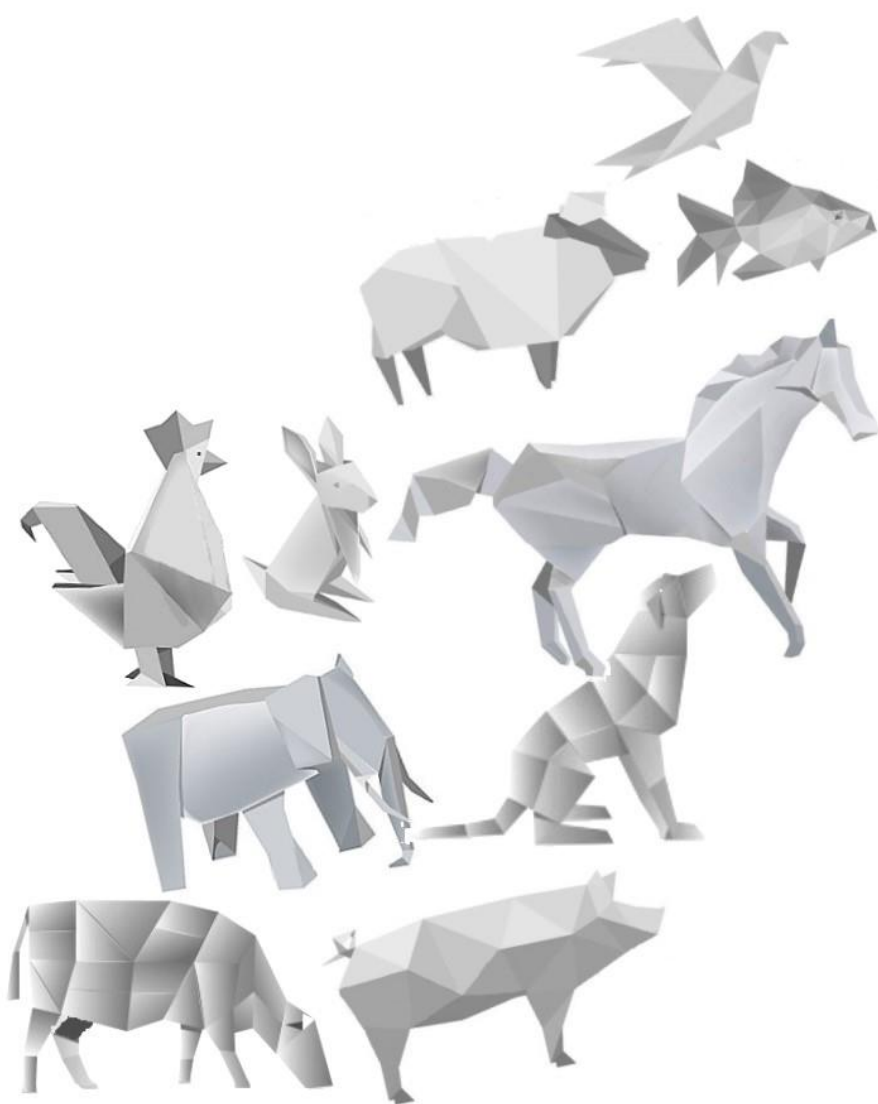


Revista Portuguesa de Zootecnia



Ficha Técnica

Director:

Ana Sofia Santos

Editor:

Ana Sofia Santos

Editor adjunto:

Mariana Almeida

Propriedade:

Associação Portuguesa de Engenharia
Zootécnica (APEZ)
Apartado 60, 5001-909 Vila Real

Composição e Montagem:

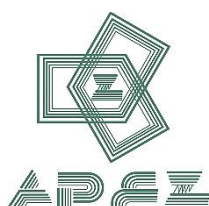
Telma G. Pinto

Design Gráfico:

Mariana Almeida e Telma G. Pinto

Contactos:

Apartado 60,
5001-909 Vila Real
rpz@apez.pt
912 239 527



A publicação deste número foi possível graças ao apoio da Comissão Científica do XXI ZOOTECH – 21º Congresso Nacional de Zootecnia.

CARACTERIZAÇÃO HISTOFISIOLOGICA DAS GLÂNDULAS SUDORÍPARAS E DAS CARACTERÍSTICAS DA PELAGEM EM VACAS LEITEIRAS FACE À ACLIMATAÇÃO SAZONAL

Silva¹, F., Matos¹, C., Cachucho¹, L., Capela e Silva^{2,3*}, F., Conceição^{1,2}, C., Geraldo^{1,2}, A., Lamy², E., F., Infante^{4,5}, I., & Pereira^{1,2} A.**

¹Departamento de Zootecnia, Universidade de Évora, Portugal

²Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas, Universidade de Évora, Portugal

³Departamento de Biologia, Universidade de Évora, Portugal

⁴Departamento de Matemática, Universidade de Évora, Portugal

⁵Centro de Investigação em Matemática e Aplicações, Universidade de Évora, Portugal

*fcs@uevora.pt

**apereira@uevora.pt

INTRODUÇÃO

As alterações climáticas são uma ameaça para a produção pecuária devido ao impacto negativo que o stresse térmico tem na qualidade e na disponibilidade das culturas e forragens, e no bem-estar e produtividade animal (Nardone 2010; Rojas-Downing et al 2017). Assim, torna-se importante estudar a influência do stresse térmico por calor e o modo como os animais se adaptam. Esta adaptação, processo designado por aclimação ocorre a nível fisiológico e morfológico (Horowitz, 2001; Gaughan *et al.*, 2009; Bernabucci *et al.*, 2010). No caso do stresse térmico por calor, o animal visa aumentar a condutância e a termólise latente, e eventualmente reduzir a termogénese (Pereira, 2004). A eficiência da termólise latente, que se processa maioritariamente através da sudação, depende do número e das características físicas e funcionais das glândulas sudoríparas (Schleger & Bean, 1971; Berman, 2011; Murray, 1966; Allen *et al.*, 1970; Silva, 2000); do calibre dos vasos sanguíneos presentes na periferia das glândulas sudoríparas (Finch, 1986); da atividade do folículo piloso (Finch, 1986) e das características da pelagem (Maia *et al.*, 2003). A distribuição e a densidade de glândulas sudoríparas que estão ativas constituem um dado relevante, pois a sua atividade depende da época do ano. A densidade das glândulas sudoríparas e as suas características morfológicas e funcionais variam de acordo com diversos factores (ver Geraldo *et al.*, 2015). Por outro lado, as trocas térmicas de calor sensível (convecção e radiação) e as perdas de calor latente para o ambiente são influenciadas pelas características morfológicas e pela cor da pelagem (Maia *et al.*, 2003; McManus *et al.*, 2011).

Este trabalho tem como objetivo estudar o processo de aclimatização sazonal em bovinos leiteiros no clima Mediterrânico, designadamente as alterações histofisiológicas nas glândulas sudoríparas e nas características do pelo em vacas leiteiras em distintos estados de aclimação.

MATERIAIS E MÉTODOS

O ensaio decorreu numa vacaria situada em Montemor-o-Novo, Évora, Portugal, durante 5 dias, em duas estações do ano distintas: P1 (verão), com os animais aclimatados à elevada temperatura ambiental em stresse térmico; P2 (inverno) com os mesmos animais aclimatados às baixas temperaturas e em termoneutralidade. Registaram-se as temperaturas ao sol e à sombra com um termómetro de globo negro às 08:00, 13:00 e 18:00 horas. De um grupo de cerca de 150 fêmeas de raça Holstein-Friesian, foram seleccionados 10 animais com uma média de leite de 9000 kg aos 305 dias, de acordo com critérios de homogeneidade entre grupos (idade, número de lactações e dias de lactação). Diariamente, às 13:00 horas, mediu-se a taxa de sudação (T_s), com vapómetro, entre as 12^a e 13^a costelas e a temperatura da pele (T_{pl}), com termómetro de IV.

Em local contíguo à medição da T_s foram realizadas biópsias de pele com 0,1 cm de diâmetro de tecido cutâneo com o auxílio de um *punch*, para avaliação histomorfométrica. As amostras foram fixadas em formaldeído neutro a 10%, tamponado (pH 7.4), durante 24 horas, após o que foram processadas pelos métodos histológicos de rotina (secções transversais coradas com Hematoxilina e Eosina). As preparações definitivas foram observadas em microscópio fotónico, sendo as imagens obtidas através de câmara digital. Por cada animal, e por cada período, foi seleccionada uma lâmina, das quais, com uma ampliação de 25X, foram obtidas imagens digitais. Nessas imagens, através do programa *SigmaScan Pro 5*, foram efetuadas as seguintes medições, em pixéis: espessura da epiderme (5 medições), distância das glândulas sudoríparas ao estrato basal da epiderme (10 medições), perímetro (10 medições) e área (10 medições) das secções das glândulas sudoríparas. No final os valores em pixéis foram convertidos a micrómetros.

De forma aleatória recolheu-se uma amostra de dez pelos de cada vaca e de cada cor, com uma pinça hemostática, para determinação do comprimento, diâmetro e grau de medulação. Para a determinação do comprimento, os pêlos foram digitalizados e medidos, em pixeis, através do software *SigmaScan Pro 5*, valores posteriormente convertidos a cm. O tipo de medula foi identificado através do método descrito por Udo (1978). Os pêlos foram mergulhados em éter de petróleo por dez minutos. Os pelos pretos, depois do éter de petróleo, ficaram submersos por 18h em peróxido de hidrogénio 30%. Depois de secos, os pelos foram montados transversalmente em lâminas de vidro, com o auxílio de um meio de montagem e foram observados em microscópio

ótico com uma ampliação de 400x, para determinar o tipo de medula e o diâmetro (na zona medial), através de ocular micrométrica.

As variáveis Ts e Tpl foram sujeitas a ANOVA unifactorial para identificar as diferenças entre os períodos do ensaio. As variáveis histofisiológicas foram analisadas de acordo com análises não paramétricas através de teste de Wilcoxon. Os dados foram processados em IBM SPSS Statistics.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Temperaturas de Globo Negro (TGN)

A TGNsol foi significativamente superior à TGNsombra em P1 e P2 ($P < 0.05$). No P1, a TGN atingiu valores médios de $35,71 \pm 4,61^{\circ}\text{C}$ ao sol e de $23,88 \pm 2,05^{\circ}\text{C}$ à sombra. No P2 a TGNsol foi de $14,21 \pm 9,16^{\circ}\text{C}$ e a TGNsombra $6,15 \pm 2,42^{\circ}\text{C}$.

Taxa de Sudação (Ts) e Temperatura da Pele (Tpl)

A Ts apresentou valores significativamente superiores durante o P1 (em média $76,89\text{g/m}^2/\text{h}$), comparativamente ao P2 ($24,00\text{ g/m}^2/\text{h}$), ($P < 0.001$). A Tpl média registada no P1 foi de $29,08 \pm 1,24^{\circ}\text{C}$ e, no P2, $16,55 \pm 1,36^{\circ}\text{C}$. Segundo Martello *et al.* (2014), a Tpl de vacas Holstein Frísias alojadas em instalações climatizadas pode variar de $31,6^{\circ}\text{C}$ a $34,7^{\circ}\text{C}$, sem indicação de stresse térmico. Pereira (2004) registou, em câmaras climáticas, em Holstein-Friesian, valores de Tpl em termoneutralidade de $33,63 \pm 0,11^{\circ}\text{C}$, e valores entre $35,71 \pm 0,05^{\circ}\text{C}$ e $36,98 \pm 0,05^{\circ}\text{C}$ em diferentes graus de stresse térmico, valores bastantes superiores aos obtidos neste ensaio. A vasodilatação periférica, decorrente do aumento da temperatura do ar, tende a originar um aumento da Tpl. No caso de condições de baixa intensidade de radiação, como neste ensaio, é possível relacionar o aumento da Tpl com as variações da vasomotricidade (Pereira, 2004). Porém, a capacidade de evaporar suor da epiderme pode interferir na redução da Tpl. O facto de os animais não terem atingido Ts elevadas, comparativamente aos valores obtidos por Pereira (2004) - $81,23 \pm 5,36\text{ (g.m}^{-2}.\text{h}^{-1})$ com um THI de 74 ± 1 – é concordante com os baixos valores de Tpl obtidos durante o verão. Os animais deste ensaio, face as condições climáticas do P1, essencialmente perderam calor através dos mecanismos responsáveis pela permuta de calor sensível. Esta situação indica que o seu estado de aclimação, em conjugação com as condições climáticas e com as instalações (principalmente a sombra permanente), possibilitaram que os animais não atingissem um estado de stresse térmico em que necessitassem de aumentar significativamente a permuta de calor pela via latente. A via termolítica sensível e o aumento da frequência respiratória foram suficientes para estabilizar a temperatura nuclear dos animais estudados (dados publicados em Silva *et al.*, 2018).

Caracterização Histofisiológica das Glândulas Sudoríparas

Os valores obtidos encontram-se registados no Quadro 1. No P1 (verão), as glândulas sudoríparas (GS) apresentaram um perímetro médio significativamente inferior ao P2 (inverno; $P=0,002$). No P1 verificaram-se áreas e distância das GS à epiderme significativamente inferiores ao P2 ($P<0,001$), resultados que estão de acordo com os obtidos por Ferreira *et al.* (2009). A menor profundidade das glândulas no Verão, encontrando-se mais próximas da epiderme, é indicativa do aumento de atividade funcional das GS, o que está associado a uma maior taxa de sudação (Mugale e Bhosle, 2002). A maior proximidade do ducto da glândula à epiderme está relacionada com o grau de vascularização do plexo das GS e do folículo piloso e é um sinal de maior actividade das GS. Quanto às diferenças encontradas na espessura da epiderme [no P1 verificou-se uma espessura da epiderme superior comparativamente ao P2 ($P<0,001$)], embora os resultados estejam de acordo com os de Pathak e Sarma (2015), obtidos em cabras, estes são contrários aos de Rohankar *et al.* (2018), obtidos em várias raças de bovinos, enquanto Ferreira *et al.* (2009), também em bovinos, não encontraram diferenças estatisticamente significativas na área do epitélio entre inverno e verão. Para Rohankar *et al.* (2018), uma espessura média da epiderme maior no inverno do que no verão, pode estar associado ao aumento no número de camadas de células do estrato córneo durante esta estação, no sentido de proteger as camadas inferiores da pele da condição climática fria ou para evitar a descamação das células mortas da superfície. Deste modo, sugerimos uma nova avaliação deste parâmetro, aumentando o número de animais e de medições.

Caracterização da Pelagem

As características do pelo apresentaram variações entre períodos. Verificou-se uma interação entre o comprimento dos pelos brancos e pretos nos diferentes períodos (Quadro 2). Em média, em P1 os pelos apresentaram maior comprimento, principalmente os pretos. No caso do diâmetro não se verificaram diferenças significativas entre os períodos ou entre pelos pretos e brancos. A maior percentagem de pelos apresentou uma medula contínua tanto em P1 como em P2, evidenciando ausência de variação sazonal. Os resultados obtidos contrariam, parcialmente, a literatura, que refere que animais aclimatados ao verão possuem pelos mais curtos, grossos e medulados, enquanto que no inverno, os pelos são mais compridos, finos e sem medula. Segundo Berman (2011), a mudança do pelo é afetada pelo fotoperíodo (principalmente), pela temperatura ambiente e pela dieta. A incidência direta ou indireta da radiação solar tem bastante influência no balanço térmico do animal e nas consequentes alterações anátomo-fisiológicas que decorrem com a aclimação (Lefcourt & Adams, 1996; Sevi *et al.*, 2001; Sevi & Caroprese, 2012). Assim, um

factor que terá contribuído para a ausência de diferenças entre os períodos foi eventualmente o sombreamento permanente das vacas e a ausência do efeito estimulante da radiação solar directa nas alterações das características dos pêlos. Os resultados do presente trabalho sugerem que os mecanismos fisiológicos que regulam a taxa de sudorese e a temperatura cutânea variaram com o processo de aclimatização, confirmado pelas alterações morfométricas das glândulas sudoríparas e da epiderme

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allen T, Bennett, J, Donegan S, e Hutchison J, 1970. *J Agri Sci*, 74, 247-259. Berman, A, 2011. *J Dai Sci* 94(5): 2147–158. Bernabucci, U., Lacetera, N., Baumgard, LH., Rhoads, RP., Ronchi, B. e Nardone, A, 2010. *Animal* 4(7): 1167–183. Bertipaglia, ECA, Silva, RG, Cardoso, V. e Fries, LA, 2008. *Rev Bras Zoot* 37(9): 1573–583. Bukau, B. e Horwich, AL, 1998. *Cell* 92: 351–66. Ferreira F, Campos WE, Carvalho AU, Pires MFA, Martinez ML, Silva, MVGB, Verneque RS, Silva PF. 2009. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 61(4):763-768. Finch, VA, 1986. *J Ani Sci* 62: 531-42. Gaughan, J, Lacetera, N, Valtorta, SE, Khalifa, HH., Hahn, L e Mader, T, 2009. In: Ebi, K. L., Burton, I. e McGregor, G. (eds.), *Spr Sci + Bus Med*: 131–170. Geraldo AM, Lamy E, Pinheiro CC, Lopes O, Capela e Silva F, Pereira A. 2015. In: Owen P. Jenkins (Ed.) *Adv Ani Sci Zoo*. Nova Sci Pub Inc, NY-USA. Hahn, GL, 1999. *J Ani Sci* 77(2): 10–20. Horowitz, M, 2001. *J Ther Bio* 26 4-5): 357–363. Li, Q, Han, J, Du, F, Ju, Z, Huang, J, Wang, J, Zhong, J, 2010. *Mol Bio Rep* 38: 2657–663. Lindquist, S e Craig, EA, 1988. *An Rev Gen* 22: 631–77. Maia, ASC, Silva, RG. e Bertipaglia, ECA, 2003. *Rev Bra Zoo* 32(4): 843–53. Martello, L, Júnior, H, Luz e Silva, S, e Titto, E, 2004. *Rev Bra Zoo* 33: 181-91. McManus C, Louvandini H, Gugel R, Sasaki LC, Bianchini E, Bernal FE, Paiva SR, Paim TP, 2011 *Trop Ani Hea Prod*. 43(1):121-6. Mugale, R, e Bhosle, N, 2002. *Ind Vet. J.* 79: 157-159. Murray,DM, 1966. *J Agri Sci*, 66, 175-179. Nardone A, Ronchi B, Lacetera N, Ranieri MS, Bernabucci U, 2010. *Liv Sci*, 130: 57-69. Pathak H, Sarma M. 2015. *Int J Sci Res* 4(1): 2458-2460. Pereira, AMF, 2004. Tese PhD Ciência Agrárias. Uni Évora, 171 pp. Rohankar, RU, Waghaye JY, Thakur,PN e Kapadnis, PJ. 2008. *Int J Sci, Env Tech*, 7(5):1671-1681. Rojas-Downing MM, Nejadhashemi AP, Harrigan T, Woznicki SA, 2017. *Clim Rsk Man*, 16: 145-163. Schleger, AV e Bean, KG, 1971. *Aus J Bio Sci* 24: 1291–300. Sevi, A e Caroprese, M, 2012. *Sma Rum Res* 107(1): 1–7. Silva, F, Pinheiro, C, Cachucho, L, Matos, C, Geraldo, A, Lamy, E, Capela e Silva, F, Infante, I, e Pereira, A, 2018. *Rev Por Zoo*, Ano III (1): 147-155. Silva R, 2000. SP, Nobel, 286pp. Udo, HMJ, 1978. H. Veenman e Zonen B.V.

Agradecimentos: Este trabalho foi financiado por Fundos FEDER através do Programa Operacional Factores de Competitividade - COMPETE e por Fundos Nacionais através da FCT - Fundação para a Ciência e a Tecnologia no âmbito dos Projetos Estratégicos PEst-C/AGR/UI0115/2011, PEst-OE/AGR/UI0115/2014 e do Programa Operacional Regional do Alentejo (InAlentejo), Operação ALENT-07-0262-FEDER-001871/Laboratório de Biotecnologia Aplicada e Tecnologias Agro-ambientais. Os autores reconhecem também o apoio financeiro FCT sob a forma do contrato de investigador IF/FCT 01778/2013 de Elsa Lamy.

Quadro 1 – Características histomorfométricas das glândulas sudoríparas e da espessura da epiderme em função do período analisado (média \pm desvio padrão).

Período	Área (mm ²) ^{1*}	Diâmetro (μm) ^{1*}	Distância à epiderme (mm) ^{1*}	Espessura da epiderme (mm) ²
(Verão)	19,0 \pm 4755,8	1,8 \pm 133,8	1,6 \pm 221,1	6 \pm 19,9
(Inverno)	170,2 \pm 11483,6	1,1 \pm 195,4	12,7 \pm 17,3	4 \pm 10,7

¹ Média de 10 medições; ² média de 5 medições; *P<0,05

Quadro 2 – Valores médios (cm) do comprimento e do diâmetro dos pelos e o seu tipo de medula nos dois períodos analisados (P1 e P2).

	(Verão)		(Inverno)	
	Comprimento	Diâmetro	Comprimento	Diâmetro
Comprimento	55	80	58	101
Diâmetro	33	28	32	27
Tipo de Medula	I	I	I	I
	%	%	%	%

NM – Não medulados; MF – Medula Fragmentada; M – Medulados

SEASONAL ACCLIMATISATION PROCESS IN DAIRY COWS: STUDYING HISTOPHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF SWEAT GLANDS AND HAIR COAT

ABSTRACT: This trial aimed to study the seasonal acclimatisation process in dairy cows in a Mediterranean climate, focusing the changes in the histophysiology of sweat glands and hair coat. From 10 cows we collected data in two periods (P1 – summer; P2 – winter). Ambient temperature with a black globe thermometer (sun and shadow) was registered. From each cow, sweat rate (Ts), skin temperature (T_{pl}) and cutaneous tissue samples were taken to perform histomorphometrical evaluation. Hair coat samples were collected for measurements and for medulla expression. Conclusion: in summer, animals had higher Ts and T_{pl}, even though our results were not as higher as many other results in some other papers. In our trial, animals were always in shadow and ambient temperature decreased significantly at night time. Significant differences in histomorphometric were found between periods. Hair coat was similar in summer and winter (measurements and medulation). So, the physiological mechanisms that regulate sweat rate and skin temperature changed with the acclimatisation process, confirmed by modifications in the morphometric of sweat glands and epidermis.

Keywords: *acclimatisation, cattle, hair, sweat glands*