

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**INDICADORES FISIOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS DE VACAS, NOVILHAS E  
BEZERRAS BUBALINAS MANTIDAS EM SISTEMA PASTORIL DURANTE A ESTAÇÃO  
QUENTE COM ACESSO A DIFERENTES RECURSOS DE MITIGAÇÃO DE CALOR**

CINDY ANNE KLAUSBERGER XIMENES

Porto Alegre

2023

CINDY ANNE KLAUSBERGER XIMENES

**INDICADORES FISIOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS DE VACAS, NOVILHAS E  
BEZERRAS BUBALINAS MANTIDAS EM SISTEMA PASTORIL DURANTE A ESTAÇÃO  
QUENTE COM ACESSO A DIFERENTES RECURSOS DE MITIGAÇÃO DE CALOR**

Dissertação apresentada como requisito  
para obtenção do Grau de Mestre em  
Zootecnia, na Faculdade de Agronomia, da  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Orientadora: Vivian Fischer

Porto Alegre

2023

## CIP - Catalogação na Publicação

Ximenes, Cindy Anne Klausberger  
INDICADORES FISIOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS DE  
VACAS, NOVILHAS E BEZERRAS BUBALINAS MANTIDAS EM  
SISTEMA PASTORIL DURANTE A ESTAÇÃO QUENTE COM ACESSO A  
DIFERENTES RECURSOS DE MITIGAÇÃO DE CALOR / Cindy Anne  
Klausberger Ximenes. -- 2023.  
95 f.  
Orientadora: Vivian Fischer.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de  
Pós-Graduação em Zootecnia, Porto Alegre, BR-RS, 2023.

1. bubalinos. 2. comportamento. 3. imersão. 4.  
sombra. 5. categorias. I. Fischer, Vivian, orient.  
II. Título.

Cindy Anne Klausberger Ximenes  
Zootecnista

## DISSERTAÇÃO

Submetida como parte dos requisitos  
para obtenção do Grau de


### MESTRE EM ZOOTECNIA

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia  
Faculdade de Agronomia  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovada em: 30.03.2023  
Pela Banca Examinadora

Documento assinado digitalmente  
 **VIVIAN FISCHER**  
Data: 24/04/2023 17:16:50-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>


VIVIAN FISCHER  
PPG Zootecnia/UFRGS  
Orientador

Documento assinado digitalmente  
 **ANA LUIZA BACHMANN SCHOGOR**  
Data: 03/05/2023 10:28:21-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Ana Luiza Bachmann Schogor  
UDESC

Documento assinado digitalmente  
 **ELISA CRISTINA MODESTO**  
Data: 24/04/2023 18:09:37-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Elisa Cristina Modesto  
UFRRJ


Documento assinado digitalmente  
 **RICARDO ALEXANDRE SILVA PESSOA**  
Data: 04/05/2023 14:45:24-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Ricardo Alexandre Silva Pessoa  
UFRPE

Homologado em: 07/06/2023  
Por

**Sergio Luiz Vieira**  Assinado de forma digital por  
Sergio Luiz Vieira  
Dados: 2023.06.14 11:04:13 -03'00'

Sergio Luiz Vieira  
Coordenador do Programa de  
Pós-Graduação em Zootecnia

Documento assinado digitalmente  
 **CARLOS ALBERTO BISSANI**  
Data: 16/05/2023 15:01:19-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

CARLOS ALBERTO BISSANI  
Diretor da Faculdade de Agronomia

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida e pela oportunidade de aprender a cada dia. Agradeço a minha família por sempre acreditar em mim, especialmente aos meus pais Carlos e Adriana e meu irmão Jonas, por serem meus pilares em todas minhas jornadas. Ao meu namorado Douglas por sempre me apoiar e acreditar que posso ir muito mais além. A toda minha família, obrigada pelo grande e imenso amor, carinho, compreensão, paciência e pela credibilidade que sempre me deram. Amo vocês!

As minhas amigas Bruna Schmitz, Bruna Valenzuela e Delane Ribas da Rosa, minhas companheiras incansáveis nesta jornada acadêmica, com vocês o caminho foi mais leve, obrigada por tudo meninas.

A minha estimada orientadora Dr<sup>a</sup> Vivian Fischer, por todo carinho, orientação, apoio, confiança e principalmente pelas conversas, compreensão e conselhos em sua salinha. Admiro muito você, como pessoa, professora e mãe.

Meu especial agradecimento aos professores que me apresentaram a bubalinocultura, e mudaram minha visão e formação como zootecnista, Professora e amiga, Elisa Cristina Modesto, e Professor, em sua memória, Harold Ospina Patino.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia pela oportunidade, CAPES e ao CNPQ, este último pela concessão de bolsa de estudos.

A Estação Experimental Agronômica da UFRGS e a todos os seus colaboradores, obrigada por todo apoio nessa difícil jornada que é a pesquisa científica brasileira. Obrigada pelo carinho e cuidado comigo e com todos os alunos que passam pela nossa querida fazenda escola.

Aos alunos que participaram deste projeto, as bolsistas Juliany e Betina, e especialmente aos alunos voluntários, Carol, Fernanda, Paola e Rhenan.

A todos que de alguma maneira contribuíram na minha trajetória, eu agradeço de coração.

*“Uns tem e não podem, outros podem e não tem,  
nos que temos e podemos, a vós agradeceis Senhor,  
Amém.”*

## **INDICADORES FISIOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS DE VACAS, NOVILHAS E BEZERRAS BUBALINAS MANTIDAS EM SISTEMA PASTORIL DURANTE A ESTAÇÃO QUENTE COM ACESSO A DIFERENTES RECURSOS DE MITIGAÇÃO DE CALOR**

Autora: Cindy Anne Klausberger Ximenes

Orientadora: Dr<sup>a</sup> Vivian Fischer

### **RESUMO**

Devido a sua coloração escura, bubalinos absorvem a radiação solar com mais intensidade e acabam se tornando mais sensíveis em criações a campo sem sombra, mas frequentemente esse fato não é considerado em criações a campo. Este estudo objetivou avaliar o uso e os efeitos de diferentes recursos de enriquecimento ambiental sobre o repertório comportamental e características fisiológicas de diferentes categorias de fêmeas bubalinas mantidas em sistema pastoril durante a estação quente. Os dados foram coletados de dezembro de 2021 a abril de 2022. Vinte bubalinas do rebanho da Estação Experimental (EEA/UFRGS) classificadas em três categorias foram divididas em dois tratamentos. O primeiro disponibilizou somente sombra (CS) e o segundo sombra e água para imersão (CSA) como formas de enriquecimento ambiental. Os animais ficaram no pasto, onde foram observados a cada 15 dias. As observações foram realizadas de forma individual e focal, a cada 5 minutos por 12 horas diurnas. Foram registradas as atividades de pastejo (TPast), ruminação (TRum), ócio (TOcio), se o animal estava em pé (TPé) ou deitado (TDeit), e se estava no sol (TSol), na sombra (TSom) ou imerso na água (TAg), em locomoção (TLoc) e tempo próximo do bebedouro (BA). Variáveis fisiológicas como frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), temperatura retal (TR) e escore de ofegação (EO) foram registradas. Os animais do tratamento CSA aumentaram seu TPast. Vacas apresentaram maior TRum e TPé, enquanto TDeit tendeu a ser maior para bezerras, e menor para novilhas. Em dias em que o índice de temperatura e umidade (ITU) esteve acima de 71,5, os animais CS aumentaram consideravelmente seu TPé e TOcio, e reduziram seu TPast. Houve correlação positiva de temperatura média, mínima e máxima com FC, FR e TR, além de correlação positiva entre ITU para FC e FR. Diferentemente dos bovinos, os bubalinos priorizam utilização de condução e convecção para termólise em detrimento da via evaporativa/respiratória. O comportamento de bubalinos foi alterado durante a estação quente, sendo possível observar interações significativas entre tratamento e dias de avaliação para praticamente todas as variáveis comportamentais. O comportamento de mitigação de calor foi similar entre categorias. O provimento de sombra aos dois tratamentos permitiu a manutenção das variáveis fisiológicas dentro da faixa de variação normal. O uso de água de imersão foi expressivo, com redução do tempo de sombra pelos bubalinos. Embora a imersão em água seja um recurso preferido pelos bubalinos, o fornecimento de sombra permite a mitigação do estresse térmico por todas as categorias de bubalinas durante a estação quente.

Palavras-chave: água para imersão; conforto térmico; comportamento ingestivo; sombra

# PHYSIOLOGICAL AND BEHAVIORAL INDICATORS OF GRAZING BUFFALO COWS, HEIFERS AND CALVES DURING THE WARM SEASON WITH ACCESS TO DIFFERENT HEAT MITIGATION RESOURCES

Author: Cindy Anne Klausberger Ximenes  
Advisor: PhD Vivian Fischer

## ABSTRACT

Due to their dark coloration, buffaloes absorb solar radiation more intensely and end up becoming more sensitive in field rearing without shade, but this fact is often not considered in field rearing. This study aimed to evaluate the use and effects of different environmental enrichment resources on the behavioral repertoire and physiological characteristics of different categories of buffalo females kept in a pastoral system during the warm season. Data were collected from December 2021 to April 2022. Twenty buffaloes from the Experimental Station (EEA/UFRGS) herd classified into three categories were divided into two treatments. The first provided only shade (OS) and the second shade and water (SW) as forms of environmental enrichment. The animals remained in the pasture, where they were observed every 15 days. Observations were carried out individually and focally, every 5 minutes for 12 hours a day. The activities of grazing (TG), rumination (TRum), idleness (TId), whether the animal was standing (TStand) or lying down (TD), and whether it was in the sun (TSun), in the shade (TS) or immersed in water (TWater), locomotion (TL) and time around the drinker (Wdrinker). Physiological variables such as heart rate (HR), respiratory rate (RR), rectal temperature (RT) and panting score (PS) were recorded. The SW animals increased their TG. There was a significant difference between categories for TRum and TSt and, cows had higher TRum and TStand. TD tended to be higher for calves but lower for heifers. On days when the thermal humidity index (THI) was above 71.5, CS animals considerably increased their TStan and reduced their TG, increasing their TId. There were positive correlations between average, minimum and maximum temperature, THI with HR, RR and RT. Unlike cattle, buffaloes prioritize the use of conduction and convection for thermolysis over the evaporative/respiratory route. The behavior of buffaloes was altered during the warm season, and it was possible to observe significant interactions between treatment and evaluation days for practically all behavioral variables. The heat mitigation behavior was similar between categories. The provision of shade to both treatments allowed the maintenance of physiological variables within the normal range. The use of immersion water was expressive, with a reduction in shade time by the buffaloes. Although immersion in water is a preferred resource for buffaloes, providing shade allows mitigation of thermal stress by all categories of buffaloes during the hot season.

Keywords: thermal comfort; ingestive behavior; immersion water; shadow



## SUMÁRIO

CAPÍTULO I .....	14
1. INTRODUÇÃO .....	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	16
2.1 Fisiológicas.....	16
2.1.1 Fisiologia da termorregulação.....	16
2.1.2 Fatores externos que interferem na fisiologia da termorregulação .....	19
2.1.3 Características fisiológicas de bubalinos .....	21
2.1.4 Parâmetros fisiológicos em bubalinos .....	22
2.2 Comportamentais .....	27
2.2.1 Efeito da oferta de enriquecimento ambiental.....	28
2.2.2 Comportamento de bubalinos.....	29
3. HIPÓTESES E OBJETIVOS .....	32
CAPÍTULO II .....	33
1 Introdução .....	36
2 Material e Métodos .....	37
2.1 Área experimental .....	37
2.2 Tratamentos .....	37
2.3 Pastagem.....	38
2.4 Rebanho experimental .....	38
2.5 Avaliação de comportamento .....	39
2.6 Avaliação das características fisiológicas .....	40
2.7 Variáveis Meteorológicas.....	41
2.8 Análise Estatística .....	42
3 Resultados.....	42
3.1 Variáveis meteorológicas.....	42

	10
3.2 Variáveis fisiológicas.....	42
3.3 Comportamentais .....	43
3.4 Variáveis relativa ao desempenho .....	44
3.5 Variáveis relativas à Pastagem.....	45
4 DISCUSSÃO .....	52
4.1 Fisiológicas.....	52
4.2 Comportamentais .....	53
4.3 Categorias de fêmeas bubalinas .....	56
CONCLUSÃO.....	56
REFERÊNCIAS.....	57
Anexo I.....	61
Anexo II.....	62
REFERÊNCIAS.....	63
Anexo III.....	68

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> Magnitude das trocas de calor de um animal em um ambiente radiante.....	19
<b>Tabela 2</b> Variáveis fisiológicas de bubalinos criados a pasto, com ou sem enriquecimento ambiental, revisão de literatura .....	26
<b>Tabela 3</b> Comportamento de bubalinos frente a diferentes fontes de enriquecimento ambiental em sistema a pasto, revisão de literatura .....	31
<b>Tabela 4</b> Descrição das atividades observadas .....	40
<b>Tabela 5</b> Dados meteorológicos e cálculo do ITU .....	46
<b>Tabela 6</b> Correlação entre as variáveis comportamentais e fisiológicas em relação as variáveis climáticas .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
<b>Tabela 7</b> Média dos tempos das atividades comportamentais de bezerras, novilhas e vacas bubalina em pastejo durante a estação quente com acesso à sombra ou sombra e água de imersão.....	47
<b>Tabela 8</b> Média do tempo de permanência do comportamento dos animais ao longo dos dias em relação aos tratamentos .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
<b>Tabela 9</b> Análise bromatológica da pastagem ao longo dos dias observacionais para ambas os tratamentos .....	62

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1** Média da altura da pastagem, percentagem de MS, massa de forragem em toneladas por hectare, valores de PB e FDN dos tratamentos com sombra (CS) (A) e tratamento com sombra e água de imersão (CSA) (B) .....51

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C – graus Celsius

BA – Tempo despendido no entorno do bebedouro

bat/min – Batimentos por minuto

BF – Fibra Bruta

CS – Tratamento com sombra

CSA – Tratamento com sombra e água para imersão

EE – Extrato Não Nitrogenado

EEA – Estação Experimental Agronômica

EO – Escore de ofegação

FC – Frequência cardíaca

FDA – Fibra em Detergente Ácido

FDN – Fibra em Detergente Neutro

FR – Frequência respiratória

ITU – Índice de Temperatura e Umidade

ITU – Índice de Temperatura e Umidade

mov/min – Movimentos por minuto

MS – Matéria Seca

PB – Proteína Bruta

TDeit – Tempo deitado

TLoc – Tempo de locomoção

Tmáx – Temperatura máxima

Tméd – Temperatura média

Tmín – Temperatura mínima

TOcio – Tempo de ócio

TPast – Tempo de pastejo

TPé – Tempo em pé

TR – Temperatura retal

TRum – Tempo de ruminação

UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

UR – Umidade Relativa

## CAPÍTULO I

## 1. INTRODUÇÃO

Os bubalinos são animais mais sensíveis termicamente quando comparados à espécie bovina. Sabe-se que sua pele negra atua absorvendo maior quantidade de raios solares, assim aumentando sua temperatura corporal rapidamente. Sua menor relação e glândulas sudoríparas por centímetro de pele torna este meio de mitigação por calor ineficiente. Além das vias evaporativa e respiratória para perda de calor, temos a condução e a convecção, das quais os bubalinos fazem uso para dissipar o seu calor corpóreo por meio do contato por áreas onde perder calor por gradiente de temperatura, como lama e água. Devido à maior vascularização periférica, a condução se torna a via rápida de perda de calor por contato, motivo este pelo qual estes animais preferem chafurdar na lama e procura por água de imersão. A convecção também é/ uma via facilitadora de perda de calor quando a velocidade do vento se encontra entre 5 e 8 km/h, e na sombra os bubalinos perdem calor mais rapidamente quando comparado aos bovinos.

As mudanças climáticas causadas pelo processo de aquecimento global têm afetado consideravelmente todas as formas de vida na terra. Podemos notar diferenças de padrão climático em vários lugares do mundo, além do aumento da temperatura global. Todos esses fatores associados causam o aumento no estresse térmico e no bem-estar de animais de produção, que muitas vezes não recebem recursos suficientes para mitigar este desconforto, prejudicando sua saúde, produção de carne e leite, reprodução e capacidade de trabalho.

A produção de bubalinos tem se tornado cada vez mais expressiva no Brasil. O Rio Grande do Sul tem aumentado seu rebanho efetivo, estado este conhecido por ter a maior parte da sua criação em sistemas pastoris. O estresse térmico impacta diretamente no aumento da temperatura retal, na sudação, na frequência respiratória, na redução da perda de água nas fezes e urina.

A preocupação com o bem-estar de animais tem se tornado cada vez mais relevante. Em um dos raros estudos com bubalinos, se verificou que as novilhas usam a água para imersão para a mitigação de calor. Outro trabalho apresentou que bezerros tiveram melhor desempenho quando enriquecidos com sombra contra um tratamento sem sombra. Entretanto, o comportamento de mitigação de calor em bubalinos ainda não é amplamente explorado, pois estudos anteriores não avaliaram comportamentos de mitigação em diferentes categorias, assim como não avaliaram ao longo de uma

estação quente. O presente estudo investiga como a disponibilidade de dois enriquecimentos ambientais (água para imersão + sombra e somente sombra) influenciam o comportamento de três categorias de búfalas durante toda a estação quente.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Fisiológicas**

#### *2.1.1 Fisiologia da termorregulação*

O reino animal pode ser dividido em dois grandes grupos, endotérmicos e ectotérmicos, sendo que a diferença entre eles se relaciona com a sua taxa metabólica; os endotérmicos têm alta taxa metabólica, por isso a sua produção de calor é sete a dez vezes maior do que a dos ectotérmicos. Como tal, a temperatura corporal dos endotérmicos é independente da temperatura externa dentro de certa variação, e a temperatura corporal dos ectotérmicos fica próxima da temperatura ambiente e depende dela (ROBERTSHAW, 2006).

Quando animais homeotérmicos são submetidos a um ambiente com temperatura acima ou abaixo de uma faixa termoneutra, ocorrem compensações fisiológicas, aumentando ou reduzindo o calor corpóreo (THATCHER, 2010). Esta faixa é denominada de zona de conforto térmico ou zona de termoneutralidade, e é uma faixa de temperatura ambiente na qual o animal não sofre estresse pelo frio ou pelo calor. Dentro da zona de termoneutralidade, o custo fisiológico é mínimo, a retenção de energia da dieta é máxima, e a temperatura corporal e o apetite são normais e a produção é ótima. Na zona de termoneutralidade, a frequência respiratória é normal e não ocorre sudorese, apenas a difusão de água por meio da pele. Essa zona, a qual varia entre espécies e raças, é compreendida entre as temperaturas crítica superior e a crítica inferior. Temperaturas acima da temperatura crítica superior ou abaixo da temperatura crítica inferior desencadeiam reações fisiológicas e comportamentais e podem, em casos extremos, levar os animais ao óbito por hipertermia ou hipotermia respectivamente (MARTELLO, 2006).

Um animal é considerado em estado de estresse térmico quando são necessários ajustes anormais em seu comportamento e/ou fisiologia para fazer frente aos aspectos anti-hoemostáticos do ambiente. Uma variedade de fatores como adaptabilidade, genética, idade, sexo ou condições fisiológicas, modela as respostas biológicas de um



animal a um estressor (MOBERG, 2000). Em regiões de clima quente, as condições ambientais adversas (elevados valores de temperatura ambiente, umidade relativa do ar e radiação solar) aliadas à alta produção de calor metabólico, resultam em calor corporal excedente e, caso seja impossível ao animal eliminar para o ambiente esse excedente, ocorre o estresse térmico (PIRES, 2006).

O estresse por calor é um dos principais fatores envolvidos na redução da produtividade e do desenvolvimento animal. Com a falta de conforto térmico, o animal procura formas de perder calor. Isto envolve uma série de adaptações do sistema respiratório, circulatório, excretor, endócrino e nervoso de animais criados em regiões quentes (McMANUS et al., 2009).

Quando em um ambiente quente, o animal diminui a ingestão de alimento para reduzir a produção interna de calor e dissipá-lo para o ambiente, por intermédio da condução, convecção, radiação ou evaporação (THATCHER, 2010). Em torno de 75% da perda de calor ocorre por radiação, convecção e/ou condução. No entanto, quando a temperatura ambiente excede a temperatura crítica superior, o gradiente de temperatura torna-se pequeno para que ocorra resfriamento por esses meios. Inicia-se então a termólise, especialmente por mecanismos evaporativos para manter o balanço térmico. A evaporação, por meio da sudorese e/ou respiração se torna a principal via de dissipação de calor, responsável por 80% da perda de calor corporal. Em condições de umidade relativa do ar aumentada, há dificuldade na evaporação e o ambiente torna-se mais estressante para o animal (COLLIER, 2006).

A perda de calor não-evaporativa (troca de calor newtoniana) pode ser subdividida em troca de calor por condução, convecção ou radiação. Quando a temperatura do ar excede a corporal, ou quando um animal está parado no sol, a troca de calor por meios não-evaporativos pode ser positiva, ou seja, há um ganho de calor. A troca newtoniana de calor pode ser um sinal positivo ou negativo. Em contrapartida, a perda evaporativa de calor, que ocorre pela vaporização de calor latente, geralmente acontece apenas em uma direção, para fora do corpo (ROBERTSHAW, 2006).

O calor é transferido por condução de temperaturas altas para baixas através de sólidos ou líquidos sem o movimento das moléculas (ROBERTSHAW, 2006). A troca de calor (H) por condução na pele, medida em watts (W), conforme descrita na seguinte equação, é dependente da condutância térmica, da área de superfície e do gradiente de temperatura:  $H = C A (T_{pele} \pm T_{ar \text{ ou } \acute{a}gua})$ . Onde C é a condutância térmica ( $W/m^2/^{\circ}C$

ou  $\text{kcal/m}^2\text{h/}^\circ\text{C}$ ) e é em grande parte uma função do meio em contato com a pele (a água tem uma condutividade térmica 25 vezes maior do que a do ar e por isso é um isolante ruim, sendo o isolamento medido como a recíproca da condutância),  $A$  é a área da pele ( $\text{m}^2$ ) onde ocorre a troca de calor.  $T_{\text{pele}}$  é a temperatura média da pele. Como a temperatura da pele varia nas diferentes partes do corpo, usa-se um valor médio que integra a temperatura da pele e a área superficial.  $T_{\text{ar}}$  é a temperatura do ar ( $^\circ\text{C}$ ).  $T_{\text{água}}$  é a temperatura da água ( $^\circ\text{C}$ ). Portanto, a quantidade de calor transferida é proporcional à magnitude do gradiente de temperatura, e, se a temperatura do ar ou da água se igualar a da pele, não ocorrerá troca de calor por condução. Neste ponto, o calor do metabolismo irá se igualar ao dissipado por evaporação (ROBERTSHAW, 2006). Como o ar tem condutividade térmica baixa em comparação com a da água, qualquer ar aprisionado contra a pele reduz a troca condutiva de calor e age como um isolante efetivo (ROBERTSHAW, 2006).

O ganho ou perda de calor por convecção ocorrem pelo movimento de líquidos ou gás em contato com a pele, seja ar ou água. A alteração na densidade da água ou do ar, associada à transferência de calor, faz com que se mova sob a influência da gravidade, o que é conhecido como convecção livre, ao contrário da convecção forçada, em que a perda de calor por convecção é causada pelo vento ou movimento da água (ROBERTSHAW, 2006). A transferência de calor por convecção pela circulação é o principal modo de distribuição de calor dentro do corpo (ROBERTSHAW, 2006). Há dois componentes para o isolamento: isolamento tecidual e isolamento externo. A condutância externa é o calor transferido da pele para o ar ou a água, e o isolamento externo a recíproca daquela quantidade. O isolamento total é a soma do isolamento tecidual e do isolamento externo, sendo o isolamento interno a recíproca da condutância tecidual (transferência de calor da parte central do corpo para a pele) (ROBERTSHAW, 2006).

A troca de calor por meio de radiação envolve a transferência de calor por ondas eletromagnéticas e, dentro do ambiente natural, consiste em transferência de calor dentro das partes visíveis e infravermelha do espectro (ROBERTSHAW, 2006). A quantidade de calor transferida dentro do espectro visível é determinada pela cor da superfície de absorção. Assim, um corpo preto tem uma capacidade de absorção de um (1), e uma superfície perfeitamente refletora possui capacidade de absorção zero (0). Os animais com pele negra, como os bubalinos, absorverão mais calor por meio de radiação

que os animais com a pele branca. O ganho de calor dentro do espectro visível é derivado inteiramente do sol (ROBERTSHAW, 2006). Em um ambiente radiante, a magnitude das trocas de calor em um animal é apresentada na Tabela 1

**Tabela 1** Magnitude das trocas de calor de um animal em um ambiente radiante

Ganho de calor		Perda de calor		
Taxa metabólica	Radiação absorvida	Reirradiação	Convecção	Evaporação
15%	85%	67%	9%	24%

Fonte: Robertshaw, 2006

Portanto, a carga radiativa de calor é cerca de seis vezes maior do que a produção metabólica de calor, sendo que 67% do ganho de calor são reirradiados, e apenas 9% do calor radiante realmente entram no corpo e têm de ser perdidos por evaporação (ROBERTSHAW, 2006).

### 2.1.2 Fatores externos que interferem na fisiologia da termorregulação

A temperatura do ar é um dos fatores bioclimáticos independentes mais importantes dos que influenciam o conforto térmico animal. O ambiente térmico, principalmente em condições de campo, é bastante complexo, limitando sensivelmente a determinação da termorregulação, uma vez que a radiação, a velocidade do vento, a umidade e a temperatura do ar modificam-se no tempo e no espaço (SILVA, 2000).

Os principais elementos naturais que influenciaram a sensação térmica são a temperatura e a umidade relativa do ar a radiação térmica e a velocidade dos ventos devido ao contato direto com a superfície da pele dos animais (MONTEIRO 2010). Costa et al. (2007) comentam que o estresse calórico é um estado fisiológico causado pela combinação das condições ambientais que elevam a temperatura ambiente acima da faixa termoneutra dos animais, elevando os índices de indicação de estresse.

O primeiro mecanismo empregado para perda de calor é a vasodilatação, seguido da sudorese e da respiração, sendo o aumento na frequência respiratória o primeiro sinal visível. O aumento ou a diminuição da frequência respiratória depende da intensidade e duração do estresse a que os animais são submetidos (MARTELLO, 2006). Quando os mecanismos de termólise dos animais homeotérmicos não são eficientes, o calor

metabólico somado ao calor recebido do ambiente torna-se maior que a quantidade de calor dissipada para o ambiente, podendo aumentar a temperatura retal. Com a temperatura corpórea elevada, o organismo reage aumentando a sudorese e a frequência respiratória para eliminar o excesso de calor (MORAIS et al., 2008). Por isso, a temperatura retal e a frequência respiratória são consideradas as melhores variáveis fisiológicas para estimar a tolerância de animais ao calor. A avaliação das respostas fisiológicas tem sido comumente empregada como forma de conhecer o comportamento destas, bem com o grau de adaptação dos animais sob condições de estresse térmico (SMITH et al., 2006).

O aumento da frequência respiratória geralmente está associado à exposição ao calor, mudando o comportamento respiratório dos bovinos, devido ao menor volume de ar inspirado. Uma vez ofegante, o bovino inicia a troca de calor pela evaporação de umidade do trato respiratório (ROBERTSHAW, 2006). Para Starling et al. (2002), em um ambiente tropical, o mecanismo físico da termólise mais eficiente é o evaporativo, por não depender do diferencial de temperatura do ar, quando essa tende a ser próxima ou maior que a corporal, tornando ineficaz a termólise por condução ou convecção (SILVA, 2000).

Nos bubalinos, as interferências climáticas na temperatura retal são menores, quando comparadas aos bovinos, devido à sua grande capacidade em dissipar calor corporal, principalmente, por meio da via respiratória (KOGA et al., 2004). Seu hábito de procurar água para banho e a rotina de buscar sombras, nos horários mais quentes do dia, ajudam a diminuir o estresse calórico desses animais (LOURENÇO JÚNIOR, 1998), o que reforça a importância do uso fontes de abrigo de radiação solar direta, em ambientes de altas temperaturas e incidência solar.

Barbosa et al. (2007) encontraram média de 38,13 °C para temperatura retal, embora os búfalos estivessem em confinamento e adultos. Diferentemente, Koga et al. (2004) citam  $39,3 \pm 0,37$  °C, para bubalinos adultos confinados. Castro (2005) encontrou valor entorno de  $38,7 \pm 0,39$  °C, e Lourenço Júnior (1998), 38,5 °C, citando TR de 38,6 °C, às 6 horas, 38,8 °C, às 12 horas, e 39,0 °C, às 18 horas. Moraes Júnior et al. (2010) em análise dos resultados obtidos às 12 horas, encontraram valores entre 38,6 e 38,9 °C e às 18 horas, 39,0 a 39,3 °C, independente do período do ano experimental, os bezerros possuíam temperaturas retais bastante semelhantes.

O valor de referência para animais adultos, em currais abertos, é de 21 a mov/min, enquanto para búfalos jovens é de 29 mov/min (BORGHESE, 2005). Moraes Júnior et al. (2010) encontraram valores para FR variando de  $32,2 \pm 9,3$  a  $56,5 \pm 19,0$  mov/min para bubalinos. Magalhães et al. (2006) para bubalinos, encontraram FR de 45,82 mov/min, com 33,31 mov/min, de manhã, e 58,33 mov/min, à tarde. Castro (2005) detectou frequência respiratória, entre 21 e 27 mov/min, enquanto Lourenço Júnior (1998), 18, 24 e 18 mov/min, às 6 horas, 12 horas e 18 horas, respectivamente.

### *2.1.3 Características fisiológicas de bubalinos*

As condições climáticas ideais ou ótimas para o crescimento e reprodução em búfalos são: temperaturas do ar entre 13 e 18 °C combinadas com uma umidade relativa média de 55 e 65%, uma velocidade do vento de 5 e 8 km/h e um nível médio de insolação (MARAI; HAEEB, 2010). Morfologicamente, os búfalos têm uma boa camada de pelo macio, assim como os bovinos ao nascer e durante a primeira infância. Os pelos no corpo tornam-se mais esparsos e escassos à medida que o animal cresce. A quantidade de pelagem retida varia consideravelmente, dependendo da raça, estação, práticas de alojamento, e exposição à água e lama (GARCIA, 2013).

Anatomicamente, a pele do búfalo é coberta por uma epiderme espessa, contendo muitas partículas de melanina que dão à superfície da pele sua cor preta característica (SHAFIE, 1985). As partículas de melanina absorvem os raios ultravioletas e os impedem de penetrar através da derme da pele para o tecido inferior. Esses raios são abundantes na radiação solar nos trópicos e subtropicais, e a exposição excessiva de tecido animal pode ser prejudicial, resultando em tumores de pele (GARCIA, 2013).

Os búfalos têm um número considerável de glândulas sebáceas com maior atividade de secreção em relação aos bovinos (SHAFIE, 1985). Essas glândulas secretam sebo, uma substância gordurosa que recobre a superfície da pele formando uma camada lubrificante, tornando-a escorregadia para água e lama. Esta camada de sebo na presença de radiação solar intensa derrete e torna-se mais brilhante, assim, refletindo os raios solares, atenuando levemente a carga excessiva de calor (GARCIA, 2013).

Particularmente, os búfalos sofrem mais por estresse calórico que os bovinos, pois, seus corpos além de absorverem uma grande quantidade de radiação devido à coloração da sua pele, eles possuem um sistema de resfriamento evaporativo deficitário, devido à

menor capacidade de sudorese. A pele bubalina tem um sexto da densidade das glândulas sudoríparas que a bovina, portanto, os búfalos dissipam mal o calor pelo suor (SHAFIE, 1985).

A alegada maior rusticidade atribuída aos bubalinos aliada à falta de conhecimento da menor capacidade de dissipação de calor por via evaporativa/respiratória de bubalinos, causou muitas mortes de búfalos no norte da Austrália, quando os animais foram conduzidos a longas distâncias no calor do dia, particularmente em bezerros jovens e fêmeas prenhes (SHAFIE, 1985). Durante um teste no Egito, duas horas de exposição ao sol aumentaram a temperatura corporal dos búfalos em 1,3°C, enquanto a temperatura de bovinos aumentou apenas em 0,2 – 0,3°C. À sombra, no entanto, estudos de campo controlados em búfalos egípcios mostraram que o mecanismo termorregulador funciona mais eficientemente em búfalos do que em bovinos, quando a velocidade de recuperação do efeito do estresse é considerada uma medida de eficiência (SHAFIE, 1985).

Segundo Gudev et al. (2007), búfalas em lactação expostas à Índice de Temperatura e Umidade (ITU) de 78 causou elevação significativa de frequência cardíaca e frequência respiratória, mostrando que a carga calórica era maior do que a capacidade do corpo em dissipar o calor. O mesmo valor de ITU não induziu mudanças significativas na termorregulação quando os búfalos foram mantidos em galpão, embora a manutenção da termorregulação dentro da zona termoneutra tenha sido alcançada às custas de uma maior frequência respiratória (GUDEV et al., 2007).

#### *2.1.4 Parâmetros fisiológicos em bubalinos*

Lourenço Júnior et al. (2006) avaliaram, durante o período chuvoso em Belém no Pará, 26 búfalos machos, com 8,5 meses de idade em pastejo rotacionado intensivo, nos meses de junho à novembro, com médias anuais de 3.001,3 mm de precipitação pluviométrica, 26,4°C de temperatura, 84% de umidade relativa do ar e 2.338,3 h de insolação. A frequência respiratória foi de 24 ( $\pm$  4,98) mov/min, e foi notada perceptível redução da FR, em maio, devido à disponibilidade de chuvas e temperaturas amenas, diferentemente dos meses de outubro e novembro, quando houve elevação da temperatura do ar e os animais elevaram a FR, visando dissipar calor e manter a temperatura corporal em níveis normais (LOUREN JÚNIOR et al., 2006).

Garcia et al. (2011) conduziram seu estudo em Belém, Pará, de abril a novembro de 2006, em área experimental da Embrapa Amazônia Oriental. Foram utilizados dois sistemas pastoris, que compuseram os grupos experimentais. O primeiro, sem sombra (SS), era composto de 11,4 ha de pastagem, com animais em pastejo rotacionado intensivo. O segundo sistema pastoril, com sombra (CS), apresentava área de 5,4 ha, com pastagem, em sistema de pastejo rotacionado intensivo. O sombreamento foi realizado por meio de sombra natural, com área útil de sombra de 19,9%. Foram utilizadas 56 fêmeas leiteiras adultas, mestiças, das raças Murrah e Mediterrâneo ( $79 \pm 44,12$  meses e  $575 \pm 92,90$  kg), com escore de condição corporal de  $3,2 \pm 0,6$  (escala de 1 a 5). Tendo-se respeitado a capacidade de suporte das áreas experimentais, com 30 animais no grupo SS e 26 animais no CS. Semanalmente, foram registradas frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura retal dos animais. A temperatura média do ar apresentou valores de  $28,4 \pm 1,52^{\circ}\text{C}$  no período chuvoso mais pronunciado, e aumentaram para  $29,7 \pm 1,22^{\circ}\text{C}$  no menos pronunciado. Como esperado, a umidade relativa do ar foi mais elevada no período mais chuvoso ( $77,4 \pm 11,53\%$ ), em comparação ao menos chuvoso ( $69,1 \pm 12,45\%$ ). Os valores do ITU variaram entre 75,0 e 81,0 no período mais chuvoso e entre 75,8 e 82,0 no menos chuvoso, com valores mais elevados no período menos chuvoso. A frequência cardíaca foi significativamente menor nos animais do grupo com sombra, especialmente no período menos chuvoso. O sombreamento disponível protegeu os animais da incidência direta da radiação solar, diminuiu o ganho de calor ambiental e, conseqüentemente, a intensidade da termólise, que depende parcialmente do débito cardíaco. No período com menos chuva, quando a nebulosidade é menor e a radiação solar mais intensa, observou-se comportamento taquicárdico com maior frequência nos animais criados sem acesso à sombra. A frequência cardíaca foi mais elevada durante o período menos chuvoso, tanto nos animais manejados no tratamento sem sombra, quanto no tratamento com sombra. Essa elevação está diretamente relacionada à variação da temperatura ambiente e do ITU, superiores em praticamente todo o período menos chuvoso. Os búfalos usam a respiração como uma importante forma para dissipação de calor corpóreo, e sua taxa respiratória aumenta à medida que a temperatura ambiente se eleva (Das et al., 1999; Castro et al., 2008). Garcia et al. (2011) não encontraram diferença significativa para valores de temperatura retal, entretanto, os animais do tratamento com sombra apresentaram temperatura retal inferior em ambos os períodos, enquanto os animais

sem acesso a sombra apresentaram valores de temperatura retal mais elevados, principalmente no período menos chuvoso.

Monteiro (2010) realizou um estudo no município de Ribeirão, na mesorregião Mata Sul na Microrregião Austral do estado de Pernambuco. Foram avaliados três períodos, 31 de janeiro a 17 de fevereiro de 2009, 31 de julho e 17 de agosto de 2009, e 2 a 20 de janeiro de 2010. Em cada período foram utilizados dez bubalinos, 5 machos e 5 fêmeas, com peso aproximado de 270 Kg. Os animais permaneceram em pastagem de 3,5 ha, pastejo contínuo, sendo disponibilizado água para imersão e sombra natural. As variáveis fisiológicas mensuradas foram temperatura retal, movimentos ruminais, frequência respiratória e frequência cardíaca, medidas no brete entre as 7h00 e 15h00. Monteiro (2010) não encontrou interação entre os períodos do ano e sexo. Em janeiro de 2010 foram observadas as maiores ( $P < 0,05$ ) médias para a temperatura da epiderme, frequência cardíaca e respiratória, possivelmente devido às mais altas temperaturas ambiente nesse período. Foram encontradas diferenças significativas entre os períodos nas variáveis frequência cardíaca, frequência respiratória e os movimentos ruminais.

Moraes Júnior et al. (2010) realizaram um estudo na propriedade da Embrapa Amazônia Oriental, município de Belém – PA, a coleta de dados dividiu-se em dois períodos experimentais, primeiro em abril e setembro de 2007, e o segundo em outubro de 2007 a março de 2008. Dois tratamentos foram apresentados, com sombreamento útil silvipastoril e sem sombreamento útil silvipastoril, tendo o segundo tratamento água para imersão disponível. Ambos os sistemas de pastejo rotacionado intensivo silvipastoris. Foram utilizados 19 bezerros bubalinos, 11 no primeiro período e oito no segundo período. As variáveis fisiológicas dos bezerros foram aferidas, individualmente, sempre às 6h00, 12h00 e 18h00. Foram avaliadas a temperatura retal, frequência respiratória e temperatura da pele. A temperatura retal dos bezerros, nos dois períodos experimentais, variou entre  $38,3 \pm 0,26$  e  $39,3 \pm 0,38$  °C, com diferença de 1 °C, entre os extremos. No período de outubro a março a temperatura retal dos animais foi menor, devido a quantidade elevada de chuvas que ocorreram no período, aliada a alta nebulosidade. E a frequência respiratória variou de  $32,2 \pm 9,3$  a  $56,5 \pm 19,0$ . Os dados mencionados no texto estão apresentados na Tabela 2.

Costa et al. (2007), avaliando índices de conforto térmico e adaptabilidade de fêmeas bubalinas em pastejo no Agreste de Pernambuco, encontram médias de



temperatura retal de 38,26°C, frequência respiratória de 26 movimentos por minutos e temperatura da epiderme de 33,88 °C em novilhas em pastejo.

**Tabela 2** Variáveis fisiológicas de bubalinos criados a pasto, com ou sem enriquecimento ambiental, revisão de literatura

Autores	Data/período	Enriquec.	FC	FR	TR	ITU	PV	Categ	Sistema
Garcia et al. (2011)	abril a novembro (mais chuvoso)	sem sombra	57,26 ± 8,35	26,43 ± 11,82	38,94 ± 0,56	75,0 e 81,0	575 ± 92,90	fêmeas adultas	pastejo e silvipastoril
	abril a novembro (menos chuvoso)		64,43 ± 8,26	34,79 ± 18,15	39,11 ± 0,48	75,8 e 82,0			
	abril a novembro (mais chuvoso)	com sombra	57,44 ± 8,13	24,79 ± 8,78	38,62 ± 0,48	75,0 e 81,1			
	abril a novembro (menos chuvoso)		60,20 ± 6,52	34,7 9± 18,24	38,68 ± 0,32	75,8 e 82,1			
Monteiro 2010	31/01 a 17/02		65,67	12,34	38,69	76,53	270	bezerros machos e fêmeas	pastejo contínuo
	31/07 a 17/08	água e sombra	73,74	16,71	38,69	72,89			
	2/01 a 20/01		82,37	29,04	38,94	87			
Moraes Júnior et al. (2010)	abr e set (período 1)	com sombra útil	NI	50,5 ± 19,6	38,9 ± 0,39	82,2 ± 0,8	NI	bezerros	Pastejo rotacionado intensivo e silvipastoril
	abr e set (período 2)	sem sombra útil		49,1 ± 21,8	38,9 ± 0,44	82,2 ± 0,9			
	out/07 a mar/08 (período 1)	com sombra útil		53,9 ± 19,1	38,6 ± 0,41	81,1 ± 1,4			
	out/07 a mar/08 (período 2)	sem sombra útil		56,5 ± 19,0	38,7 ± 0,37	81,1 ± 1,5			

Enriquec.: enriquecimento ambiental utilizado; FC: frequência cardíaca (batimento por minuto); FR: frequência respiratória (movimentos por minuto); TR: temperatura retal (°C); ITU: índice de temperatura e umidade; PV: peso vivo (kg); Categ: categoria animal; Sistema: sistema de criação; NI: não informado

## 2.2 Comportamentais

Toda espécie animal apresenta um comportamento natural padrão (ANDERSEN et al., 2004). O comportamento natural foi definido como aquele que o animal tende a realizar livremente, por trazer prazer ou promover bom funcionamento fisiológico. Já o bem-estar animal está relacionado às condições do alojamento, como a bioclimatologia e a biofísica das instalações, podendo ser mensurado a partir de avaliações fisiológicas e comportamentais (RICCI et al., 2017). Segundo Grandin (2000), o comportamento ingestivo de ruminantes mantidos em pastagens caracteriza-se por longos períodos de alimentação, de quatro a doze horas por dia, concentrando-se nos finais de tardes e inícios de manhã. Castro et al (2002) estudando o tempo de alimentação e ruminação de novilhas bubalinas encontraram 20% do tempo em de pastejo e 14% de ruminação.

Bubalinos apresentam comportamento de mitigação de estresse térmico, pois quando os termorreceptores centrais e periféricos do búfalo detectam um aumento de temperatura, eles desencadeiam as mudanças fisiológicas e comportamentais características desta espécie, e dentre eles está o ato de chafurdar em lama, ficar imerso em água e buscar sombra (GU et al 2016). Esses mecanismos atuam juntos para alcançar um estado de conforto térmico (AGGARWAL; UPADHYAY 2013; BRADLEY 2013), contribuindo para a rápida perda de calor, através dos numerosos vasos sanguíneos que vasodilatam para facilitar a dissipação de calor por condução, enquanto os animais estão imersos em lama ou água (GU et al., 2016). Os animais, nos momentos mais quentes do dia, em ambientes com sombreamento, tendem a aproveitar esse recurso, deitando-se e ruminando sob a sombra. Os animais começam a se agrupar para tentar reduzir a área da superfície corporal que está sendo exposta ao calor. Essa tendência também é conhecida como termorregulação social (CURTIS, 1981).

Em particular, Koga et al (1999) demonstraram que búfalos submetidos a temperaturas ambientais crescentes aumentam o fluxo de sangue em direção à superfície externa do corpo, apoiando assim um mecanismo termorregulador baseado no contato direto com a lama/água, que por sua vez depende do comportamento específico da espécie de búfalo de chafurdar. O objetivo é obter o resultado que outras espécies alcançam com a transpiração (KHONGDEE et al., 2011; AGGARWAL; UPADHYAY 2013; OLIVEIRA et al., 2013). Este último não é um meio eficiente de dissipação de calor em ambientes tropicais, pois a evaporação não é favorecida por alta

umidade ambiental e baixas variações de temperatura diurna e noturna (KOGA et al., 1999)

### *2.2.1 Efeito da oferta de enriquecimento ambiental*

No Brasil, a produção de bubalinos se concentra principalmente na região tropical, onde se encontra o maior índice de radiação solar, sendo essa uma das principais causas do desconforto no animal e da diminuição da produção (SOUZA et al., 2010). Para manter a homeotermia, os animais adotam medidas fisiológicas e comportamentais, nos dias quentes, principalmente nas horas de maior calor, os animais procuram a sombra de árvores, visando reduzir a exposição à radiação solar, e aproveitam esses momentos para descansar, ruminar ou mesmo pastejar, se esses locais apresentarem forragens disponíveis (TORQUATO et al., 2012).

Anil e Thomas (1996) afirmam que aspersão de água, ou disponibilidade de lama para imersão e qualquer mecanismo que propicie resfriamento por evaporação parecem ser os melhores métodos para auxiliar o búfalo na termólise e manutenção da homeotermia (ANIL; THOMAS, 1996). Nesse sentido, Titto et al. (1996), trabalhando com novilhas bubalinas sob estresse térmico em câmara bioclimática (34,75°C), obtiveram rápido restabelecimento da homeotermia após estresse evidente com o uso de aspersão de água sobre o corpo dos animais durante quinze minutos, restabelecendo a frequência respiratória normal e reduzindo significativamente a taxa de sudação e a temperatura retal.

Os estudos científicos forneceram evidências de que os fatores ambientais exercem uma influência direta sobre as variáveis fisiológicas dos animais, por exemplo, períodos com altas temperaturas ambientais têm sido associadas a uma redução na produção de leite, crescimento e fertilidade em búfalos (MARAI; HAEEB 2010), enquanto o fornecimento de instalações para termorregulação pode promover a produção de leite (DE ROSA et al., 2009).

Gu et al (2016) demonstraram que ao fornecer sombra, se reduz o estresse térmico, resultando em menores temperaturas retais e níveis de cortisol no sangue (KHONGDEE et al., 2013). Os efeitos da sombra se traduzem em maior ganho de peso comparados com os animais mantidos sob luz solar direta, com a diminuição da temperatura retal e menores taxas respiratórias (CASTRO et al., 2008) e temperatura superficial. Búfalas

juvêns expostas à radiação direta das 11h às 16h no verão mostram uma língua protuberante, espumando na boca devido à salivação excessiva (ptialismo) e ofegante (hiperventilação), todos sinais de hipertermia causada por estresse calórico (DAS et al. 1999).

Estudos mostraram que, além de proteger o búfalo de parasitas externos, como carrapatos (DE ROSA et al 2005; BERDUGO-GUTIÉRREZ et al 2018), a imersão reduz significativamente sua temperatura retal, a quantidade de água que ingerem, a produção de triiodotironina livre (um indicador de mudanças metabólicas relacionadas a variações na ingestão de alimentos associadas a mudanças de temperatura e umidade ambiental), e cortisol, que tem sido usado como um fator fisiológico biomarcador de estresse em búfalos (DIMITRI et al 2010; KHONGDEE et al 2011).

### *2.2.2 Comportamento de bubalinos*

Alixandre (2016) encontrou que as fêmeas bubalinas (2 e 7 meses de idade) aumentaram gradativamente durante a estação quente o tempo de permanência em imersão em água. O comportamento diurno mais observado foi o tempo de pastejo, de 348,6 min/dia (ALIXANDRE, 2016).

Monteiro (2010) reportou que em sistema pastoril, com sombra e água para imersão disponíveis, os bubalinos permaneceram grande parte do tempo imersos na água (121,0; 119,0; 116,0 min/dia), respectivamente, durante três períodos (verão, inverno e verão). Além disso, os bubalinos apresentaram tempos de ruminação de 439,2; 439,2 e 336,8 minutos/dia, e de pastejo tempo de pastejo de 583,8; 594,6 e 601,2 minutos/dia, respectivamente em setembro, outubro e novembro.

Ablas et al. (2007) submeteram 10 búfalas de aproximadamente 24 meses mantidas em pastejo a três tratamentos: disponibilidade de sombra natural e artificial, sombra artificial e água para imersão e somente água para imersão. O pastejo foi o principal comportamento realizado ao sol. Na sombra e na água, os comportamentos mais recorrentes foram ruminação e ócio, sempre na postura deitada, mesmo dentro da piscina. O maior tempo ao sol foi encontrado no tratamento com somente água para imersão e houve preferência no uso da água no grupo que disponibilizou água e sombra. A maior heterogeneidade na utilização dos recursos ocorreu em dois momentos: às nove e às doze horas (períodos de variação bastante grande na utilização da água) e, a partir

das quinze horas, todos os animais apresentaram a tendência de agir de maneira igual, saindo da água e indo para o sol (pastar) até chegar à totalidade de animais comportando-se da mesma maneira, às dezessete horas. As variáveis citadas no texto estão apresentadas na Tabela 3.

Conforme observações de TULLOCH (1992), na ausência de água para imersão, a espécie bubalina passa a se comportar de modo semelhante aos bovinos, buscando o abrigo da sombra nas horas de radiação solar mais intensa. Nessa condição, a necessidade de sombra torna-se maior, para garantir o bem-estar da espécie bubalina, e o esperado desempenho produtivo, se for considerado que esses animais não possuem uma cobertura pilosa homogênea sobre a pele totalmente pigmentada, que absorve o máximo da radiação térmica da atmosfera, com a conseqüente elevação de sua temperatura interna e mais lenta termólise até recuperar a homeotermia.

**Tabela 3** Comportamento de bubalinos frente a diferentes fontes de enriquecimento ambiental em sistema a pasto, revisão de literatura

Autores	Períodos	Local	Horas	Tempo	Enriquec.	Pastejo	Ócio	Ruminando	Sombra	Água	Categoria
Alixandre (2016)	Set	Sudoeste do Paraná	12h	10	sombra e água	423,00	83,40	157,20	ND	79,20	bezerros
	Out					328,80	114,00	172,20	ND	97,80	
	Nov					294,60	107,40	147,60	ND	163,20	
Monteiro (2010)	31/01 a 17/02	Ribeirão, Pernambuco	48h	10	sombra natural e água	592,50	266,50	431,50	ND	121,00	bezerros
	31/07 a 17/08					592,00	78,00	442,00	ND	119,00	
	2/01 a 20/01					598,50	259,50	441,00	ND	116,00	
Ablas et. al (2007)	ND	Campus Pirassununga, SP	12h	15	sombra e água	340,43	83,17*	37*	3,63	251,97	adultas
					sombra	352,37	61,67*	33*	259,43	0	
					água	378,47	82,57*	47*	0	202,47	

\*soma do tempo a sol do comportamento

Período: período observacional que se deu o experimento; Horas: número de horas quem que os animais foram observados; Tempo: intervalo entre as observações (min); Enriquec.: enriquecimento ambiental empregado; Pastejo: tempo de pastejo (min); Ócio: tempo de ócio (min); Ruminando: tempo de ruminação(min); Sombra: tempo de permanência na sombra (min); Água: tempo de permanência na água (min); "ND": não foi descrito pelos autores.

### 3. HIPÓTESES E OBJETIVOS

As hipóteses do estudo:

1. O comportamento e as respostas fisiológicas de bubalinos são alterados ao longo da estação quente de forma distinta entre as categorias do rebanho.
2. O comportamento de mitigação de calor irá variar conforme as categorias e os enriquecimentos ambientais disponíveis.

Os objetivos do estudo:

Objetivo geral:

Avaliar o uso e os efeitos de diferentes recursos de enriquecimento ambiental sobre o repertório comportamental e características fisiológicas de diferentes categorias de fêmeas bubalinas mantidas em sistema pastoril durante a estação quente.

Objetivos específicos:

1. Avaliar as mudanças no comportamento ingestivo e nas variáveis fisiológicas de três categorias de fêmeas bubalinas durante a estação quente com acesso a diferentes recursos de mitigação de calor
2. Detectar comportamentos de mitigação de calor de três categorias de fêmeas bubalinas em resposta ao seu ambiente e recursos de mitigação de calor



## **CAPÍTULO II**

**Indicadores fisiológicos e comportamentais de vacas, novilhas e bezerras bubalinas mantidas em sistema pastoril durante a estação quente com acesso a diferentes recursos de mitigação de calor**

1 **Indicadores fisiológicos e comportamentais de vacas, novilhas e bezerras bubalinas**  
2 **mantidas em sistema pastoril durante a estação quente com acesso a diferentes recursos**  
3 **de mitigação de calor**

4  
5 Cindy Anne Klausberger Ximenes<sup>1</sup>; Bruna Schmitz<sup>1</sup>; Delane Ribas da Rosa<sup>1</sup>; Julianny Ardenghi  
6 Guimarães<sup>1</sup>; Betina da Cunha Borges<sup>1</sup>; Vivian Fischer<sup>1</sup>

7  
8 <sup>1</sup>*Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Avenida Bento*  
9 *Gonçalves 7712, Porto Alegre, 91540-000, Rio Grande do Sul, Brasil.*

10

11 \*Corresponding author: [cindykximenes@gmail.com](mailto:cindykximenes@gmail.com) (Cindy Anne Klausberger Ximenes)

12

13 *Abreviações:* CS: tratamento com sombra; CSA: tratamento com sombra e água de imersão;  
14 FC: frequência cardíaca; FR: frequência respiratória; TR: temperatura retal; EO: escore de  
15 ofegação

16

17 RESUMO: Devido a sua coloração escura, bubalinos absorvem a radiação solar com mais  
18 intensidade e acabam se tornando mais sensíveis em criações a campo sem sombra. Este  
19 estudo objetivou avaliar o uso e os efeitos de diferentes recursos de enriquecimento ambiental  
20 sobre o repertório comportamental e características fisiológicas de diferentes grupos de fêmeas  
21 bubalinas com diferentes idades, mantidas em sistema pastoril durante a estação quente. Os  
22 dados foram coletados de dezembro de 2021 a abril de 2022. Vinte bubalinas do rebanho da  
23 Estação Experimental (EEA/UFRGS) classificadas em três categorias foram divididas em dois  
24 tratamentos. O primeiro disponibilizou somente sombra (CS) e o segundo sombra e água de  
25 imersão (CSA) como formas de enriquecimento ambiental. Os animais ficaram no pasto, onde  
26 foram observados a cada 15 dias. As observações foram realizadas de forma individual e focal,  
27 a cada 5 minutos por 12 horas diurnas. Foram registradas as atividades de pastejo (TPast),

28 ruminção (TRum), ócio (TOcio), se o animal estava em pé (TPé) ou deitado (TDeit), e se estava  
29 no sol (TSol), na sombra (TSom) ou imerso na água (TÁgua), locomoção (TLoc) e tempo ao  
30 entorno do bebedouro (BA). Foram mensuradas variáveis fisiológicas como frequência cardíaca  
31 (FC), frequência respiratória (FR), temperatura retal (TR) e escore de ofegação (EO). Os animais  
32 do tratamento CSA aumentaram seu TPast. Vacas apresentaram maior TRum e TPé  
33 comparadas às demais categorias. O TDeit tendeu a ser maior para bezerras e menor para  
34 novilhas. Quando o ITU esteve acima de 75, os animais CS aumentaram consideravelmente TPé  
35 e TOcio e reduziram TPast. As variáveis FC, FR e TR foram correlacionadas positivamente com  
36 temperatura média, mínima e máxima, enquanto o índice de temperatura e umidade (ITU) foi  
37 positivamente correlacionado com FC e FR. Entretanto, as variáveis fisiológicas não diferiram  
38 entre as categorias e tratamentos. O comportamento de mitigação de calor não variou conforme  
39 as categorias e os enriquecimentos ambientais disponíveis. Diferentemente dos bovinos, os  
40 bubalinos priorizam utilização de condução e convecção para termólise em detrimento da via  
41 evaporativa/respiratória. O comportamento de bubalinos foi alterado especialmente quando o  
42 ITU foi acima de 75, embora não tenha diferido entre as categorias do rebanho. O provimento de  
43 sombra nos dois tratamentos permitiu a manutenção das variáveis fisiológicas dentro da faixa de  
44 variação normal. O uso de água de imersão foi expressivo quanto a redução no tempo de  
45 permanência em sombra pelos bubalinos, demonstrando a preferência por este comportamento  
46 ou opção de enriquecimento ambiental. O fornecimento de sombra e/ou água permite a mitigação  
47 do estresse térmico por todas as categorias de bubalinas durante a estação quente.

48

49 Palavras-chave: água para imersão; conforto térmico; comportamento ingestivo; sombra

50

## 51 1 Introdução

52 As mudanças climáticas têm sido relacionadas com o perceptível aumento da  
53 temperatura global, e variações meteorológicas extremas (IKEDA et al., 2022). Essas mudanças  
54 ambientais reduzem o aporte de alimento e água de dessedentação, expõem os animais a  
55 extremos de temperatura, com prejuízos ao bem-estar de animais de produção, os quais muitas  
56 vezes não recebem recursos suficientes para mitigar este desconforto, prejudicando sua saúde,  
57 desempenho produtivo e reprodutivo (Marai; Habeeb, 1998; Navarini et al., 2020; Martins et al.,  
58 2020; Yamada, 2020).

59 Bubalinos se destacam pela capacidade adaptativa em diferentes climas e apresentam  
60 bom desempenho produtivo mesmo em condições adversas para outras espécies, como  
61 forragens de pior qualidade, entre outros. Entretanto, comparados aos bovinos, os bubalinos são  
62 mais sensíveis termicamente, devido à maior absorção de raios solares relacionado à coloração  
63 escura de sua pele, além de contarem menos com as vias evaporativas de dissipação de calor,  
64 devido ao seu menor número de glândulas sudoríparas, dependendo mais de perdas de calor  
65 por condução e convecção (Dhaliwal et al. 2021). A preferência de novilhas pela imersão em  
66 água em relação à permanência na sombra foi documentada por Ablas et al. (2007), corroborado  
67 por Monteiro (2010) e Alixandre (2016).

68 Garcia et al. (2011) avaliaram as variáveis fisiológicas de búfalas leiteiras mantidas em  
69 dois sistemas silvipastoris, a saber com e sem sombra, e reportaram menor frequência cardíaca  
70 e temperatura retal nos animais do grupo com sombra, especialmente durante o período mais  
71 seco, quando a nebulosidade é menor e a radiação solar mais intensa. No entanto, o  
72 comportamento de mitigação de calor em bubalinos ainda não foi amplamente explorado.  
73 Estudos anteriores não avaliaram comportamentos de mitigação em diferentes categorias, assim  
74 como não avaliaram ao longo de uma estação quente (Alixandre, 2016; Garcia et al., 2011;  
75 Monteiro, 2010; Ablas et al., 2007; Lourenço Júnior, 2006).

76 Este estudo objetivou avaliar o uso e os efeitos de diferentes recursos de enriquecimento  
77 ambiental sobre o repertório comportamental e características fisiológicas de diferentes  
78 categorias de fêmeas bubalinas mantidas em sistema pastoril durante a estação quente.

79

## 80 **2 Material e Métodos**

### 81 *2.1 Área experimental*

82 O presente estudo foi realizado na Estação Experimental Agronômica (EEA) da  
83 Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), localizada em Eldorado do Sul, Rio  
84 Grande do Sul, Brasil. A altitude média local é de 46m, com coordenadas geográficas 30° 05' 27"  
85 de latitude Sul e 51° 40' 18" de longitude Oeste, região da Depressão Central do estado do RS.  
86 O solo é classificado como Argissolo Vermelho Distrófico típico. O clima da região é do tipo Cfa  
87 (subtropical úmido), segundo a classificação de Köppen (Bergamaschi; Mello, 2013). A  
88 precipitação média anual é de 1400 mm, com menor incidência nos meses de verão. A área  
89 observacional situou-se nas coordenadas 30°05'33"S e 51°41'28"O, constituída em um total de  
90 2,84 ha, com uma pastagem de *Megathyrus maximus* (MG12 Paredão). A área foi dividida em  
91 dois piquetes de 1,42 ha cada, onde foram aplicados os tratamentos "com sombra" e "com  
92 sombra e água de imersão". Todos os procedimentos foram conduzidos conforme normas de  
93 bem-estar e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do  
94 Rio Grande do Sul (projeto 41595) (Anexo I).

95

### 96 *2.2 Tratamentos*

97 Foram aplicados aos animais dois tratamentos: enriquecimento ambiental com acesso à  
98 sombra (CS) e enriquecimento ambiental com sombra e água para imersão (CSA). Todos os  
99 animais tiveram livre acesso à água para dessedentação usando bebedouros equipados com  
100 boia. A estrutura para fornecer sombra foi constituída por uma cobertura de telhas onduladas de  
101 fibrocimento com área total e por animal de, respectivamente 40 e 10 m<sup>2</sup>. O nível de refletância  
102 solar deste material varia entre 39,5%, 47,3% e 50% e absorvância solar varia entre 60,5%,

103 52,7% e 50%, (Prado; Ferreira, 2005; Uemoto; Sato; John, 2010; Werle; Loh; John, 2014). A área  
104 de imersão no tratamento CSA se constituiu de um açude com área total e por animal de,  
105 respectivamente, 88 e 8,8 m<sup>2</sup> de superfície de água para cada animal. O açude apresentou  
106 capacidade suficiente para manter, simultaneamente os dez animais imersos em água, podendo  
107 estes em decúbito ficarem somente com a cabeça para fora d'água.

108

### 109 2.3 Pastagem

110 A pastagem utilizada em ambos os tratamentos foi *Megathyrus maximus* cv. MG12  
111 Paredão, e cada piquete foi constituído de 1,42 ha. A recomendação de altura do pasto na  
112 entrada e saída dos piquetes é, respectivamente, 55 cm e 30 cm em média (Barbosa et al., 2010).

113 As avaliações quantitativas da pastagem foram realizadas um dia antes da entrada dos  
114 animais no piquete experimental e na manhã seguinte a sua saída. A altura do pasto foi avaliada  
115 em 160 pontos de altura da pastagem com régua de mensuração de altura do pasto. Após esta  
116 aferição, a média das alturas foram calculadas e com o auxílio de um quadrado de metal com  
117 0,25 m<sup>2</sup>, três pontos foram coletados ao nível do solo para determinação da massa de forragem  
118 (Paladines, 1982). Após as coletas este material foi pesado e seco em estufa a 55 °C por 72  
119 horas para que se tivesse o valor de matéria seca. Posteriormente todas as amostras dos oito  
120 dias observacionais foram enviadas para o Laboratório de Nutrição Animal da UFRGS para  
121 análise bromatológica (AOAC, 1996), onde foram determinados matéria seca (MS) (AOAC  
122 Official Method 934.01), proteína bruta (PB) (AOAC Official Method 954.01), fibra bruta (FB)  
123 (AOAC Official Method 962.09), extrato etéreo (EE) (AOAC Official Method 920.39), fibra em  
124 detergente neutro (FDN), (Van Soest; Wine, 1967) fibra em detergente ácido (FDA) e lignina  
125 (AOAC Official Method 973.18).

126

### 127 2.4 Rebanho experimental

128 Foram utilizados 20 animais do rebanho experimental: seis vacas adultas não lactantes,  
129 entre 20 e 5 anos de idade, oito novilhas de 24 meses de idade, e seis bezerras de 7 meses de

130 idade. Os animais são provenientes do cruzamento das raças Mediterrâneo e Murrah, nas três  
131 categorias, vacas, novilhas e bezerras, com pesos médios  $627,22 \pm 21,5$  kg,  $523,86 \pm 18,6$  kg e  
132  $204,98 \pm 21,5$  kg, respectivamente, ao início do período experimental.

133 Todos os animais foram mantidos juntos, em pastagem de campo nativo de  
134 aproximadamente 28 ha, entre os intervalos das observações, por aproximadamente 14 dias,  
135 foram suplementadas com farelo de milho quando necessário, e tiveram à disposição  
136 bebedouros e cocho de sal mineral permanentemente.

137

### 138 *2.5 Avaliação de comportamento*

139 As observações do comportamento foram realizadas em oito dias observacionais, de  
140 dezembro de 2021 a abril de 2022 (estação quente), com intervalo médio de quinze (15) dias  
141 entre eles. Após a distribuição dos animais nos tratamentos, estes permaneceram até o final do  
142 experimento nos mesmos.

143 As observações foram realizadas em um período de 12h diurnas, das 06h00 às 18h00,  
144 efetuadas em intervalos de 5 minutos, com auxílio de cronômetro. Os animais foram identificados  
145 com a numeração do brinco, pintados com tinta insolúvel em água na cor branca na traseira do  
146 animal. Os dias observacionais foram: 1) 18 de dezembro de 2021; 2) 08 de janeiro de 2022; 3)  
147 22 de janeiro de 2022; 4) 12 de fevereiro de 2022; 5) 26 de fevereiro de 2022; 6) 12 de março de  
148 2022; 7) 26 de março de 2022; 8) 02 de abril de 2022.

149 Os animais foram observados individualmente de forma focal e intermitente (Thurrow et al.,  
150 2009). A avaliação do comportamento foi realizada por quatro avaliadores por tratamento, os  
151 quais foram previamente treinados para identificação do comportamento de bubalinos. Os  
152 observadores se posicionaram afastados dos animais, para não interferir no seu comportamento  
153 natural. Não foi necessária a utilização de binóculos e plataformas observacionais. As atividades  
154 avaliadas estão descritas na Tabela 4. O tempo despendido (minutos) em cada atividade foi  
155 calculado como  $\Sigma$  ( $n^\circ$  períodos de *atividade* x 5).

156

157 **Tabela 4** Descrição das atividades observadas

Atividades (abreviatura)	Descrição da atividade observada
Tempo de pastejo (TPast)	Animal com a cabeça baixa procurando ou mastigando forragem
Tempo de ruminação (TRum)	Animal de cabeça alta, apresentando ciclo de mastigação, deglutição repetidamente
Tempo de ócio (TOcio)	Animal sem mastigar
Tempo de locomoção (TLoc)	Deslocamento pelo piquete excluindo a atividade de pastejo (procura ou apreensão e mastigação do pasto)
Tempo despendido em torno do bebedouro (BA)	Permanência no entorno do bebedouro e/ou consumindo água, menos de 1m do bebedouro
Tempo em pé (TPé)	Soma do tempo em que o animal permaneceu na posição em estação ou em cima das quatro patas, incluindo TP
Tempo deitado (TDeit)	Permanência em decúbito lateral ou esternal. Flanco ou peito encostado no solo.
Tempo ao sol (TSol)	Tempo em que o animal permaneceu ao sol para realização de quaisquer atividades. TP, TRum, TO, TL, BA, TPé e TD.
Tempo à sombra (TSom)	Tempo em que o animal permaneceu na sombra.
Tempo imersão na água (TÁgua)	Tempo em que o animal permaneceu imerso em água.
Tempo em minutos	

158

159 *2.6 Avaliação das características fisiológicas*

160 Foram registradas temperatura retal (TR), frequência respiratória (FR), frequência cardíaca  
161 (FC) e escore de ofegação (EO). Quinzenalmente os animais foram levados ao centro de manejo  
162 pela manhã, onde repousavam, e no período da tarde foram registradas as variáveis fisiológicas  
163 entre as 14h00 às 16h00. A TR (°C) foi medida usando um termômetro eletrônico (Multilaser  
164 HC070) introduzido no reto até a obtenção do sinal sonoro, a FC (número de batimentos por  
165 minuto) foi medida com um estetoscópio e um cronômetro, por 30 segundos, e multiplicando o



166 resultado por dois. A FR, expressa em número de respirações por minuto, foi medida usando a  
167 contagem dos movimentos de flanco, com auxílio de um cronômetro por 30 segundos e  
168 multiplicado por dois (Gudev et al. 2007).

169 O EO foi atribuído no momento de coleta dos dados fisiológicos e durante o período de  
170 observação do comportamento dos animais nos piquetes, sendo mensurados a cada 10 minutos,  
171 seguindo a metodologia sugerida por Mader et al. (2006) para bovinos, em que o escore zero (0)  
172 corresponde a uma respiração normal; um (1) a taxa respiratória aumentou ligeiramente; dois (2)  
173 o animal está com uma ofegação moderada e/ou presença de pequena quantidade de saliva ou  
174 baba; três (3) saliva presente e o animal está ofegando com a boca aberta; e quatro (4) é  
175 ofegação severa com a boca aberta, língua saliente e babando excessivamente, geralmente com  
176 o pescoço estendido.

177

## 178 2. 7 Variáveis Meteorológicas

179 As variáveis ambientais foram registradas com a estação meteorológica automática  
180 (modelo Automatic Weather Station with CM10/2 Tripod, marca Campbell, Inc.) da EEA/UFRGS,  
181 situada à latitude de 30° 06' 20,7" S, longitude de 51° 41' 21,9" W (Datum SIRGAS2000) e altitude  
182 de 32 m. As variáveis meteorológicas registradas foram: temperaturas do ar (bulbo seco) diárias  
183 máxima (T<sub>máx</sub>), mínima (T<sub>mín</sub>) e média (T<sub>méd</sub>.) e umidade relativa média (UR). As variáveis  
184 insolação e velocidade do vento foram coletadas da base de dados do Instituto Nacional de  
185 Meteorologia (INMET) localizado na cidade de Porto Alegre na coordenada 30°01'58"S e  
186 51°13'0"W. Os valores do índice de temperatura e umidade, (ITU) foram calculados usando a  
187 equação proposta por Thom (1959):

$$188 \quad ITU = 46.4 + 0.8 \times T_{méd} + (UR \times (T_{méd} - 14,4) / 100).$$

189 Onde:

190 ITU é o índice de temperatura e umidade;

191 UR é a umidade relativa (%);

192 T<sub>méd</sub> é a temperatura média (°C).

193

194 *2.8 Análise Estatística*

195 O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados, com medidas repetidas  
196 no tempo (dias). Os efeitos testados foram blocos (n= 3, categorias do rebanho: bezerras,  
197 novilhas e vacas), Tratamentos (n=2, CS = enriquecimento ambiental com acesso à sombra e  
198 CSA = enriquecimento ambiental com acesso à sombra e água de imersão), e dias de avaliação  
199 (n = 8), e a interação tratamento x dia. Cada animal foi considerado uma unidade experimental.  
200 A análise estatística foi realizada no programa Statistical Analysis System (SAS®), procedimento  
201 *mixed* (SAS Institute Inc., Cary, NC, versão 9.4, 2014). As diferenças entre as médias foram  
202 consideradas significativas quando  $P < 0,05$  e consideradas como tendência quando  
203  $0,05 > P > 0,10$ .

204

205 **3 Resultados**206 *3.1 Variáveis meteorológicas*

207 A maior temperatura registrada ao longo do período experimental foi durante o dia 3  
208 (Tabela 5), coincidente com forte onda de calor no local do experimento. Temperaturas mais  
209 amenas, com ITU abaixo que 70, foram registrados a partir do dia seis (6) até o final do período  
210 observacional, em 02 de abril de 2022.

211

212 *3.2 Variáveis fisiológicas*

213 As variáveis fisiológicas não diferiram entre os tratamentos e não houve interação  
214 significativa entre tratamentos e dias, havendo efeito significativo apenas para os dias de  
215 avaliação (Tabela 6), e o efeito de categoria para FC e tendência para TR.

216 As FC médias nos dias de avaliações foram, 58,07; 59,15; 68,65; 67,13; 58,70; 44,15; 59,54  
217 e 54,93 bat/min, respectivamente nos dias 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8. As TR médias ao longo dos dias  
218 de avaliações foram 38,31; 38,17; 38,65; 38,41; 38,30; 37,98; 38,18 e 38,17 °C, respectivamente

219 nos dias 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8. As FR médias ao longo dos dias de avaliações foram 15,44; 17,88;  
220 25,83; 24,99; 19,64; 14,05; 20,64 e 18,72 mov/min, respectivamente nos dias 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e  
221 8. Os maiores valores de FC ocorreram nos dias 3 e 4, enquanto os menores valores ocorreram  
222 nos dias 6 e 8. Os valores de FR e TR foram máximos no dia 3 e mínimos no dia 6. Os animais  
223 mantiveram respiração normal, ou seja, não ofegaram durante as observações (escore 0).

224 As bezerras apresentaram o maior FC, enquanto as vacas apresentaram o menor FC. As  
225 novilhas tenderam a apresentar maior TR, enquanto as vacas tenderam a apresentar as menores  
226 TR. As categorias não diferiram quanto à FR.

227 As variáveis fisiológicas se correlacionaram (Tabela 7) positivamente com  $T_{méd}$ ,  $T_{máx}$  e  
228  $T_{mín}$  ( $p < 0,0001$ ). Houve uma correlação negativa para UR e FR ( $p < 0,05$ ), e ITU se correlacionou  
229 positivamente com FC e FR ( $p < 0,05$ ), em contrapartida, velocidade do vento (Vento) se  
230 correlacionou negativamente com FC e FR ( $p < 0,05$ ).

231

### 232 3.3 Comportamentais

233 Não houve diferença significativa entre as categorias para TPast, TOcio, TSol, TSom,  
234 TAgua, TLoc e BA (Tabela 5). Comparadas com as vacas e novilhas, as bezerras apresentaram  
235 menores TRum, menor TPé e maior TDeit.

236 A interação tratamento e dias foi significativa ( $p < 0,05$ ) para todas as variáveis  
237 comportamentais, exceto BA (Tabela 8). O TPast dos animais no CSA foi superior ao dos animais  
238 CS nos dias 1, 4, 5, 6, e 7 ( $p < 0,0001$ ). O TRum dos animais no tratamento CS foi superior ao  
239 CSA nos dias 1 ( $p < 0,0001$ ), 5 ( $p < 0,0001$ ), 6 ( $p < 0,05$ ) e 7 ( $p < 0,05$ ). O TOcio foi superior para os  
240 animais do CS nos dias 4 e 7 ( $p < 0,0001$ ).

241 O TPé foi superior nos animais CS comparados ao do CSA ( $p < 0,05$ ) nos dias 1, 2, 3, 4, 5,  
242 6, e 8, e no dia 7 tendeu a ser maior em CS comparado com CSA ( $p = 0,0572$ ). O TDeit foi maior  
243 para os animais no CSA nos dias 3 ( $p < 0,0001$ ) e 8 ( $p < 0,05$ ) comparados com o CS (Tabela 8).

244 O TSol foi maior em CSA nos dias 2, 4 e 5 ( $p < 0,05$ ) comparados com CS, ocorrendo o  
245 inverso no dia 3 ( $p < 0,05$ ). Animais do CS despenderam mais TSom ( $p < 0,0001$ ) em todos os dias

246 de avaliação comparados aos CSA. Por outro lado, o TAgua foi maior para o CSA comparado  
247 ao CS ( $p < 0,0001$ ) em todos os dias de avaliação (Tabela 8).

248 Nos dias 3, 4 e 5, os animais no tratamento CS apresentaram maior TLoc que os do CS,  
249 enquanto nos dias 2, 7 e 8 ocorreu o inverso. Não houve diferença estatística para BA. Foi  
250 observado que os animais apresentaram um padrão de movimentação pela pastagem para  
251 transitar de um ponto para outro sem exercer a atividade de pastejo ou procura por pasto (TLoc).  
252 No tratamento CSA, a locomoção iniciava com a saída dos animais da água de imersão para o  
253 bebedouro, e geralmente este deslocamento ocorria entorno das 15h00 às 16h00. Após a  
254 ingestão de água, os animais retornavam em grupo para água de imersão, apenas no retorno  
255 para água apresentaram o TPast. No tratamento CS, a locomoção ocorreu geralmente antes do  
256 início do pastejo, quando os animais se deslocavam até determinado ponto da pastagem antes  
257 de começarem a pastejar, e o deslocamento do local do sombrite até o bebedouro também foi  
258 considerado TLoc.

259 TPast e TPé apresentaram correlação negativa com Tméd, Tmáx, Tmín, ITU ( $p < 0,0001$ ),  
260 e correlação positiva para UR e insolação ( $p < 0,0001$ ). TOcio e TDeit apresentaram correlação  
261 positiva com Tméd, Tmáx, Tmín e ITU, e correlação negativa para UR e insolação. TRum  
262 apresentou correlação positiva significativa apenas para Tmín. TSol apresentou correlação  
263 negativa com Tméd, Tmáx, Tmín e ITU, correlação positiva para UR e insolação. Por outro lado,  
264 TSom e TAgua apresentaram correlação positiva com Tméd, Tmáx, Tmín e ITU e correlação  
265 negativa para UR e insolação (Tabela 7).

266

### 267 *3.4 Variáveis relativa ao desempenho*

268 Os valores médios de peso das categorias foram 305, 524 e 627 kg, respectivamente para  
269 bezerras, novilhas e vacas bubalinas (Tabela 6). O peso variou ( $P < 0,05$ ) entre as categorias e  
270 dias de avaliação, mas não variou entre tratamentos (Tabela 8).

271

### 272 3.5 Variáveis relativas à Pastagem

273 No tratamento CS, as médias das alturas da pastagem de entrada e saída foram 57,72 cm  
274 e 51,06 cm, respectivamente, enquanto no tratamento CSA as médias das alturas da pastagem  
275 de entrada e saída foram 47,15 cm e 38,39 cm, respectivamente. Os teores de MS médios para  
276 os piquetes de CS e CSA foram 25,41% e 28,40%. O acúmulo de massa de forragem média foi  
277 de 25,59 e 16,29 ton/MS/ha para os piquetes CS e CSA, respectivamente (Figura 1). A pastagem  
278 manteve sua composição bromatológica semelhante ao longo da estação quente. Os níveis de  
279 PB e FDN se mantiveram semelhantes ao longo do tempo para ambos os tratamentos (Anexo  
280 II).

281

282 **Tabela 5** Dados meteorológicos e cálculo do ITU

Data	Dia	Tméd (°C)	Tmáx (°C)	Tmín (°C)	UR (%)	ITU	Insolação (h)	Velo. Vento (m/s)
18/12/21	1	24,12	28,40	20,70	76,00	73,08	3,50	1,70
08/01/22	2	22,84	27,20	18,50	60,88	69,81	12,40	3,20
22/01/22	3	31,04	40,00	23,50	64,63	81,99	12,00	1,60
12/02/22	4	25,74	33,50	20,20	69,42	74,87	10,00	1,43
26/02/22	5	23,73	31,20	16,50	64,58	71,41	11,60	1,27
13/03/22	6	19,50	24,50	14,10	69,00	65,53	5,60	1,50
26/03/22	7	18,30	21,20	14,60	70,29	63,78	2,00	2,13
02/04/22	8	18,02	25,40	10,60	73,08	63,46	11,00	2,30

Tméd: temperatura média; Tmáx: temperatura máxima; Tmin: temperatura mínima; UR: umidade relativa; ITU: índice de temperatura e umidade; Insolação: insolação diária; Velo. Vento: velocidade do vento

284 **Tabela 6** Média dos tempos das atividades comportamentais de bezerras, novilhas e vacas  
 285 bubalina em pastejo durante a estação quente com acesso à sombra ou sombra e água de  
 286 imersão

<i>P-valor</i>					Média		
Comportamentais							
Variável	Trat	Categ	Dia	Trat x dia	Vaca	Novilha	Bezerra
TPast	<0,0001	0,1828	<0,0001	<0,0001	210,60 <sup>a</sup>	214,80 <sup>a</sup>	233,40 <sup>a</sup>
TRumi	0,0333	0,0114	<0,0001	<0,0001	238,20 <sup>a</sup>	217,20 <sup>a</sup>	172,80 <sup>b</sup>
TOcio	0,0161	0,2895	<0,0001	<0,0001	252,00 <sup>a</sup>	257,40 <sup>a</sup>	281,40 <sup>a</sup>
TPé	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	420,73 <sup>a</sup>	414,92 <sup>a</sup>	335,42 <sup>b</sup>
TDeit	0,0408	0,0672	<0,0001	<0,0001	279,60 <sup>ab</sup>	274,80 <sup>b</sup>	351,60 <sup>a</sup>
TSol	0,7342	0,1789	<0,0001	0,0002	453,00 <sup>a</sup>	489,00 <sup>a</sup>	477,00 <sup>a</sup>
TSom	<0,0001	0,8037	<0,0001	<0,0001	139,80 <sup>a</sup>	132,60 <sup>a</sup>	139,20 <sup>a</sup>
TÁgua	<0,0001	0,2040	<0,0001	<0,0001	127,20 <sup>a</sup>	88,20 <sup>a</sup>	87,00 <sup>a</sup>
TLoc	<0,0001	0,2341	<0,0001	<0,0001	30,83 <sup>a</sup>	30,07 <sup>a</sup>	23,85 <sup>a</sup>
BA	0,4815	0,3819	0,0405	0,4969	5,10 <sup>a</sup>	6,09 <sup>a</sup>	4,16 <sup>a</sup>
Desempenho							
Peso	0,5955	<0,0001	<0,0001	0,0049	627,22 <sup>a</sup>	523,86 <sup>b</sup>	304,98 <sup>c</sup>
Fisiológicas							
FC	0,3305	0,0436	<0,0001	0,3632	53,28 <sup>a</sup>	59,63 <sup>a</sup>	63,46 <sup>a</sup>
FR	0,952	0,5231	<0,0001	0,7826	20,16 <sup>a</sup>	19,20 <sup>a</sup>	19,58 <sup>a</sup>
TR	0,7464	0,0745	<0,0001	0,3735	38,13 <sup>a</sup>	38,37 <sup>a</sup>	38,33 <sup>a</sup>
EO	0	0	0	0	0	0	0

Trat: tratamento; TPast: tempo de pastejo (min/dia); TRumi: tempo de ruminação (min/dia); TOcio: tempo de ócio (min/dia); TPé: tempo em pé (min/dia); TDeit: tempo deitado (min/dia); TSol: tempo ao sol (min/dia); TSom: tempo a sombra (min/dia); TÁgua.: tempo dentro d'água (min/dia); TLoc: tempo de locomoção (min/dia); BA: tempo despendido próximo ao bebedouro (min/dia); Trat: nível de significância para tratamento; Peso: peso dos animais (Kg); FC: frequência cardíaca (bat/min); FR: frequência respiratória (mov/min); TR: temperatura retal (°C); EO: escore de ofegação; Categ: nível de significância para categoria; Dia: nível de significância para dia; Trat x dia: interação entre tratamento e dia

288 **Tabela 7** Correlação entre as variáveis comportamentais e fisiológicas em relação as variáveis climáticas

		TPast	TRum	TOcio	TPé	TDeit	TSol	TSom	TÁgua	TLoc	BA	FC	FR	TR
Tméd	Coef.						-				-			
	Corr	-0.52238	0.11788	0.36455	-0.32168	0.31147	0.77645	0.38713	0.37236	0.22148	0.03792	0.41740	0.44842	0.48778
	P-valor	<.0001	0.1377	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0049	0.6341	<.0001	<.0001	<.0001
Tmáx	Coef.						-				-			
	Corr	-0.42253	0.07723	0.31347	-0.28334	0.27634	0.84645	0.41128	0.42179	0.28751	0.03605	0.40428	0.49498	0.49112
	P-valor	<.0001	0.3317	<.0001	0.0003	0.0004	<.0001	<.0001	<.0001	0.0002	0.6508	<.0001	<.0001	<.0001
Tmín	Coef.						-				-			
	Corr	-0.53900	0.15635	0.34758	-0.29369	0.28583	0.57210	0.30153	0.25235	0.09504	0.02667	0.39605	0.34254	0.42264
	P-valor	<.0001	0.0483	<.0001	0.0002	0.0002	<.0001	0.0001	0.0013	0.2319	0.7378	<.0001	<.0001	<.0001
UR	Coef.						-				-			
	Corr	0.39819	0.10107	-0.38855	0.30458	0.24761	0.46639	0.27236	0.17393	0.20631	0.13343	0.13018	0.22148	0.10038
	P-valor	<.0001	0.2035	<.0001	<.0001	0.0016	<.0001	0.0005	0.0278	0.0089	0.0925	0.1111	0.0061	0.2185
ITU	Coef.						-				-			
	Corr	-0.50645	0.13049	0.34367	-0.30541	0.29941	0.75725	0.37732	0.36414	0.41631	0.43704	0.48880	0.20894	0.04445
	P-valor	<.0001	0.1000	<.0001	<.0001	0.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0080	0.5768
Vento	Coef.						-				-			
	Corr	-0.10593	-0.08793	0.10058	-0.02621	0.03250	0.24017	0.12733	0.14131	0.04494	0.14349	0.17758	0.21386	0.10042
	P-valor	0.1825	0.2689	0.2057	0.7421	0.6833	0.0022	0.1086	0.0747	0.5838	0.0778	0.0286	0.0066	0.2064
I	Coef.						-				-			
	Corr	0.36800	-0.08598	-0.31870	0.19723	0.23540	0.38666	0.25144	0.13778	0.12492	0.08387	0.35336	0.34194	0.34038
	P-valor	<.0001	0.2797	<.0001	0.0124	0.0027	<.0001	0.0013	0.0823	0.1155	0.2917	<.0001	<.0001	<.0001
P	Coef.						-				-			
	Corr	-0.10593	-0.08793	0.10058	-0.02621	0.03250	0.24017	0.12733	0.14131	0.21386	0.10042	0.04494	0.14349	0.17758
	P-valor	0.1825	0.2689	0.2057	0.7421	0.6833	0.0022	0.1086	0.0747	0.0066	0.2064	0.5838	0.0778	0.0286

Trat: tratamento; TPast: tempo de pastejo (min/dia); TRumi: tempo de ruminação (min/dia); TOcio: tempo de ócio (min/dia); TPé: tempo em pé (min/dia); TDeit: tempo deitado (min/dia); TSol: tempo ao sol (min/dia); TSom: tempo a sombra (min/dia); TÁgua.: tempo dentro d'água (min/dia); TLoc: tempo de locomoção (min/dia); BA: tempo despendido no entorno do bebedouro (min/dia); FC: frequência cardíaca (bat/min); FR: frequência respiratória (mov/min); TR: temperatura retal (°C); Tméd: temperatura média (°C); Tmáx: temperatura máxima (°C); Tmín: temperatura mínima (°C); UR: umidade relativa ; ITU: índice de temperatura e umidade; I: insolação diária (h); P: pressão (atm); Vento: velocidade do vento (m/s)



290 **Tabela 8** Média do tempo de permanência do comportamento dos animais ao longo dos dias em  
 291 relação aos tratamentos

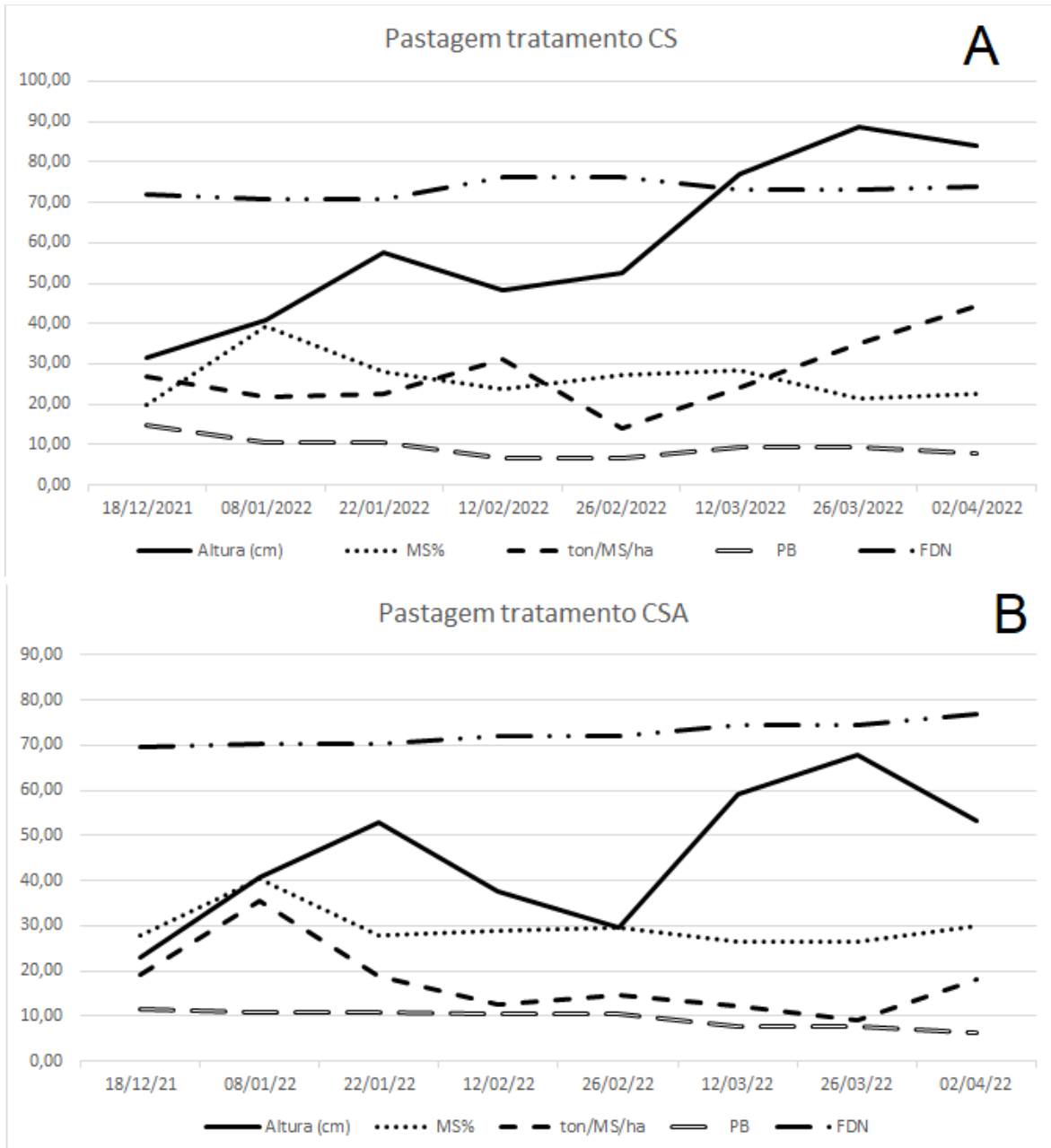
Var	Trat	Dia							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Comportamento									
TPast	CS	181,98	175,48	139,48	192,48	165,98	212,98	206,48	268,48
	CSA	231,48	162,48	122,48	308,48	272,98	295,98	272,98	299,98
	<i>P-valor</i>	0,0039	ns	ns	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0001	0,064
TRum	CS	314,2	218,2	220,7	193,7	262,7	244,2	158,2	210,2
	CSA	204,7	187,7	212,2	197,2	159,2	180,7	213,2	173,2
	<i>P-valor</i>	<0,0001	ns	ns	ns	<0,0001	0,0112	0,0276	ns
TOcio	CS	219,09	313,09	345,09	325,09	284,09	221,59	332,59	217,09
	CSA	254,59	291,09	324,09	180,59	264,09	213,09	214,09	217,09
	<i>P-valor</i>	ns	ns	ns	<0,0001	ns	ns	<0,0001	ns
TPé	CS	445,54	390,04	411,04	461,04	429,04	421,04	398,04	494,04
	CSA	390,04	320,54	162,54	376,04	364,54	370,04	412,04	401,04
	<i>P-valor</i>	ns	0,0318	<0,0001	0,0082	0,046	ns	ns	0,0043
TDeit	CS	269,73	316,73	294,23	250,73	283,73	257,73	299,23	201,73
	CSA	300,73	320,73	496,23	311,23	331,73	319,73	288,23	289,23
	<i>P-valor</i>	ns	ns	<0,0001	ns	ns	ns	ns	0,0205
TSol	CS	548,42	466,42	257,92	341,42	313,42	639,92	639,92	554,92
	CSA	572,42	474,92	164,92	417,92	386,92	615,92	674,42	498,42
	<i>P-valor</i>	ns	0,0008	0,0032	0,0147	0,019	ns	ns	ns
TSom	CS	170,45	249,45	458,45	380,45	406,95	83,45	83,45	167,45
	CSA	38,45	63,95	1,95	7,95	77,45	3,95	1,95	0,45
	<i>P-valor</i>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
TAgua	CS	1,23	1,23	1,23	1,23	1,23	1,23	1,23	1,23
	CSA	98,23	142,73	507,23	273,23	246,23	96,73	36,23	201,73
	<i>P-valor</i>	0,0013	0,0013	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0015	ns	<0,0001
TLoc	CS	5,32	7,82	76,82	64,32	76,32	34,32	29,32	45,82
	CSA	14,82	31,32	13,32	6,82	10,32	22,32	7,82	5,32
	<i>P-valor</i>	ns	0,0011	<0,0001	<0,0001	<0,0001	ns	0,0028	<0,0001
Desenvolvimento									
Peso	CS	419,85	450,35	450,35	499,35	499,35	529,75	529,75	554,25

CSA	420,47	453,25	453,25	480,55	480,55	510,26	510,26	523,81
<i>P-valor</i>	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

---

Trat: tratamento; TPast: tempo de pastejo (min/dia); TRumi: tempo de ruminação (min/dia); TOcio: tempo de ócio (min/dia); TPé: tempo em pé (min/dia); TDeit: tempo deitado (min/dia); TSol: tempo ao sol (min/dia); TSom: tempo a sombra (min/dia); TAgua.: tempo dentro d'água (min/dia); TLoc: tempo de locomoção (min/dia); BA: tempo despendido no entorno do bebedouro (min/dia); Trat: nível de significância para tratamento; Peso: peso dos animais (Kg); CS: tratamento com sombra; CSA: tratamento com sombra e água; ns: não significativo

293 **Figura 1** Média da altura da pastagem, percentagem de MS, massa de forragem em toneladas  
 294 por hectare, valores de PB e FDN dos tratamentos com sombra (CS) (A) e tratamento com  
 295 sombra e água de imersão (CSA) (B)



296

297

## 298 4 DISCUSSÃO

299 O presente estudo foi desenvolvido para identificar os indicadores fisiológicos e  
300 comportamentais de vacas, novilhas e bezerras bubalinas mantidas em sistema pastoril durante  
301 a estação quente com acesso a diferentes recursos de mitigação de calor. A contribuição do  
302 presente estudo foi estudar os atributos comportamentais de diferentes categorias de fêmeas  
303 bubalinas durante toda a estação quente, com acesso à sombra e à água e sombra. Alguns  
304 estudos têm pesquisado sobre comportamento térmico de bubalinos (Ablas et al., 2007), mas  
305 estes não avaliaram as diferentes categorias, nem os seus comportamentos tempo à sombra e  
306 tempo à água relacionados à mitigação ao calor, nem o uso de distintos recursos de mitigação  
307 do estresse térmico fornecidos simultaneamente durante toda a estação quente, no entanto este  
308 presente estudo avaliará estes atributos.

309

### 310 4.1 Fisiológicas

311 As variáveis fisiológicas foram influenciadas pelas condições meteorológicas. Os maiores  
312 valores das frequências cardio-respiratórias e de temperatura corporal podem ser associados à  
313 mudança no comportamento respiratório com menor volume de ar inspirado devido à exposição  
314 ao calor, aumentando a troca de calor pela evaporação de umidade do trato respiratório  
315 (Robertshaw, 2006). Efetivamente, os maiores valores dessas variáveis coincidiram com os  
316 maiores valores de ITU, os quais foram observados em janeiro, mês caracterizado por altas  
317 temperaturas e maiores índices de radiação durante a estação quente desta região (INMET,  
318 2022). Todavia os valores observados de FC, FR e TR se encontram dentro da faixa normal de  
319 variação na zona de conforto térmico (Garcia et al, 2011; Monteiro, 2010; Moraes Júnior et al.,  
320 2010), evidenciando que os animais permaneceram dentro da faixa de conforto térmico. No  
321 presente estudo, as vacas e as bezerras apresentaram valores de FC, FR e TR abaixo dos  
322 valores encontrados na literatura, provavelmente relacionado com os menores valores de ITU  
323 observados no presente estudo.

324 Particularmente, os búfalos sofrem mais por estresse calórico que os bovinos, pois, seus  
325 corpos além de absorverem uma grande quantidade de radiação devido à coloração da sua pele,  
326 eles possuem um sistema de resfriamento evaporativo deficitário, devido à menor capacidade de  
327 sudorese (Shafie, 1985). A pele bubalina tem um sexto da densidade das glândulas sudoríparas  
328 que a bovina, portanto, os búfalos dissipam mal o calor pelo suor. Outros autores relataram que  
329 bubalinos tendem a utilizar a via respiratória como forma de mitigação ao calor (Das et al., 1999;  
330 Castro et al., 2008; Garcia et al., 2011), comportamento este que não foi possível se observar,  
331 pois os bubalinos do presente estudo, mesmo quando ITU esteve acima de 75, não aumentaram  
332 expressivamente os valores de FR e EO, possivelmente porque essa via evaporativa não foi o  
333 sistema mais eficiente para essa espécie dentro destas condições.

334 Por outro lado, Das et al., (1999), Castro et al., (2008) e Garcia et al. (2011) afirmam que  
335 os búfalos utilizam a respiração como uma importante forma para dissipação de calor corpóreo,  
336 e sua taxa respiratória aumenta à medida que a temperatura ambiente se eleva. Segundo  
337 Silanikove (2000), valores de FR de 20 a 60, 60 a 80 e 80 a 120 mov/min caracterizam  
338 respectivamente baixo, médio e alto estresse para ruminantes, e acima de 200 mov/min, o  
339 estresse é classificado como severo. Dessa maneira, como os valores de FR variaram entre 14  
340 e 26 mov/min, fica claro que eles não utilizaram essa via para mitigar o estresse térmico.

341 A ausência de efeito do tipo de enriquecimento ambiental (sombra x sombra + água para  
342 imersão) mostra que ambos foram igualmente eficientes em mitigar o estresse térmico dos  
343 búfalos. O sombreamento disponível no tratamento CS protegeu os animais da incidência direta  
344 da radiação solar, diminuindo a intensidade da termólise, que depende parcialmente do débito  
345 cardíaco. Corroborando com os nossos resultados, Garcia et al. (2011) relataram que no período  
346 com menos chuva e a radiação solar mais intensa, os bubalinos sem acesso à sombra  
347 apresentaram taquicardia.

348

349 *4.2 Comportamentais*

350 No presente estudo, em função do horário diurno das observações comportamentais, a  
351 principal atividade foi o pastejo, concentrado no início da manhã e no final da tarde, em  
352 concordância com o descrito por Grandin (2000), evitando a exposição do corpo à radiação solar  
353 direta ou estimulando a termólise através de condução na água. Esse resultado é corroborado  
354 por Monteiro (2010), que encontrou maior tempo de pastejo (597,6 min) em comparação às  
355 outras atividades como tempo de ruminação e tempo de ócio.

356 O maior TRum no tratamento CS comparado ao CSA pode ser consequência da alocação  
357 competitiva entre o tempo de pastejo e o de ruminação. Contrariamente, Ablas et al. (2007)  
358 reportaram que animais que tiveram o enriquecimento água utilizaram de forma eficiente este  
359 recurso para ruminar com o corpo completamente imerso em água, sendo 33 minutos para o  
360 tratamento sombra e 47 minutos para o tratamento sombra e água.

361 Os tempos de ruminação observados no presente estudo são menores que os reportados  
362 por outros autores, possivelmente relacionados à duração do período de observação, somente  
363 diurno. Fraser & Broom (1990), relataram que o tempo de ruminação pode variar de 240 min (4h)  
364 até 540 min (9h), sendo dividido em períodos de pouco minutos a mais de uma hora. Silva et al.  
365 (2009) encontraram tempo de ruminação de bubalinos igual a 456 min/dia. Monteiro (2010)  
366 encontrou valores para tempo de ruminação em torno de 439,2 min/dia em um período de  
367 observação de 48h.

368 As maiores diferenças de tempo em pé favorecendo o tratamento CS foram observadas  
369 nos dias com maiores valores de ITU, provavelmente indicando que nesse tratamento os animais  
370 assumiram a posição em pé de forma a perder calor por convecção, mesmo sob a sombra.  
371 Ocorreu o inverso com o tempo deitado, pois os animais do tratamento CSA permaneceram  
372 deitados por mais tempo à sombra e imersos na água, trocando calor por condução com o solo  
373 à sombra e na água. Monteiro (2010) relatou os bubalinos permanecerem mais tempo deitados  
374 (581,4 min) que em pé (136,2 min). O tempo de locomoção foi significativamente maior para os  
375 animais que permaneceram no tratamento CS nos dias de observação mais quentes, podendo

376 estar relacionado ao tempo que os animais despenderam até o bebedouro e em deslocamento  
377 pela pastagem sem o efetivo consumo de pasto.

378 Em relação ao tempo dos animais nos enriquecimentos ambientais, no tratamento CSA os  
379 animais preferiram permanecer a maior parte do tempo dentro da água, em concordância com o  
380 relatado por Ablas et al. (2007). Os animais do tratamento CSA permaneceram por 97,2 min a  
381 507 min imersos na água nos dias com temperatura amena e elevada, respectivamente. O tempo  
382 de permanência dos animais imersos na água esteve diretamente relacionado ao índice de  
383 conforto térmico. Machado Filho et al. (1989) relataram os animais chafurdaram na lama entre  
384 as 8h as 11h da manhã. Na Índia, com livre acesso a lagoas durante todo dia, os animais  
385 procuraram a água entre 9 e 10 horas e permaneceram imersos durante 330 min a 360 min, com  
386 interrupção às 12 horas para pastejo (Mason, 1974). Monteiro (2010) relatou que bubalinas  
387 dedicaram um tempo total de 270 min para permanecer na água. Ablas et al. (2007) encontraram  
388 maior tempo de pastejo para o tratamento onde os animais tinham apenas sombra (331,2 min),  
389 em relação ao tratamento onde os animais tinham disponível sombra e água (324 min).

390 Por outro lado, o tempo de exposição ao sol foi menor no dia de maior ITU (dia 3, ITU =  
391 82), para ambos os tratamentos comparados aos outros dias observacionais, enquanto os  
392 maiores valores de exposição ao sol ocorreram nos dias de temperatura mais amena. Dhaliwal  
393 et al. (2021) apresentam que o ITU 70 é ideal para espécie bubalina, pode ser este um dos  
394 motivos que explica a maior permanência destes animais ao sol neste dia. Os animais do  
395 tratamento CSA permaneceram mais tempo ao sol quando comparados ao tratamento CS.

396 Essas variações os tempos despendidos em pé, deitado, à sombra e imersos na água  
397 podem ser explicados pelas diferenças anatômicas e fisiológicas de bubalinos quando  
398 comparados a outras espécies, como a cor escura e a espessura da epiderme, pequena  
399 densidade de glândulas sudoríparas, mas elevada vascularização periférica, promovendo  
400 elevada absorção de raios ultravioleta e os levando a utilizar a via de condução e convecção  
401 como ferramenta de termólise mais eficiente do que a via evaporativa (Robertshaw, 2006; Shafie,  
402 1985).

403

404 *4.3 Categorias de fêmeas bubalinas*

405 O maior TD das bezerras refletiu em menor TPé em relação a vacas e novilhas. Embora  
406 não significativo, bezerras apresentaram maior valor numérico de tempo em pastejo, o que  
407 poderia ser explicado pela sua maior seletividade, em buscar partes da forragem com maior  
408 concentração de nutrientes digestíveis em função de seu menor tamanho do rúmen para  
409 fermentação deste volumoso (Berchielli et al, 2006), justificando seu menor TRum, assim como  
410 Alixandre (2016) relatou tempo de pastejo, para bezerros em torno de sete meses, semelhante  
411 ao encontrado no presente estudo. Outra possibilidade é que os bezerros podem ter favorecido  
412 a taxa de passagem para poder aumentar seu consumo de pasto (Berchielli et al. 2006).

413

414 **CONCLUSÃO**

415 O comportamento e variáveis fisiológicas de fêmeas bubalinas em pastejo são alteradas  
416 ao longo da estação quente. O comportamento de mitigação de calor não variou conforme as  
417 categorias e os enriquecimentos ambientais disponíveis.

418 Os animais com disponibilidade de sombra e sombra + água de imersão mantiveram seus  
419 parâmetros fisiológicos dentro das referências encontradas em literatura.

420 Quando ambos os recursos são disponíveis, bezerras, novilhas e vacas bubalinas preferem  
421 a imersão em água para mitigar os efeitos do estresse térmico.

422



423 **REFERÊNCIAS**

- 424 Alixandre J. J. da S. Comportamento Ingestivo Diurno E Desempenho De Bezerros Bubalinos.  
425 Trabalho de conclusão de curso II. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos.  
426 p.33. 2016
- 427 Association Of Official Analytical Chemists - AOAC. Official Methods of analysis of the  
428 Association of Official Analytical Chemists. 17th ed. Arlington: AOAC, 1996.
- 429 Barbosa Ra, Rosa Pr & Lima Go. Capim-massai manejado em diferentes combinações de  
430 intensidade e frequência de corte 2010. Disponível em: <www.sbz.org.br>.
- 431 Berchielli T.T.; Pires A.V; De Oliveira S.G. Nutrição de ruminantes / Editores Telma Teresinha  
432 Berchielli, Alexandre Vaz Pires, Simones Gisele de Oliveira – Jaboticabal: Funped, 2006, 583  
433 p. 28cm
- 434 Bergamaschi H, Melo Rw. Boletim agrometeorológico da estação experimental agrônômica da  
435 UFRGS: 1970-2012. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2013.
- 436 Castro A.C. et al. Sistema silvipastoril na Amazônia: ferramenta para elevar o desempenho  
437 produtivo de búfalos. Ciência Rural [online]. 2008, v. 38, n. 8, pp. 2395-2402.
- 438 Ablas; Titto, E. A. L.; Pereira, A. M. F.; Titto, C. G.; Leme, T. M. Da C. Comportamento De  
439 Bubalinos A Pasto Frente A Disponibilidade De Sombra E Água Para Imersão. Ciência Animal  
440 Brasileira / Brazilian Animal Science, Goiânia, v. 8, n. 2, p. 167–176, 2007. Disponível em:  
441 <https://revistas.ufg.br/vet/article/view/1339>. Acesso em: 24 jan. 2023.
- 442 Dhaliwal, R.K., Malhotra, P., Kashyap, N. *et al.* Determination of heat stress zone for daily milk  
443 yield using carryover heat effect model in Murrah buffaloes. *Trop Anim Health Prod* 53, 488  
444 (2021). <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02927-5>
- 445 Fraser, A.F.; Broom, D.M. Farm Animal Behavior and Welfare. 3. ed. London: Bailliere Tindall,  
446 589p.1990.
- 447 Garcia, A. R., Matos, L. B., Lourenço Júnior, J. D. B., Nahúm, B. D. S., Araújo, C. V. D., &  
448 Santos, A. X. Variáveis fisiológicas de búfalas leiteiras criadas sob sombreamento em sistemas  
449 silvipastoris. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 46, 1409-1414. 2020

- 450 Grandim, T. Principios de comportamiento animal para el manejo de bovinos y otros herbívoros  
451 em condiciones extensivas. *Livestock Handling and Transport*. Wallingford, Oxon: CAB  
452 Publishing,. cap. 5. p. 6385. 2000
- 453 Gudev D.; Popova-Ralcheva S.; Moneva P.; Aleksiev Y.; Peeva Tz.; Penchev P.; Ilieva I.  
454 Physiological índices in buffaloes exposed to sun. *Archiva Zootechnica* vol. 10, p. 127-133. 2007
- 455 IKEDA, Mayara Pardi; LAMARCA, Daniel Sá Freire; DA SILVA MIRANDA, Késia Oliveira.  
456 Ondas de calor na produção animal: mapeamento de. In: 6º congresso de zootecnia de precisão  
457 20º seminário técnico científico de aves. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2022.  
458 p. 14.
- 459 INMET. Instituto Nacional de Meteorologia. Ministério da Agricultura e Pecuária. Banco de  
460 dados meteorológicos online. Disponível em < <https://bdmep.inmet.gov.br/>> Acesso: 08 de jan  
461 de 2022.
- 462 Louren Júnior, J. D. B., Castro, A. C., Dantas, J. D. S., Santos, N., Alves, O. D. S., & Monteiro,  
463 E. M. M. Índice de conforto térmico em bubalinos criados em sistema silvipastoril, em Belém,  
464 Pará. In: Congresso Brasileiro De Biometeorologia, 4., 2006, Ribeirão Preto. Mudanças  
465 climáticas: impacto sobre homens, plantas e animais: anais. Ribeirão Preto: Instituto de  
466 Zootecnia, 2006.
- 467 Machado Filho, L.C.P; Bonin, J.A.; Gabe, D.O. et al. Estudo preliminar do comportamento de  
468 pastoreio de bufalinhos (*Bubalus bubalis*). In: Reunião Anual da SBZ, 25, 1989, Porto Alegre.  
469 Anais... Porto Alegre, SBZ., p.236. 1989
- 470 Mader T.L., M. S. Davis, T. Brown-Brandl, Environmental factors influencing heat stress in  
471 feedlot cattle,, *Journal of Animal Science*, Volume 84, Issue 3, March 2006, Pages 712–  
472 719, <https://doi.org/10.2527/2006.843712x>
- 473 Marai IFM, Haebe AAM. Buffalo's biological functions as affected by heat stress — A  
474 review. *Livestock Science* 127:89-109. 2010
- 475 Marins, T. N.; Almeida, I. G. B. De; Lôbo, B. V.; Pessoa, C. M. B.; Teixeira, R. C.; Alves, B. G.;
- 476 Gambarini, M. L. Stress and thermal comfort indexes associated with physiological parameters

- 477 and energy status in Girolando cows raised on pasture in the tropical savannah. *Research,*  
478 *Society and Development, [S. I.], v. 9, n. 7, p. e111973672, 2020. DOI: 10.33448/rsd-v9i7.3672.*  
479 Disponível em: [https://doi.org/10.1590/S0100-](https://doi.org/10.1590/S0100-69162009000400001)  
480 [69162009000400001](https://doi.org/10.1590/S0100-69162009000400001)
- 481 Mason, I.L. Environmental physiology. In: *The husbandry and health of the domestic buffalo.*  
482 Rome. W. Ross Cockrill. FAO. p.89-104, 1974.
- 483 Monteiro, Paulo De Barros Sáles. *Comportamento Ingestivo De Bubalinos Em Pastagem De*  
484 *Brachiaria Na Zona Da Mata Sul De Pernambuco.* 2010. Tese de Doutorado. Universidade  
485 Federal Rural de Pernambuco.
- 486 Moraes Júnior, R. J., Garcia, A. R., Santos, N. De F. A. Dos., Nahúm, B. De S., Lourenço Junior,  
487 J. De B., Aaraújo, C. V. De., & Costa, N. A. Da. Conforto ambiental para bezerros bubalinos  
488 (*Bubalus bubalis* Linnaeus, 1758) em sistemas silvipastoris na Amazônia Oriental, 2010 *Acta*  
489 *Amazonica, 40,* (*Acta Amaz., 2010 40(4)*). <https://doi.org/10.1590/S004-596720100004000001>
- 490 Navarini, F. C., Klosowski, E. S., Campos, A. T., Teixeira, R. De A., & Almeida, C. P.. Conforto  
491 térmico de bovinos da raça nelore a pasto sob diferentes condições de sombreamento e a pleno  
492 sol. *Engenharia Agrícola, 29.* 2009
- 493 Paladines, Osvaldo. Germoplasma forrajero bajo pastoreo en pequeñas parcelas:  
494 metodologías de evaluación: memorias de una reunión de trabajo celebrada en Cali, Colombia,  
495 22-24 septiembre, 1982. CIAT, 1983.
- 496 Prado, R. T. A. P.; Ferreira, F. L. Measurement of Albedo and Analysis of Its Influence the  
497 Surface Temperature of Building Roof Materials. *Energy and Buildings, v. 37, n. 4, p. 295-300,*  
498 2005.
- 499 Robertshaw, D. Dukes, fisiologia dos animais domésticos: regulação da temperatura e o  
500 ambiente térmico. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 899-909.
- 501 Shafie M.M. Physiological responses and adaptation of water buffalo. CRC, Press, INC.  
502 *Stressphysiology in livestock. Volume I. Ungulates, 1985, p.67-80*

- 503 Silanikove, N. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants.  
504 Livestock Production Science, v. 67, p. 1-18, 2000.
- 505 Silva, A.M., Modesto, E.C. Perfil nictemeral do comportamento ingestivo de búfalos  
506 mediterrâneos em pastagem de *Brachiaria Tanner* Grass na zona da mata pernambucana. João  
507 Pessoa-PB. Zootec.(CD ROM). 2009.
- 508 Thom, E.C., 1959. The Discomfort Index. Weatherwise 12, 57-61.  
509 <https://doi.org/10.1080/00431672.1959.9926960>
- 510 Thurow, Juliana Muliterno et al. Estrutura da vegetação e comportamento ingestivo de novilhos  
511 em pastagem natural do Rio Grande do Sul. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 38, p. 818-826,  
512 2009.
- 513 Uemoto, K. L.; Sato, N. M. N.; John, V. M. Estimating Thermal Performance of Cool Colored  
514 Paints. Energy and Buildings, v. 42, p. 17-22, 2010.
- 515 Van Soest, P.J; Wine, R.H. Method for determination of plant cell walls. J. Assoc. Off Anal.  
516 Chem. 50:35, 1967
- 517 Werle, A. P.; Loh, K.; John, V. M. Pintura à Base de Cal Como aLternativa de Revestimento  
518 Frio. Ambiente Construído, Porto Alegre, v. 14, n. 3, p. 149-157, jul./set. 2014.
- 519 Yamada, Karoline de Lima Guimarães. Sistemas de duchas, aspersores e sombrites destinados  
520 a promoção da redução do estresse térmico em vacas leiteiras a pasto e sua influência sobre  
521 parâmetros produtivos, fisiológicos e reprodutivos. 2020. 130 f. Tese (doutorado)  
522 [//rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/3672](http://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/3672). Acesso em: 6 feb. 2023.
- 523



**UFRGS**  
UNIVERSIDADE FEDERAL  
DO RIO GRANDE DO SUL

**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA**

Comissão De Ética No Uso De Animais



**CARTA DE APROVAÇÃO**

Comissão De Ética No Uso De Animais analisou o projeto:

Número: 41595

Título: Estresse térmico em bubalinos criados em pastagem: indicadores fisiológicos e comportamentais

Vigência: 01/12/2021 à 01/03/2023

Pesquisadores:

Equipe UFRGS:

VIVIAN FISCHER - coordenador desde 01/12/2021  
Delane Ribas Da Rosa - desde 01/12/2021  
Arthur Fernandes Bettencourt - desde 01/12/2021  
Diogo Magnabosco - pesquisador desde 01/12/2021  
ELISA CRISTINA MODESTO - pesquisador desde 01/12/2021

***Comissão De Ética No Uso De Animais aprovou o mesmo, em reunião realizada em 06/06/2022 - Reunião virtual - Plataforma Mconf UFRGS, em seus aspectos éticos e metodológicos, para a utilização de 50 bubalinos sendo 20 fêmeas adultas em idade reprodutiva e 30 bezerros, todos provenientes da Estação Experimental Agronômica da UFRGS, de acordo com os preceitos das Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08 de novembro de 2008, o Decreto 6899 de 15 de julho de 2009, e as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), que disciplinam a produção, manutenção e/ou utilização de animais do filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) em atividade de ensino ou pesquisa.***

Porto Alegre, Sexta-Feira, 10 de Junho de 2022

MAITE DE MORAES VIEIRA  
Coordenador da comissão de ética

526 **Anexo II**

527 **Tabela 9** Análise bromatológica da pastagem ao longo dos dias observacionais  
 528 para ambas os tratamentos

Análise	Tratamento	Dias							
		1	2	3	4	5	6	7	8
MS	CS	100	100	100	100	100	100	100	100
	CSA	100	100	100	100	100	100	100	100
MO	CS	90,00	90,00	90,00	89,80	89,80	88,40	88,40	88,60
	CSA	90,60	90,10	90,10	89,90	89,90	89,40	89,40	90,80
PB	CS	14,80	10,40	10,40	6,79	6,79	9,19	9,19	7,71
	CSA	11,50	10,70	10,70	10,30	10,30	7,70	7,70	6,31
FB	CS	33,10	32,60	32,60	36,50	36,50	33,20	33,20	39,80
	CSA	31,80	32,90	32,90	38,40	38,40	38,60	38,60	34,20
EE	CS	0,90	1,70	1,70	1,40	1,40	1,90	1,90	1,40
	CSA	1,70	1,80	1,80	2,00	2,00	1,80	1,80	1,70
Cinzas	CS	10,00	10,00	10,00	10,20	10,20	11,60	11,60	11,40
	CSA	9,40	9,95	9,95	10,10	10,10	10,70	10,70	9,16
ENN	CS	41,20	45,30	45,30	45,10	45,10	44,10	44,10	39,70
	CSA	45,60	44,70	44,70	39,20	39,20	41,30	41,30	48,60
FDN	CS	71,90	70,90	70,90	76,40	76,40	73,00	73,00	73,90
	CSA	69,80	70,40	70,40	72,00	72,00	74,50	74,50	77,10
FDA	CS	36,10	36,70	36,70	42,50	42,50	40,50	40,50	40,10
	CSA	33,00	36,30	36,30	38,10	38,10	40,10	40,10	41,90
Lignina	CS	3,80	3,60	3,60	4,60	4,60	3,30	3,30	4,10
	CSA	3,10	3,70	3,70	4,20	4,20	3,70	3,70	4,50
NDT	CS	52,10	51,90	51,90	48,40	48,40	50,10	50,10	46,40
	CSA	53,10	52,20	52,20	50,10	50,10	48,20	48,20	50,50

MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; FB: fibra bruta; EE: estrato etéreo; ENN: estrato não nitrogenado; FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido; NDT: nutrientes digestíveis totais; CS: tratamento com sombra; CSA: tratamento com sombra e água

529

530

## REFERÊNCIAS

- ABLAS, D. S. *et al.* Comportamento de bubalinos a pasto frente a disponibilidade de sombra e água para imersão. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 8, n. 2, p. 167–176, 2007. Disponível em: <https://revistas.ufg.br/vet/article/view/1339>. Acesso em: 24 jan. 2023.
- AGGARWAL, A.; UPADHYAY, R. Thermoregulation. *In*: AGGARWAL, A.; UPADHYAY, R. **Heat stress and animal productivity**. New Delhi: Springer, 2013. p 1-25.
- ALIXANDRE, J. J. S. **Comportamento ingestivo diurno e desempenho de bezerros bubalinos**. 2016. 33 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Zootecnia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2016.
- ANDERSEN, M. L. *et al.* **Princípios éticos e práticos do uso de animais de experimentação**. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo, 2004.
- ANIL, K. S.; THOMAS, C. K. Comparative draught performance of cattle and buffaloes.1.Physiological reactions. **Indian Journal of Animal Science**, New Delhi, v. 66, n. 4, p. 398-401, 1996.
- BARBOSA, R. A.; ROSA, P. R.; LIMA, G. O. Capim-massai manejado em diferentes combinações de intensidade e frequência de corte. *In*: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 47., 2010, Salvador. **Empreendedorismo e progresso científicos na zootecnia brasileira de vanguarda: anais**. Salvador: SBZ, 2010. 1 CD-ROM. 2010. Disponível em: <http://sbz.org.br/new/pt/documentos--anais-das-reunioes>. Acesso em: 14 de jan de 2023.
- BERDUGO-GUTIÉRREZ, J. *et al.* **El búfalo de agua y el estrés calórico**. Alcaldía Coyoacán: BM Editores, Dic. 2018. Disponível em: <https://bmeditores.mx/secciones-especiales/el-bufalo-de-agua-y-el-estres-calorico-1877/>. Acesso em: 15 de fev de 2023
- BORGHESE A. Buffalo production and research. **Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)**. Rome, Italy. REU Technical Series 2005 nº 67. p. 315
- BRADLEY, G. **Cunningham's textbook of veterinary physiology**. 5th ed. Barcelona: Elsevier, 2013.
- CASTRO A. C. *et al.* Sistema silvipastoril na Amazônia: ferramenta para elevar o desempenho produtivo de búfalos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 8, p. 2395-2402, 2008.
- CASTRO, A. C. **Evaluation of silvopastoral systems for productive performance of buffaloes handled under climatic conditions of Belém, Pará**. 2005. 91 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará, Belém, 2005.

CASTRO, V. S. *et al.* Comportamento ingestivo de novilhas bubalinas (*bubalus bubalis*) em regime de confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 33, n. 8, p.1747-1756, 2002.

COLLIER, R. J.; DAHL, G. E.; VANBAALE, M. J. Major advances associated with environmental effects on dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 4, p. 1244–1253, 2006.

COSTA, Ligia Alexandrina Barros da **Índices de conforto térmico e adaptabilidade de fêmeas bubalinas em pastejo no Agreste de Pernambuco**. 2007. 52 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia), Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2007.

CURTIS, S. E. Environmental management in animal agriculture. Illinois: Animal Environment Services, 1981. 430 p.

DAS, S.; UPADHYAY, R.; MADAN, M. Heat stress in Murrah buffalo calves. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 61, n. 1, p. 71-78, 1999.

DE ROSA, G. *et al.* Behavior and milk production of buffalo cows as affected by housing system. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, p. 907-912, 2009..

DE ROSA, G. *et al.* On the development of a monitoring scheme of buffalo welfare at farm level. **Italian Journal of Animal Science**, Bologna, v. 4, p. 115-125, 2005.

DIMITRI, U. *et al.* Effect of vitamin E and selenium supplementation on oxidative stress indices and cortisol level in blood in water buffaloes during pregnancy and early postpartum period. **Tropical Animal Health and Production**, Edinburgh, v. 42, p. 405-410, 2010.

FRASER, A. F.; BROOM, D. M. **Farm animal behavior and welfare**. 3rd ed. London: Bailliere Tindall, 1990. 589 p

GARCIA, A. R. Conforto térmico na reprodução de bubalinos criados em condições tropicais. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 37, n. 2, p.121-130, abr./jun. 2013.

GARCIA, A. R. *et al.* Variáveis fisiológicas de búfalas leiteiras criadas sob sombreamento em sistemas silvipastoris. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 46, p. 1409-1414, 2011.

GRANDIN, T. Principios de comportamiento animal para el manejo de bovinos y otros herbívoros em condiciones extensivas. *In*: GRANDIN, T. (comp.). **Livestock handling and transport**. Wallingford: CAB, 2000. cap. 5. p. 63-85.

GU, Z.; YANG, S.; LENG, J. Impacts of shade on physiological and behavioural pattern of Dehong buffalo calves under high temperature. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 177, p. 1-5, 2016.



- GUDEV, D. *et al.* Physiological indices in buffaloes exposed to sun. **Archiva Zootechnica**, Bucharest, v. 10, p. 127-133, 2007.
- KHONGDEE, T.; SRIPOON, S.; VAJRABUKKA, C. The effects of high temperature and wallow on physiological responses of swamp buffaloes (*Bubalus bubalis*) during winter season in Thailand. **Journal of Thermal Biology**, Oxford, v. 36, p. 417-421, 2011.
- KHONGDEE, T.; SRIPOON, S.; VAJRABUKKA, C. The effects of high temperature and roof modification on physiological responses of swamp buffalo (*Bubalus bubalis*) in the tropics. **International Journal of Biometeorology**, New York, v. 57, p. 349–354, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00484-012-0557-3>. Acesso em: 21 de jan de 2023
- KOGA, A. *et al.* (2004). Comparison of the thermoregulatory response of buffaloes and tropical cattle, using fluctuations in rectal temperature, skin temperature and haematocrit as an index. **The Journal of Agricultural Science**, London, v. 142, n. 3, p. 351-355, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0021859604004216>. Acesso em: 03 de mar de 2023
- KOGA, A. *et al.* Internal changes of blood compartment and heat distribution in swamp buffaloes under hot conditions: comparative study of thermo-regulation in buffaloes and friesland cows. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul, v. 12, p. 886-890, 1999.
- LOURENÇO JÚNIOR, J. B. **Variáveis produtivas, fisiológicas e de comportamento de zebuínos e bubalinos e fatores do ambiente físico em pastagem cultivada da ilha de Marajó**. 1998. 127 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Pará, Belém, 1998.
- MAGALHÃES, J. *et al.* Determination of cattle and buffaloes heat tolerance on the humid tropics. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE BIOMETEOROLOGIA, 4., 2006, Ribeirão Preto, SP. [**Anais ...**]. São Paulo: Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, 2006. 6 p.
- MARAI, I. F.M.; HAEEB, A. A. M. Buffalo's biological functions as affected by heat stress — A review. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 127, n. 2/3, p. 89-109, 2010.
- MARTELLO, L. S. *et al.* Respostas fisiológicas e produtivas de vacas holandesas em lactação submetidas a diferentes ambientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 33, n. 1, p. 181–191, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982004000100022>. Acesso em: 03 de mar de 2023
- McMANUS, C. *et al.* Heat tolerance in brazilian sheep: physiological and blood parameters. **Tropical Animal Health and Production**, Edinburgh, v. 41, n. 1, p. 95–101. 2009.
- MOBERG, G. P. Biological responses to stress: implications for animal welfare. *In*: MOBERG, G. P.; MENCH, J. A. (ed.). **The biology of animal stress: basic**

principles and implications for animal welfare. Wallingford: CABI International, 2000. p. 1-22.

MONTEIRO, Paulo de Barros Sáles. **Comportamento ingestivo de bubalinos em pastagem de Brachiaria na zona da mata sul de Pernambuco**. 2010. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Departamento de Zootecnia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2010.

MORAES JÚNIOR, R. J. *et al.* Conforto ambiental de bezerros bubalinos (*Bubalus bubalis* Linnaeus, 1758) em sistemas silvipastoris na Amazônia Oriental. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 40, p. 629-640, 2010.

MORAIS, D. A. E. F. *et al.* Variação anual de hormônios tireoideanos e características termorreguladoras de vacas leiteiras em ambiente quente. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 37, n. 3, p. 538-545, 2008.

OLIVEIRA, J. P. F. *et al.* Temperamento de búfalas em sala de ordenha sobre índices produtivos e adaptabilidade ao ambiente: uma revisão. **Journal of Animal Behaviour and Biometeorology**, Mossoró, v. 1, p. 21-30, 2013.

PIRES, M. F. A. Manejo nutricional para evitar o estresse calórico. Juiz de Fora: EMBRAPA, 2006. p.1-4.

RICCI, G. D.; TITTO, C. G.; SOUSA, R. T. Enriquecimento ambiental e bem-estar na produção animal. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 16, n. 3, p. 324-331, 2017.

ROBERTSHAW, D. **Dukes, fisiologia dos animais domésticos**: regulação da temperatura e o ambiente térmico. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 899-909.

SHAFIE, M. M. Physiological responses and adaptation of water buffalo. *In*: YOUSEF, M. K. **Stress physiology in livestock**. Boca Raton> CRC, 1985. v. 1, p. 67-80.

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

SMITH, T. R. *et al.* Evaporative tunnel cooling of dairy cows in Southeast I: effect in body temperature and respiration rate. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, p. 3904-3914, 2006.

SOUZA, B. B. *et al.* Avaliação do ambiente físico promovido pelo sombreamento sobre o processo termorregulatório em novilhas leiteiras. **Agropecuária Científica no Semiárido**, Campina Grande, v. 6, n. 2, p. 59-65, 2010.

STARLING, J. M. C. *et al.* Análise de algumas variáveis fisiológicas para avaliação do grau de adaptação de ovinos submetidos ao estresse por calor. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 31, n. 5, p. 2070-2077, 2002.

THATCHER, W. W. Manejo de estresse calórico e estratégias para melhorar o desempenho lactacional e reprodutivo em vacas de leite. *In*: CURSO NOVOS

ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, 14., 2010, Uberlândia, MG. **Anais** [...]. Uberlândia: Conapec Jr, 2010. p. 2-25.

TITTO, E. A. L.; RUSSO, H. G.; LIMA, C. G. Efeito do banho de água sobre o conforto térmico de bubalinos. *In*: CONGRESSO DE ZOOTECNIA, 6., 1996, Évora. **Actas** [...]. Lisboa: APEZ, 1996. v. 1, p. 15-18.

TORQUATO, J. L. *et al.* Aspectos da utilização de sombreamento em pastagens. **PUBVET**, Londrina, v. 6, n. 14, ed. 201, [art. 1348], 2012.

TULLOCH, D. G. Behaviour of non-domesticated swamp buffaloes in Austrália. *In*: Tulloh, N. M., Holmes, J. H. G. Buffalo Production. Australia: Elsevier, 1992. p. 247-270

## **Anexo III** – Normas utilizada na preparação do capítulo II

Guide for Authors: Applied Animal Behaviour Science Journal

### **Presubmission Inquiries**

*Applied Animal Behaviour Science* allows authors who are interested in submitting work for potential publication to send a presubmission inquiry prior to any formal manuscript submission. Presubmission inquiries should include the abstract of the manuscript and the presubmission inquiry check-list ([download the form here](#)). Presubmission inquiries can be especially useful if the authors wonder whether their chosen topic, or experimental design would fit the scope and requirements of the Journal.

Presubmission inquiries for manuscripts related to farm animals should be sent by e-mail to Irene Camerlink ([i.camerlink@igbzpan.pl](mailto:i.camerlink@igbzpan.pl)) whereas manuscripts on non-farm animals should be sent to Peter Pongracz ([peter.pongracz@ttk.elte.hu](mailto:peter.pongracz@ttk.elte.hu)). We will usually reply within 3 days. A positive response to a presubmission inquiry is no guarantee for a positive final decision, as the submitted manuscript will be subject to preliminary assessment by an editor and then a subsequent peer-review.

### **Types of paper**

1. Original Research Papers (Regular Papers)
2. Review Articles
3. Letters to the Editor

*Original Research Papers* should report the results of original research on topics that are within the scope of the journal (<https://www.elsevier.com/locate/applanim>). The material should not have been previously published elsewhere, except in a preliminary form.

*Review Articles* Review Articles should cover subjects falling within the scope of the journal which are of active current interest. They may be spontaneously submitted or invited. Review articles do not have to be systematic reviews but must provide a

complete insight into the selection of articles, with the literature search, sources and selection process described in a Methods section. .

*Letters to the Editor* offering comment or useful critique on material published in the journal are welcomed. The decision to publish submitted letters rests purely with the Editors-in-Chief. It is hoped that the publication of such letters will permit an exchange of views which will be of benefit to both the journal and its readers. .

*Case Reports* will not be considered for publication.

### **Submission checklist**

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

#### **Ensure that the following items are present:**

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

#### *Manuscript:*

- Include keywords (maximum of six)
- All figures (include relevant captions)
- All tables (including titles, description, footnotes)
- Maximum of seven figures and/or tables
- Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
- Indicate clearly if color should be used for any figures in print
- The Abstract should not exceed 400 words, the Introduction should not normally exceed 750 words, and the limit for the Discussion is 1500 words

*Graphical Abstracts / Highlights files* (where applicable)

*Supplemental files* (where applicable)

Highlights should consist of three to five bullet points of up to 85 characters (including spaces) per point.

#### Further considerations

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
- A competing interests statement is provided, even if the authors have no competing interests to declare
- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements
- Continuous line numbering is required throughout manuscript

For further information, visit our [Support Center](#).

### **Before you Begin**

#### **Ethics in publishing**

Please see our information on [Ethics in publishing](#).

#### **Policy and ethics**

##### Animal Experimentation

Circumstances relating to animal experimentation must meet the International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals as issued by the Council for the International Organizations of Medical Sciences. They are obtainable from: Executive Secretary C.I.O.M.S., c/o WHO, Via Appia, CH-1211 Geneva 27, Switzerland, or at the following URL:

[http://grants.nih.gov/grants/olaw/Guiding\\_Principles\\_2012.pdf](http://grants.nih.gov/grants/olaw/Guiding_Principles_2012.pdf)

Authors may also wish to refer to the ethical guidelines published on the website of the International Society for Applied Ethology <http://www.applied-ethology.org/ethicalguidelines.htm>, or read the following article: Sherwin, C.M., Christiansen, S.B., Duncan, I.J., Erhard, H., Lay, D., Mench, J., O'Connor, C., and

Petherick, C. (2003), 'Guidelines for the ethical use of animals in applied animal behaviour research', *Applied Animal Behaviour Science*, 81: 291-305. Unnecessary cruelty in animal experimentation is not acceptable.

### ***Declaration of interest***

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. Authors should complete the declaration of competing interest statement using [this template](#) and upload to the submission system at the Attach/Upload Files step. **Note: Please do not convert the .docx template to another file type. Author signatures are not required.** If there are no interests to declare, please choose the first option in the template. [More information](#).

### **Submission declaration and verification**

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract, a published lecture or academic thesis, see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify compliance, your article may be checked by [Crossref Similarity Check](#) and other originality or duplicate checking software.

### ***Preprints***

Please note that [preprints](#) can be shared anywhere at any time, in line with Elsevier's [sharing policy](#). Sharing your preprints e.g. on a preprint server will not count as prior publication (see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information).

### **Preprint posting on SSRN**

In support of [Open Science](#), this journal offers its authors a free preprint posting service. Preprints provide early registration and dissemination of your research, which facilitates early citations and collaboration.

During submission to Editorial Manager, you can choose to release your manuscript publicly as a preprint on the preprint server [SSRN](#) once it enters peer-review with the journal. Your choice will have no effect on the editorial process or outcome with the journal. Please note that the corresponding author is expected to seek approval from all co-authors before agreeing to release the manuscript publicly on SSRN.

You will be notified via email when your preprint is posted online and a Digital Object Identifier (DOI) is assigned. Your preprint will remain globally available free to read whether the journal accepts or rejects your manuscript.

For more information about posting to [SSRN](#), please consult the [SSRN Terms of Use](#) and [FAQs](#).

### **Use of inclusive language**

Inclusive language acknowledges diversity, conveys respect to all people, is sensitive to differences, and promotes equal opportunities. Content should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader; contain nothing which might imply that one individual is superior to another on the grounds of age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition; and use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, stereotypes, slang, reference to dominant culture and/or cultural assumptions. We advise to seek gender neutrality by using plural nouns ("clinicians, patients/clients") as default/wherever possible to avoid using "he, she," or "he/she." We recommend avoiding the use of descriptors that refer to personal attributes such as age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition unless they are relevant and valid. When coding terminology is used, we recommend to avoid offensive or exclusionary terms such as "master", "slave", "blacklist" and "whitelist". We suggest using alternatives that are more appropriate and (self-) explanatory such as "primary", "secondary", "blocklist" and "allowlist". These guidelines are meant as a



point of reference to help identify appropriate language but are by no means exhaustive or definitive.

## **Reporting sex- and gender-based analyses**

### ***Reporting guidance***

For research involving or pertaining to humans, animals or eukaryotic cells, investigators should integrate sex and gender-based analyses (SGBA) into their research design according to funder/sponsor requirements and best practices within a field. Authors should address the sex and/or gender dimensions of their research in their article. In cases where they cannot, they should discuss this as a limitation to their research's generalizability. Importantly, authors should explicitly state what definitions of sex and/or gender they are applying to enhance the precision, rigor and reproducibility of their research and to avoid ambiguity or conflation of terms and the constructs to which they refer (see Definitions section below). Authors can refer to the [Sex and Gender Equity in Research \(SAGER\) guidelines](#) and the [SAGER guidelines checklist](#). These offer systematic approaches to the use and editorial review of sex and gender information in study design, data analysis, outcome reporting and research interpretation - however, please note there is no single, universally agreed-upon set of guidelines for defining sex and gender.

### ***Definitions***

Sex generally refers to a set of biological attributes that are associated with physical and physiological features (e.g., chromosomal genotype, hormonal levels, internal and external anatomy). A binary sex categorization (male/female) is usually designated at birth ("sex assigned at birth"), most often based solely on the visible external anatomy of a newborn. Gender generally refers to socially constructed roles, behaviors, and identities of women, men and gender-diverse people that occur in a historical and cultural context and may vary across societies and over time. Gender influences how people view themselves and each other, how they behave and interact and how power is distributed in society. Sex and gender are often incorrectly portrayed as binary (female/male or woman/man) and unchanging whereas these constructs actually exist along a spectrum and include additional sex categorizations and gender identities such as people who are intersex/have differences of sex development (DSD) or

identify as non-binary. Moreover, the terms "sex" and "gender" can be ambiguous—thus it is important for authors to define the manner in which they are used. In addition to this definition guidance and the SAGER guidelines, the [resources on this page](#) offer further insight around sex and gender in research studies.

### **Changes to authorship**

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed.

Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

### ***Article transfer service***

This journal uses the Elsevier Article Transfer Service to find the best home for your manuscript. This means that if an editor feels your manuscript is more suitable for an alternative journal, you might be asked to consider transferring the manuscript to such a journal. The recommendation might be provided by a Journal Editor, a dedicated [Scientific Managing Editor](#), a tool assisted recommendation, or a combination. If you agree, your manuscript will be transferred, though you will have the opportunity to make changes to the manuscript before the submission is complete. Please note that your manuscript will be independently reviewed by the new journal. [More information](#).

## Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see [more information](#) on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. [Permission](#) of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has [preprinted forms](#) for use by authors in these cases.

For gold open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'License Agreement' ([more information](#)). Permitted third party reuse of gold open access articles is determined by the author's choice of [user license](#).

### ***Author rights***

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. [More information](#).

### ***Elsevier supports responsible sharing***

Find out how you can [share your research](#) published in Elsevier journals.

### **Role of the funding source**

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement, it is recommended to state this.

## **Open access**

Please visit our [Open Access page](#) for more information.

### ***Language (usage and editing services)***

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the [English Language Editing service](#) available from Elsevier's Author Services.

In addition, the International Society for Applied Ethology can help members with the preparation of manuscripts for publication in *Applied Animal Behaviour Science* (and other English-language journals). Non-members of this Society will first need to join to gain access to this service: contact the Membership Secretary, Dr. Gemma Charlton, e-mail: [isaemembership@hotmail.co.uk](mailto:isaemembership@hotmail.co.uk). Members should send requests for assistance to Dr. Dana Campbell, E-mail: [dana.campbell@csiro.au](mailto:dana.campbell@csiro.au). Include the paper title, authors, contact address, key words and the journal to which the paper will be submitted. Do not send the manuscript. The helper should be acknowledged in your paper, but will not expect to be included as an author.

## **Submission**

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

### ***Submit your article***

Please submit your article via <https://www.editorialmanager.com/APPLAN/default.aspx>

## **Preparation**

## Queries

For questions about the editorial process (including the status of manuscripts under review) or for technical support on submissions, please visit our [Support Center](#).

## Peer review

This journal operates a single anonymized review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. Editors are not involved in decisions about papers which they have written themselves or have been written by family members or colleagues or which relate to products or services in which the editor has an interest. Any such submission is subject to all of the journal's usual procedures, with peer review handled independently of the relevant editor and their research groups. [More information on types of peer review](#).

The use of English, punctuation and grammar should be of a sufficient high standard to allow the article to be easily read and understood. Do not quote decimals with naked points (e.g. use 0.08, not .08). Times of day should be in the format 10:00 h. Numbers less than 10 should be text, unless they are followed by a unit of measurement or are used as designators e.g. seven pigs from Group 3 were each trained for 7 days, with three sessions each lasting 3 min. Numbers greater than nine should be written as numerals.

## Article Structure

Manuscripts in general should be organized in the following order:

- Title (should be clear, descriptive and not too long)
- Name(s) of author(s) - we would like to publish full first names rather than initials, and would appreciate it if you would provide this information
- Complete postal address(es) of affiliations

Full telephone number and e-mail address of the corresponding author

Present address(es) of author(s) if applicable

Complete correspondence address including e-mail address to which the proofs should be sent

- Abstract
- Keywords (indexing terms), maximum 6 items
- Introduction
- Material studied, area descriptions, methods, techniques and ethical approval
- Results
- Discussion
- Conclusion
- Acknowledgment and any additional information concerning research grants, etc.
- References
- Tables
- Figure captions
- Tables (separate file(s))
- Figures (separate file(s)).

Manuscripts should have numbered lines, with wide margins and double spacing throughout, i.e. also for abstracts, footnotes and references. Every page of the manuscript, including the title page, references, tables, etc., should be numbered. However, in the text no reference should be made to page numbers; if necessary one may refer to sections. Avoid excessive usage of italics to emphasize part of the text. Articles should not normally exceed 25 pages of text (11-point font, aligned left and double spaced) and contain a maximum of seven Tables and Figures in total.

### ***Subdivision - numbered sections***

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

### ***Introduction***

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

The introduction "sets the scene" for your work. Do not over-reference statements; two or three key references should suffice unless each adds something specific. The introduction should not normally be more than 750 words (approximately three pages).

### ***Material and methods***

Provide sufficient details to allow the work to be reproduced by an independent researcher. Methods that are already published should be summarized, and indicated by a reference. If quoting directly from a previously published method, use quotation marks and also cite the source. Any modifications to existing methods should also be described.

When locations are given, it should be remembered that this is an international journal and provide the state/county and country, or longitude and longitude for lesser-known locations. Full details of commercial products and technical equipment should be provided, as necessary, including name of the model, manufacturer and location of manufacture, and any Trademarks. As appropriate, a statement should be made that the work has received ethical approval or that the authors have read the policy relating to animal ethics and confirm that their study complies. Data collection and collation: units of all measures need to be specified; the experimental design should be explained together with an explanation of the experimental unit; the ways in which data are derived must be specified (e.g. individual scores were summed for the four, 12-h periods and the mean used for the analysis); the methods used for determining the normality of distribution of the residuals and homogeneity of variances need to be specified; any transformations of data need to be described; statistical analyses need to be reported in full.

### **Results**

This section should include only results that are relevant to the hypotheses outlined in the Introduction and considered in the Discussion. Present results in tabular or graphical form (see following sections) wherever possible. Text should explain why the experiment was carried out, and elaborate on the tabular or graphical data. Sufficient data should be presented so that the reader can interpret the results independently. If

data require transformation to be suitable for parametric analyses, then due consideration needs to be given as to which and how data are presented in the manuscript. For example, putting error bars on graphs of the raw or back-transformed data is meaningless if analysis was performed on transformed data. To assist with interpretation of biological meaning, however, back-transformed means (but not errors) could be presented instead of/in addition to transformed data. In particular, statistical analyses should be complete and appropriate, and full details should be given either in the text, or in the Figures or Tables legends. Include the type of test, the precise data to which it was applied, the value of the relevant statistic, the sample size and/or degrees of freedom, and the probability level. Any assumptions that have been made should be stated. If in doubt, a statistical expert should be consulted.

## **Discussion**

The discussion should interpret the results, and set them in the context of what is already known in the appropriate field. This section should normally start with a brief summary of the main findings. The discussion should be focused and limited to the actual results presented, and should normally not exceed about 1500 words. All results presented in the Results section should be discussed (if they do not warrant discussion, they do not warrant inclusion) and there should be no presentation and discussion of results that have not been presented in the Results section (i.e. no new data presented in the Discussion). Any necessary extensive discussion of the literature should be placed in the Discussion, and not in the Introduction.

## **Conclusions**

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

It should provide a brief "take home" message and briefly outline the application/implications of the study's findings.

## **Essential title page information**

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems.



Avoid abbreviations and formulae where possible.

- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.

- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**

- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

## Highlights

Highlights are optional yet highly encouraged for this journal, as they increase the discoverability of your article via search engines. They consist of a short collection of bullet points that capture the novel results of your research as well as new methods that were used during the study (if any). Please have a look at the examples here: [example Highlights](#).

Highlights should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point).

## Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the

purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

As this is the most-read part of a paper, it is useful to provide some data and significance levels in the description of the main results. The Abstract should not be longer than 400 words.

### ***Graphical abstract***

Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view [Example Graphical Abstracts](#) on our information site.

### ***Abbreviations***

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

### ***Formatting of funding sources***

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, it is recommended to include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

### **Nomenclature and Units**

1. Authors and Editors are, by general agreement, obliged to accept the rules governing biological nomenclature, as laid down in the International Code of Botanical Nomenclature, the International Code of Nomenclature of Bacteria, and the International Code of Zoological Nomenclature. 2. All botica (crops, plants, insects, birds, mammals, etc.) should be identified by their scientific names when the English term is first used, with the exception of common domestic animals. 3. All biocides and other organic compounds must be identified by their Geneva names when first used in the text. Active ingredients of all formulations should be likewise identified. 4. For chemical nomenclature, the conventions of the International Union of Pure and Applied Chemistry and the official recommendations of the IUPAC-IUB Combined Commission on Biochemical Nomenclature should be followed. Units and abbreviations should conform to the Systeme International d'Unites.

### ***Math formulae***

Please submit math equations as editable text and not as images. Present simple formulae in line with normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

In chemical formulae, valence of ions should be given as, e.g. Ca<sup>2+</sup>, not as Ca<sup>++</sup>.

Isotope numbers should precede the symbols e.g.  $^{18}\text{O}$ . The repeated use of chemical formulae in the text is to be avoided where reasonably possible; instead, the name of the compound should be given in full. Exceptions may be made in the case of a very long name occurring very frequently or in the case of a compound being described as the end product of a gravimetric determination (e.g. phosphate as  $\text{P}_2\text{O}_5$ ).

### ***Footnotes***

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

### **Artwork**

#### ***Electronic artwork***

##### *General points*

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.
- Ensure that color images are accessible to all, including those with impaired color vision.

A detailed [guide on electronic artwork](#) is available.

**You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.**

##### *Formats*

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

**Please do not:**

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
  - Supply files that are too low in resolution;
  - Submit graphics that are disproportionately large for the content.
- 
- Figures and Tables to be uploaded as separate files while submitting manuscript.
  - Tables to be sent as editable source files (.doc or .xls) with heading on it.

***Color artwork***

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or online only. [Further information on the preparation of electronic artwork.](#)

***Figure captions***

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. These should be included on a separate page at the end of the manuscript

file. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Figure captions should be understandable without reference to the main text. Figures should not duplicate results described elsewhere in the article.

## **Tables**

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

Table captions should provide sufficient detail that the Table can be understood without reference to the main text.

## **Limitations**

Authors should take notice of the limitations set by the size and lay-out of the journal. Large tables should be avoided. Reversing columns and rows will often reduce the dimensions of a table.

- Figures and Tables to be uploaded as separate files while submitting manuscript.
- Tables to be sent as editable source files (.doc or .xls) with heading on it.

## **References**

### ***Citation in text***

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full.

Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the

reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

### ***Reference links***

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, Crossref and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is highly encouraged.

A DOI is guaranteed never to change, so you can use it as a permanent link to any electronic article. An example of a citation using DOI for an article not yet in an issue is: VanDecar J.C., Russo R.M., James D.E., Ambeh W.B., Franke M. (2003). Aseismic continuation of the Lesser Antilles slab beneath northeastern Venezuela. *Journal of Geophysical Research*, <https://doi.org/10.1029/2001JB000884>. Please note the format of such citations should be in the same style as all other references in the paper.

### ***Web references***

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

### ***Data references***

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

***Preprint references***

Where a preprint has subsequently become available as a peer-reviewed publication, the formal publication should be used as the reference. If there are preprints that are central to your work or that cover crucial developments in the topic, but are not yet formally published, these may be referenced. Preprints should be clearly marked as such, for example by including the word preprint, or the name of the preprint server, as part of the reference. The preprint DOI should also be provided.

***References in a special issue***

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

***Reference management software***

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support [Citation Style Language styles](#), such as [Mendeley](#). Using citation plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. [More information on how to remove field codes from different reference management software](#).

***Reference formatting***

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the article number or pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct. If you do wish to format the references yourself they should be arranged according to the following examples:



### **Reference style**

*Text:* All citations in the text should refer to:

1. *Single author:* the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;
2. *Two authors:* both authors' names and the year of publication;
3. *Three or more authors:* first author's name followed by 'et al.' and the year of publication.

Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references can be listed either first alphabetically, then chronologically, or vice versa.

Examples: 'as demonstrated (Allan, 2000a, 2000b, 1999; Allan and Jones, 1999)....

Or, as demonstrated (Jones, 1999; Allan, 2000)... Kramer et al. (2010) have recently shown ...'

*List:* References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

#### *Examples:*

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2010. The art of writing a scientific article. *J. Sci. Commun.* 163, 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.Sc.2010.00372>.

Reference to a journal publication with an article number:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2018. The art of writing a scientific article. *Heliyon.* 19, e00205. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00205>.

Reference to a book:

Strunk Jr., W., White, E.B., 2000. *The Elements of Style*, fourth ed. Longman, New York.

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G.R., Adams, L.B., 2009. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith, R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp. 281–304.

Reference to a website:

Cancer Research UK, 1975. Cancer statistics reports for the UK.

<http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/> (accessed 13 March 2003).

Reference to a dataset:

[dataset] Oguro, M., Imahiro, S., Saito, S., Nakashizuka, T., 2015. Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions. Mendeley Data, v1. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Reference to software:

Coon, E., Berndt, M., Jan, A., Svyatsky, D., Atchley, A., Kikinzon, E., Harp, D., Manzini, G., Shelef, E., Lipnikov, K., Garimella, R., Xu, C., Moulton, D., Karra, S., Painter, S., Jafarov, E., & Molins, S., 2020. Advanced Terrestrial Simulator (ATS) v0.88 (Version 0.88). Zenodo. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3727209>.

### ***References to books***

If a book or monograph is cited as a source of specific information, then please give the relevant page(s).

### ***Journal abbreviations source***

Journal names should be abbreviated according to the [List of Title Word Abbreviations](#).

### **Video**

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the file in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB per file, 1 GB in total. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including [ScienceDirect](#). Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our [video instruction pages](#). Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text

for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

### **Data visualization**

Include interactive data visualizations in your publication and let your readers interact and engage more closely with your research. Follow the instructions [here](#) to find out about available data visualization options and how to include them with your article.

### **Supplementary material**

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

### **Research data**

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the [research data](#) page.

**Data linking**

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the [database linking page](#).

For [supported data repositories](#) a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

**Research Elements**

This journal enables you to publish research objects related to your original research – such as data, methods, protocols, software and hardware – as an additional paper in a [Research Elements journal](#).

Research Elements is a suite of peer-reviewed, open access journals which make your research objects findable, accessible and reusable. Articles place research objects into context by providing detailed descriptions of objects and their application, and linking to the associated original research articles. Research Elements articles can be prepared by you, or by one of your collaborators.

During submission, you will be alerted to the opportunity to prepare and submit a manuscript to one of the Research Elements journals.

More information can be found on the [Research Elements page](#).

**Data statement**

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your

submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the [Data Statement page](#).

## **After Acceptance**

### **Online proof correction**

To ensure a fast publication process of the article, we kindly ask authors to provide us with their proof corrections within two days. Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

### **Offprints**

The corresponding author will, at no cost, receive a customized [Share Link](#) providing 50 days free access to the final published version of the article on [ScienceDirect](#). The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel,

including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Corresponding authors who have published their article gold open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

### **Author Inquiries**

Visit the [Elsevier Support Center](#) to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch.

You can also [check the status of your submitted article](#) or find out [when your accepted article will be published](#).