagulase negativa que foi de 58,1% para o tratamento *controle*, 57,0% para o tratamento *dia*, 64,9% para o tratamento *noite* e 61,2% para o tratamento *24 horas*.

Corynebacterium sp foi isolada em 21,7% dos quartos mamários dos animais do tratamento *controle*, 15,3% do tratamento *dia*, 16,23% do tratamento *noite* e 17,2 % do tratamento *24 horas*.

Tabela 16- Resultados microbiológicos das 672 amostras de leite dos quartos mamários das 28 vacas mantidas em *free-stall* climatizado durante a semana pré-experimental.

Agente	Controle	Dia	Noite	24 horas
<i>Staphylococcus sp</i>	4 (3,9)	7 (5,9)	8 (6,7)	2 (1,6)
<i>Staphylococcus coag.negativa</i>	42 (41,5)	56 (47,8)	61 (51,6)	65 (53,2)
<i>Staphylococcus coag positiva</i>	10 (9,9)	16 (13,6)	7 (5,9)	10 (8,1)
<i>Staphylococcus aureus</i>	8 (7,9)	6 (5,1)	5 (4,2)	14 (11,4)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4 (3,9)	1 (0,8)	2 (1,6)	1 (0,8)
<i>Staphylococcus schleiferi</i>	6 (5,9)	1 (0,8)	1(0,8)	3 (2,4)
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	5 (4,9)	6 (5,1)	7 (5,9)	2 (1,6)
<i>Staphylococcus hycus</i>	2 (1,9)	3 (2,5)	6 (5,0)	4 (3,2)
<i>Streptococcus sp</i>	0	0	1 (0,8)	1(0,8)
<i>Streptococcus uberis</i>	4(3,9)	2 (1,7)	1 (0,8)	1(0,8)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0	0	1 (0,8)	0
<i>Streptococcus dysgaslactiae</i>	0	0	0	0
<i>Corynebacterium sp</i>	22(21,7)	18 (15,3)	19 (16,2)	22 (17,6)

A Figura 30 ilustra a freqüência de isolamento de *Staphylococcus coagulase positivo* e *Staphylococcus coagulase negativo* das amostras de leite da fase pré-experimental.

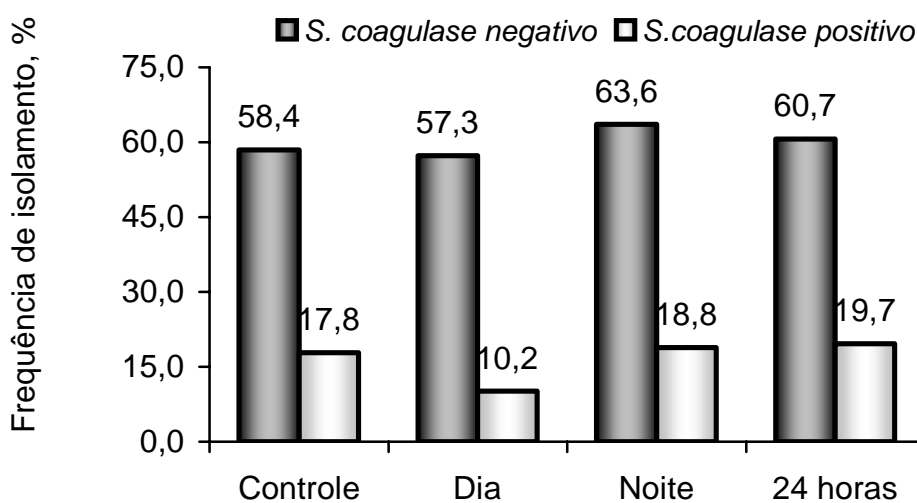


Figura 30- Frequência de *Staphylococcus sp* isolados das 672 amostras de leite dos quartos mamários de 28 vacas em lactação, mantidas em *free-stall* climatizado na fase pré-experimental, Nova Odessa (SP)

As freqüências de isolamento nos quartos mamários dos *Staphylococcus* coagulase - positivo e *Staphylococcus aureus* durante a fase pré-experimental são apresentados na Figura 31.

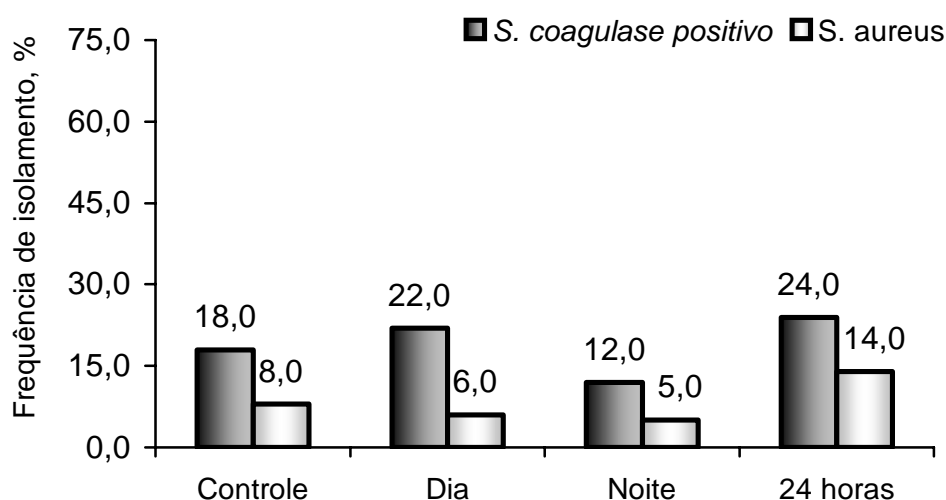


Figura 31- Frequência de isolamento de *Staphylococcus* coagulase positivo e *Staphylococcus aureus* dos quartos mamários de 28 vacas em lactação mantidas em free-stall climatizado, durante a fase pré-experimental, Nova Odessa (SP).

Verificou-se que entre as espécies do gênero *Staphylococcus* coagulase positiva predominaram as mastites por *Staphylococcus aureus* que foi de 44,4% para o tratamento *controle*, 27,2% para o tratamento *dia*, 41,6% para o tratamento *noite* e 58,3% para o tratamento *24 horas*.

Na Tabela 17 estão apresentados os resultados relativos à contagem de células somáticas e isolamentos dos agentes infecciosos da semana pré-experimental e última semana da fase experimental, que foram agrupados em *Staphylococcus* coagulase - positivo, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* coagulase - negativo, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* e *Corynebacterium* sp.

Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) para contagem de células somáticas da semana pré-experimental quando comparada com a última semana da fase experimental. Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre as freqüências de isolamento nos quartos mamários dos animais de *Staphylococcus* coagulase negativo nos tratamentos *controle*, *dia*, *noite* e *24 horas* entre a fase pré-experimental e a última semana da fase experimental.

Tabela 17- Isolamentos bacteriano (%) em 672 amostras de leite dos quartos mamários de 28 vacas em lactação nos diferentes tratamentos na semana pré-experimental e na última semana da fase experimental, Nova Odessa (SP).

	<i>Controle</i>		<i>Dia</i>		<i>Noite</i>		<i>24 horas</i>	
	1 ^a	9 ^a	1 ^a	9 ^a	1 ^a	9 ^a	1 ^a	9 ^a
Bactérias isoladas								
<i>Staphylococcus</i> sp	3,9	5,5	5,9*	0	6,7*	0	1,6	2,0
<i>S. coagulase</i> (+)	17,8	11,9	18,8*	36,2	10,1	8,9	19,6*	45,3
<i>S. aureus</i>	7,9	6,4	5,1*	18,0	4,2	4,4	11,4*	21,6
<i>S.coagulase</i> (-)	52,4	30,7	56,4	20,8	64,4	36,6	59,0	22,6
<i>S.uberis</i>	3,9	8,2	1,7	4,2	0,8	8,8	0,8	3,0
<i>S.agalactiae</i>	0	4,5	0	1,0	0,8	2,2	0	0
<i>S.dysgalactiae</i>	0	5,5	0	1,0	0	1,1	0	0
<i>Corynebacterium</i> sp	21,7	33,3	17,0*	35,1	16,1*	43,5	18,0*	42,2
¹ CCS	148,7	454,5	100,0	62,3	52,1	57,3	96,2	209,4

¹CCS Contagem de células somáticas (células/mL)

*P<0,05

Houve diminuição significativa (P<0,05) para *Staphylococcus* sp nos tratamentos *dia* e *noite* quando comparados aos tratamentos *controle* e *24 horas*, não houve diferença para os tratamentos *controle* e *24 horas*.

No tratamento *dia* e *24 horas* houve aumento significativo (P<0,05) da frequência de isolamento de *Staphylococcus* coagulase positivo da fase pré-experimental em relação à última semana da fase experimental, predominando o *Staphylococcus aureus* em ambos os tratamentos, 49,8% no tratamento *controle* e 47,7% no tratamento *dia* (Figura 32).

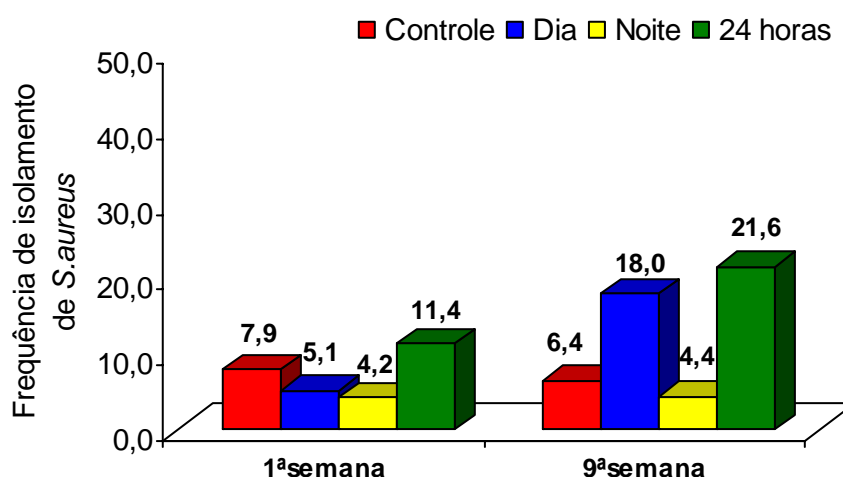


Figura 32- Isolamento de *Staphylococcus aureus* da fase pré-experimental e da última semana da fase experimental dos quartos mamários das vacas em lactação, Nova Odessa (SP).

Houve aumento significativo ($P < 0,05$) na frequência de isolamento de *Corynebacterium* sp nos quartos mamários dos animais do tratamento *dia* (17% vs 35,1%), *noite* (16,1% vs 43,5%) e *24 horas* (18% vs 42,2%), mas não no tratamento controle (21,7 % vs 33,3 %) quando se comparou a fase pré-experimental e a última semana da fase experimental (Figura 33).

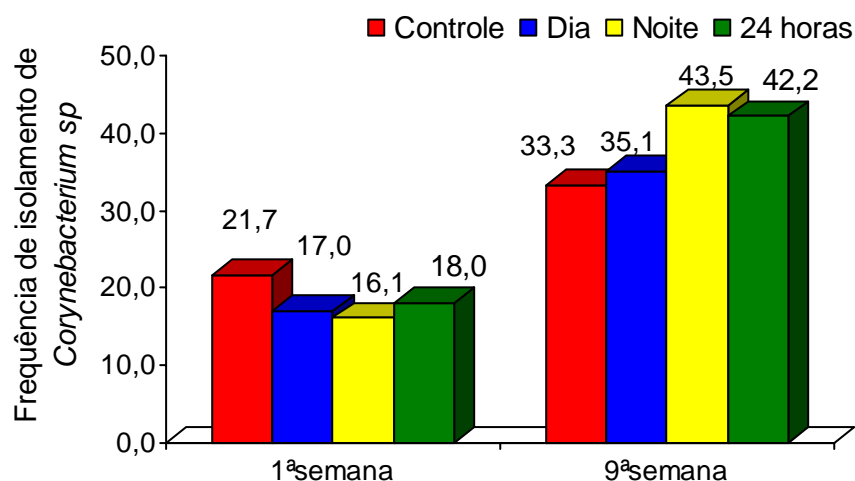


Figura 33- Isolamento de *Corynebacterium* sp da fase pré-experimental e da última semana da fase experimental dos quartos mamários das vacas em lactação, Nova Odessa (SP)

6 DISCUSSÃO

6.1 Variáveis meteorológicas

6.1.1 Temperatura de bulbo seco (TBS)

No presente estudo os valores da TBS às 7 h estiveram na faixa de termoneutralidade proposta pela literatura, o qual indica uma grande variação na temperatura crítica. Segundo Fuquay (1997), para o gado europeu o valor de temperatura crítica estaria entre 25 a 27°C, podendo ser restrita a 21°C para vacas em lactação em razão da elevada umidade relativa do ar (NÄÄS, 1989).

As temperaturas de bulbo seco mais elevadas foram registradas às 14 e às 17 h culminando com os menores valores absolutos de umidade relativa do ar (Tabelas 4 e Figura 10). Tais resultados corroboram com os dados de Bucklin e Bray (1998), que associaram umidade relativa do ar mais baixa à temperatura de bulbo seco mais elevada.

Os equipamentos de climatização do tratamento *dia* permitiram uma diminuição da TBS de 5,3°C às 12 h e 3,5°C às 14 h em relação ao *controle*. Martello (2002) encontrou reduções na TBS de 2,9 e 3,9°C às 11h e às 13 h em instalação climatizada com ventilação e nebulização de baixa pressão quando comparado com a instalação com sombreamento oferecido pela cobertura do cocho. Keister et al. 2002 também encontraram diminuição média da TBS de 2,9°C em sistema de climatização utilizando nebulização em instalação do tipo *free-stall* quando comparado ao sem climatização. Ao contrário de Matarazzo (2004) que não observou diferenças entre os tratamentos sem ventilação, ventilação forçada e ventilação forçada adicionada a nebulização na TBS em instalação do tipo *free-stall*. A explicação para estes resultados poderia estar na altura da linha de nebulização e no tempo de acionamento do sistema que no trabalho de Matarazzo (2004) foi de 3,7 m com ciclo de acionamento de 11 minutos desligado e um minuto ligado. Por outro lado no experimento conduzido por Martello (2002) a altura do sistema de nebulização foi de 2,7 m da altura do piso e o sistema era acionado a partir da temperatura do ar de 26°C e desligado quando a umidade relativa atingia 76%. No presente trabalho a linha de nebulização foi de 2,5 m da altura do piso e o ciclo de acionamento foi de 4 minutos desligado e 1 minuto ligado.

6.1.2 Umidade relativa do ar (UR)

No tratamento *controle* provido de sombra natural a UR permaneceu das 12 às 17h abaixo de 50%. Houve um aumento da UR do ar nos tratamentos *dia* (70,0), *noite* (64,6) e *24 horas* (59,3), sendo que o tratamento *dia* apresentou os maiores valores absolutos de UR do ar e as menores TBS (12 e 14 h) (Tabela 5 e Figura 11). Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Frazzi et al. (1998) que apontaram redução de 2 a 3°C na temperatura interna da instalação e aumento da umidade relativa entre 10 e 15% com sistema de nebulização de alta pressão. A nebulização proporcionou no trabalho de Perissinoto (2003) os menores valores de TBS e maiores valores de UR, devido a maior quantidade de vapor d'água produzido pelo sistema.

A UR do ar elevada verificada no tratamento *noite*, durante o período das 12 às 17 h, horário em que os equipamentos estavam desligados, corroboram os resultados obtidos por Matarazzo (2004) que encontrou UR elevada no tratamento sem ventilação. Essa elevação da UR, provavelmente, pode estar associada ao grande volume de vapor d'água (respiração) e urina produzida pelos animais que não pode ser removido da instalação. Esta condição também foi verificada por Matarazzo (2004).

Uma das formas de resfriar o ambiente destinado aos animais em lactação é a utilização de água, desde que a umidade relativa do ar seja aproximadamente 70% (NÄÄS; ARCARO, 2001). Temperatura ambiente e umidade relativa elevada (maior que 70%) podem limitar o desempenho das vacas confinadas, pois diminuem sua habilidade em dissipar calor. Essa redução nas trocas térmicas proporcionará aumento na temperatura corporal devido ao armazenamento de calor (DAVIS, 2001). Valores de UR maiores que 70% de foram encontrados às 21 h no tratamento *dia*, *noite* e *24 horas*. A umidade relativa do ar é um fator determinante de estresse, em condição de umidade elevada, o ar saturado inibe a evaporação da água pela pele e sistema respiratório, proporcionando um ambiente ainda mais estressante para o animal (SOTA, 1996).

Em períodos de temperaturas elevadas e com ocorrência de chuvas, situações características do verão nas condições tropicais, o sistema de resfriamento adiabático evaporativo poderá aumentar excessivamente a umidade

relativa dentro da instalação. Essa umidade deve ser removida por meio de trocas de ar na instalação com um sistema de ventilação adequado (SILVA, 1999).

6.1.3 Temperatura de globo negro (TGN)

O tratamento *noite* (31,2°C) às 12 h apresentou a maior TGN quando comparados aos tratamentos *dia* (30,2 °C), *24 horas* (30,1°C) e *controle* (31,2°C), estes resultados diferiram dos encontrados por Souza (2003) que observou uma diminuição da TGN em *free-stall* com sistema de climatização por nebulização quando comparados ao sem climatização. A temperatura de globo negro é uma indicação dos efeitos combinados de temperatura do ar, temperatura radiante e velocidade do vento, e representa a exposição de todas as fontes de radiação existente no ambiente Bond e Kelly (1955).

6.1.4 Índice de temperatura e umidade (ITU)

Os limites considerados para avaliar situações de conforto ou estresse não são coincidentes entre os diversos pesquisadores. Segundo Hahn (1985), um ITU igual ou menor a 70 expressa uma condição normal; um valor entre 71 e 78 é crítico. Contudo Igono et al.(1992), consideram estressante para vacas de alta produção de leite, ITU acima de 76 e Armstrong e Welchert (1994) consideram os valores de ITU entre 72 a 78 estresse ameno; de 79 a 88 estresse moderado. Os maiores valores determinados para o ITU (80,5) foram registrados no tratamento *noite* às 12 e às 14 h. Isso era de se esperar uma vez que os equipamentos eram acionados somente às 19 h. Os tratamentos *controle* (76,9 e 78,6) e *24 horas* (77,5 e 77,3) apresentaram os menores valores de ITU nos horários das 12 às 14 h quando comparado ao tratamento *noite* (79,3 e 80,5) (Tabela 7 e Figura 13). Esses resultados corroboraram com os encontrados por Martello (2002), que observaram nos horários das 11 e 13 h o menor valor de ITU na instalação com ventiladores e nebulizadores que no tratamento *controle* e Keister et al. 2002 que verificaram no Arizona em trabalho realizado em galpão aberto climatizado com SRAE por nebulização um aumento considerável da umidade, as médias de temperatura e umidade foram 29,1°C e 59,3% (ITU=78) e 32,8°C, 40,3% (ITU=80) para os tratamentos climatizado e não climatizado. O tratamento *controle* (sombra natural)

apresentou os menores valores de ITU durante os horários mais críticos, em razão dos menores valores da umidade relativa do ar (Tabela 5).

Nas condições do presente estudo, verificou-se que o ITU permaneceu na faixa considerada crítica, muitas vezes chegando à situação de perigo, segundo a classificação de Hahn (1985). Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Matarazzo (2004) que verificou que o ITU permaneceu dentro da faixa considerada crítica nas horas mais quentes. O resfriamento adiabático pode reduzir o número de horas com ITU elevado e tem sido usado com sucesso em climas secos. As vacas em lactação mantidas confinadas quando submetidas à temperaturas elevadas durante o dia e temperatura inferior a 18°C durante a noite, podem apresentar tolerância ao calor em curto espaço de tempo. É possível que a perda de calor possa ser maior durante o período noturno, uma vez que as vacas tendo sido expostas a temperaturas diárias intensas, conseqüentemente apresentem um maior gradiente de dissipação do calor acumulado (SCOTT, I.M.; JOHSON, H.D.; HANN, G.L., 1983) , isso pode explicar o ocorrido no tratamento *noite* em que o ITU mostrou uma situação de perigo para a produção de leite durante o dia, mas não refletiu nas variáveis fisiológicas .

6.2 Variáveis fisiológicas

6.2.1. Temperatura retal (TR) e frequência respiratória (FR)

A TR dos tratamentos *controle* (39,1°C) e *dia* (38,9°C) foram maiores que a do tratamento *noite* (38,5°C) e *24 horas* (38,5°C), ressalta-se, porém, que estes valores estão dentro da faixa de temperatura retal considerada normal (38 – 39,5°C) (Figura 14). Resultados semelhantes foram encontrados por Frazzi et al. (1997), Martello (2002) e Perissinoto (2003) em que a temperatura retal dos animais permaneceu dentro da faixa considerada normal. A medida da temperatura retal é usada freqüentemente como índice de adaptabilidade fisiológica aos ambientes quentes, pois seu aumento mostra que os mecanismos de liberação de calor tornaram-se insuficientes para manter a homeotermia (MOTA, 1997). Deve-se destacar que as temperaturas retais, de todos os tratamentos estiveram dentro da faixa de normalidade, o que indica que os sistemas de climatização e o *controle*

com sombreamento natural foram suficientes, tomado por base esse parâmetro, para manter a condição de conforto térmico.

O aumento da frequência respiratória, verificado em todos os tratamentos, é o primeiro sinal visível como resposta ao estresse térmico, embora se situe em terceiro lugar na seqüência dos mecanismos de adaptação, sendo a vasodilatação periférica e o aumento da sudorese as primeiras respostas fisiológicas. O gasto de energia despendido pelas vacas para eliminar calor do corpo, principalmente pelo aumento da frequência respiratória e também, pela sudação, é um dos fatores que explicam a menor produção de leite sob estresse térmico, pois parte da energia é desviada do processo produtivo para a manutenção do equilíbrio fisiológico (BACCARI JÚNIOR, 2001).

O aumento da frequência respiratória, quando considerada por curto período, caracteriza-se como um mecanismo eficiente de perda de calor. Entretanto, quando este mecanismo passa a ser exigido durante períodos prolongados, pode acarretar problemas aos animais, tais como: interferir na ingestão de alimentos e ruminação, proporcionar calor endógeno adicional em função da atividade muscular (ofegação), desviar energia de outros processos metabólicos e, ainda, redução da capacidade combinante do CO₂ com conseqüente diminuição na concentração de ácido carbônico no sangue, resultando em alcalose respiratória (BENJAMIN, 1981). Uma vez que a FR normal varia de 18 a 28 mov/min os valores encontrados nos animais submetidos aos diferentes tratamentos, no presente estudo, apresentaram-se acima, portanto indicativos de estresse, estes resultados foram semelhantes aos encontrados por Berman et al. (1985) que observaram FR de 50 a 60 mov/min em temperatura ambiente superior a 25°C. De acordo com (HAHN; MADER 1997) a FR de até 60 movimentos por minuto indica animais com ausência de estresse térmico ou que este é mínimo.

6.2.2 Temperatura do pelame

A pele protege o organismo do frio e do calor e sua temperatura depende, principalmente, das condições de temperatura ambiente, umidade e características fisiológicas como vascularização e evaporação do suor. Desta

forma, contribui para a manutenção da temperatura corporal mediante trocas de calor com o ambiente (BACCARI JÚNIOR, 2001).

A temperatura do pelame tomada da região do dorso dos animais submetidos ao tratamento *dia* (34,5°C) e *24 horas* (33,6°C) apresentou uma diminuição de 0,8 °C e 1,6 °C quando comparados com o tratamento *controle* (35,3 °C). Quando a temperatura da pele é mais elevada que a do ambiente o organismo cede calor às moléculas de ar dando início à troca térmica (BACCARI JÚNIOR, 2001).

A temperatura do pelame da glândula mamária às 13 h não diferiu entre os tratamentos. No tratamento *dia* (36,4°C) às 21 h apresentou-se mais elevada, entretanto neste horário, os equipamentos de climatização estavam desligados contribuindo para o aumento da temperatura da glândula mamária.

A temperatura do pelame da malha negra foi maior que a da malha branca, animais de superfície pigmentada e escura são mais susceptíveis ao estresse pelo calor que os de coloração clara, porque armazena uma maior quantidade de energia térmica (HANSEN; LANDER, 1988).

Não houve efeito dos tratamentos nas temperaturas da malha negra e da malha branca nos horários mais quentes do dia. Estes dados estão de acordo aos encontrados por Perissinoto (2003) que não observou diferenças entre as temperaturas da malha branca e negra quando comparou dois sistemas de climatização nebulização e aspersão.

A temperatura de pele, associada a outros parâmetros fisiológicos está sendo utilizada como indicativo de estresse térmico em animais (AGUIAR, 1996; BACCARI JÚNIOR et al., 1978). Baccari Júnior et al. (1978) encontraram a temperatura do pelame 4°C mais baixa que a temperatura retal.

6.3 Consumo de matéria seca (CMS)

O consumo de matéria seca do tratamento *noite* (20,0 kg/dia) foi maior que os tratamentos *controle* (18,3 kg/dia), *dia* (18,8 kg/dia) e *24 horas* (18,2 kg/dia). Entretanto quando a variável analisada foi o consumo de alimento por quilograma de peso vivo verificou-se que não houve diferença entre os tratamentos *dia* (3,6%) e *noite* (3,7%). O menor consumo de matéria seca do tratamento *controle* era esperado uma vez que os animais dispunham somente de sombra natural.

Entretanto o menor consumo de matéria seca do tratamento *24 horas*, poderia indicar que, a condição de estresse desses animais apesar dos equipamentos ligados por 24 horas foi agravada uma vez que o valor do (ITU) às 21 horas era 77,7.

Dentre os efeitos causados pela alta temperatura e umidade a redução do consumo de alimentos é o fator mais importante na queda de desempenho do animal. Segundo McGuire (1989) citado por Machado (1998) à temperatura de 30°C o consumo de alimentos é 90% daquele observado a 25°C. no presente experimento os animais permaneceram a maior parte do tempo sob efeito de altas temperaturas.

O consumo de energia líquida para produção de leite foi superior à produção de leite verificada em todos os tratamentos, o dispêndio de energia das vacas para eliminar calor do corpo, principalmente quando do aumento da frequência respiratória e também, pela sudorese, é um dos fatores que explicam a menor produção de leite sob estresse térmico, pois parte da energia é desviada do processo produtivo para a manutenção do equilíbrio fisiológico (BACCARI JÚNIOR, 2001).

6.4 Produção e composição do leite

Não houve diferença entre os tratamentos em relação à produção e composição de leite, estes resultados estão de acordo com os obtidos por Fuquay et al. (1997), Martello (2002) e Matarazzo (2004) que em condições climáticas semelhantes às do presente estudo TBS (26 a 33°C) e UR (60 a 87%) não encontraram diferenças nas produções de leite de vacas submetidas à instalação climatizada com sistema de nebulização associada à ventilação forçada. Ao contrário, Keister et al. (2002) verificaram diferenças nas produções de leite de vacas Jersey quando comparou sistemas de climatização por nebulização e sem nebulização, entretanto a média da UR para a instalação climatizada foi de 59,3% e para o tratamento não climatizado foi de 40,3%.

Altas temperaturas do ar, principalmente quando associadas à alta umidade e à radiação solar direta são os principais elementos climáticos estressores, responsáveis pelo baixo desempenho do gado leiteiro, principalmente

diminuição da produção de leite e dos constituintes do leite. Níveis de umidade relativa acima de 50% reduzem os fatores produtivos em qualquer faixa de temperatura (NÄÄS; SOUZA, 2003).

Provavelmente, neste experimento, a umidade relativa do ar foi um elemento estressor, uma vez que em determinados horários ultrapassou 70%, razão pela qual apesar da temperatura elevada do tratamento *controle* que contava com sombra e a ventilação natural, a umidade relativa do ar média foi menor que para os tratamentos *dia*, *noite* e *24 horas*, isso poderia explicar a falta de resposta na produção de leite dos tratamentos que receberam climatização em relação ao *controle*.

Em experimentos conduzidos em *free-stall* equipados ou não com sistemas de climatização, em diversas regiões dos EUA, constataram aumentos de 4,9 a 12% nas produções de leite em instalações climatizadas. (WEST 2003) encontraram declínio de 0,88 kg por unidade de aumento no THI acima de 72. Nas condições do experimento, o maior valor para o THI foi de 80,5 unidades para o tratamento *noite*, sem, contudo proporcionar decréscimo na produção de leite. Segundo Igono et al. (1992) reportou que mesmo em temperatura ambiente elevada durante o dia um período com temperaturas menores de 21°C por 3 a 6 horas poderiam minimizar o declínio da produção de leite.

6.5 Concentrações hormonais

No tratamento *controle* (1,10 µg/dL) os níveis de cortisol foram maiores que os tratamentos *noite* (0,6 µg/dL) e *24 horas* (0,7 µg/dL), mas não houve diferença entre os tratamentos *dia* (0,8 µg/dL) e *controle*. As concentrações de cortisol em todos os tratamentos estavam mais elevados dos níveis considerados normais para bovinos (de 0,35 µg/dL), segundo Smith (1993).

Collier et al. (1981) também encontraram níveis elevados de cortisol durante o estresse agudo. Há uma evidência de que o cortisol juntamente com outros hormônios influencia o metabolismo da glândula mamária. O presente trabalho sugere que as altas concentrações deste hormônio catabólico podem ter sido produzidas pelos animais sob condição de estresse em detrimento de manter a produção de leite, o que concorda com Wise et al. (1988).

Du Preez (2000) encontrou concentração média plasmática de cortisol de 59,2 nmol l⁻¹ nas vacas submetidas a estresse e 45,4 nmol l⁻¹ nas vacas mantidas sob refrigeração.

Apesar das diferenças significantes, os níveis de T₃ e T₄ estiveram dentro da faixa de normalidade que para bovinos estão em torno de 41 a 170 ng/dL para o T₃ e para tiroxina (T₄) variam de 3,6 a 8,9 µg/mL (SMITH, 1993). Estes resultados são semelhantes aos observados por Moraes et al. (2002) que encontraram concentrações menores de T₃ e T₄ nos meses onde a temperatura e a umidade do ar foram mais elevadas, mas essas concentrações estavam dentro da faixa de normalidade para bovinos.

6.6 Comportamento animal

No presente estudo o tempo gasto na atividade ingestão de alimentos foi maior em todos os tratamentos para o intervalo de horário das 7 às 19 horas, não houve diferença entre os intervalos das 19 as 7 horas (Tabela 14 e Figura 22). Este comportamento foi semelhante aos observados por Damasceno et al. (1999) e Monty Júnior e Garbarena (1978) que verificaram picos de alimentação em vacas estabuladas no início da manhã e final da tarde com diminuição da frequência de alimentação após às 18 horas.

Os animais do tratamento *dia* (290,2 min) e *noite* (313,1 min) permaneceram mais tempo na atividade ingestão de alimentos, das 7 às 19 horas, quando comparados aos tratamentos *controle* (239,min) e *24 horas* (232,5 min). O tempo maior gasto com alimentação dos animais verificado nesses tratamentos está de acordo com os resultados encontrados quando da avaliação do consumo de matéria seca por kg de peso vivo que foi maior para os tratamentos *dia* (3,6%) e *noite* (3,7%). Pires et al. (1998) também observaram que vacas estabuladas no verão permanecem 20% do tempo se alimentando, enquanto que Camargo (1988) nas condições de Brasil Central, registraram um tempo gasto com alimentação de 21,7%. Nas condições do presente trabalho os animais do tratamento *dia* gastaram 27% do tempo comendo e do tratamento *noite* 29,3%. O tempo maior gasto na ingestão de alimentos verificado no tratamento *noite* no período das 7 às 19 h onde foi verificado o maior valor para o índice de temperatura e umidade (ITU=80,5) poderia ser atribuído ao retorno mais rápido da condição de estresse uma vez que

com os equipamentos acionados às 19 h promoveriam uma melhoria nas condições de conforto no interior da instalação. Segundo Chastain e Turner (1994) relataram que o aumento na carga térmica vivenciada pelo animal durante o dia poderia ter efeitos limitados sobre o desempenho da vaca se a temperatura ambiental noturna fosse suficientemente baixa para permitir uma dissipação de calor efetiva.

A frequência de ingestão de água depende da temperatura ambiente, da qualidade do alimento e da distribuição da água, outros fatores podem influenciar o consumo, tais como; produção de leite, consumo de alimentos, peso do animal, nível de atividade, estado fisiológico, composição da dieta, clima e qualidade da água Campos (2000).

No presente estudo os animais gastaram mais tempo ingerindo água no intervalo das 7 às 19 h, estes resultados estão de acordo com os verificados por Monty e Garbareno (1978), Camargo (1988) e Damasceno (1999) que encontraram baixas frequências de procura por água no período noturno.

A maior ingestão de água do tratamento *noite* (30,6 min) era de se esperar uma vez que esse tratamento apresentou maior consumo de matéria seca. Embora o tempo gasto na ingestão de água do tratamento *noite* tenha sido maior, a ingestão de água de todos os tratamentos foi inferior aos encontrados por Matarazzo et al. (2003) que, ao avaliarem o comportamento de vacas leiteiras em *free-stall* sob condição de estresse, no período das 8 às 18 h verificaram que os animais permaneceram 21% do tempo total ingerindo água e quando em condição de conforto esse tempo foi igual a 10%. O menor tempo gasto pelos animais na atividade de ingestão de água, encontrada em todos os tratamentos, pode ser atribuída a um bebedouro colocado na saída da sala de ordenha a qual todos os animais tinham acesso. Campos (2000) observou que os animais apresentam picos de consumo de água após a ordenha que podem representar de 40% a 50% do consumo total diário.

A ruminação é uma atividade que permite a regurgitação, mastigação e a passagem do alimento previamente ingerido, para o interior do rúmen. Durante esse processo, que pode ocorrer com o animal deitado ou em pé, as vacas ficam quietas e relaxadas com sua cabeça baixa e as pálpebras semicerradas (ALBRIGHT, 1993).

No presente estudo os animais permaneceram mais tempo na atividade ruminando deitada no período das 19 às 7 h (Tabela 14 e Figura 24). Estes resultados concordam com os encontrados Monty Júnior e Garbarena (1978) que verificaram um aumento na frequência de ruminação à noite, a redução da temperatura do ar resultou num aumento da frequência da atividade naquele período, indicando que o calor produzido por ela é mais tolerável nos momentos em que a temperatura é mais amena. Damasceno et al. (1999) também encontraram as maiores frequências de ruminação entre as 22 e às 5 h, coincidindo com reduções significativas nos momentos de maior frequência de alimentação. Durante o período das 19 às 7 h as vacas do tratamento noite gastaram mais tempo ruminando deitada (248,2 min) do que as vacas do tratamento 24 horas (196,6 min). O aumento no consumo de matéria seca dos tratamentos noite justificam o tempo maior gasto com ruminação.

Ócio pode ser definido como o período em que o animal não está comendo, ruminando ou ingerindo água. Os animais de todos os tratamentos permaneceram mais tempo em ócio no período das 7 às 19 h do que no período das 19 às 7 h,

No presente estudo os animais permaneceram mais tempo em ócio na posição em pé no período da manhã (Tabela 14 e Figura 26), quando a avaliação foi feita das 19 às 7 h os animais permaneceram mais tempo em ócio deitadas. CAMARGO (1988) observou que vacas em ócio permanecem em pé nas horas mais quentes do dia, enquanto que no período noturno a preferência foi pela posição deitada.

O menor tempo em ócio verificado no tratamento noite (414 min) e dia (378 min) confirma o comportamento apresentado para os demais padrões, ou seja, as vacas desse tratamento apresentaram maior tempo despendido com alimentação, tiveram uma maior ingestão de matéria seca, maior tempo ruminando e menor tempo em ócio.

Os valores encontrados neste experimento em todos os tratamentos foram inferiores aos encontrados por Damasceno et al. (1999) que permaneceram 558 min para o tratamento *free-stall* sem cobertura com lona plástica na área de descanso e 516 min para o *free-stall* com cobertura. Segundo Kron e Munhsgaard (1993) a permanência por longos períodos em pé pode caracterizar uma condição

de estresse, o tempo de permanência na posição deitada em um período de 24 horas é geralmente, de 480 min.

6.7 Ocorrência de mastite

Na fase pré-experimental 3,57% dos animais apresentavam mastite clínica, apesar desta porcentagem ser superior ao aceito internacionalmente, está abaixo dos encontrados por Bueno et al. (2002) que observaram, em propriedades no estado de Goiás, com ordenha mecânica canalizada, uma frequência média de 7,46% dos animais com mastite clínica.

O nível aceito internacionalmente segundo Reneau (1993) deve ser inferior a 3% do rebanho tratado por mês. Costa et al. (1995), também encontraram elevada ocorrência (17,45 %) de mastite clínica ao examinarem 574 vacas em 28 propriedades localizadas nos estados de São Paulo e Minas Gerais.

As frequências de mastite subclínica em relação ao número de animais e quartos mamários no presente estudo foram de 78,5% e 66,3% respectivamente. Essas frequências diferiram das obtidas por Bueno et al. (2002) que encontraram médias de 63,6% e 34,3 % e de Costa et al. (1995) com 72,5% e 46,5%.

Pelo conhecimento do nível de mastite clínica pode-se inferir as taxas de mastite subclínica. Quando comparados os resultados referentes à mastite clínica e subclínica obteve-se uma proporção de animais e quartos afetados da ordem de 1:22 e 1:36 respectivamente. Estes resultados foram próximos aos encontrados por Pearson et al. (1971) que citaram proporções de 1:14 entre os casos de mastite clínica para mastite subclínica em relação aos animais e de 1:32 de mastite clínica para mastite subclínica em relação aos quartos mamários.

Costa et al. (2001) em levantamento realizado durante 5 anos nos estados de São Paulo e Minas Gerais encontraram proporções de mastite clínica em relação à mastite subclínica variando de 1:2 à 1:43. Valores ideais estão em torno de 1 a 3% e 15 a 25% para mastite clínica e subclínica, respectivamente Fonseca e Santos (2000).

Na última semana da fase experimental os índices de mastite clínica permaneceram os mesmos da fase pré-experimental, com 3,57% dos animais e 1,81% dos quartos apresentando mastite clínica. Quanto à ocorrência de mastite subclínica houve uma diminuição da porcentagem de animais e quartos afetados,

com 67,8% e 40,9%, respectivamente. A ocorrência de mastite clínica e subclínica no presente estudo foi semelhante do observados por Ribeiro et al. (2003) que examinando 12.970 quartos mamários de vacas HPB e Jersey no estado do Rio Grande do Sul, encontraram 7.890 quartos (60,83%) negativos ao teste do CMT e da caneca telada, e 5.080 foram positivos; dos quartos positivos, 192 (1,48%) apresentavam mastite clínica e 4.888 (37,69%) mastite subclínica. O aumento dos quartos mamários com CMT negativo pode ser atribuído à cura espontânea, que segundo Costa (1999), pode ocorrer em 20% dos casos e essa cura é o resultado da eficiência da interação dos mecanismos de defesa do úbere e do processo inflamatório.

A redução da proporção de casos positivos da fase pré-experimental em relação à última semana da fase experimental nos tratamentos *dia* de 11 % e *noite* de 13 % pode ser atribuída à resistência do animal. É de conhecimento que o estresse calórico pode aumentar a suscetibilidade às infecções pela diminuição da resistência do animal, ou pelo aumento da exposição aos agentes patogênicos, resultante de condições que favorecem o seu crescimento e propagação no ambiente (PIRES, 2000). O estresse, também desencadeia alterações agudas e crônicas nas concentrações plasmáticas de cortisol, que em concentrações elevadas leva a supressão da resposta imune e diminuição do número de leucócitos circulantes Granner (1994). O nível hormonal de cortisol do tratamento *controle* foi maior, isso poderia explicar, em parte a maior ocorrência de casos na fase experimental.

Os animais do tratamento *noite* e *dia* gastaram mais tempo se alimentando, ingerindo água, e ruminando, isso pode explicar em parte a diminuição dos quartos mamários positivos. Entretanto os animais do tratamento que recebeu climatização por *24 horas* não foram observados efeitos na redução dos quartos mamários positivos, provavelmente pela elevada umidade relativa do ar durante todo período. O estresse térmico durante os meses do verão está altamente correlacionado com o aumento da incidência de mastite subclínica no rebanho (COLLIER et al., 1981).

Os principais agentes etiológicos das mastites ambientais são: *E.coli* e *Streptococcus uberis*, (Ribeiro et al., 2001). A frequência de isolamento nos quartos mamários de *Streptococcus uberis*, principal microrganismo causador de mastite ambiental, na fase pré-experimental foi pequena em todos os tratamentos, estes

dados estão de acordo com os encontrados por Costa et al. (2001) que observaram uma frequência de 4,59% em 5668 amostras de leite de glândulas mamárias provenientes de 148 propriedades. Entretanto, Ribeiro et al. (2001), encontraram em 11.125 amostras de leite provenientes de propriedades leiteiras localizadas no estado de São Paulo e sul do estado de Minas Gerais, um alto índice de mastite clínica causada por microrganismos ambientais (20,11%), sendo (32,02%) de *Streptococcus uberis*. Costa et al. (1998) estudando 736 casos de mastite ambiental e 5.246 vacas leiteiras verificaram uma alta ocorrência de *Streptococcus uberis* (21,1%). A pequena incidência de *Streptococcus uberis* encontrada em nosso trabalho pode ser atribuído à defesa da glândula mamária, uma vez que esses microrganismos são extracelulares e em estudo realizado por Lambot et al. (1993) nenhuma cepa foi capaz de produzir substâncias que afetassem a atividade dos polimorfonucleares. As mastites ambientais causadas por *Streptococcus uberis* têm maior ocorrência nas estações mais secas.

A mastite contagiosa é a de maior ocorrência e resulta principalmente da penetração de bactérias através do canal do teto, onde se multiplica, superando os mecanismos de defesa do hospedeiro.

Os principais microrganismos contagiosos são: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Staphylococcus coagulase - negativo* e *Corynebacterium* sp, (COSTA et al., 2000).

A maior frequência de bactérias isoladas dos quartos mamários na fase pré-experimental foi para os *Staphylococcus coagulase - negativa*, com 58,4% para o tratamento controle, 57,2% no tratamento *dia*, 63,5% nos quartos mamários dos animais tratamento *noite* e 60,6% no tratamento *24 horas*. Estes resultados estão de acordo com os achados de Benites et al. (2001), que também encontraram uma maior ocorrência de *Staphylococcus coagulase - negativa* (54,2%) nos fragmentos de parênquima mamário. Embora segundo Harmon e Langlois (1989), Timms e Schultz.(1984) *Staphylococcus coagulase - negativo* e *Corynebacterium bovis* são considerados patógenos menores da mastite, Benites et al. (2001) observaram, maior frequência de *Staphylococcus cogulase - negativo* nos processos inflamatórios crônicos associados aos processos de reparo e verificou que não houve diferença entre os tipos de processo causados por *Staphylococcus coagulase - negativo* ou por *Staphylococcus coagulase - positivo*. No mesmo estudo foi observado que 44,43% das amostras apresentavam processo

inflamatório associado a processo de reparo e 9,29% apresentaram processo de reparo, portanto 55,72% das amostras apresentavam perda da área produtora de leite, devido aos processos de reparo (fibrose e/ou dilatação cística), onde há substituição permanente do tecido glandular por tecido conjuntivo havendo, conseqüentemente perda da capacidade secretora da glândula mamária.

A freqüência de isolamento de *Staphylococcus* coagulase negativo nos quartos mamários dos animais diminuiu da semana pré-experimental para a última semana experimental em todos os tratamentos estes resultados diferiram dos encontrados por Laffranchi et al. (2001) que avaliando o pós-parto de novilhas por um período de 120 dias encontraram uma predominância de *Staphylococcus* coagulase negativo ao longo de todo experimento.

Na fase pré-experimental a freqüência de isolamento de *Corynebacterium* sp nos quartos mamários dos animais foi: 21,7% para o tratamento *controle*, 15,3% para o tratamento *dia*, 16,23% para o tratamento *noite* e 17,21% para o tratamento *24 horas*. A porcentagem de isolamentos de *Corynebacterium bovis* neste estudo foi menor do que as porcentagens encontradas por Costa et al. (1985) e Zani (2005) respectivamente, 37,1% e 32,5%.

A diferença entre as freqüências de isolamentos do gênero *Corynebacterium* sp encontrados na literatura pode ser devido à diferença existente na susceptibilidade genética dos animais e, também pela ação do próprio homem que tem interferido através do combate dos patógenos clássicos causadores de mastite, permitindo que outros microrganismos prevaleçam, se instalem e provoquem doenças conforme relataram Costa et al. (1986).

Verificou-se neste trabalho que entre as espécies do gênero *Staphylococcus* coagulase - positiva predominaram as mastites por *Staphylococcus aureus* que foi de 44,4% para o tratamento *controle*, 27,2% para o tratamento *dia*, 41,6% para o tratamento *noite* e 58,3% para o tratamento *24 horas*. Esses resultados foram semelhantes aos obtidos por vários autores (COSTA et al., 1986; ANDRADE, 2001) que encontraram em amostras de leite uma alta incidência de *Staphylococcus aureus*, 49,2%, 34,3% e 30,2% respectivamente.

Não foi observada diferença significativa entre a CCS da semana pré-experimental quando comparada à última semana da fase experimental. No presente trabalho a CCS alta (454 células/mL) do tratamento *controle* pode ser atribuída ao aumento do isolamento de microrganismos do gênero *Streptococcus*

sp, que de acordo com Della Libera et al. (2001) os estreptococos apresentam grande capacidade de promoverem intensa reação na glândula mamária (Tabela 17).

No tratamento *dia e 24 horas* houve um aumento da freqüência de isolamento de *Staphylococcus* coagulase positivo, predominando o *Staphylococcus aureus* em ambos os tratamentos nos quartos mamários, 49,8% e 47,7% respectivamente, mas não foram encontrados nos tratamentos *controle* e *noite*, entretanto neste estudo 5,5% das amostras desses tratamentos não puderam ser identificadas espécies de *Staphylococcus* sp. Estes agentes infecciosos estão relacionados à resistência à fagocitose devido à sua capacidade de penetração profunda nos tecidos da glândula mamária (Brabes et al. 1999). O aumento do tempo de exposição aos patógenos, associado com o estresse e/ou outro fator que compromete a resistência do animal representa maior risco de infecção do úbere. De acordo com Sutra (1990) algumas cepas de *Staphylococcus aureus* podem produzir uma baixa resposta celular da glândula mamária por causar depressão do sistema imune.

Staphylococcus aureus é o mais importante patógeno da glândula mamária (MENDONÇA et al., 1999), destacando-se como o microrganismo de maior ocorrência nos rebanhos mundiais, sendo de difícil tratamento. Algumas cepas de *Staphylococcus aureus* podem produzir uma baixa resposta celular da glândula mamária por causar uma depressão do sistema imune. Estes microrganismos têm a capacidade de resistir à fagocitose o que contribui para a manutenção na glândula mamária no estágio de portador ou infecções recidivantes Sutra (1990).

A maioria das cepas de *Staphylococcus aureus* produz enterotoxinas, resistentes ao calor, sendo responsáveis pela alta incidência de intoxicação alimentar no mundo (Oliveira et al., 2003). A contagem de células somáticas está aumentada, porém, a não ser que se utilize a caneca telada, os testes indiretos ou que a palpação seja realizada de forma regular, a doença poderá passar despercebida até que parte da capacidade da glândula esteja perdida Mendonça et al. (1999).

Foi observado um aumento na freqüência de isolamentos da *Corynebacterium* sp nas amostras de leite dos quartos mamários de todos os tratamentos. Estes resultados estão de acordo com os reportados por Laffanchi et

al. (2001) e Zani (2005) que verificaram um aumento nos isolamentos de *Corynebacterium bovis* com o transcorrer da lactação.

7 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos no presente trabalho pode-se concluir que:

- ◆ Os equipamentos de climatização não possibilitaram condicionamento ambiental eficiente nas horas mais quentes do dia, uma vez que o ITU permaneceu na faixa considerada crítica em todos os tratamentos;
- ◆ Os animais mantidos no tratamento *noite* apresentaram maior consumo de matéria seca, entretanto isso não converteu em produção de leite;
- ◆ As concentrações hormonais de cortisol encontraram-se acima da faixa de normalidade em todos os tratamentos, evidenciando a condição de estresse;
- ◆ Nos tratamentos *noite* e *dia* houve uma diminuição dos quartos mamários com isolamento de microrganismos;
- ◆ Nos tratamentos que receberam climatização durante o *dia* e *24 horas* os animais apresentaram aumento dos quartos mamários com isolamento de *Staphylococcus aureus*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of Analysis**, Washington, D.C, 13^a ed. Washington, D.C. 1985.

AGUIAR, I.S. et al. Produção de leite de vacas holandesas em função da temperatura do ar e do índice de temperatura e umidade. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 33., 1996, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: SBZ, 1996. p.617-619.

ALBRIGHT, J. Dairy animal welfare: current and need research. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.70, p.2711-2718, 1987.

ALBRIGHT, J. Feeding behavior of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.76, p.485-498, 1993.

ANDERSON, B.E. Regulação da temperatura e fisiologia animal. In: DUKES, H.H. **Fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. cap.45, p.623-630.

ANDRADE, M.A. Mastite bovina subclínica: prevalência, etiologia e testes de sensibilidade a drogas antimicrobianas. **Veterinary News**, Pennsylvania, v.49, p.1-11, 2001.

ARAÚJO, M.L.C.; ANDRIOLLI, J.L. *Staphylococcus aureus*: resistance patterns to antimicrobial and penicillinase among strains isolates from apparently lactation cows. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v.1, n.27, p.60-63, 1996.

ARCARO JUNIOR, I.; NAAS, I.A.; ARCARO, J.R.P. Dairy response for shade associated to cooling equipment. In: ASAE ANNUAL INTERNATIONAL MEETING, 2000, Wisconsin. **Anais...** Wisconsin, 2000. p.4.

ARMSTRONG, D.V. Heat stress interaction with shade and cooling. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.77, p.2044-2050, 1994.

ARMSTRONG, D.V.; WELCHERT, P.E. Dairy cattle housing to reduce stress in a hot arid climate. In: INTERNATIONAL DAIRY HOUSING CONFERENCE, 3., 1994, Orlando. **Abstracts...** Orlando, 1994. p.598-604.

BACCARI JR., F. Adaptação de sistemas de manejo na produção de leite em climas quentes. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AMBIÊNCIA NA PRODUÇÃO DE LEITE, 1, 1998, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1998. p.24-67.

_____. **Manejo ambiental da vaca leiteira em climas quentes.** Londrina: UEL, 2001.

BACCARI JR., F.; RAMOS, A.A.; VILLARES, J.B. Temperaturas internas e externas de bovinos chianina e zebuínos Nelore. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DA RAÇA CHIANINA, 2., 1978, São Paulo. **Anais...** São Paulo, 1978. p.147-153.

BAÊTA, F.C.; SOUZA, C.F. **Ambiência em edificações rurais – conforto animal.** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1985.

BARBALHO, T.C.F.; MOTA, R.A. Isolamento de agentes bacterianos envolvidos em mastite subclínica no estado de Pernambuco. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.2, p.31-36, 2001.

BARRA, G.B. et al. Mecanismo molecular da ação do hormônio Tireoideano. **Arquivo Brasileiro Endocrinologia e Metabolismo**, v.48, n.1, p.25-38, 2004.

BARTLETT, P.C. et al. Managerial determinants of intramammary coliform and environmental streptococci infections in Ohio dairy herds. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.75, p.1241-1252, 1992.

BEEDE, D.K.; COLLIER, R.J. Potential nutritional strategies for intensively managed cattle during thermal stress. **Journal Animal Science**, Savoy, v.62, p.543-545, 1986.

BENITES, N.R. et al. Etiologia e histopatologia de mastites bovinas de ocorrência espontânea. **Revista do Núcleo de Apoio a Pesquisa em Glândula Mamária e Produção Leiteira**, São Paulo, v.4, n.1, p.3-8, 2001.

BENJAMIN, M.M. **Fluid and electroelectrolytes.** Outline of veterinary clinical pathology. Ames: Iowa State University, 1981.

BENTLEY INSTRUMENTS. ChemSpeck 150: user's guide, Chaska, 1998.

BERMAN, A. et al. Upper critical temperature and forced ventilation effects of high yielding dairy cows in a tropical climate. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.67, p.488-495, 1985.

BLOOD, D.C.; RADOSTITS, O.M. Mastitis. **Veterinary Medicine**. London: Baillière Tindall, p.501-559, 1991.

BOND, T.E.; KELLY, C.F. The globe thermometer in agriculture research. **Agriculture Engineering**, Columbia, v.36, p.251-260, 1955.

BRABES, K.C.S. et al. Participação de espécies coagulase positivas e negativas produtoras de enterotoxinas do gênero *Staphylococcus* na etiologia de casos de mastite bovina em propriedades de produção leiteira dos Estados de São Paulo e Minas gerais. **Revista do Núcleo de Apoio a Pesquisa em Glândula Mamária e Produção Leiteira**, São Paulo, n.3, p.4-10, 1999.

BRASIL. Ministério do Planejamento Orçamentário e Gestão IBGE. **Banco de dados agregados**. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp>>. Acesso em: 02 set. 2004.

BUCKLIN, R.A.; BRAY, D.R. The american experience in dairy management in warm and hot climates. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AMBIÊNCIA NA PRODUÇÃO DE LEITE, 1., 1998, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1998. p.156-174.

BROOM, D.M. Animal welfare: concepts and measurement. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.69, p.4167-4175, 1991.

BUENO, V.F. et al. Mastite bovina clínica e subclínica, na região de Pirassununga, SP: freqüências e redução na produção. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.32, p.47-52, 2002.

BUFFINGTON, D.E. et al. Black globe-humidity index (BGHI) as comfort equation for dairy cows. **Transactions of ASAE**, St. Joseph, MI, USA, v.24, p.711-14, 1981.

CAMARGO, A.C. **Comportamento de vacas da raça holandesa em um confinamento do tipo 'freestall', no Brasil central**. 1988. 146p. Tese (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiros, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1988.

CAMPOS, A.T. **A importância da água para o gado de leite.** Embrapa – Gado de Leite. Disponível em: <<http://www.sbz.org.br>>. Acesso em: 20 mar. 2003.

CAPPA, V. et al. Effect of environment variations (microclimate) on the performance of dairy cows. **Scienza e Tecnica Latiero-Casearia**, Sardegna, v.40, p.98-115, 1989.

CARGILL, B.F.; STEWART, R.E. Effects of humidity on total heat and total vapor dissipation of Holstein cows. **Transactions of ASAE**, v.9, n.5, p.702-708, 1966.

CHANDLER, P.T. Problems of heat stress in dairy cattle examined. **Feedstuff**, Minnetonka, v.59, n.25, p.15-16, 1987.

CHASTAIN, J.P.; TURNER, L.W. Practical results of a model of direct evaporative cooling of dairy cows. In: INTERNATIONAL DAIRY HOUSING CONFERENCE, 3., 1994, Orlando. **Proceedings...** Orlando: ASAE, 1994. p.337-352.

CHRISTON, G.L.; JOHNSON, H.D. Cortisol turnover in heat stressed to pasture. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.53, p.1005-1010, 1972.

COLLIER, R.J. et al. Shade management in subtropical environment for milk yield and composition in Holstein and jersey cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.64, p.844-849, 1981.

COLLIER, R.J. et al. Effects of heat stress during pregnancy on maternal hormone concentrations, calf birth weight and postpartum milk yield of Holstein cow. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.54, p.309-319, 1982.

COSTA, E.O. Importância da mastite na produção leiteira do país. **Revista Educação Continuada**, São Paulo, v.1, p.3-9, 1998.

COSTA, E.O. et al. Estudo da etiologia das mastites bovinas nas sete principais bacias leiteiras do Estado de São Paulo. **Revista do Núcleo de Apoio a Pesquisa em Glândula Mamária e Produção Leiteira**, São Paulo, v.3, n.4, p.6-13, 2000.

_____. Etiologia bacteriana da mastite bovina no Estado de São Paulo. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v.17, n.2, p.107-112, 1986.

_____. Estudo etiológico da mastite clínica bovina. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v.17, n.4, p.156-158, 1995.

_____. Infecções intramamárias em novilhas primíparas no período pré ao pós-parto e sua importância no controle de mastite. **Revista do Núcleo de Apoio a Pesquisa em Glândula Mamária e Produção Leiteira**, São Paulo, n.1, p.16-20, 1999.

_____. Patógenos de mastite bovina isolados de glândulas mamárias negativas aos teste de Tamis e CMT. **Revista do Núcleo de Apoio a Pesquisa em Glândula Mamária e Produção Leiteira**, São Paulo, v.4, n.2, p.12-16, 2001.

COSTA, M.J.R. Aspectos do comportamento das vacas leiteiras em pastagens neo tropicais. In: ENCONTRO PAULISTA DE ETOLOGIA, 3., 1985, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto, 1985. p.199-217.

CUNNINGHAM, J.G. **Tratado de fisiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

DAMASCENO, J.C.; BACCARI JUNIOR, F.; TARGA, L.A. Respostas comportamentais de vacas holandesas, com acesso à sombra constante ou limitada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.4, p.709-715, 1999.

DAVIS, M.S. Effects of water application to feedlot mound during the summer. In: INTERNATIONAL LIVESTOCK ENVIRONMENT SYMPOSIUM, 6., 2001, Fluisville. **Proceedings...** Louisville: ASAE, 2001. CD-ROM.

DELLA LIBERA, A.M.M.P. et al. Características físico-químicas e microbiológicas do leite de vacas sem alteração ao exame físico de glândula mamária e com alta contagem de células somáticas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.1, p.42-47, 2001.

DOMINGUES, P.F. et al. Concentrações plasmáticas de estradiol, prolactina e cortisol em vacas com mastite subclínica. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, n.107, p.9-11, 1999.

DROKE, E.A.; PAAPE, M.J.; DI CARLO, A.L. Prevalence of high somatic cell counts in budlk tank goat milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.76, p.1035-1039, 1993.

DU PREEZ, J.H. Parameters for determination and evaluation of heat stress in dairy cattle in South Africa. **Onderstepoort Journal Veterinary Research**, Pretória, v.67, p.263-271, 2000.

DU PREEZ, J.H. et al. 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. **Onderstepoort Journal Veterinary Research**, Pretória, v.57, n.3, p.243-248, 1990a.

_____. Heat stress in dairy cattle and other livestock under southern African conditions. III. Identifications of areas of potential heat stress during summer by means of observed true and predicted temperature-humidity index values. **Onderstepoort Journal Veterinary Research**, Pretória, v.57, n.3, p.183-187, 1990b.

FAGLIARI, J.J. Mastite bovina: comparação entre os resultados obtidos pelo Califórnia Mastitis Teste o exame bacteriológico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.35, n.3, p.310-315, 1983.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos Ed., 2000.

FRASER, A.F.; BROOM, D.M. **Farm animal behavior and welfare**. 3.ed. London: Bailliere Tindall, 1990.

FRAZZI, E. et al. The aeration, with or without miting: effects on heat stress in dairy cows. In: INTERNATIONAL LIVESTOCK ENVIRONMET SYMPOSIUM, 5., 1997, Minnesota. **Proceedings...** St. Joseph: ASAE, 1997. p.907-914.

_____. Behavior of dairy cows with different cooling systems during the summer. In: INTERNATIONAL DAIRY HOUSE CONFERENCE, 4., 1998, ST Louis. **Proceedings...** St. Louis, 1998. p.224-231.

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

GIESECKE, W.H. The effect of stress on udder health of dairy cows. **Ondestepoort Journal Veterinary Research**, Pretória, v.52, p.175-193, 1985.

GIRAUDO, J.A. Conceptos basicos sobre imunologia de la glandula mamaria y utilización de vacunas contra mastitis. In: ENCONTRO DE PESQUISADORES EM MASTITE BOVINA DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2., 1996, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Instituto de Zootecnia, 1996. p.73-86.

GOERING, H.K.; VAN SOEST, P.J. Forage fiber analysis. **Agriculture Handbook**, p.379, 1070.

GRANNER, D.K. Hormônios do córtex adrenal. In: **HAPPER: Bioquímica**. 7.ed. São Paulo: Atheneu, 1994. cap.49, p.531-549.

GRANT, R.J.; ALBRIGHT, J.L. Feeding behavior and management factors during the transition period in dairy cattle. *Journal of Animal Science*, Savoy, v.73, 2791-2803, 1995.

HABEED, A.A.M. et al. Heat stress. In: PHILLIPS, C.; PIGGINNS, D. **Farm animals and the environment**. Wallingford: CAB International, 1992. p.27-47.

HAHN, G.L. Management and housing of frm animals in hot environment. In: YOUSEF, M.K. (ed). **Stress physiology in livestock**. Boca Ration: CRC PRESS, 1985. v.2, p.151-174.

HAHN, G.L.; MADER, T.L. Heat waves in relation o thermoregulation, feeding behavior, and mortality of feedlot cattle. In: INTERNATIONAL LIVESTOCK ENVIRONMENT SYMPOSIUM, 5., 1997, Minnesota. **Proceedings...** St Joseph: ASAE, 1997. p.125-129.

HANSEN, P.J.; LANDER, M.F. Coat calor and heat stress in cattle. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON LIVESTOCK IN THE TROPICS, 1988, Flórida. **Proceedings...** Flórida: University of Flórida, 1988. p.14-19.

HEAD, H.H. Management of dairy cattle in tropical and subtropical environments. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BIOMETEROLOGIA, 1995, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: SBBiomet, 1995. p.26-68.

HEAD, H.H. The strategic use of the physiological potential of the dairy cow. In: SIMPÓSIO LEITE NOS TRÓPICOS: novas estratégias de produção, 1989, Botucatu. **Anais...** Botucatu, 1989. p.38-89.

HOGAN, J.S.; SMITH, K.L. Environmental Streptococcal mastitis: facts, fables and fallacies. In: INTERNATIONAL DAIRY HOUSING PROCEEDING, 6., 2003, Texas. **Proceedings...** Texas, 2003. p.7.

HUBER, J.T. Alimentação de vacas de alta produção sob condições de estresse térmico. In: SIMPÓSIO SOBRE BOVINOCULTURA LEITEIRA, 1990, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1990. p.33-48.

_____. Manejo de animais em sistema de estabulação livre visando maximizar o conforto e a produção. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GADO LEITEIRO, 2., 1995, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba, 1995. p.41-68.

IGONO, M.O. et al. Environmental profile and critical temperature effects on milk production of Holsteins cows in desert climate. **International Journal of Biometeorology**, Córdoba, v.36, p.77-87, 1992.

_____. Spray cooling effects on milk production, milk and rectal temperature of cows during a moderate temperature summer season. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.68, p.979-85, 1985.

JANOSI, S.; BALTAY, Z. Correlations among the somatic of individual bulk milk, result of the California mastitis test and bacteriological of the udder in dairy cows. **Acta Veterinaria Hungaria**, Budapest, v.52, n.2, p.173-83, 2004.

JOHNSON, H.D. Environmental management of cattle to minimize the stress of climatic change. **International Journal of Biometeorology**, Córdoba, v.24, p.65-78, 1980.

JOHNSON, H.D. **Bioclimatology and adaptation of livestock**. Amsterdam:Elsevier, 1987.

KALOGRIDOU-VASSILIADOU, D.; MANOLKIDIS, K.; TSIGOIDA, A. Somatic cell counts in relation to infection status of the goat udder. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v.59, p.21-28, 1992.

KEHRLI, M.E.; HARP, J. Immunity in the mammary gland. **The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v.17, n.3, p.495-516, 2001.

KEISTER, Z, et al. Physiological Responses in Thermal Stressed Jersey Cows Subjected to Different management Strategies. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.85, p.3217-3224, 2002.

KRON, C.C.; MUNKSGAARD, L. Behavior of dairy cows kept in extensive (loose housing/pasture) or intensive (tie stall) environment. 2 lying and lying down behavior. **Applied Animal Behavior Science**, Amsterdam, v.37, p.1-6, 1993.

LAFFRANCHI, A. et al. Etiologia das infecções intramamárias em vacas primíparas ao longo dos primeiros quatro meses de lactação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31,n.6, p.1-10, 2001.

LAMBOT, M. Streptococcal products and leukocyte acties. **Veterinary imunology and immunopathology**, V.1-2,n.3, P.129-140, 1993.

LEIGHT, J.A. Streptococcus uberis: a pemanent barrier to the control of bovine mastitis. **Veterinary Journal**, v.157, p.225-238, 1999.

LIN, J.C. et al. Comparison of various fan, sprinkler, and mist systems in reducing heat stress in dairy cows. **Applied Engineering in Agriculture**, St Joseph, v.14, n.2, p.177-182, 1988.

MACHADO, P.F. Efeitos da alta temperatura sobre a produção, reprodução e sanidade de bovinos leiteiros. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AMBIÊNCIA NA PRODUÇÃO DE LEITE, 1., 1998, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba, 1998. p.179-188.

MARCHETO, F.G. et al. Efeito das temperaturas de bulbo seco e globo negro e do índice de temperatura e umidade, em vacas em produção alojadas em sistema de *free-stall*. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v.39, n.6, p.320-323, 2002.

MARQUES, D. **Calor**: conhecimentos e cuidados para minimizar seus efeitos sobre os frangos. Amparo: CASP, 1992.

MARTELLO, L.S. **Diferentes recursos de climatização e sua influência na produção de leite, na termorregulação dos animais e no investimento das instalações**. 2002. 67 p. Tese (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2002.

MATARAZZO, S.V. **Eficiência do sistema de resfriamento adiabático evaporativo em confinamento do tipo freestall para vacas em lactação.** 2004. 143 p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

McDOWELL, R.E. **Bases biológicas de la producción animal en zonas tropicales.** Zaragoza: Acribia, 1975.

McDOWELL, R.E.; JOHNSTON, J.E. Research under field conditions. In ; **National Academy of Sciences** (ed). A guide to environmental research on animals. Washington:306-59, 1971.

MEANEY, W.J. Mastitis levels in spring-calving dairy heifers. **Irish Veterinary Journal**, v.75, p.1835-1839, 1992.

MENDONÇA, C.L. et al. Etiologia da mastite bovina. **Notícias Veterinárias**, v.5, n.1, p.107-116, 1999.

MONTY JUNIOR, D.E.; GARBARENO, J.L. Behavior and physiologic response of Holstein-Friesian cows to high environmental temperature and artificial cooling in Arizona. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v.39, p.877-882, 1978.

MORAES, D.A.E. et al. Níveis plasmáticos de hormônios tireoideanos de vacas leiteiras em ambiente quente e seco. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2002, Recife. **Anais...** Recife, 2002. p.1-4.

MOTA, L.S. **Adaptação e interação genótipo-ambiente em vacas leiteiras.** 1997. 69 p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1997.

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

NÄÄS, I. A.; ARCARO JÚNIOR, I. Influência de ventilação e aspersão em sistemas de sombreamento artificial para vacas em lactação em condições de calor. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.5, n.1, p.139-142, 2001.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. Washington, D.C.: National Academy of Science; National Academy Press, 1989.

OLIVEIRA, C.Z.F. et al. Presença de *Staphylococcus aureus* e espécies correlatas em amostras de hambúrguer bovino e influência da cocção sobre esses microorganismos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v.25, n.5/6, p.196-201, 2003.

PARDO, P.E. et al. Etiologia das infecções intramamárias em vacas primíparas no período pós-parto. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.18, n.3, p.1-9, 1998.

PEARSON, J.K.L.; GREER, D.O.; SPENCE, B. K. The relationship between bulk milk cell counts and cows and quarter mastitis incidence. **Veterinary Record**, London, v.88, p.488-494, 1971.

PERERA, K.S. et al. Effect of season and stage of lactation on performance of Holstein. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.69, p.28-236, 1986.

PERISSINOTO, M. **Avaliação da eficiência produtiva e energética de sistemas de climatização em galpões tipo freestall para confinamento de gado leiteiro**. 2003. 122 p. Tese (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

PHILPOT, W.N. Qualidade do leite: passado, presente e futuro. In: **CONGRESSO PAN-AMERICANO DE QUALIDADE DO LEITE E CONTROLE DE MASTITE**, 2002. Ribeirão Preto – SP. Anais ..., Ribeirão Preto, 2002.

PHILPOT, W.N. NICKERSON, S.C. Mastitis: counters attack, Babson Bros, Napersville, 1991.

PIRES, M.F.A. et al. Reflexos do estresse térmico no comportamento das vacas em lactação. In: **SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AMBIÊNCIA NA PRODUÇÃO DE LEITE**, 1., 1998, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1998. p.68-102.

PIRES, M.F.A. Ambiência na Produção de leite. In: **SIMPÓSIO SOBRE MANEJO, NUTRIÇÃO E SANIDADE DE GADO LEITEIRO, 2000**, São Carlos. Anais... São Carlos, 2000.p.251-283.

POSSA, K. **Aspectos do comportamento de bovinos da raça Aberdeen-angus, Nelore e seus mestiços em pastagens tropicais.** 1989. 50 p. Monografia (Graduação) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1989.

PRESTES, D.S.; FILAPPI, A.; CECIM, M. Susceptibilidade à mastite: fatores que a influenciam – uma revisão. **Revista da Faculdade de Zootecnia Verinária e Agronomia Uruguaiana**, Uruguaiana, v.9, n.1, p.48-59, 2002.

RADOSTITIS, O.M.; LESLIE, K.E.; FETROW, J. **Herd health : food animal production medicine.** 2 ed. Philadelphia: Saunders, 1994

RENEAU, J.K. Clinical mastitis records in production medicine programs. **The Compendium for Continuing Education- Food Animal Practice**, v.15, n.3, p.497-502, 1993.

RIBEIRO, A.R. et al. Influência da sazonalidade na ocorrência de mastite bovina por microrganismos ambientais. **Revista do Núcleo de Apoio a Pesquisa em Glândula Mamária e Produção Leiteira**, São Paulo, v.4, n.4, p.10-14,2001.

RIBEIRO, M.E.R. et al. Relação entre mastite clínica, subclínica infecciosa e não infecciosa em unidade de produção leiteiras na região Sul do Rio Grande do Sul. **Agrociência**, Pelotas, v.9, n.3,p.1-4, 2003.

RODRIGUEZ, L.A. et al. Effects of relative humidity, maximum and minimum temperature, pregnancy, and stage of lactation milk composition and yield. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.68, p.973-978, 1985.

ROSENBERG, G. **Exame clínico dos bovinos.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1983. p.329-341.

ROUSSEL, J.D. et al. Effect of thermal stress on the incidence of abnormal milk. **Journal Dairy Science**, Champaign, v.52, p.912, 1969.

SAS. **User' guide:** statistics. Cary, NC.: SAS Inst. Inc., 1990. version 5.

SCHALM, O.W.; NOORLANDER, D.O. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis test. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.130, n.5, p.199-204, 1957.

SCOTT, I.M.; JOHNSON, H.D.; HANN, G.L. Effect of programmed diurnal temperatures cycles on plasma thyroxine level, body temperature and feed intake of Holstein dairy cows. **International Journal of Biometeorology**, Córdoba, v.1, p.47-62, 1983.

SELYE, H.A. A Syndrome produced by diverse noxious agents. **Nature**, New York, p.138, 1936.

SHEARER, J.K.; BEEDE, D.K. Thermoregulation and physiological responses of dairy cattle in hot weather. **Agriculture Practice**, v.11, 5-17, 1990.

SHULTZ, T.A. Weather and shade effects on cows corral activities. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.67, p.868-873, 1984.

SILANIKOVE, N. Effects of heat stress on welfare of extensively managed domestic ruminants. **Livstock Production Science**, v.67, p.1-18, 2000.

SILVA, R.G. Estimativa do balanço térmico para radiação em vacas holandesas ao sol e a sombra. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BIOMETEOROLOGIA, 2., 1998, **Anais...** Goiânia, 1998. p.118-128.

SILVA, I.J.O. Vacas produzem mais e melhor em ambientes adequados. **Revista Balde Branco**, v.35, p.20-27, 1999.

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

_____. **Introdução à bioclimatologia animal**. São Paulo: Nobel, 2000.

SMITH, B.P. **Tratado de medicina veterinária interna de grandes animais**. São Paulo: Manole, 1993.

SORDILLO, L.M. et al. Duration of experimentally induced *Corynebacterium bovis* colonization of bovine mammary glands during the lactating, nonlactating, and peripartum periods. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v.50, n.2, p.267-270, 1989.

SOTA, R.L. Fisiologia ambiental: mecanismos de respuestas del animal al estress calórico. In: JORNADA DE MANEJO DEL ESTRESS CALÓRICO, 1., 1996, La Plata. **Anais...** La Plata: EDUSP, 1996. p.1-43.

SOUZA, S.R.L. **Análise do ambiente físico de vacas leiteiras alojadas em sistema de freestall**, 2003, p.60. Tese (Mestrado) – Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, 2003.

SPAIN, J.N.; SPIERS, D.E.; SAMPSON, J.D. A study to compare nighttime cooling strategies on Comercial Dairy. In: INTERNACIONAL SYMPOSIUM LOUISVELLE, 6., 2001, Kentuck. **Proceedings...** Kentuck, 2001, 6p.

STARLING, J.M.C.; SILVA, R.G. Variação nos níveis de cortisol, T3 e T4 de ovinos em ambiente tropical. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BIOMETEOROLOGIA, 2., 1998, Goiânia. **Anais...** Goiânia, 1998. p.367-375.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEMS FOR PERSONAL COMPUTERS, 1990-1993. **GRAPHPAD INSTAT** software.

STOBER, M. Identificação, anamnese, regras básicas da técnica do exame clínico peral. In: ROSEMBERG, (Ed). **Exame clínico dos bovinos**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993.

SUTRA, L. Phagocytosis of mastitis isolates of *S.aureus* and expression of type 5 capsular polysaccharidae are influenced by growth in the presence of milk. **Journal of Clinical Microbiology**, v.28, n.10, p.2253-2258, 1990.

TAYLOR, S.E. et al. Evaporative cooling for dairy cows in Flórida, Transactions of ASAE, St Joseph, MI, 1986.

TIMMIS, L.L.; SCHULTTZ, L.H. Mastitis therapy for cows with elevated somatic counts or clinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.67, p.367-371, 1984.

TITTO, E.A. et al. Estudo da tolerância ao calor em tourinhos das raças Marchigiana, Nelore e Simental. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BIOMETEOROLOGIA, 1998, Goiânia. **Anais...** Goiânia: SBBiomet, 1998. p.361-366.

TITTO, E.A.L. Clima: influência na produção de leite. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AMBIÊNCIA NA PRODUÇÃO DE LEITE, 1., 1998, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba:FEALQ, 1998. p.10-23.

TIZARD, I.R. *Imunologia Veterinária: uma Introdução*, 6 ed. São Paulo:Roço, 2002.

TODHUNTER, D.A.; SMITH, K.L.; HOGAN, S. Environmental streptococcal intramammary infection of bovine mammary gland. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.7, p.2366-2374, 1995.

TURNER, L.W. et al. Reducing heat stress in dairy cows through sprinkler and fan cooling. **Applied Engineering in Agriculture**, Kansas, v.8, n.3, p.375-379, 1992.

VALTORTA, S.E.; GALLARDO, M. El estres por calor en produccion lechera. **Temas de Produccion Lechera**, n.81, p.85-112, 1996.

VASILATOSE, R.; WANGSNESS, P.J. Feeding behavior of lactation dairy cows as measured by time-lapse photography. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.63, p.412-416, 1980.

WARRISS, P.D. **Meat Science: an introductory text**, Wallingford:CABI Publishing, 2000

WEGNER, T.N. et al. Effect of stress on blood leucocyte and milk somatic cell counts in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.59, p.949, 1976.

WEST, J.W. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.86, p.2131-2144, 2003.

WHITAKER, J.H. **Agricultural building and structure**. Heston: Heston Publishing Company, 1979.

WIERSMA, F.; SCTOTT, C.H. Evaporative cooling. In: HELLICKSON, M.A.; WALKER, J.N. **Ventilation of agricultural structures**. St. Joseph: ASAE, 1983. p.113-118.

WISE, M.E. et al. Hormonal alterations in the lactating dairy cow in responde to thermal stress. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.71, p.2480-2485, 1988.

ZANI, J.L. **Potencial de infecção e vias de transmissão da mastite por *Corynebacterium bovis***. 2005. 59 p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

ZOA-MBOE, A. et al. Effects of bovine somatotropin on milk yield composition, dry matter intake, and some physiological functions of Holstein cows during heat stress. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.71, p.907-916, 1989.

ANEXO

Monitoramento Climatológico: Nova Odessa no período de 02/01/2003 até 02/04/2003

Período	Temp. Máxima Absoluta	Temp. Mínima Absoluta	Média das Temp. Máximas (°C)	Média das Temp. Mínimas	Temp. Média	ETP	Chuva (mm)	Chuva Acumulada Mensal	Dias Com Chuva no Mês
02/01/2003 a 05/01/2003	33,8	20,2	31,0	20,7	25,9	18	35,0	35,0	3
06/01/2003 a 08/01/2003	35,9	15,1	34,4	17,8	26,1	13	7,0	42,0	4
09/01/2003 a 12/01/2003	35,8	18,9	33,2	20,2	26,7	18	9,0	51,0	6
13/01/2003 a 15/01/2003	34,3	17,8	30,6	18,5	24,6	13	31,0	81,0	8
16/01/2003 a 19/01/2003	35,1	18,0	33,9	19,0	26,4	18	33,0	114,0	12
20/01/2003 a 22/01/2003	33,2	19,2	32,2	20,1	26,2	13	14,0	128,0	13
23/01/2003 a 26/01/2003	32,0	18,8	30,6	20,0	25,3	16	55,0	183,0	17
27/01/2003 a 29/01/2003	26,7	19,2	26,2	19,4	22,8	11	36,0	219,0	20
30/01/2003 a 02/02/2003	36,7	18,6	31,3	19,1	25,2	16	56,0	275,0	22
03/02/2003 a 05/02/2003	36,4	19,1	35,5	19,5	27,5	13	0,0	0,0	1
06/02/2003 a 09/02/2003	36,3	19,4	35,7	20,7	28,2	18	0,0	1,0	3
10/02/2003 a 12/02/2003	36,2	19,9	35,6	20,1	27,9	13	0,0	1,0	3
13/02/2003 a 16/02/2003	34,6	18,7	30,4	19,2	24,8	15	42,0	42,0	7
17/02/2003 a 19/02/2003	32,4	17,6	29,0	19,2	24,1	12	4,0	47,0	10
20/02/2003 a 23/02/2003	36,0	20,5	34,4	20,9	27,7	18	3,0	49,0	14
24/02/2003 a 26/02/2003	37,5	19,1	36,4	19,8	28,1	13	1,0	50,0	17
27/02/2003 a 05/03/2003	37,7	16,8	36,1	18,1	27,1	28	1,0	50,0	17
06/03/2003 a 09/03/2003	34,3	18,6	30,7	19,2	24,9	15	2,0	3,0	6
10/03/2003 a 12/03/2003	29,4	19,9	28,3	20,2	24,3	12	2,0	4,0	9
13/03/2003 a 16/03/2003	33,0	17,6	32,0	19,2	25,6	14	5,0	9,0	11
17/03/2003 a 19/03/2003	31,5	17,0	30,0	17,8	23,9	11	0,0	9,0	11
20/03/2003 a 23/03/2003	32,1	15,2	28,9	17,8	23,3	12	17,0	26,0	13
24/03/2003 a 26/03/2003	31,3	17,4	30,4	17,6	24,0	9	0,0	26,0	13
27/03/2003 a 30/03/2003	33,1	14,8	31,4	16,3	23,8	12	23,0	50,0	15
31/03/2003 a 02/04/2003	33,6	14,2	33,1	15,8	24,4	10	0,0	50,0	15