

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**ESTUDO DO EQUILÍBRIO TÉRMICO ASSOCIADO À
EMISSÃO DE CH₄ EM BOVINOS NELORE MANEJADOS A
CAMPO DURANTE O PERÍODO DE 24 HORAS**

Cíntia Carol de Melo Costa
Médica Veterinária

2018

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**ESTUDO DO EQUILÍBRIO TÉRMICO ASSOCIADO À
EMISSÃO DE CH₄ EM BOVINOS NELORE MANEJADOS A
CAMPO DURANTE O PERÍODO DE 24 HORAS**

Cíntia Carol de Melo Costa

Orientador: Prof. Dr. Alex Sandro Campos Maia

Coorientadora: Profa. Dra. Telma Teresinha Berchielli

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Zootecnia

2018

C837e Costa, Cíntia Carol de Melo
Estudo do equilíbrio térmico associado à emissão de CH₄ em bovinos Nelore manejados a campo durante o período de 24 horas / Cíntia Carol de Melo Costa. -- Jaboticabal, 2018
viii, 93 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2018

Orientador: Alex Sandro Campos Maia

Coorientadora: Telma Teresinha Berchielli

Banca examinadora: Marcos Chiquitelli Neto, Vinícius de França Carvalho Fonsêca, Sheila Tavares Nascimento, Carolina Cardoso Nagib Nascimento

Bibliografia

1. Balanço térmico. 2. Bovinos de corte. 3. Calorimetria indireta. 4. Termorregulação. 5. Emissão de metano I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 661.9:636.2

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal




CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: ESTUDO DO EQUILÍBRIO TÉRMICO ASSOCIADO À EMISSÃO DE CH₄ EM BOVINOS NELORE MANEJADOS A CAMPO DURANTE O PERÍODO DE 24 HORAS


AUTORA: CINTIA CAROL DE MELO COSTA
ORIENTADOR: ALEX SANDRO CAMPOS MAIA
COORIENTADORA: TELMA TERESINHA BERCHIELLI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em ZOOTECNIA, pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. ALEX SANDRO CAMPOS MAIA
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Prof. Dr. MARCOS CHIQUITELLI NETO
Departamento de Biologia e Zootecnia / FEIS - Ilha Solteira


Pós-doutorando VINICIUS DE FRANÇA CARVALHO FONSECA
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Profa. Dra. SHEILA TAVARES NASCIMENTO
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária / UnB - Brasília/DF


Pós-doutoranda CAROLINA CARDOSO NAGIB NASCIMENTO
Departamento de Zootecnia / FCAV/UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 26 de fevereiro de 2018

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Cíntia Carol de Melo Costa nasceu na cidade de Mossoró no estado do Rio Grande do Norte em 25 de fevereiro de 1988. Ingressou no curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Semi-Árido em Mossoró – RN, no segundo semestre do ano de 2006. Formou-se Médica Veterinária no ano de 2011, sendo a aluna laureada por obter melhor rendimento acadêmico de sua turma. Durante sua graduação participou do Núcleo de Biometeorologia e Bem-estar Animal, até sua formação. Foi monitora da Disciplina de Comportamento e Bem-Estar Animal desde 2008. Também foi aluna do Programa de Iniciação Científica Voluntária (PIVIC) durante os anos de 2009-2010 e 2010-2011. Em agosto de 2011, ingressou como aluna regular no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, no nível de Mestrado, na área de Biometeorologia Animal. Durante esse período foi bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e no mês de Abril a Maio de 2013 realizou parte do seu Mestrado na Scotland's Rural College (SRUC) em Edimburgo na Escócia-Reino Unido, sob a orientação do Dr. Tony Waterhouse, através do programa Bolsa de Estágio de Pesquisa no Exterior (BEPE) da FAPESP. Obteve o título de Mestre em Zootecnia no dia 12 de Dezembro de 2013. Ingressou no curso de Doutorado em Zootecnia pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia na FCAV – UNESP Jaboticabal em Março de 2014, onde foi bolsista FAPESP. Durante seis meses, de Novembro de 2016 à Maio de 2017, novamente financiada pelo programa BEPE da FAPESP, realizou seu Doutorado Sanduíche no CSIRO em Brisbane-Austrália, sob a orientação da Dra. Gene Wijffels. É integrante do Grupo de Inovação em Biometeorologia Animal (INO BIO) e atua na área de Biometeorologia Animal, especialmente dedicando-se ao estudo do balanço térmico em bovinos de corte.

Epígrafe

Estas são as coisas que penso e que nunca quis te dizer, preferindo fazer que as sentisses por ti mesmo. Porque só valem as experiências que fazemos com a nossa própria carne. Pode ser que tudo isso seja apenas um grande sonho. Mas sonhar também é humano.

Érico Veríssimo.

Dedicatória

Dedico aos meus pais, Francisco Jacinto da Costa (*in memoriam*) e Maria de Fátima de Melo Costa, meus mestres da vida! Ensinarão-me a ser um ser humano honesto e a respeitar o próximo, valores estes que são a maior riqueza que eu poderia herdar. Eles que me guiaram no caminho da honradez e são meus exemplos de bondade, amor e caráter. Sem vocês eu nada seria. Amo vocês e hoje tenho a certeza que nem a morte há de findar esse sentimento.

Dedico esta tese também àqueles que me ajudaram a construí-la. Muitos foram os esforços e obstáculos superados, lutamos, meus caros, e vencemos. Professor Dr. Alex Maia, Dr. Vinícius de França Carvalho Fonsêca, Patric André Castro, Eric de Andrade Culhari, Gustavo Moura e Bruno Rodrigo Simão, OBRIGADA! Certamente sem vocês nada disto seria possível. Vocês foram meus olhos, minhas mãos, meu cérebro durante a condução do experimento e eu serei eternamente grata a tudo que vocês fizeram. Cada letra aqui escrita há um pouco da dedicação e empenho de cada um de vocês.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pois muitas vezes foi somente a minha fé que me manteve firme nessa caminhada. Agradeço por muitas vezes ser único ouvir meu choro de desespero e por nunca, um momento sequer, abandonar-me. “Senhor, eu creio, mas aumentai a minha fé!”.

Aos meus pais, por serem meu combustível e exemplo para que eu conseguisse terminar essa grande batalha.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Campus de Jaboticabal, por ter sido a minha casa por 6 anos, os quais foram os mais incríveis da minha vida. Obrigada por me acolher e me oferecer esse estrutura maravilhosa. Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia pela oportunidade de realizar meu Doutorado em um Programa de excelência e por proporcionar tantas oportunidades. Ao meu Orientador, Prof. Dr. Alex Sandro Campos Maia, por acreditar em mim e realmente desempenhar sua função com maestria. Obrigada, por todo conhecimento passado e por ser um exemplo de profissional para mim. Tenho muito orgulho de ser sua orientanda.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), por conceder a mim uma bolsa, indispensável para que eu conseguisse realizar e concluir meu Doutorado (Processo FAPESP N° 2014/11170-7). Agradeço também pelo financiamento do Projeto de Pesquisa (Processo FAPESP N° 2014/09639-7) ao qual o meu projeto de Doutorado estava vinculado. Além disso, agradeço por conceder a Bolsa de Estágio e Pesquisa no Exterior (BEPE) (Processo FAPESP N° 2016/15558-5) que me deu a oportunidade de passar seis meses na Austrália. Serei eternamente grata por todas às oportunidades que a FAPESP me proporcionou.

À CAPES pela concessão da bolsa durante os primeiros meses de doutorado. Ao Laboratório de Biometeorologia Animal e ao Grupo de Inovação em Biometeorologia Animal (INO BIO), por me oferecerem a estrutura física, todos os equipamentos, tecnologias para desenvolvimento do meu projeto. Vocês foram essenciais para que essa tese fosse construída.

Ao meu grande amigo, Eduardo Alves de Almeida, por ser meu parceiro em tantas jornadas. Você é muito mais que um amigo, é a família que Deus me permitiu escolher. Obrigada por estar ao meu lado, por me apoiar e confiar em mim. Você é um ser iluminado e agradeço demais a Deus por ter cruzado os nossos caminhos. Amo você!

Aos meus amigos Roberta Valença, Adriana Trinca e Lucas Vizentim pela amizade e momentos reconfortantes. Nossas conversas sempre tão cheias de amor e conhecimento. Obrigada por me trazerem momentos de leveza!

Aos meus amigos de Laboratório que estiveram comigo durante toda essa caminhada: Angela Regina Arduino, Sheila Tavares Nascimento, Carolina Cardoso Nagib Nascimento, Vinícius de França Carvalho Fonsêca, Marcos Davi de Carvalho, Leandro Zuccherato Camerero, Patric André Castro, Gustavo Moura, Bruno Rodrigo Simão. Vocês são muito especiais para mim! Obrigada por toda ajuda e amizade.

Aos meus mestres que desde a minha graduação vêm me inspirando e orientando. Aos meus familiares (tios, tias, primos, primas e agregados) que mesmo de longe sempre me apoiaram.

Aos funcionários da FCAV/UNESP que sempre foram gentis e me ajudaram a trilhar esse caminho.

Aos meus amigos Danilo Almeida e Marcelo Rodrigues que sempre foram tão motivadores e me trouxeram tanta alegria durante essa jornada. Cito o nome deles para representar também todos os meus amigos da Academia Saúde Total, obrigada por tudo.

Aos meus sogros, Suely Chechi e José Chechi que são tão maravilhosos e cuidam de mim como filha. Palavras são pouco diante de ações, por isso espero estar respondendo a altura tudo o que vocês fazem por mim. Amo vocês!

Ao meu namorado, Nilson Pazini, um companheiro sem igual. Você que é uma fonte constante de alegria e motivação, amoroso, cuidadoso e sempre com um olhar gentil e um sorriso reconfortante. Obrigada por sempre me apoiar e por acreditar em mim, obrigada por ser exatamente do jeito que você é, com sua humildade e com essa alma tão linda e iluminada. Tenho muita sorte em dividir a minha vida contigo! Eu te amo, vida!

SUMÁRIO

Certificado da Comissão Interna de Biossegurança.....	iv
RESUMO.....	v
ABSTRACT	vii
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Atmosfera, composição e gases do efeito estufa.....	3
2.2. Bovinocultura de corte e emissão dos gases do efeito estufa	5
2.3. Estudo do equilíbrio térmico em bovinos	9
2.3.1. Mecanismos de transferência de calor sensível em bovinos	11
2.3.2. Mecanismos de transferência de massa em bovinos	14
2.3.3. Produção de calor metabólico em bovinos	17
3. OBJETIVOS.....	20
3.1. Objetivo geral	20
3.2. Objetivos específicos	20
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	21
5. REFERÊNCIAS	21
CAPÍTULO 2 – Thermal equilibrium of Nelore cattle in tropical conditions: an investigation of circadian pattern.....	30
Abstract.....	30

Highlights	31
1. Introduction.....	31
2. Material and Methods	33
2.1. Animal specifics and experimental design	33
2.2. Pens, data recording structures and handling.....	33
2.3. Environmental measurements	34
2.3. Physiological parameters.....	34
2.4. Thermal equilibrium determination.....	35
2.5. Statistical analyses	35
3. Results	36
4. Discussion	42
5. Conclusions.....	47
6. Acknowledgements	47
7. References	48
Supplementary file	54
 CAPÍTULO 3 – Circadian variation of enteric methane emission by Nellore beef cattle.....	 65
Abstract.....	66
Implication.....	67
Introduction	67
Material and methods.....	69

Site.....	69
Animals and experimental design	70
Training process, housing, and feeding management	70
Meteorological variables	71
Gases exchanges: System design and operation.....	72
Methane emission and metabolic heat production.....	73
Statistical analysis.....	75
Results	76
Discussion.....	82
Conclusions	86
Acknowledgement.....	86
References.....	87


Certificado da Comissão Interna de Biossegurança



CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 8410/15 do trabalho de pesquisa intitulado **“Estudo do equilíbrio térmico associado à emissão de CH₄ em bovinos Nelore manejados a campo durante o período de 24 horas”**, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Alex Sandro Campos Maia, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 11 de maio de 2015.

Jaboticabal, 11 de maio de 2015.


Prof.^a Dr.^a Paola Castro Moraes
Coordenadora – CEUA

ESTUDO DO EQUILÍBRIO TÉRMICO ASSOCIADO À EMISSÃO DE CH₄ EM BOVINOS NELORE MANEJADOS A CAMPO DURANTE O PERÍODO DE 24 HORAS

RESUMO – Diante do cenário climático global atual se torna importante entender quais os impactos de uma atmosfera aquecida sobre o equilíbrio térmico em animais de produção, especialmente em bovinos. A quantificação da emissão de gases do efeito estufa desses animais também se faz importante, pois apesar dessa atividade ter impacto positivo na economia nacional, do ponto de vista ambiental o seu impacto é negativo, devido ao fato da fermentação entérica contribuir com emissões de metano. Portanto, o objetivo desse estudo é avaliar a influência das condições meteorológicas sobre a termorregulação de bovinos da raça Nelore associada à emissão de metano durante o período circadiano. Para tanto, foi realizado estudo no Laboratório de Biometeorologia Animal da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, Brasil, em Dezembro de 2016. Seis bovinos da raça Nelore com peso e idade semelhantes foram avaliados em um desenho experimental de quadrado latino, com 24 classes de horas (1-2h; 3-4h; ...; 23 - 24h; 24 -1h) durante vinte dias consecutivos). As coletas de dados foram realizadas com os animais protegidos da radiação solar e chuva. Os parâmetros respiratórios: porcentagem de oxigênio (O₂; %), dióxido de carbono (CO₂; %), metano entérico (CH₄, %) pressão de vapor do ar expirado ($[P_s\{T_{EXP}\}]$, kPa), frequência respiratória (R_R; resp. min⁻¹) e ventilação (V_E; L s⁻¹) foram quantificados usando o sistema de calorimetria indireta; além disso, a temperatura da superfície (T_S, °C), pele (T_{EP}, °C) e temperatura retal (T_R, °C) foram medidas usando sensores de temperatura. A produção de calor metabólico (q^{met}), fluxo de calor sensível (q^{sens}), perda de calor pelo trato respiratório (q^{er}), evaporação cutânea (q^{es}) e emissão de metano entérico (eCH₄; g h⁻¹) foram calculados. As variáveis meteorológicas foram medidas em intervalos de um minuto durante cada dia de coleta usando uma estação meteorológica portátil. Os volumes de O₂ e CO₂ mudaram moderadamente durante as 24 horas, o que resultou em uma média de produção de calor metabólico de 151,45 ± 13,60 W m⁻². Quando o gradiente de temperatura estava alto (T_S – T_A; das 24:00 às 7:00), a transferência de calor

sensível correspondeu a aproximadamente 60% do metabolismo, porém das 11:00 até às 17:00, quando a temperatura do ar estava mais elevada, a perda de calor por evaporação cutânea passa a representar cerca de 53% da perda de calor total. As respostas fisiológicas termorreguladoras de bovinos Nelore, em uma variação de 20 a 30°C de T_A , permanecem relativamente estáveis durante 24 horas, sendo um bom indicativo de baixa perda de energia para regulação térmica corporal. A emissão de metano de bovinos Nelore confinados, com 30 meses de idade, alimentados para manutenção, foi de aproximadamente 33 g dia⁻¹ animal⁻¹. A variação circadiana de metano entérico (CH₄) foi claramente associada ao horário de alimentação, não estando relacionada a variação meteorológica. O circuito aberto de calorimetria indireta, usando uma máscara facial não ventilada propicia valiosos detalhes sobre o padrão diário da emissão de metano de bovinos Nelore, associado com o O₂ consumido e CO₂ produzido. Portanto este trabalho foi capaz de avaliar o equilíbrio térmico de bovinos Nelore adultos, além descrever a variação circadiana de emissão de metano, bem como a relação dessas variáveis com as condições meteorológicas de ambiente tropical. Com isso, este trabalho traz contribuições altamente relevantes para a área, com resultados inéditos e inovações.

Palavras-chave: Balanço térmico, bovinos de corte, calorimetria indireta, termorregulação, emissão de metano

STUDY OF THERMAL EQUILIBRIUM ASSOCIATE WITH CH₄ EMISSION IN NELLORE CATTLE MANAGED IN THE FIELD DURING A PERIOD OF 24 HOURS

ABSTRACT – Given the current global climate scenario becomes important to understand what the impacts of a warmer atmosphere on the thermal balance in livestock. Quantifying the emission of greenhouse gases of these animals also becomes important because this activity has a positive impact on the national economy, however, the environmental point of view the impact is negative, because of the contribution of methane emission by enteric fermentation. Therefore, the aim of this work is study the influence of meteorological condition on thermoregulation of Nellore cattle associated with the emission of methane throughout the day. For this, it was done a study at the Animal Biometeorology Laboratory of the São Paulo State University, Jaboticabal, Brazil (21.25° S, 601 m altitude) in December of 2016. Six Nellore cattle with similar weight, age and body condition were assigned in a Latin Square experimental design (24 classes of hours (1-2h; 3-4h; ...; 23 - 24h; 24 -1h) during twelve days). Evaluations were performed with animals protected from direct solar radiation and rain overnight. Respiratory parameters as percentage of oxygen (O₂; %), carbon dioxide (CO₂; %), methane emission (CH₄, %), water vapor pressure ($P_{S\{T_{EXP}\}}$; kPa), respiratory rate (R_R , breaths min⁻¹) and ventilation (V_E ; L s⁻¹) were quantified using an indirect calorimetry system; furthermore, hair coat surface (T_S , °C), skin (T_{EP} , °C) and rectal temperature (T^R , °C) were recorded with thermocouple. Metabolic heat production (q''_{met}), sensible heat flow (q''_{sens}), heat loss from respiratory tract (q''_{er}) and cutaneous evaporation (q''_{es}) and methane emission (eCH_4 , g h⁻¹) were calculated. Meteorological conditions were measure at regular one-minute intervals during each day with a portable weather station. Volumes (L h⁻¹) of O₂ and CO₂ changed moderately throughout the 24 hours, which resulted in an average metabolic heat production of 151.45 ± 13.60 W m⁻². At the largest thermal gradient ($T_S - T_A$; from 24:00 h to 7:00 h), heat transferred by sensible mechanisms corresponded near to 60 % of the metabolism, but at 11:00 h until 17:00 h, when T_A was elevated, the cutaneous evaporation represented approximately 53 % of total heat losses. From 20 to 30 °C, thermoregulatory responses of Nellore cattle remained relatively stable over the 24 hours when

protected from direct solar radiation and rain, which seems to be a good indicative of lower energy expenditure for body thermal regulation. Enteric methane emission of housed 30-mo-old Nellore cattle fed at requirement maintenance on DM basis is approximately $33 \text{ g day}^{-1} \text{ animal}^{-1}$. Circadian variation of enteric methane emission was clearly associated to the feed time, being not related with meteorological conditions. The open indirect calorimetry system using a non-ventilated facial device provided valuable details on daily pattern of enteric CH_4 production of Nellore cattle and its association with O_2 consumption and CO_2 output. So, this work evaluated the thermal equilibrium of adult Nellore cattle, besides to describe the circadian variation of methane emission, as well as the relationship of these variables with tropical meteorological conditions. Thereby, this work has relevant contributions with inedited results and innovation.

Keywords: Thermal balance, beef cattle, indirect calorimetry system, thermoregulation, methane emission

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

A população mundial atualmente compreende mais de 7 bilhões de habitantes e vem apresentando um crescimento bastante expressivo. De acordo com projeções da Organização das Nações Unidas – ONU (2017) em 2050 serão mais de 9 bilhões. Diante dessa condição surge a dúvida de como essas pessoas irão se alimentar. É indiscutível que será necessário que aumentar a produção mundial de alimentos, mas outro ponto crucial é que isto deve ser feito de forma sustentável, aumentando a produtividade, melhorando a gestão da água, mitigando emissão de gases do efeito estufa, dentre outros. Nesse contexto, além da sustentabilidade, outro aspecto importante vem sendo discutido mundialmente, que é o agravamento do efeito estufa e a consequente elevação da temperatura global.

Sabe-se que a agropecuária é uma das atividades que contribuem para emissão de gases do efeito estufa (SEEG, 2017). Dentre eles pode-se citar o metano (CH_4), sendo uma das principais vias de produção desse gás o processo de fermentação ruminal, o qual é liberado em maior porcentagem pelas vias respiratórias (narinas, cavidades nasais, faringe e laringe) ou pelo processo de eructação.

O Brasil é um dos maiores produtores de alimento do mundo, sendo o país que possui o segundo maior rebanho comercial de bovinos de corte, dos quais 85 % são registrados como bovinos da raça Nelore (McManus et al., 2009; McManus et al., 2016). A representatividade dos animais dessa raça nacional e internacional é indiscutível. E no cenário mundial de mudanças climáticas e sustentabilidade é de grande importância estudar o impacto causado por esses animais.

Nesse sentido, o estudo da emissão de metano de bovinos da raça Nelore é uma forma de contribuir para formação de banco de dados que possam contribuir

com o processo de mitigação, focando principalmente em um processo de produção sustentável. Poucos são os estudos envolvendo a emissão de metano de bovinos dessa raça no Brasil. Na literatura, a maioria dos estudos utiliza a metodologia do SF₆ (JOHNSON e JOHNSON, 1995; PRIMAVESI et al. 2004; SAN VITTO et al., 2016) que consiste no uso de uma pequena cápsula de permeação com SF₆, inserida no rúmen do animal, um cabresto com tubo capilar conectado a uma canga que coleta do ar em torno do focinho e das narinas do animal, ao fim da coleta diária, as concentrações de CH₄ e de SF₆ são determinadas por cromatografia gasosa. Porém esta metodologia apenas fornece a emissão total dos animais por um período de tempo, sendo portanto uma limitação.

Além disso, esses animais estão constantemente expostos às variações ambientais. Estas podem influenciar o comportamento e podem gerar alterações fisiológicas importantes que apresentam consequências para a produção. Portanto, é indispensável o estudo do equilíbrio térmico de Bovinos da raça Nelore em condições em que se possa avaliar influência das variáveis meteorológicas sobre os componentes do equilíbrio térmico desses animais. Nesse sentido, o uso da calorimetria indireta no estudo da produção e transferência de calor e massa é fundamental, pois ela oferece essa possibilidade, além de poder medir juntamente a emissão de metano e mostrar sua distribuição ao longo do período mensurado.

Existem na literatura alguns trabalhos que abordam a influência das variáveis meteorológicas sobre equilíbrio térmico de *Bos indicus* (Camerro et al 2016 e de Melo Costa et al. 2017), porém só trabalharam com animais no período diurno, totalizando no máximo 10 horas de estudo. Isso limita a abordagem de algumas variáveis fisiológicas associadas à termorregulação que podem ser evidenciadas durante um ciclo de coletas de 24 horas, além de que nesse período há uma maior amplitude das variáveis meteorológicas, podendo influenciar os resultados. Isso evidencia que estudos mais aprofundados são necessários, a fim de elucidar lacunas de conhecimento acerca do processo termorregulatório de bovinos de corte, especialmente os da raça Nelore, que possuem uma representatividade

nacional enorme e conseqüentemente mundial. Portanto, o objetivo desse trabalho é avaliar o equilíbrio térmico de bovinos Nelore durante o período de 24 horas, associando com a emissão de metano e verificando a influência da variação dos fatores meteorológicos sobre essas variáveis.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Atmosfera, composição e gases do efeito estufa

A palavra atmosfera é derivada do grego *atmos* (vapor) e *sphaira* (esfera), ou seja, a esfera de gases que circunda o planeta. É composta por uma mistura de gases, incluindo o vapor de água, porém este tem proporções variáveis dependendo da situação (SILVA, 2008). De acordo com Thompson (1998), para descrever melhor a composição da atmosfera deve-se considerar em termos de ar seco. Assim sendo, de acordo com o volume (%) tem-se em sua composição o Nitrogênio com 78,08%, o Oxigênio com 20,95%, o Argônio com 0,93%, o Dióxido de Carbono com 0,035%, e o restante corresponde a gases inertes e hidrogênio, além de ozônio, metano, dentre outros. Segundo Silva (2008) a atmosfera é dividida em quatro camadas: troposfera, estratosfera, mesosfera e ionosfera.

É na troposfera, devido a presença de gases como vapor de água, dióxido de carbono, metano, ozônio e outros gases, que ocorre o efeito estufa. Este fenômeno é de extrema importância para que haja vida na Terra, pois sem ele a temperatura do ar seria extremamente variável, muito mais frio a noite e muito mais quente durante o dia, como acontece na lua (da SILVA e MAIA, 2013). Os gases que constituem a atmosfera são essencialmente transparentes tanto para a radiação solar (ondas curtas – 0,3 a 4,0 μm) quanto para a radiação infravermelha

(ondas longas – 4,0 a 100,0 μm) emitida para cima a partir da superfície terrestre (SILVA, 2000). Há, porém, vários constituintes menores, especialmente o vapor de água e o dióxido de carbono, que são amplamente transparentes para a radiação solar recebida, mas absorvem fortemente a radiação infravermelha emitida pelo solo. A radiação absorvida por esses gases é reemitida em todas as direções, algumas voltadas para a superfície levando a um aquecimento da superfície, gerando o referido efeito de estufa (SCHNEIDER, 1989).

Estudos comprovam que nos últimos 200 anos as concentrações de gases do efeito estufa (GEE), especialmente de CO_2 e CH_4 , vem se elevando, passando de cerca 300 para 400 ppm e de 800 para 1800 ppb, respectivamente (KHALIL E RASMUSSEN, 1987; RAYNAUD et al., 1993; BROOK et al., 1996; LASSEY, 2007). Esse aumento de concentração é atribuído, principalmente, a ações antropogênicas. Essas atividades estão diretamente ligadas ao desenvolvimento econômico de cada país, por isso, países em desenvolvimento, como o Brasil, estão se tornando importantes emissores de gases do efeito estufa (MCTI, 2016).

É válido lembrar que, antes da década de 90, as consequências do aquecimento global já começavam a ser discutidas. Mitchell (1989) em seu trabalho afirmou que devido ao aumento das concentrações dos GEE, desde 1860, provavelmente ocorreu um aumento da temperatura média global da superfície em $0,5^\circ\text{C}$, e as concentrações projetadas poderiam produzir um aquecimento de cerca de $1,5^\circ\text{C}$ nos próximos 40 anos. Em meados de 2015 a Organização das Nações Unidas (ONU) alegou que as emissões de gases de efeito estufa, devido à atividades humanas, estão gerando mudanças climáticas e continuando a aumentar, e estão agora nos níveis mais altos na história. Caso não seja tomada nenhuma providência, a temperatura média da superfície do mundo aumentará ao longo do século XXI e provavelmente poderá ultrapassar 3°C ainda neste século - e algumas áreas do mundo esperam aquecer ainda mais.

Diante dessa condição mundial, o governo brasileiro resolveu engajar-se em políticas, medidas e ações para a mitigação dos gases de efeito estufa. Para isso,

porém, é necessário estudos, dados consistentes e atualizados na área. Segundo o Sistema de Estimativa de Emissões de Gases de Efeito Estufa – SEEG (2017) em 2009, o governo brasileiro adotou, pela primeira vez, compromissos para a redução de emissões de GEE, firmaram compromisso de emitir anualmente documentos com dados atualizados, porém esses dados ainda não seguem as normas pré-definidas. Em 2013, o SEEG produziu estimativas de emissões desses gases para o Brasil para o período de 1990 até 2012.

De acordo com o SEEG (2017) entre 1990 e 2015 as emissões brutas de GEE brasileiras passaram de 1,86 bilhão de toneladas de gás carbônico equivalente (GtCO₂e) para 1,92 GtCO₂e, um aumento de 3,5%, sendo que a partir de 2013 houve um reversão de tendências, com subida das emissões devido ao desmatamento da Amazônia.

2.2. Bovinocultura de corte e emissão dos gases do efeito estufa

Diante da preocupação mundial com o aquecimento global, surge como ponto de alta relevância científica e social, a quantificação da emissão de gases do efeito estufa em sistemas de produção animal. Dentre os quais se destacam a emissão de metano, assim, colocando os ruminantes em destaque nessa situação.

Atualmente o setor agropecuário mundialmente corresponde por até 28% das emissões de CH₄ da agricultura (Caro et al., 2014). A pecuária ruminante, devido ao processo digestivo de fermentação entérica e manejo de dejetos, é reconhecida como uma importante fonte de emissão de gás metano, um potente gás de efeito estufa. Mundialmente, as emissões globais de metano entérico em 2010 atingiram valores médios de 2,1 Gt CO₂eq segundo o Quinto Relatório de Avaliação do Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas (IPCC, 2014), caso se tenha um crescimento proporcional da emissão de metano e do crescimento da produção animal, as emissões globais de CH₄ devem aumentar 60% até 2030 de acordo com Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO, 2003). Outra

estimativa importante é que o consumo de alimentos de origem animal tende a crescer, já que há estimativas de um crescimento populacional, segundo a Organização das Nações Unidas (ONU, 2017). O Brasil possui o maior rebanho comercial de bovinos Zebuínos do mundo, com cerca de 211 milhões de cabeças, puros e cruzados (USDA, 2016), dos quais 85 % são registrados como bovinos da raça Nelore (McManus et al., 2009; McManus et al., 2016). De acordo com o SEEG (2017), dentre os setores da agropecuária, as emissões por fermentação entérica do rebanho de ruminantes (predominantemente bovinos de corte) é a causa da maior fatia de emissões de GEE do setor. Assim a fermentação ruminal se torna uma das mais importantes fontes de emissão metano no país, cerca de 64% na participação da geração deste gás, ou seja, aproximadamente 274 MtCO_{2e}, enquanto, os sistemas de manejo de dejetos de animais são responsáveis pela emissão de aproximadamente 19 MtCO_{2e} (SEEG, 2017).

A produção de CH₄ no rúmen se dá principalmente a partir da fermentação microbiana dos carboidratos estruturais e não estruturais, como celulose, hemicelulose, pectina e amido (CRUTZEN et al., 1986). Esse processo exige um ambiente anaeróbico e ocorre no rúmen dos ruminantes, ceco dos não-ruminantes, além do manejo de dejetos (DEMEYER E VAN NEVEL, 1975). O metano para os ruminantes é um subproduto da fermentação ruminal que ocorre devido a ação de um importante grupo de organismos, *Archea* (ARCURI, LOPES E CARNEIRO, 2011). A fermentação bacteriana utiliza os carboidratos como substrato para seu metabolismo e como resultados formam os ácidos graxos voláteis (acetato ou butirato, via piruvato) que serão fonte de energia para os ruminantes (JOHNSON E JOHNSON, 1995). Como subproduto dessa fermentação há formação de hidrogênio (H₂) e CO₂. A formação do metano é o principal dreno do H₂ ruminal, sendo esse processo indispensável para vida dos organismos do rúmen, bem como do próprio ruminante (VALADARES FILHO E PINA, 2011). Quantidades significativas de CH₄ ruminal, especialmente com dietas com alta concentração proteica, também podem surgir a partir da fermentação microbiana dos

aminoácidos, que tem o CH_4 como um dos produtos finais, além da amônia, ácidos graxos voláteis (AGV) e CO_2 (VALADARES FILHO E PINA, 2011).

Como foi descrito acima, o processo para a formação do metano é algo que envolve diretamente a parte nutricional. Todavia, há diversos fatores que podem interferir nesse processo (McALLISTER et al., 1996). Isso, porém, é deixado de lado, sendo, na maioria dos estudos que tratam a emissão de metano, o principal foco a nutrição animal (PRIMAVESI et al., 2004; McGINN e BEAUCHEMIN, 2009; PINARES-PATIÑO et al., 2003; HULSHOF et al., 2012) e além disso utilizam a metodologia desenvolvida por Johnson e Johnson (1995) do traçador de hexafluoreto de enxofre (BOADI et al., 2002; GRAINGER et al., 2007; SAN VITTO et al. 2016). Esta técnica porém, apresenta limitações, já que não fornece ao pesquisador a emissão de metano ao longo do dia, bem como não se consegue relacionar o efeito das condições meteorológicas, emissão de outros gases do sistema respiratório e a emissão de CH_4 .

Outros fatores, além da nutrição, podem influenciar a emissão de metano, como estado fisiológico, mérito genético, idade (MCTI, 2016). De acordo com o mesmo órgão as pesquisas acerca desses parâmetros ainda são insuficientes no Brasil. Há, porém, alguns estudos com ruminantes que demonstram que a emissão de CH_4 depende da quantidade do alimento ingerido, da qualidade da dieta (PRIMAVESI et al., 2004), da hora do dia e das condições de temperatura (LOCKYER, 1997, NGWABIE et al. 2011). Isso evidencia a necessidade de quantificar a emissão desse gás em bovinos em diferentes condições de temperatura (variação diária, por exemplo). Porém poucos são os trabalhos que abordam a influência das condições meteorológicas, associam essa emissão a outros gases ou à produção de calor metabólico, e devido a metodologia do SF_6 , que não permite realizar esse tipo de experimento.

Costa (2013) desenvolveu um estudo preliminar a este, dando início a abordagem desse problema, porém o trabalho limitou-se a apenas 10 horas de coletas de dados (08:00 às 18:00 horas). Ou seja, não avaliou a variação circadiana

da emissão de CH₄ e sua relação com outras variáveis. Esses detalhes sobre a emissão de metano ao longo de 24 horas é muito importante para se entender melhor o comportamento dessa variável, como ela é influenciada por outros fatores, além de proporcionar dados para programas de genética e melhoramento animal (MAIA et al. 2017). Alguns estudos mostram que a emissão de metano apresenta uma variação circadiana associada ao horário da alimentação (RAMIREZ-RESTREPO et al. 2016; CROMPTON et al., 2010). Esse refinamento nesse tipo de mensuração pode proporcionar estimativas precisas acerca desse gás (BAI et al., 2014; OSS et al. 2016), bem como meios de mitigação para reduzir as perdas através da redução da emissão de metano.

Diante desse cenário, vê-se que tudo leva a um aumento da produção de carne estudos apontam também um aumento da emissão de GEE e o agravamento no aquecimento global (IPCC, 2006; COOK et al., 2013; DANGAL et al. 2017). Esses aspectos se não controlados podem causar um forte impacto no meio ambiente, por isso é importante que haja um desenvolvimento sustentável na produção animal, além da conscientização da sociedade. Esta, cada vez mais exigente quando em países de primeiro mundo, cobra produtos que sejam ecologicamente sustentáveis, apresentando o menor impacto negativo ao meio ambiente. Nesse sentido, além de contribuir cientificamente, esse estudo preocupa-se em usar uma metodologia ecologicamente correta, sem uso de gases poluentes, o sistema de calorimetria indireta desenvolvido no Laboratório de Biometeorologia da FCAV/UNESP.

A calorimetria indireta é capaz de obter a energia térmica produzida pelos organismos por meio da mensuração dos gases respiratórios (O₂, CO₂), além do metano, no caso dos ruminantes (PINARES-PATIÑO et al., 2008). É uma técnica menos onerosa, se comparada com o uso de câmaras respirométricas. Porém é pouco utilizada, devido a necessidade de condicionar os animais ao uso da máscara facial. Essa técnica também permite ao pesquisador a analisar a emissão dos gases

em condições meteorológicas naturais, nas quais os animais são submetidos diariamente, permitindo ainda a avaliação da espirometria (MAIA et al. 2011).

Maia et al. (2016), Camerero et al. (2016), Fonsêca et al. (2017), Fernandes et al. (2017), de Melo Costa et al. (2017) realizaram pesquisas recentes que abordam com sucesso o uso da calorimetria indireta para mensurar a produção de calor metabólico, espirometria e quantificar a emissão de metano em ruminantes. Portanto, essa técnica está consolidada e traz informações relevantes para ciência em diversas áreas e utilizado diferentes espécies de animais.

2.3. Estudo do equilíbrio térmico em bovinos

A maioria do território brasileiro é localizado em região tropical, caracterizado por altos níveis de radiação e amplitude térmica (daSILVA et al., 2010; da SILVA e MAIA, 2013), isso representa um desafio para a termorregulação animal. Bovinos da raça Nelore são considerados adaptados a essas condições (Hansen, 2004) e possuem alta representatividade na pecuária de corte do Brasil. Esses animais são submetidos principalmente a sistemas de criação extensivo, representando em torno de 80% dos sistemas produtivos de carne bovina brasileira (CESAR et al. 2005). Ou seja, esses animais estão sujeitos diariamente às variações das condições meteorológicas.

Sabe-se que os seres vivos e o ambiente em que eles vivem formam um complexo sistema, onde cada indivíduo é afetado pelos fatores ambientais e pelos outros animais, reagindo e os afetando (da SILVA e MAIA, 2013). As condições meteorológicas agem diretamente sobre o equilíbrio térmico de um organismo, por meio do gradiente de temperatura, umidade, exposição ou não à radiação solar, dentre outros fatores. Isso faz que o organismo, para manter a atividade metabólica em um nível considerado normal, use de estratégias para que ocorra um fluxo de calor e massa que o permite termorregular.

Segundo Silva (2000), termorregulação é o processo de controle da temperatura em um sistema físico qualquer. Assim, tem-se que trocas de energia térmica são reguladas por leis da Física e que o processo de balanço térmico envolve uma série de mecanismos fisiológicos e comportamentais, dentre os quais se podem citar: vasodilatação, vasoconstrição, sudorese, eriçamento de pelos, busca por sombra, maior ingestão de água, dentre outros (BICEGO et al. 2007).

Apesar do estudo da termorregulação envolvendo animais datar longos anos, até hoje se tem muitas dúvidas e inconsistências a respeito do tema. Pois já que segundo Xu e Lu (2011) a transferência de calor, no interior de um organismo vivo compreende um complicado processo fisiológico, sendo principalmente uma condução de calor, incluindo circulação do sangue, sudorese, geração de calor metabólico e, dependendo do animal, algumas vezes, dissipação de calor via pelos, plumagem, penas, etc., acima da superfície da pele.

De acordo com a Primeira Lei da Termodinâmica, tem-se que:

$$E_G + E_N - E_S = \Delta_{ACUM}$$

onde E_G é a energia gerada em um sistema de controle, E_N energia que nele entra, E_S a energia que deixa o sistema e Δ_{ACUM} é energia acumulada durante um intervalo de tempo (Incropera et al. 2013). Diante disso, da Silva e Maia (2013) descreveram que a termorregulação animal compreende uma série de mecanismos que podem ser representados por meio da expressão:

$$M + \Gamma + R_C \pm R_L \pm C_R \pm C_S \pm K - E_S - E_R = 0$$

onde M ($W m^{-2}$) é a taxa de produção de calor liberada nos processos metabólicos, ou seja na oxidação dos alimentos ou das reservas corporais. Γ ($W m^{-2}$) é a energia térmica estocada pelo animal; R_C ($W m^{-2}$) é o ganho de calor através da radiação de ondas curtas, R_L , K , C_R e C_S ($W m^{-2}$) são as trocas de energia térmica por

radiação de ondas longas, fluxo de calor por condução, por convecção respiratória e por convecção na superfície do pelame, respectivamente, E_S e E_R ($W m^{-2}$) são as perdas de calor latente através da evaporação cutânea e respiratória.

2.3.1. Mecanismos de transferência de calor sensível em bovinos

A transferência de calor sensível (q''_{sens}) ocorre devido a um diferencial de temperatura, entre a superfície do animal e o meio que ele se encontra. Esse calor é transferido de um ponto para outro por meio de três mecanismos: radiação de ondas longas, convecção e condução.

De acordo com Incropera et al. (2013) a radiação pode ser definida como a energia que é emitida pela matéria como um resultado de sua temperatura não nula (0 Kelvin). Porém a radiação térmica depende da temperatura que o corpo se encontra, e isso determinará o comprimento de onda em que será emitida essa radiação (da SILVA e MAIA 2013). Estes mesmos autores definem que radiação térmica é a transferência de calor de um corpo para outro por meio do deslocamento de energia eletromagnética por fótons, que se comportam tanto como partículas como em ondas. Segundo Silva (2008), o fluxo de radiação de ondas longas entre um animal e seu ambiente pode ser quantificado levando-se em consideração a emissividade, a constante de Stefan-Boltzmann e a diferença entre a temperatura de superfície à quarta potência e a temperatura radiante média à quarta potência.

Incropera et al. (2013) define condução como a transferência de energia das partículas mais energéticas para as menos energéticas de uma substância devido às interações entre as partículas. Ou seja, o fluxo de energia por esse mecanismo ocorre através das moléculas altamente energizadas para aquelas menos energizadas, ou seja, de uma zona de alta temperatura para outra a uma temperatura mais baixa (da SILVA e MAIA 2013). Outro ponto crucial para que ocorra a condução térmica é a necessidade de contato direto entre as moléculas

dos corpos ou superfícies envolvidas. Considerando um animal em pé, a perda de calor por condução seria muito pequena porque a área superficial em contato com outra superfície é insignificamente pequena (COLLIER E GEBREMEDHIN, 2015). Há também o contato da superfície do animal com o ar, porém a condutividade térmica do ar é muito baixa, sendo, portanto, considerada desprezível. Com isso, normalmente em estudos com animais esse fluxo é desconsiderado.

O outro mecanismo sensível é a convecção que é definida por da Silva e Maia (2013) como a transferência de energia térmica pelo deslocamento do ar ou qualquer outro fluido. Esse mecanismo de transferência de calor, como os demais acima citados, é favorecida pelo diferencial de temperatura e pode ser forçada ou natural (CENÇEL, 2009; da SILVA e MAIA, 2013). Da Silva e Maia (2013) afirmam que caracteriza-se como convecção natural quando o deslocamento do fluido é causado por um diferencial de densidade, consequência da diferença de temperatura, o que normalmente é levado em consideração em pesquisas da área. Porém se o deslocamento é causado por forças ativas, como bombas, ventiladores ou qualquer fonte eólica se tem uma convecção forçada.

Finch (1985) estudou a transferência de calor por mecanismos sensíveis em três raças, zebuínas e taurinas, (Brahman, Brahman x Hereford-Shorthorn e Shorthorn). Esses animais foram mantidos em câmaras climáticas com temperatura inicial de 25°C durante a noite, em seguida foram expostos durante 1 hora a aumentos sequenciais na temperatura do ar (28, 32, 37, 41, 43, 45 °C). A autora constatou que a condutância dos tecidos aumentou com o aumento da temperatura, porém diferiu entre as raças, sendo maior para o Brahman e menor para o Shorthorn. Isso ocorreu devido a variações na capacidade de redirecionar o sangue do interior do corpo para a periferia (pele), ou seja, a resistência dos tecidos. Uma das possíveis explicações para isso seria que a densidade de anastomoses arteriovenosas seja maior em *B. indicus* (HANSEN, 2004). Esse mesmo autor afirma que essa capacidade de manter e aumentar a condutância dos tecidos é uma das

características que explica a tolerância de bovinos da raça Nelore em regiões tropicais.

Já Maia et al. (2005a) trabalhou com quinze vacas Holandesas (*Bos taurus*) em lactação, com peso corporal médio de $558,5 \pm 22,5$ kg, nas condições ambientais de Jaboticabal, SP, Brasil, observou que quando a temperatura do ar estava entre 10 e 36 ° C, a transferência de calor sensível variou de 160 a -30 W m^{-2} , passando a ser um mecanismo de ganho de calor. Enquanto que Camerero et al. (2016) estudando o equilíbrio térmico de bovinos Guzerá (*Bos indicus*) verificou que com um aumento de 10°C da temperatura do ar (24 a 34°C) o fluxo de calor sensível foi reduzido de 70 a 20 W m^{-2} . Esses estudos corroboram com a ideia que o bovino Zebuino é mais resistente a condição de alta temperatura. Isso, além do que já foi citado, é devido a uma série de características termofísicas e radiativas do pelame do Nelore (McMANUS et al. 2005). Silva et al. 2003 descreve o pelame como uma mistura de pelos brancos e pretos em variadas proporções, dando uma característica de coloração acinzentada, além desses pelos serem bastante curtos, densos e bem acamados, favorecendo a transferência de calor através dessa interface.

De Melo Costa et al. (2017) trabalhando com bovinos da raça Nelore, durante um período de 10 horas, encontraram que a perda de calor sensível (por radiação de ondas longas e convecção) atingiu um valor de $60.08 \pm 0.81 \text{ W m}^{-2}$, quando a temperatura do ar estava em torno de 25°C. Nessa faixa de temperatura o fluxo de calor sensível chegou a representar cerca de 50% da perda de calor, porém em condições de altas temperaturas esse fluxo diminuiu bastante, chegando a $5,90 \pm 0,61 \text{ W m}^{-2}$. Isso mostra que esse fluxo de calor realmente depende do diferencial de temperatura entre a superfície do animal e do ambiente, e mesmo a radiação de ondas longas seja em função da temperatura radiante média (T_{RM}) em um ambiente protegido da radiação de ondas curtas a T_{RM} é muito próxima da temperatura do ar.

2.3.2. Mecanismos de transferência de massa em bovinos

Em todos os mecanismos descritos acima houve necessidade de ocorrer um diferencial de temperatura entre a superfície do animal e do meio que o circunda. Se a temperatura do ambiente for superior àquela da superfície do animal, como normalmente ocorre em ambientes tropicais, os mecanismos sensíveis se tornam ineficientes, podendo tornar-se uma forma de ganho de calor (MAIA et al. 2005 b). Nessas condições, para que haja a perda de energia térmica, os mecanismos latentes são indispensáveis, ou seja a perda de calor por evaporação cutânea (FINCH et al., 1982, MAIA et al., 2005a, DE MELO COSTA et al 2017) e respiratória (STEVENS 1981; MAIA et al., 2005b, daSILVA et al., 2012, CAMERRO et al., 2016), que são controlados por gradientes de pressão de vapor (daSILVA et al., 2012).

A liberação de suor, por indivíduos que possuem glândulas sudoríparas, e o aumento da frequência respiratória são duas das respostas autonômicas primárias exibidas por animais sob o estresse por calor. A sudação resulta em um aumento da perda de calor evaporativa na superfície da pele, enquanto que o aumento da ventilação faz que o calor sensível do interior do corpo seja usado para aquecer o vapor de água e expulsar o calor na forma de umidade vaporizada dos pulmões (COLLIER E GEBREMEDHIN, 2015).

O aumento da frequência respiratória é considerado uma respostas mais perceptíveis e rápidas ao estresse térmico (GAUGHAN et al., 2000). McDowell et al. (1953) e Findlay (1957) mostraram que sob condições de estresse por calor a frequência respiratória se altera de uma forma mais rápida. Essa resposta fisiológica é, segundo os mesmos autores, uma das primeiras a ser evidenciadas com a elevação da temperatura ambiente, com isso ocorre um aumento do volume por minuto do animal, favorecendo as trocas de calor latente no sistema respiratório.

A perda de calor por evaporação respiratória (q''_{er}), muitas vezes é inferida por meio da análise da frequência respiratória. Kibler e Brody (1950) realizaram um

experimento avaliando o efeito da temperatura (10° a 41°C) na atividade respiratória de bovinos *Bos indicus* (Brahman) e *Bos taurus* (Jersey e Holandes), utilizando câmaras climáticas. O efeito do aumento da temperatura do ar causou um aumento na frequência respiratória de Jerseys e Holandesas, aumentando mais rapidamente entre 20,5° e 32,2 ° C, e tornando-se plano em torno de 35° C. Pouca variação ocorreu nas curvas para os Brahmans em temperaturas inferiores a 26,6 ° C, mas acima disso e até 41 °C aumentaram rapidamente sem alcançar um platô, superando os níveis mais altos alcançados nas Jerseys e Holandesas, em torno de 150 resp. min⁻¹. Já Berman (1968) trabalhando com novilhas Holandesas na primavera e verão, com médias de temperatura do ar de 18,2 e 27,5°C respectivamente, durante um ciclo de 24 horas, porém com intervalos entre os horários de aquisição de dados muito longos (intervalos de 4 horas), verificou que a evaporação respiratória correspondeu a mais de 10% e quase 12% em cada estação, respectivamente. Bovinos de raças europeias tendem a perder mais calor por evaporação respiratória, isso pode evidenciar que esses animais são menos adaptados a condições de altas temperaturas (Hansen, 2004).

Em um estudo com bovinos Nelore, avaliados por meio de um sistema de calorimetria indireta com uma máscara facial e em uma variação de temperatura de 24 a 35 °C, de Melo Costa et al. (2017) mostrou que frequência respiratória permaneceu praticamente constante. Estes autores encontraram um valor máximo de 24 resp. min⁻¹ quando a temperatura do ar atingiu seu maior valor, apresentado uma diferença entre mínimo e máximo de 4 resp. min⁻¹. Milan et al. (2016) verificaram um aumento moderado na frequência respiratória (24 a 30 resp. min⁻¹) de bovinos Nelore expostos a radiação solar. Isso mostra que para essa raça este parâmetro fisiológico não se altera de forma acentuada com o aumento da temperatura, nem com a radiação solar direta.

Camerro et al. (2016) estudando a perda de calor por evaporação respiratória de bovinos Guzerá, durante 10 horas consecutivas (8:00 às 18:00 horas), encontraram que essa variável não mudou de forma substancial com o aumento da

temperatura de 24 para 34°C, apresentando um valor máximo de 15 W m⁻². Este valor representou menos de 10% da perda de calor produzido pelo metabolismo. Resultados encontrados por de Melo Costa et al. (2017) também mostraram que a perda de calor por evaporação respiratória foi pouco significativa para o balanço térmico de bovinos Nelore manejados à sombra.

A perda de calor por evaporação cutânea (q''_{es}) é uma medida de extrema importância para a termorregulação de bovinos e pode ser quantificada pela técnica de cápsula ventilada (MAIA et al. 2005 b, CAMERRO et al. 2016; DE MELO COSTA et al. 2017). McLean (1963) trabalhando com bezerros da raça Ayrshire realizou um trabalho no qual utilizando essa metodologia, simultaneamente com um método da máscara para medir perdas respiratórias. Os animais foram expostos a variações de temperaturas de 15, 20, 25, 30, 35 and 40 ° C. Houve um aumento de três vezes na frequência respiratória média (20 resp. min⁻¹ para cerca de 60 resp. min⁻¹) a 40 °C em relação a 15 °C, mas isso foi acompanhado por uma queda no volume corrente (L resp. ⁻¹). Como resultado, a taxa de ventilação respiratória (L min⁻¹) aumentou ao longo da faixa de temperatura. Já quando a temperatura do ar estava acima de 25 °C, o aumento da perda de calor por evaporação (cutânea + respiratória), a cada 1 °C na temperatura do ar, foi constante, e aproximadamente a 37,5 °C a perda de calor por evaporação foi igual à produção de calor (aproximadamente 190 kcal hora⁻¹). Evidenciando como a perda de calor latente é crucial para a termorregulação de bovinos.

De Melo Costa et al. (2017) trabalhando com bovinos Nelore adultos quantificou que em torno de 34°C a perda de calor por evaporação cutânea foi de 64.76 ± 0.62 W m⁻², enquanto que a evaporação respiratória de 11.44 ± 0.13 W m⁻². Além disso, quantificaram que as perdas de calor latente representaram cerca de 60% do total do calor produzido pelo metabolismo. McManus et al (2005) também estudando bovinos Nelore sobre condições meteorológicas semelhantes acharam uma q''_{es} de aproximadamente 60.17 W m⁻².

Já Maia et al. (2005 b), mensurando a perda de calor por evaporação cutânea em vacas Holandesas, observou-se que quando a temperatura do ar estava entre 10 e 36 °C, a perda de calor latente por evaporação cutânea aumentou de 30 para 350 W m⁻². Ainda constataram que a perda de calor por evaporação cutânea representou de 20 a 30% da perda de calor total quando a temperatura do ar variou de 10 a 20 °C. Já em temperaturas do ar maiores que 30 °C a evaporação cutânea tornou-se a principal via de perda de calor, representando aproximadamente 85% da perda de calor total, enquanto o resto é perdido pela evaporação respiratória. Esta foi mensurada por Maia et al. (2005 a), usando uma máscara facial. Eles encontraram que sob temperaturas do ar entre 10 e 35 °C a perda de calor latente por evaporação respiratória aumentou de 1,03 para 56,51 W m⁻², sendo bastante expressiva. A evaporação aumentou em conjunto com a temperatura do ar em quase uma forma linear até 20 °C, mas tornou-se cada vez mais alta à medida que a temperatura do ar subiu acima de 25 °C. Concluindo que evaporação respiratória também é bastante efetiva para a termorregulação para vacas Holandesas (*Bos taurus*) em um ambiente quente, além de ser mais significativa para termorregulação se comparada com *Bos taurus*.

Os dados apresentados anteriormente mostram que a perda de calor latente é de grande importância tanto para animais taurinos, como zebuínos. Porém pouco se foi explorado a respeito dessas variáveis durante o período circadiano. Há muito o que ser estudado a respeito das perdas de calor latente em bovinos da raça Nelore, quando comparado na literatura com raças taurinas. Principalmente no que diz respeito a pesquisas aprofundadas e compreendendo o período nictemeral.

2.3.3. Produção de calor metabólico em bovinos

É de suma importância estudar a produção de calor metabólico, pois ele é a fonte de “energia gerada” para os seres vivos, como foi descrito anteriormente. A

energia térmica produzida pelo metabolismo é transferida para o ambiente e depende da condutância externa e dos tecidos. Essa condutância está relacionada com as alterações no fluxo sanguíneo para a pele e propriedades físicas da superfície cutânea do animal, respectivamente (Finch et al., 1984; Hales, 1978; De Shazer et al., 2009; Gebremedhin et al., 2010). Segundo Incropera et al. (2013) a geração de energia está associada à conversão de alguma outra forma de energia (química, elétrica, eletromagnética ou nuclear) em energia térmica. No caso de animais, Schimdt-Nielsen (2013) descreve como metabolismo energético o uso da energia química para realização de suas funções. Os processos metabólicos que geram energia, tanto para sintetizar novas moléculas ou para o trabalho muscular e nervoso dos animais homeotérmicos, proporcionam a eles a produção contínua de calor (SILVA, 2000). No caso dos ruminantes, a energia produzida pela oxidação fisiológica é utilizada por eles para as diversas atividades fisiológicas, comportamentais e produtivas (RESENDE, TEIXEIRA E FERNANDES, 2011).

Outro fator importante a ser abordado é a energia acumulada em um sistema. Como foi descrito anteriormente de acordo com a Primeira Lei da Termodinâmica, a energia acumulada é resultado daquela energia que não fora dissipada. Segundo da Silva e Maia (2013) o armazenamento de energia térmica está positivamente relacionado com a massa corporal, de tal forma que os indivíduos mais pesados tendem a armazenar quantidades maiores de energia térmica e precisam de menos produção de calor metabólico. Porém a taxa de calor metabólico também está relacionada a outros fatores, tais como produtividade, raça, sexo, dentre outros.

Na literatura há uma série de estudos que foram realizados para conhecer melhor o equilíbrio térmico dos bovinos, porém isso não se aplica a bovinos Nelore. A maioria desses trabalhos concentrados em regiões que apresentam clima temperado (KIBLER E BRODY, 1956; GEBREMEDHIN et al. 1981; BROWN-BRANDL et al. 2003). Outro fator limitante, é que para o estudo das reações dos animais frente ao estresse térmico, a maioria dos autores, utilizam câmaras climáticas (MCDOWELL et al. 1953; MCLEAN 1972; FINCH, 1986), a fim de

mimetizar as condições que os animais se encontram. Além de que a maioria dos animais utilizados nesses estudos não é adaptada às condições em que os bovinos são criados no Brasil ou em regiões com clima semelhante.

Uma das formas de realizar estudos em condições meteorológicas não controladas é trabalhar com a metodologia da calorimetria indireta com uso de uma máscara facial (MAIA et al. 2016; CAMERRO et al. 2016; COSTA et al. 2017). Pensando nisso, pesquisadores do Grupo de Inovação em Biometeorologia Animal (INO BIO) desenvolveram um sistema de medidas fisiológicas que usa essa metodologia, na qual ao medir as funções respiratórias e gasosas através desse dispositivo facial conectado a um sistema de aquisição de dados, consegue por meio desses dados calcular a produção de calor metabólico de animais (Fonsêca, 2016, MAIA, et al. 2016). Fazendo uso dessa metodologia Maia et al. (2005 c), Camerero et al. (2016) e de Melo Costa et al. (2017) desenvolveram estudos com vacas Holandesas, bovinos Guzerá e bovinos Nelore. O primeiro mensurou a produção de calor metabólico de vacas Holandesas de alta e baixa produção, verificou que esses animais em ambiente tropical produzem respectivamente 181.49 W m^{-2} e 173.83 W m^{-2} , evidenciando que animais com níveis de produção mais elevados possuem maior taxa metabólica e maior geração de calor interno. Já os demais, encontraram valores inferiores. Os animais da raça Guzerá, em torno de 120 W m^{-2} para fêmeas e 150 W m^{-2} para machos. Já os Nelores apresentaram média de $146.7 \pm 0.49 \text{ W m}^{-2}$.

Também foi observado no estudo realizado por de Melo Costa et al. (2017) que as variáveis meteorológicas não influenciaram os níveis de energia térmica produzidos pelo metabolismo. O que corroborou com os resultados encontrados por Camerero et al. (2016), em que a q''_{met} permaneceu praticamente constante mesmo com a temperatura do ar variando de 25 a 34 °C. No entanto, Brown-Brandl et al. (2003) encontrou que a média da produção de calor metabólico de bovinos cruzados ($\frac{1}{4}$ Angus, $\frac{1}{4}$ Hereford, $\frac{1}{4}$ Pinzgauer, $\frac{1}{4}$ RedPoll) foram reduzidos significativamente quando a temperatura do ar aumentou de 18 para 30 °C e de 30 para 34 °C. Ao

comparar os resultados de *Bos taurus* com *Bos indicus*, verifica-se que os *Bos indicus* são mais adaptados a condições de temperaturas elevadas. Segundo Hansen (2004) essa habilidade termorregulatória dos animais zebuínos pode ser resultado da produção de calor metabólica reduzida.

Diante do que foi apresentado, verifica-se que há ainda uma lacuna no conhecimento acerca da termorregulação de bovinos Nelore em condições não controladas, bem como quais fatores podem ou não influenciar na produção de calor metabólicos desses animais. Ou seja, pouco se sabe sobre o equilíbrio térmico de animais da raça Nelore em condições tropicais e não controladas, portanto é importante caracterizar o processo termorregulatório durante o período circadiano nesses animais que são considerados extremamente adaptados as condições climáticas do Brasil, levando em consideração o melhor desempenho da produção em ambiente tropical diante do cenário atual de mudanças climáticas.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho é aprimorar o conhecimento sobre a termorregulação de bovinos da raça Nelore e a emissão de metano ao longo do ciclo circadiano.

3.2. Objetivos específicos

Identificar as concentrações de CO₂, O₂ e CH₄ no ar inspirado e expirado de bovinos de forma contínua utilizando o método de calorimetria indireta usando uma máscara facial;

Conhecer o equilíbrio térmico de bovinos Nelore através da mensuração da produção de calor metabólico; perdas de calor latente; as trocas de calor por mecanismos sensíveis; e a emissão de metano desses bovinos adultos da raça Nelore;

Verificar a influência das variáveis meteorológicas (temperatura do ar, umidade, velocidade do vento) sobre variáveis fisiológicas desses animais em um período de 24 horas.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com o que foi explanado fica evidenciado que o balanço térmico e a emissão de metano de bovinos da raça Nelore são pontos de grande importância no âmbito científico. Ficou claro também que a literatura apresenta lacunas no que diz respeito ao estudo dessas variáveis ao longo do período circadiano, bem como a relação delas com as condições meteorológicas em ambientes não controlados. Ou seja, a revisão de literatura deu embasamento para essas questões, dando suporte aos objetivos do estudo.

5. REFERÊNCIAS

Arcuri, P. B.; Lopes, F. C. F.; e Carneiro, J. C. Microbiologia do rúmen. In:_____. (Ed.). **Nutrição de ruminantes** / Berchielli, T. T.; Pires, A. V.; Oliveira, S. G., 2^a ed. Jaboticabal: Funep, p.115-147, 2011.

Bai, M.; Griffith, D. W. T.; Phillips, F. A.; Naylor, T.; Muir, S. K.; McGinn, S. M.; Chen, D. Correlations of methane and carbon dioxide concentrations from feedlot cattle as a predictor of methane emissions. **Animal Production Science**, 56, 108, 2014. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1071/AN14550>>

Berman, A. Nychthemeral and seasonal patterns of thermoregulation in cattle. **Aust. J. agric. Res.**, 19, 181-9, 1968.

Bicego, K. C., Barros, R. C. H. e Branco, L. G. S. Physiology of temperature regulation: Comparative aspects. **Comparative Biochemistry Physiology**, 147, 616-639, 2007.

Boadi, D. A.; Wittenberg, K. M.; Kennedy, A. D. Validation of the sulphur hexafluoride (SF₆) tracer gas technique for measurement of methane and carbon dioxide production by cattle. **Can. J. Anim. Sci.** 82: 125–131, 2002.

Brook, E.; Sowers, T.; e Orchardo, J. Rapid variations in atmospheric methane concentration during the past 110,000 years. **Science**. 273, 1087-1091, 1996.

Brown-Brandl, T. M.; Nienaber, J. A.; Eigenberg, R. A.; Hahn, G. L.; Freetly, H. Thermoregulatory responses of feeder cattle. **Journal of Thermal Biology**, 28, 149–157, 2003.

Camerro, L. Z.; Maia, A. S. C.; Chiquitelli Neto, M.; Costa, C. C. M.; Castro, P. A. Thermal equilibrium responses in Guzerat cattle raised under tropical conditions. **J Therm Biol.** 60:213–221, 2016.

Çengel, Y. A. Fundamentos da convecção. In:_____. (Ed.). **Transferência de calor e massa: uma abordagem prática**. São Paulo: McGraw-Hill, 2009, p.356-390.

CEZAR, I. M.; Queiroz, H. G.; Thiago, L. R. L. S.; Cassales, F. L. G.; Costa, F. P. **Sistemas de produção de gado de corte no Brasil: uma descrição com ênfase no regime alimentar e no abate**. Documentos / Embrapa Gado de Corte. 2005, ISSN 1517-3747; 151. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte.

Collier, R. J.; Gebremedhin, K. G. Thermal Biology of Domestic Animals. **Annu. Rev. Anim. Biosci.** 3:10.1–10.20, 2015. Disponível em: <DOI 10.1146/annurev-animal-022114-110659>

Cook, J.; Nuccitelli, D.; Green, S. A.; Richardso, M.; Winkler, B.; Painting,R.; Way, R.; Jacobs, P.; Skuce, A. Quantifying the consensus on anthropogenic global warming in the scientific literature. **Environ. Res. Lett.**, 8, 2013. Disponível em: <doi:10.1088/1748-9326/8/2/024024>

COSTA, C. C. M. **Efeito da radiação solar e temperatura na emissão de metano associado à produção e perda de calor em bovinos**. 2013.56 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2013.

Crompton, L. A.; Mills, J. A. N.; Reynolds, C. K. Effect of feeding frequency and replacing calcium salts of palm oil with crushed rapeseed or coconut oil on methane emissions in lactating dairy cows. **Proceedings of the Nutrition Society**, 69, 2010.

Crutzen, P. J.; Aselmann, I.; W., Seiler. Methane Production by Domestic Animals, Wild Ruminants, Other Herbivorous Fauna, and Humans. **Tellus**. 38B, 271-284, 1986.

Da Silva, R. G.; Maia, A. S. C. **Principles of Animal Biometeorology**. Springer Dordrecht Heidelberg New York London, 261 p., 2013. Disponível em: <DOI 10.1007/978-94-007-5733-2>

Da Silva, R. G.; Maia, A. S. C.; Costa, L. L. M.; Queiroz, J. P. A. F. Latent heat loss of dairy cows in an equatorial semi-arid environment. **International Journal of Biometeorology**, v. 56, p. 927-932, 2012.

da Silva, R. G.; La Scala Jr. N.; Tonhati, H. Radiative properties of the skin and haircoat of cattle and other animals. **Transactions of the ASAE**, 46, 2003. Disponível em: <<https://doi.org/10.13031/2013.13567>>

Dangal, S. R. S.; Tian, H.; Zhang, B.; Pan, S.; Lu, C.; Yang, J. Methane emission from global livestock sector during 1890–2014: Magnitude, trends and spatiotemporal patterns. **Global Change Biology**, 23, 4147–4161, 2017.

Dario Caro, D.; Davis, S. J.; Bastianoni, S.; Caldeira, K. Global and regional trends in greenhouse gas emissions from livestock. **Climatic Change**, 126:203–216, 2014. Disponível em: <DOI 10.1007/s10584-014-1197-x>

de Melo Costa, C. C.; Maia, A. S. C.; Nascimento, S. T.; Nascimento, C. C. N.; Chiquitelli Neto, M.; Fonsêca, V. F. C. Thermal balance of Nellore cattle. **Int J Biometeorol**. 2017. Disponível em: <DOI 10.1007/s00484-017-1349-6>

Demeyer, D. I.; Van Nevel, C.J. Methanogenesis, an integrate part of carbohydrate fermentation and its control. In: Digestion and Metabolism the Ruminant. MacDonald, I.W. and Warner, A.C.I. (eds). **Proc. Int. Symp. of Ruminant Physiology**, Sydney, University of New England Publishing Unit, Australia, pp. 366-382, 1975.

DeShazer, J., Hahn, G., Xin, H. **Chapter 1: Basic Principles of the Thermal Environment and Livestock Energetics**. In:_____. (Ed.). Livestock Energetics and Thermal Environment Management, p. 1–22, 2009.

FAO. Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação. **Estatísticas FAO**, 2003. Disponível em: <www.fao.org>.

Fernandes, M. H. M. d. R.; Lima, A. R. C.; Almeida, A. K.; Borghi, T. H.; Teixeira, I. A. M. d. A.; de Resende, K. T. Fasting heat production of Saanen and Anglo Nubian goats measured using open-circuit facemask respirometry. **J Anim Physiol Anim Nutr**, 101: 15–21, 2017. Disponível em: <DOI:10.1111/jpn.12512>

Finch, V. A. Body temperature in beef cattle: its control and relevance to production in the tropics. **J. Animal. Sci.**, 62:531-542, 1986.

Finch, V. A. Comparison of non-evaporative heat transfer in different cattle breeds. **Australian Journal of Agricultural Research**, 36: 497-508, 1985.

Finch, V. A.; Bennett, I. L.; Holmes, C. R. Coat color in cattle: effect of thermal balance, behaviour and growth and relationship with coat type. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 102 p. 141-147, 1984.

Finch, V. A.; Bennett, I. L.; Holmes, C. R. Sweating response in cattle and its relation to rectal temperature, tolerance of sun and metabolic rate. **J. agric. Sci., Camb.** 99, 479-487, 1982.

Findlay, J. D. The Respiratory Activity Of Calves Subjected To Thermal Stress. **J. Physiol.** Vol. 36, p. 300-309, 1957.

Fonsêca, V C F; Saraiva, E. P.; Maia, A. S. C.; Nascimento, C. C. N.; Silva, J. A.; Pereira, W. E.; Pimenta Filho, E. C.; Almeida, M. E. V. Models to predict both sensible and latent heat transfer in the respiratory tract of Morada Nova sheep under semiarid tropical environment. **Int J Biometeorology**, 61: 777. 2017. Disponível em: <DOI: <https://doi.org/10.1007/s00484-016-1255-3>>

Fonsêca, V. F. C. Termorregulação de ovinos Morada Nova. 2016.112 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2016.

Gaughan, J. B.; Holt, S. M.; Hahn, G. L.; Mader, T. L.; Eigenberg, R. Respiration Rate – Is It a Good Measure of Heat Stress in Cattle? **Asian-Aus. J. Anim. Sci.**, 13 Supplement, 329-332, 2000.

Gebremedhin, K. G.; Cramer, C. O.; Porter, W. P. (1981) Predictions and measurements of heat production and food and water requirements of Holstein calves in different environments. **Trans ASAE** 3:715–720, 1981.

Gebremedhin, K. G.; Lee, C. N.; Hillman, P. E.; Collier, R. J. Physiological Responses of Dairy Cows during Extended Solar Exposure. **Transactions of the ASABE**, 53(1): 239-247. 2010. doi: 10.13031/2013.29499

Grainger, C.; Clarke, T.; McGinn, S. M.; Auldist, M. J.; Beauchemin, K. A.; HANNAH, M. C.; Waghorn, G. C.; Clark, H. AND Eckard, R. J. Methane Emissions from Dairy Cows Measured Using the Sulfur Hexafluoride (SF₆) Tracer and Chamber Techniques. **J. Dairy Sci.** 90:2755–2766, 2007.

Hales, J. R., Fawcett, A. A., Bennett, J. W., Needham, A. D. Thermal control of blood flow through capillaries and arteriovenous anastomoses in skin of sheep. **Pflugers Arch.**, 378, 55–63, 1978.

Hansen, P. J. Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. **Anim Reprod Sci.** 83:349–360, 2004.

Hulshof, R. B. A., A. Berndt, W. J. J. Gerrits, J. Dijkstra, S. M. van Zijderveld, J.R. Newbold, and H. B. Perdok. Dietary nitrate supplementation reduces methane emission in beef cattle fed sugarcane-based diets¹. **J. Anim. Sci.** 90:2317-2323, 2012. Disponível em: DOI:10.2527/jas.2011-4209

Incropera, F. P.; DeWitt, D. P.; Bergagman, T. L.; Lavine, A. S. Condução unidimensional em regime estacionário. In:_____. (Ed.). **Fundamentos de Transferência de Calor e Massa.** Rio de Janeiro: LTC, 2013, p. 63-102.

Incropera, F. P.; DeWitt, D. P.; Bergagman, T. L.; Lavine, A. S. Introdução à convecção. In:_____. (Ed.). **Fundamentos de Transferência de Calor e Massa.** Rio de Janeiro: LTC, 2013, p. 221- 243.

Incropera, F. P.; DeWitt, D. P.; Bergagman, T. L.; Lavine, A. S. Radiação e propriedades. In:_____. (Ed.). **Fundamentos de Transferência de Calor e Massa.** Rio de Janeiro: LTC, 2013, p. 460- 490.

Incropera, F. P.; DeWitt, D. P.; Bergagman, T. L.; Lavine, A. S. Transferência de massa por difusão. In:_____. (Ed.). **Fundamentos de Transferência de Calor e Massa.** Rio de Janeiro: LTC, 2013, p. 560- 580.

Intergovernmental panel on climate change – IPCC. **Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change** [Core Writing Team, R.K. Pachauri and L.A. Meyer (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, p. 151, 2014.

IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). Emissions from livestock and manure management. **IPCC Guidelines for National Greenhouse Inventories.** Vol. 4: Agriculture, Forestry and Other Land Use, 2006.

Johnson, K. A. Johnson and Johnson, D. E. Methane emissions from cattle. **J Anim Sci**, 73:2483-2492, 1995.

Khalil, M. A. K.; Rasmussen, R. A. Atmospheric methane: trends over the last 10,000 years. **Atmospheric Environment**, v. 21, n. 11, p. 2445-2452, Nov. 1987.

Kibler, H. H.; Brody, S. Effects of Temperature, 50° to 105° F and 50° to 9° F on heat Production and Cardiorespiratory Activities in Brahman, Jersey and Holstein Cows. **Research Bulletin 464**, University of Missouri College of Agriculture Agricultural Experiment Station, February, 1950.

Kibler, H. H.; Brody, S. Influence of diurnal temperature cycles on heat production and cardiorespiratory activities in Holstein and Jersey cows. **Research bulletin 601**, University of Missouri College of Agriculture Agricultural Experiment Station, February, 1956.

Lasseby, K. R. Livestock methane emission: measurement methods, inventory estimation, and global methane cycle. **Agr. Meteorol.**, v.142, p.120-132, 2007.

Lockyer, D. R. Methane emissions from grazing sheep and calves. **Agricultural Ecology & Environment**, v. 66, p.11-18, 1997.

Maia, A. S. C. **Transferência de calor latente e sensível em vacas Holandesas em ambiente tropical**. 2005. 94 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2005c.

Maia, A. S. C., Domingos, H. G. T., Araújo, F. Q. A., Chiquitelli-Neto, M., Silva, R. G. **Thermoregulation in goats managed in semiarid region: a Study of production, gain and loss of heat**. In: Proceedings of the 19th International Congress of Biometeorology, Auckland, NZ, 2011.

Maia, A. S. C.; Nascimento, S. T.; Mascimento, C. C. N.; Gebremedhin, K. G. Thermal equilibrium of goats. **Journal of Thermal Biology**. 58, 43–49, 2016.

Maia, A. S. C.; Nascimento, S. T.; Mascimento, C. C. N.; Gebremedhin, K. G. Thermal equilibrium of goats. **Journal of Thermal Biology**. 58, 43–49, 2016.

Maia, A.S.C.; Nascimento, S.T.; Carvalho, M.D.; Fonsêca, V.F.C.; Pinheiro, M.G. **Enteric methane emission of Jersey dairy cows: an investigation on circadian pattern**. In Proceedings of the 21st International Congress of Biometeorology, 3-6 September 2017, Durham, United Kingdom, pp. 100–104.

Maia, A. S. C.; Silva, R. G.; Loureiro, C. M. B. Respiratory heat loss of Holstein cows in a tropical environment. **International Journal of Biometeorology**, v,49, n,5, p,332-336, 2005a.

Maia, A. S. C.; Silva, R. G.; Loureiro, C. M. B. Sensible and Latent Heat Loss from the Body Surface of Holstein Cows in a Tropical Environment, **International Journal of Biometeorology**, v. 50, n 1, p. 17-22, 2005b.

McAllister, T. A.; Okine, E. K.; Mathison, G. W.; and Cheng, K. J. Dietary environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. **Can. J. Anim. Sci.** ft: n1-243, 1996.

McDowell, R. E.; LEE, D. H. K.; FOHRMAN, M. H; and ANDERSON, R. S. Respiratory activity as an index of heat tolerance in Jersey and Sindhi x Jersey (F1) crossbred cows. **J ANIM SCI**, 12, 573-581, 1953.

McGinn, S. M. Beauchemin, K. A. Performance of a Dispersion Model to Estimate Methane Loss from Cattle in Pens. **J. Environ. Qual**, 38:1796–1802, 2009.

McLean, J. A. On the calculation of heat production from open-circuit calorimetric measurements. **Br. J. Nut.**, 27, 597-600, 1972.

McLean, J. A. The partition of insensible losses of body weight in heat from cattle under various climatic conditions. **Journal of Physiology**, v. 167, p. 427-447, 1963.

McManus, C.; Barcellos, J. O. J.; Formenton, B. K.; Hermuche, P. M.; Carvalho, O. Ad. Jr.; Guimarães, R. et al. Dynamics of Cattle Production in Brazil. **PLoS ONE**, 11(1): e0147138, 2016. Disponível em: <doi:10.1371/journal.pone.0147138>

McManus, C.; Paludo, G. R.; Louvandini, H.; Garcia, J. A. S.; Egito, A. A.; Mariante, A. S. Heat tolerance in naturalised cattle in Brazil: physical factors. **Arch. Zootec.**, 54: 453-458, 2005.

McManus, C.; Prescott, E.; Paludo, G. R.; Bianchini, E.; Louvandini, H.; Mariante, A. S. Heat tolerance in naturalized Brazilian cattle breeds. **Livestock Science**, 120, 256–264, 2009. Disponível em: <doi:10.1016/j.livsci.2008.07.014>

Milan, H. F. M.; Maia, A. S. C.; Gebremedhin, K. G. Technical note: Device for measuring respiration rate of cattle under field conditions. **J. Anim. Sci.**, 94:5434-5438, 2016. Disponível em: <doi:10.2527/jas.2016-0904>

Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação MCTI - Brazil 2016. Secretariat of Policies and Programs of Research and Development. General Coordination of Global Climate Change. **Third National Communication of Brazil to the United Nations Framework Convention on Climate Change – Volume III/** Ministry of Science, Technology and Innovation. Brasília: Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação.

Mitchell, J. F. B. The “Greenhouse” effect and climate change. **Reviews of Geophysics**, 27, 1, p. 115-139, 1989. Disponível em: <<https://doi.org/10.1029/RG027i001p00115>>

Ngwabie, N. M.; Jeppsson, K-H.; Gustafsson, G.; Nimmermark, S. Effects of animal activity and air temperature on methane and ammonia emissions from a naturally ventilated building for dairy cows. **Atmospheric Environment**, 45, 6760–6768, 2011.

ONU. Organização das Nações Unidas. **World Population Prospects**, 2017. Disponível em: <<https://esa.un.org/unpd/wpp/Download/Standard/Population/>>

Oss, D. B.; Marcondes, M. I.; Machado, F. S.; Pereira, L. G. R.; Tomich, T. R.; Ribeiro, G. O.; Chizzotti, M. L.; Ferreira, A. L.; Campos, M. M.; Maurício, R. M.; Chaves, A. V.; McAllister, T. A. An evaluation of the face mask system based on short-term measurements compared with the sulfur hexafluoride (SF₆) tracer, and respiration chamber techniques for measuring CH₄ emissions. **Animal Feed Science and Technology**, 216, 49–57, 2016.

Pinares-Patiño, C. S.; Ulyatt, M. J.; Lassey, K. R.; Barry, T. N.; Holmes, C. W..Rumen function and digestion parameters associated with differences between sheep in methane emissions when fed chaffed lucerne hay. **Journal of Agricultural Science**, 140, 205–214, 2003. Disponível em: <DOI: 10.1017/S0021859603003046>

Pinares-Patiño, C. S.; Holmes, C. W.; Lassey, K. R.; Ulyatt, M. J. Measurement of methane emission from sheep by the sulphur hexafluoride tracer technique and by the calorimetric chamber: failure and success. **Animal**, 2 (1), 141–148, 2008.

Primavesi, O.; Frighetto, R. T. S.; Pedreira, M. S.; Lima, M. A.; Berchielli, T. T.; Barbosa, P. F. Metano entérico de bovinos leiteiros em condições tropicais brasileiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 3, p. 277-283, 2004.

Ramírez-Restrepo, C. A.; Tan, C.; O’Neill, C. J.; López-Villalobos, N.; Padmanabha, J.; Wang, J.; McSweeney, C. S. Methane production, fermentation characteristics, and microbial profiles in the rumen of tropical cattle fed tea seed saponin supplementation. **Animal Feed Science and Technology**, 2016, 216, 58–67.

Raynaud, D.; Jouzel, J.; Barnola, J.; Chapellaz, J.; Delmas, R.; Lorius, C. The ice record of greenhouse gases. **Science**. 259, 926-934, 1993.

Resende, K. T.; Teixeira, I. A. M. A.; Fernandes, M. H. M. R. Metabolismo de energia. In:____. (Ed.). **Nutrição de ruminantes** / Berchielli, T. T.; Pires, A. V.; Oliveira, S. G., 2ª ed. Jaboticabal: Funep, 2011. P. 323-413.

San Vito, E.; Lage, J. F.; Messana, J. D.; Dallantonia, E. E.; Frighetto, R. T. S.; Reis, R. A.; Neto, A. J.; Berchielli, T. T. Performance and methane emissions of grazing Nellore bulls supplemented with crude glycerin. **J. Anim. Sci.** 94:4728–4737, 2016. Disponível em: <doi:10.2527/jas2016-0530>

Schmidt-Nielsen, K. Metabolismo energético. In:_____. (Ed.). **Fisiologia animal: adaptação e ambiente**, 5th ed. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 2013. P. 169-212.

Schneider, S. H. The Greenhouse Effect: Science and Policy. **Science**, vol. 243, Issue 4892, pp. 771-781, 1989. Disponível em: <DOI: 10.1126/science.243.4892.771>

Silva, R. G. Ambiente e conforto térmico. In:_____. (Ed.). **Introdução à Bioclimatologia Animal**. São Paulo: Nobel/FAPESP, 2000, p. 76-117.

Silva, R. G. Atmosfera. In:_____. (Ed.). **Biofísica ambiental. Os animais e seu ambiente**. Jaboticabal: Funep, 2008, p. 15-49.

Sistema de Estimativa de Emissão de Gases do Efeito Estufa – SEEG. **Emissões do Setor de Agropecuária – Período 1970 – 2015**. Coordenação Técnica, IMAFLORA - Instituto de manejo e certificação florestal e agrícola. Documento de análise, 2017. Disponível em <http://seeg.eco.br/wp-content/uploads/2017/08/Relatorios-Seeg-2017-Agro_final.pdf>

Stevens, D. G. A model of respiratory vapor loss in Holstein dairy cattle. **Transactions of the ASAE**, v.24 p.151-158, 1981.

THOMPSON, R. D. **Atmospheric precesses and systems**. London: Routledge, 1998.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA), 2016. **Brazil, Livestock and Products Annual**, Annual Livestock 2016.

Valadares Filho, S. C.; Pina, D. S. Fermentação Ruminal. In:_____. (Ed.). **Nutrição de ruminantes** / Berchielli, T. T.; Pires, A. V.; Oliveira, S. G., 2ª ed. Jaboticabal: Funep, p.161-189, 2011.

XU, F.; LU, T. **Introduction to skin biothermomechanics and thermal pain**. Beijing. Springer, 2011, 414p.

CAPÍTULO 2 – Thermal equilibrium of Nellore cattle in tropical conditions: an investigation of circadian pattern

(According to Journal of Thermal Biology)

Cíntia Carol de Melo Costa^{1*}, Alex Sandro Campos Maia¹, Tami M. Brown-Brandl², Marcos Chiquitelli Neto³; Vinicius de França Carvalho Fonsêca¹

¹ Innovation group of Animal Biometeorology (INO BIO); São Paulo State University (Unesp), School of Agricultural and Veterinarian Sciences, Access road Prof. Paulo Donato Castellane w/n, zip code: 14884-900, Jaboticabal-SP, Brazil..

² USDA-ARS U.S. Meat Animal Research Center, P.O. Box 166, Clay Center, NE 68933, USA

³ Nucleo de Manejo Racional (MANERA); São Paulo State University (Unesp), School of Natural Sciences and Engineering, Ilha Solteira-SP, Brazil.

*Corresponding author: Email adress: cintiacarolmc@yahoo.com.br Phone +55(16) 3209 7530

Abstract

The aim of this work was to evaluate the diurnal patterns of physiological responses and the thermal regulation of adult Nellore bulls. Six 30-mo-old Nellore bulls (669 ± 65 kg BW; SD) were randomly assigned to four 6-hour periods in a Latin Square design such that measurements of each animal cover a 24-hour cycle. Meteorological variables (air temperature, relative humidity, local solar irradiance, ultraviolet radiation, wind speed and black globe temperature) were recorded at regular one-minute intervals with an automated weather station. Respiratory rate, ventilation rate, oxygen, carbon dioxide, methane, saturation pressure, air temperature of the exhaled air, saturation pressure in the air leaving the ventilated capsule placed over the animal surface, hair coat, skin surface and rectal

temperature were assessed. The thermal equilibrium was determined according to the principles of the first law of thermodynamics using biophysical equations. Animals were evaluated in an area which was protected from solar radiation, rain, and had a range of ambient air temperature between 20.57 ± 0.07 and 30.86 ± 0.07 °C. Percentage of O₂ and CO₂ in the exhaled air changed moderately ($P < 0.0001$) throughout the 24 hours, which resulted in an average metabolic heat production of 151.45 ± 13.60 W m⁻². At the largest thermal gradient ($T_S - T_A$; from 24:00 to 07:00 h), heat transferred by long wave radiation and surface convection corresponded to near 60 % of the metabolism. At 11:00 h the ambient temperature approached 29 °C and latent heat became the main way to cool the body. From this time until 17:00 h, cutaneous evaporation represented approximately 53 % of total heat loss. In conclusion, results of the present study seem to be a good indicator of lower energy expenditure for body thermal regulation, high heat tolerance and adaptation of Nellore cattle to the tropical environment.

Highlights

- 1 – Circadian period of thermal equilibrium of Nellore cattle was investigated.
- 2 – Average of metabolic heat production of Nellore bulls was 151.45 ± 13.60 W m⁻².
- 3 – When T_A is above 29°C, q''_{es} is the main way to keep the thermal balance of Nellore.
- 4 – q''_{er} is a way of minor importance for body thermal regulation of Nellore bulls.

Keywords: adaptation, latent heat loss, thermoregulation, Zebu cattle

1. Introduction

Zebu cattle, brought from India, started being introduced into Brazil at the end of the 19th century; these animals survived, reproduced, and adapted to the new environment (Mariante and Egito, 2002; Chan et al., 2010), developing unique adaptive characteristics

to the natural environment and specific production systems. Brazil has the largest commercial Zebu population of the world with about 211 million head, represented by pure and crossbred genotypes (USDA, 2016), of which 85 % of the total number of animals registered is Nellore (McManus et al., 2009; McManus et al., 2016). Currently, Brazil is the second-largest commercial beef producer, presenting a significant role in the animal protein supplier to the world population (McAlpine et al., 2009; Latawiec et al., 2014; McManus et al., 2016).

Most of the Brazilian lands lies in the tropical region, which is characterized by high levels of solar radiation and circadian thermal amplitude (da Silva et al., 2010; daSilva and Maia, 2013), posing challenges to the animal thermoregulation. Adaptation can be estimated by the ability of the population to adjust to environmental conditions, especially climatic events (McManus et al., 2009). Thus, the question that arises is what the phenotypic aspects of Nellore cattle can explain their adaptation to tropical climate? Certainly, these involve morphological, physiological, and behavioral traits (Renaudeau et al., 2012). The most important adaptation of the Nellore cattle was the cutaneous surface with white, short, and dense hair coat, covered with highly pigmented skin described by da Silva et al. (2003). In addition, larger body length, sieve height, thoracic perimeter, and prominent hump were also features attributed to the best heat tolerance of Nellore animals (McManus et al., 2005; Biachini et al., 2006).

Further investigations highlight that larger surface area/volume relationship (Hansen, 2004), lower metabolism, tissue resistance, and sweating activity (Scheleger and Turner, 1965; O'Kelly and Reich, 1981; Finch, 1985; Camerero et al., 2016; de Melo Costa et al., 2017) explain much of the thermo tolerance of Zebu cattle breeds raised in warm climates. These traits are closely associated with the capacity of animal to gain or lose thermal energy to the environment (Chan et al., 2010); therefore, to better understand adaptation of a given population, there is need to study heat and mass transfer processes between animals and their environment. De Melo Costa et al. (2017) demonstrated that physiological responses of Nellore cattle in a diurnal period (from 08:00 until 18:00) as metabolism, respiratory rate and sweating patterns were stable over the range of air temperature from 24 °C to 35 °C.

Nevertheless, how do the thermal energy exchanges of Nelore bulls change throughout a circadian period? Thus, aiming to answer this question, the present work was designed to study the circadian patterns of physiological responses and thermal regulation of adult Nelore bulls.

2. Material and Methods

2.1. Animal specifics and experimental design

This experiment was approved by the Ethics, Bioethics, and Animal Welfare Committee of São Paulo State University (process number: 8410/15), and was performed in the Animal Biometeorology Laboratory at the São Paulo State University, Jaboticabal-São Paulo, Brazil (21°08' S, 48°11' W, 583 m altitude) over the summer of 2016 (November to December). Complete 24-hour assessments of physiological responses were made on a total of six 30-mo-old male Nelore cattle (669 ± 65 kg BW; SD). Animals were randomly assigned to four 6-hour periods (06:00 – 12:00h, 12:00 – 18:00h, 18:00 – 24:00h, and 24:00 – 06:00h) in a Latin Square design such that measurements of each animal cover a 24-hour cycle. Measurements were conducted over 12 days (see the supplementary file - a).

2.2. Pens, data recording structures and handling

Between measurements, cattle were placed in individual pens (15 m²/pen) protected from direct solar radiation and rain, containing a single feed bunk (1 m of length) and water fresh tank (capacity of 50 L). Prior to data collection, each animal was quietly walked through the holding pen to a squeeze chute placed in a room (peak height 8.0 m) protected from direct solar radiation and rain. The room was completely open in the front; thus, outdoor and indoor environment had similar conditions of air temperature, humidity and wind-speed. Total mixed ration (TMR) was offered at 07:00 and 17:00, consisting of forage (corn silage) and concentrate (corn and soybean), at a ratio of 70:30. Dry matter intake was regulated to meet the maintenance requirements, being approximately 1.5% of body weight, and fresh water was providing *ad libitum*.

2.3. Environmental measurements

An automated weather station (Model 110 - Nova Lynx., Auburn, CA, USA) was placed in the outdoor environment near to the squeeze chute (± 2.0 m) and collected the following parameters on a 1-minute basis: air temperature (T_A ; accuracy: ± 0.1 °C), relative humidity (H_R ; accuracy: ± 3 %), local solar irradiance (R_S , $W\ m^{-2}$; model CMP – 22, Kipp and Zonen, Delft, Netherlands; spectral range (λ): 0.300 to 3.6 μm) and ultraviolet radiation (U_V , $W\ m^{-2}$; spectral range (λ) = 0.280 to 0.400 μm) on a plane surface, wind speed (A_S ; accuracy: ± 0.44 $m\ s^{-1}$) and direction (DW ; range: 0 to 360°; accuracy: $\pm 3\%$), and black globe temperature (T_G , °C) were recorded at regular one-minute intervals with. Temperature and humidity sensors were shielded from the effects of sunlight. The T_G was monitored indoor (T_{Gin}) and outdoor (T_{Gout}) environment using a 15-cm copper sphere placed one meter above the ground, that was painted flat black with a stainless thermistor probe (model 110 – WS - 16TH – A; accuracy: 0.1 °C). The mean radiant temperature (T_{RM} , K) was obtained according to da Silva et al. (2010) at the indoor ($T_{RM(in)}$) and outdoor ($T_{RM(out)}$) environment.

2.3. Physiological parameters

Prior to the study, animals were trained for approximately four months to decrease fear reactions to humans (see the supplementary file – b), chute restraint and use of the face mask employing the principles of habituation and operant conditioning, which procedures and steps were similar to those applied by Camerero et al. (2016) with Guzerat cattle. Measurements were obtained using a system for thermal equilibrium evaluation coupled to the face mask adjusted to the animals' muzzles, developed by the Innovation Group of Animal Biometeorology, as described by Maia et al. (2016), Camerero et al. (2016) and de Melo Costa et al. (2017). Physiological responses assessed included respiratory rate (R_R ; breaths min^{-1}), ventilation (V_E , $L\ s^{-1}$), tidal volume (V_T , $L\ breath^{-1}$), oxygen (O_2 , %), carbon dioxide (CO_2 , %), methane (CH_4 , %), saturation pressure [$P_S\{T_{EXP}\}$, kPa] in the exhaled air, and saturation pressure [$P_S\{T_{EP}\}$] in the air leaving of the ventilated capsule placed over the animal surface. Air temperature of the exhaled air (T_{EXP} , °C), hair coat (T_S , °C), skin surface (T_{EP} , °C) and rectal temperature (T_R , °C) were also recorded; details of

sensors resolution, accuracy and operation were described in earlier reports (Camerro et al., 2016; de Melo Costa et al., 2017; see the supplementary file – a).

2.4. Thermal equilibrium determination

The metabolic heat production (q''_{met}), heat exchanges by long-wave radiation (q''_{rl}), surface convection (q''_{conv}), and the heat lost by cutaneous (q''_{es}) and respiratory evaporation (q''_{er}) were determined using biophysical equations as described in Silva and Maia (2013) and earlier reports (Maia et al., 2016; de Melo Costa et al., 2017; see the supplementary file – a). All terms were given in energy per unit of surface area (W m^{-2}), being surface area determined using 3-dimensional modeling as described by Simão et al. (2017). The animals were scanned one week after physiological data recording. Thermal energy absorbed by short-wave radiation was not considered because animals were protected from direct solar radiation; furthermore, diffuse and reflected radiation was assumed be negligible.

2.5. Statistical analyses

Data were analyzed by the least-square method (Harvey, 1960) using the Statistical Analyses System (SAS Institute, 1995). The mathematical model included the fixed effect of hour within the Latin square design, and the random effects of the sample day and animal as expressed:

$$Y_{ijklm} = \mu + Q_i + R_j + (QR)_{ij} + D_k(QR)_{ij} + A_L + H_m + e_{ijklm}$$

which Y_{ijklm} is a m^{th} observation of the variables; Q is the fixed effect of i^{th} period ($i=1$ and 2); R is the fixed effect of j^{th} replication ($j=1, 2, 3, 4$); interaction between i^{th} period and j^{th} replication; D is the fixed effect of the k^{th} sample day ($1, 2, 3, \dots, 12$) within i^{th} period and j^{th} replication; A is the random effect of the L^{th} animal ($j = 1, \dots, 6$); H is the fixed effect of the m^{th} hour; e_{ijklm} is the residual term, including the random error, which was assumed to be independent and distributed identically; μ is the overall mean. Pearson correlations were

also tested between all variables studied.

3. Results

Air temperature (T_A) presented amplitude near to 10 °C, ranging from 20.57 ± 0.07 to 30.86 ± 0.07 at 05:00 h and 13:00 h, respectively (Figure 1). At these circumstances, maximum and minimum relative humidity (H_R) were observed between 89.85 ± 0.33 and 53.14 ± 0.33 % , being negatively correlated with T_A ($r = - 0.99$; $P < 0.0001$). Wind speed (A_S) varied from 0.3 to 1.3 m s⁻¹, which highest values were combined with the hottest times of the day; from 24:00 h to 06:00 h, wind displacement did not reach levels greater than 0.5 m s⁻¹. Short wave solar radiation (0.3 to 3.6 μm) had mean of 779.84 ± 10.40 W m⁻² at 12:00 h, with 37.62 ± 0.39 W m⁻² represented by the ultraviolet radiation. Despite the high heat load, mean radiant temperature ($T_{RM(in)}$) inside the facility was almost identical to air temperature, while $T_{RM(out)}$ showed a mean of 32.99 ± 15.25 °C with maximum of 58.89 ± 15.25 °C at 12:00 h.

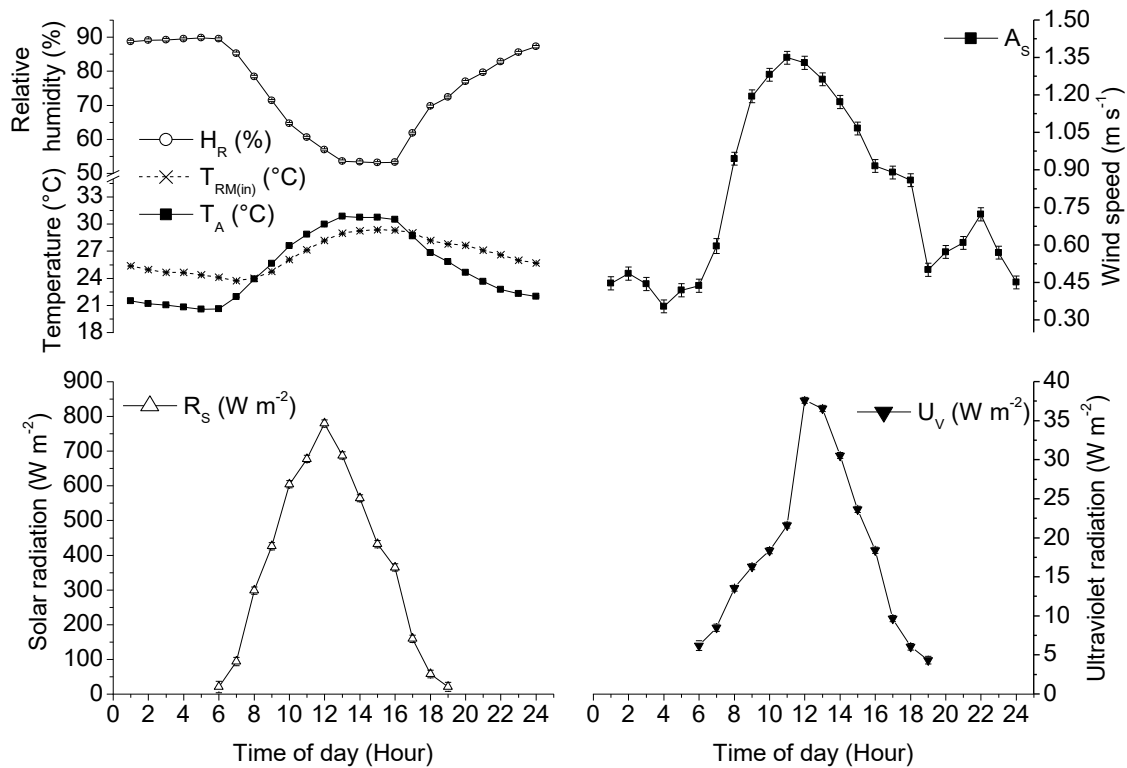


Figure 1: Least square mean (\pm SEM) of air temperature (T_A), relative humidity (H_R), mean radiant temperature ($T_{RM(in)}$), wind speed (A_S), solar radiation (R_S) and ultraviolet radiation (U_V).

The rectal temperature (T_R), hair coat (T_S) and skin (T_{EP}) temperature of Nellore cattle had a significant diurnal pattern ($P < 0.0001$; Figure 2); the T_R varied from $39.01 \pm 0.01^{\circ}C$ to $39.5 \pm 0.01^{\circ}C$ at 11:00 h and 20:00 h, presenting a non-significant correlation with air temperature ($r = -0.019$). Conversely, skin (T_{EP}) and hair coat (T_S) surface temperature were highly correlated with T_A ($r = 0.79$ and $r = 0.80$, respectively; $P < 0.0001$); T_{EP} and T_S interchanged over the 24 hours, demonstrating differences between them. These variables ranged between 32.08 to $36.11 \pm 1.30^{\circ}C$ and 32.10 to $36.19 \pm 1.39^{\circ}C$, respectively. In addition, while air temperature amplitude was $10^{\circ}C$, hair coat and skin temperature presented close to $3.5^{\circ}C$ of fluctuation over the circadian period. Largest ($11.5^{\circ}C$) and lower

(4 °C) temperature gradient of T_S and T_{EP} with T_A were verified at 06:00 h and 14:00 h, respectively.

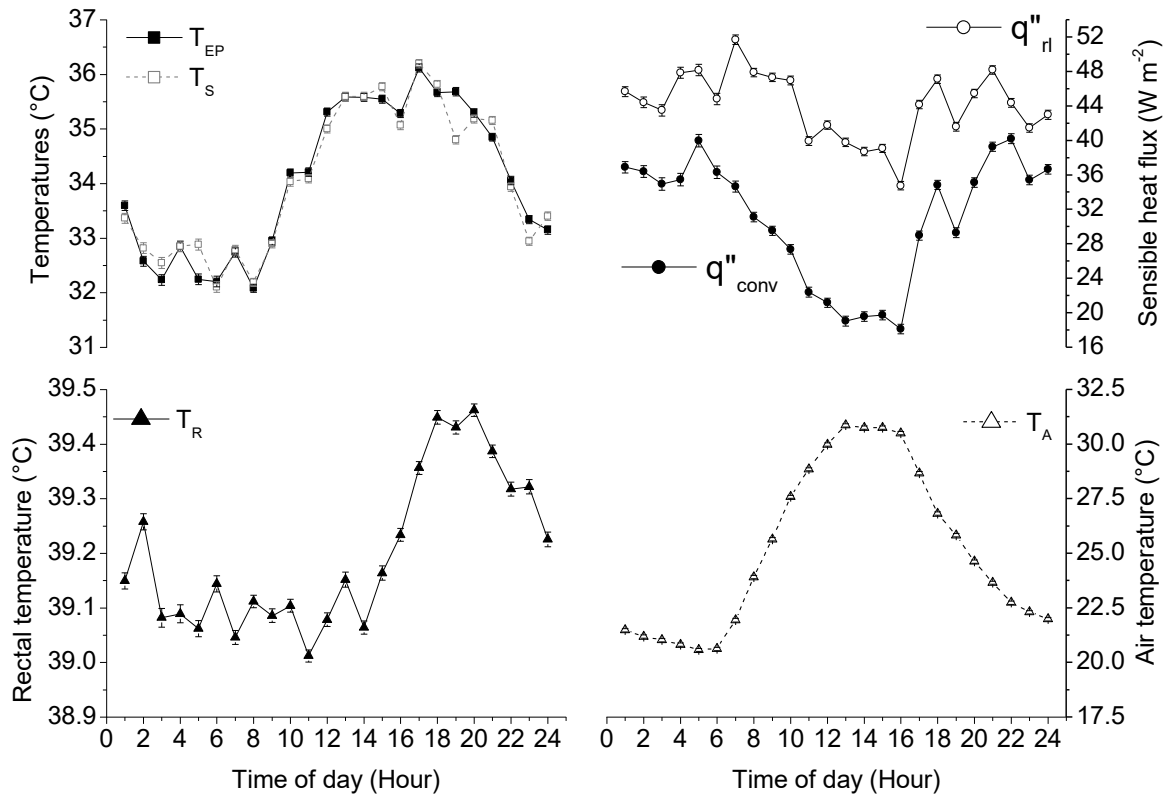


Figure 2: Least square means (\pm SEM) of rectal temperature (T_R), air temperature (T_A), coat surface (T_S), skin (T_{EP}) temperature, and sensible heat flow ($q''_{rl} + q''_{conv}$) of Nellore cattle.

Sensible heat production ($q''_{conv} + q''_{rl}$) ranged from 52.89 ± 0.88 to 86.14 ± 1.19 W m⁻² (Figure 2). The heat exchanges by long wave radiation are more stable than surface convection throughout the circadian period (Figure 2). Surface convection was highly significant at times of high thermal gradient ($T_S - T_A$) and minor levels of wind displacement (< 0.5 m s⁻¹). Contrary, at circumstances of largest wind speed coupled with lower thermal gradient ($T_S - T_A$), q''_{conv} had little significance. At the largest thermal gradient ($T_S - T_A$; from 24:00 to 07:00h), heat transferred by long wave radiation and surface convection accounted for approximately 60 % of the total metabolic load. As T_A increased, the gradient

declined and so did the proportion of the sensible heat dissipated. Under minimum thermal gradient ($T_S - T_A$; from 11:00 to 17:00h) sensible heat losses accounted nearly 30 % of the q''_{met} . At this time, a major portion of the metabolic heat was dissipated by cutaneous evaporation and, in a minor percentage, from the respiratory tract (Figure 3).

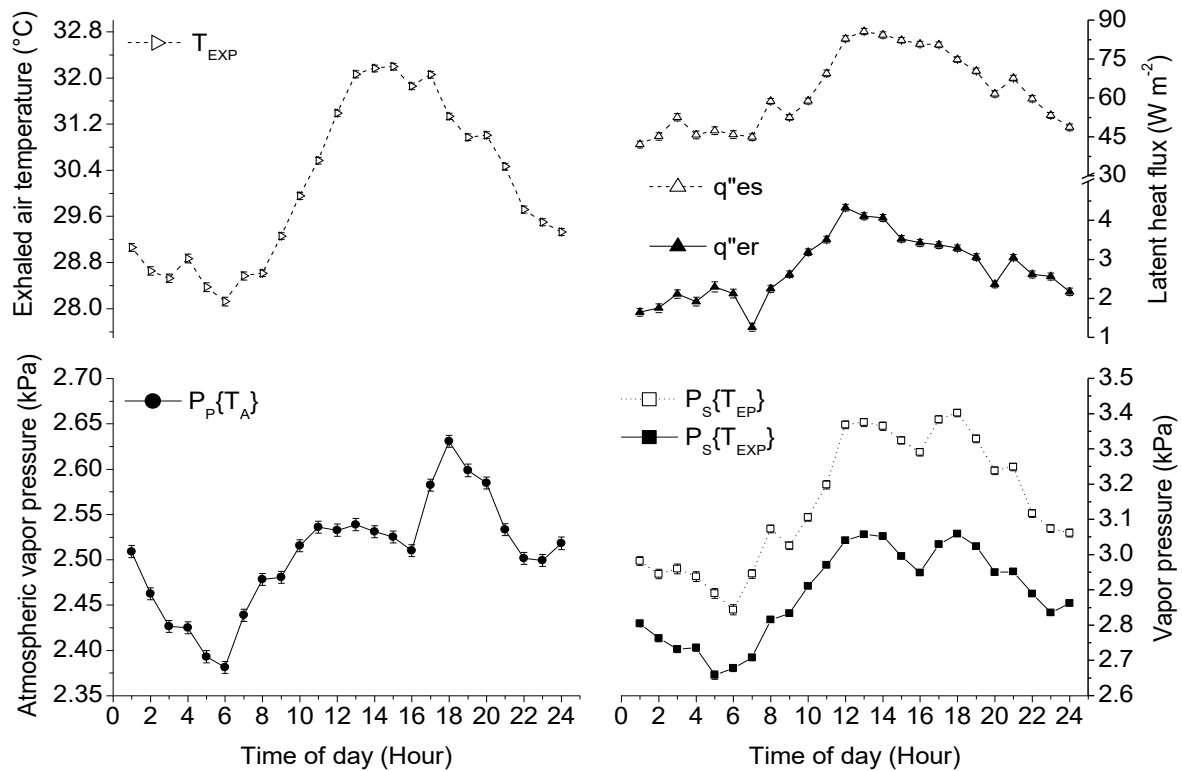


Figure 3: Least square means (\pm SEM) of exhaled air temperature ($^{\circ}\text{C}$), water vapor pressure at air temperature [$P_P\{T_A\}$], exhaled air [$P_S\{T_{EXP}\}$], skin temperature [$P_S\{T_{EP}\}$], and heat loss by respiratory (q''_{er}) and cutaneous evaporation (q''_{es}).

The expired air temperature (T_{EXP}) ranged from 28.12 ± 1.39 to 32.19 ± 1.39 $^{\circ}\text{C}$, presenting positive relationship with T_A ($r = 0.90$; $P = 0.0001$). Temperature gradient ($T_{EXP} - T_A$) was close to 7.5 $^{\circ}\text{C}$ at 06:00 h and 1.4 $^{\circ}\text{C}$ at 14:00 h. The $P_S\{T_{EXP}\}$ and $P_S\{T_{EP}\}$ were positively correlated with T_A ($r > 0.85$; $P = 0.0001$) and partial vapor pressure ($r > 0.85$; $P = 0.0001$). Maximum vapor pressure gradient ($[P_S\{T_{EXP}\}] - [P_P\{T_A\}]$) was approximately 0.5 kPa at 18:00 h (Figure 3). On the other hand, the largest vapor pressure gradient ($P_S\{T_{EP}\}$)

– $P_P\{T_A\}$) nearly reached to 1 kPa at 14:00 h. Cutaneous surface evaporation ranged from 42.12 ± 1.32 to $85.67 \pm 1.17 \text{ W m}^{-2}$, following a positive relationship with T_A ($r = 0.92$; $P < 0.0001$), hair coat ($r = 0.87$; $P < 0.0001$), and skin temperature ($r = 0.87$; $P < 0.0001$), but did not with the rectal temperature ($r = 0.19$; $P = 0.3673$). At 11:00 h and ambient temperature close to $29 \text{ }^\circ\text{C}$, latent heat became the main mechanism of body cooling; from this time until 17:00 h, q''_{es} represented approximately 53 % of total heat loss. Even at times of lower air temperatures, evaporation from the skin surface corresponded 28 % of the metabolic heat production.

Latent heat transferred by the respiratory system was the venue of minor significance to the thermal equilibrium of Nellore cattle, ranging from 1.26 ± 0.82 to $4.33 \pm 0.82 \text{ W m}^{-2}$ (Figure 3). Maximum latent heat flowed by the respiratory system accounted only 1.8 % of the metabolism, which should be attributed to the small vapor pressure ($P_S\{T_{EXP}\} - P_P\{T_A\}$) and thermal gradient ($T_{EXP} - T_A$), as well as, moderate change in the respiratory rate and ventilation over the 24 hours (Figure 4). The average of R_R and V_E was 19 ± 1.0 breaths min^{-1} and $2.17 \pm 0.23 \text{ L s}^{-1}$, respectively. Despite positive correlation with T_A ($r = 0.84$; $P < 0.0001$), respiratory rate minimally changed over the range of meteorological conditions examined; largest and minimal R_R was 21 and 16 breaths min^{-1} , observed at 14:00 h and 3:00 h, respectively (Figure 4). As expected, respiratory rate and ventilation were positively and linearly correlated ($r = 0.69$; $P = 0.0002$).

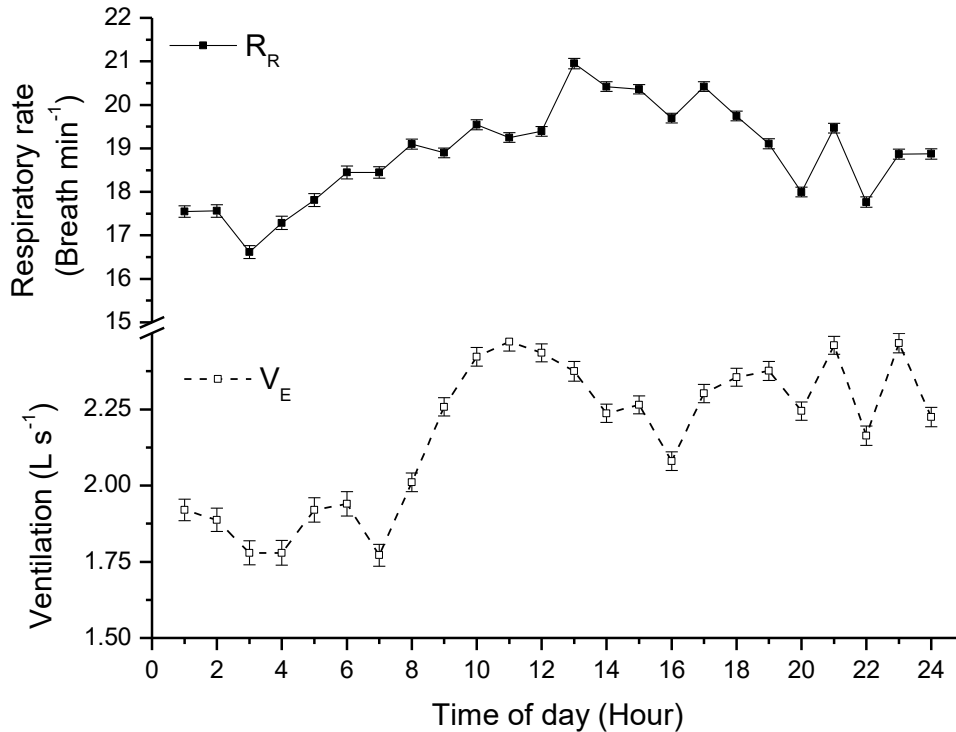


Figure 4: Least square means (\pm SEM) of respiratory rate (R_R) and ventilation (V_E) of Nellore cattle.

Percentage of O_2 and CO_2 in the exhaled air changed ($P < 0.0001$) moderately throughout the 24 hours, resulting in an average metabolic heat production of 151.45 ± 13.60 $W m^{-2}$ (Figure 5). Over the circadian cycle, the pattern of q''_{met} was closely related to the feeding time, being suggested that meteorological conditions imposed did not influence level of metabolism, as confirmed by the non-significant correlations of the q''_{met} with meteorological variables. The largest (175.59 ± 2.30 $W m^{-2}$) level of q''_{met} occurred at 23:00 h; thenceforth, it was gradually decreasing, rising again ($P < 0.0001$) one hour after feeding time. At 10:00 h, it reached the highest value during morning time (165.53 ± 2.20 $W m^{-2}$), being reduced until the 16:00 h, when it started to increase again.

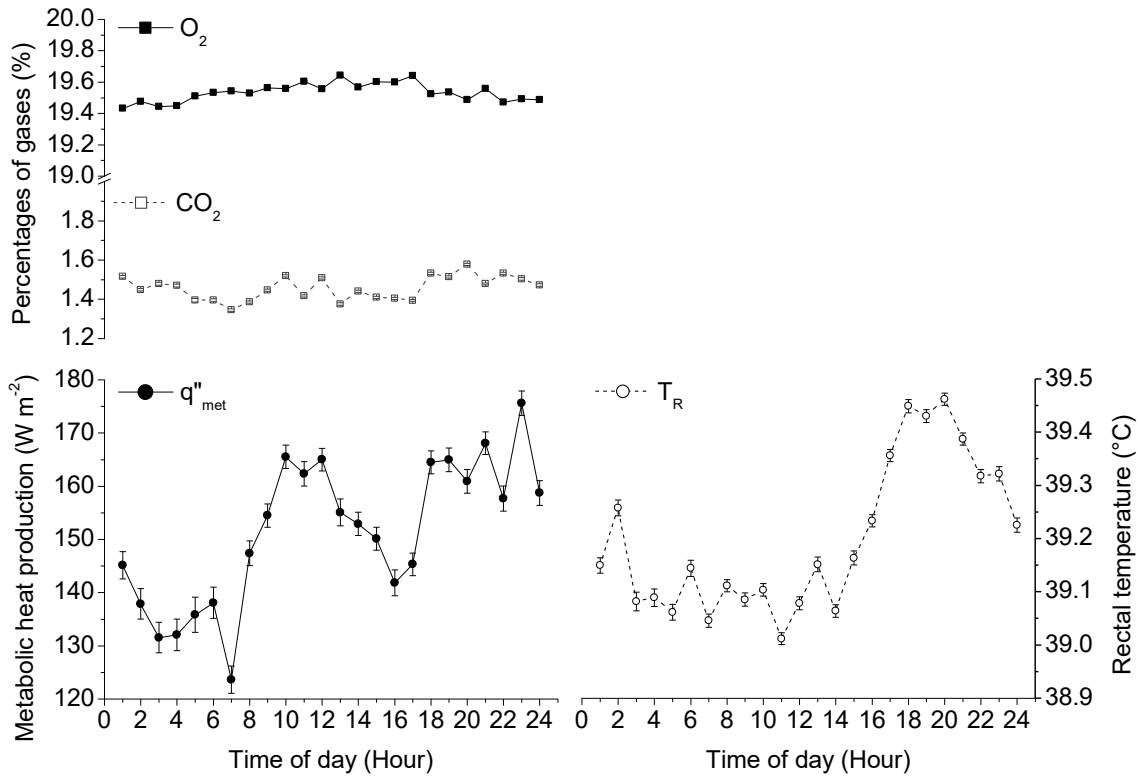


Figure 5: Least square means (\pm SEM) of percentages of oxygen (O_2) and carbon dioxide (CO_2) in the exhaled air, rectal temperature (T_R) and metabolic heat production (q''_{met}) of Nellore cattle.

4. Discussion

The present investigation is the first to describe the thermal equilibrium of the Nellore bulls over the nyctemeral cycle. Animals being measured were protected from solar radiation, rain, and range of ambient air temperature between 21.5 ± 0.06 and 30.86 ± 0.07 , relative humidity from 90.25 ± 0.08 to 53.59 ± 0.04 %, and wind speed between 0.5 and $1.3 m s^{-1}$ on average. Findings showed that thermoregulatory parameters including rectal, hair coat, skin surface temperature, metabolic heat production and respiratory rate had moderate change over the 24-hour period. For instance, even at the lowest thermal gradient ($T_S - T_A$), sensible heat ways presented significant contribution to maintain thermal

equilibrium of the animals. However, under this condition, cutaneous evaporation was the main mechanism of the body thermal regulation. The metabolism remained stable regardless of the variation in the meteorological variables; changes observed were mainly associated with the feeding time.

Periods of imbalance between the thermogenesis and heat loss to the environment result in positive or negative changes in body heat content (Findlay, 1957; McLean et al., 1984). Surveys have directed that the constancy of the core body temperature is an indication of how well an animal balances heat production and losses, which high alterations could be associated to the failure of the animal thermoregulatory responses (Carvalho et al., 1995; Brown-Brandl et al., 2003). Rectal temperature (T_R) of the Nellore cattle varied close to 0.5 °C throughout the circadian cycle. Investigating heat tolerance of the exotic and naturalized cattle breeds (Curraleiro, Crioulo Lageano, Pantaneiro, Junqueira, Mocho Nacional, Nellore, Holstein) under range of air temperature from 15 to 30 °C, McManus et al. (2009) addressed that the breeds derived from *Bos taurus* have a lower capacity to prevent increase in rectal temperature compared with those derived from *Bos indicus*.

It was important to note in the present study that maximal T_R did not combine with high levels of air temperature; indeed, this parameter presented no correlation with T_A . Previous reports with Nellore and Guzerat cattle described identical pattern of variation (Camerro et al., 2016; de Melo Costa et al., 2017) under similar meteorological conditions. Daily alterations of the body temperature of endothermic animals are also influenced by changes in their physical activity and metabolic level (Stanier et al., 1984; daSilva and Minomo, 1995). Despite weak amplitude, we observed that approximately three hours after the afternoon feeding station, rectal temperature had its peak, following the increase of the metabolism (q''_{met}). However, after morning feeding time, q''_{met} increased at the same way while rectal temperature had lower value.

Over the 24 hour period a circadian rhythm is observed; the metabolic heat production had apparent increases one hour after feeding, possibly reflecting the diet calorogenic effect, which has been well discussed in the literature (Hill et al., 2012). Our findings showed that meteorological conditions imposed did not influence the level of

thermal energy produced by metabolism of Nellore cattle; such result was also observed by de Melo Costa et al. (2017) with Nellore bulls assessed under range of air temperature between 25 to 35 °C. Similarly, Camerero et al. (2016) demonstrated that the metabolism of Guzerat cattle remained relatively stable, regardless of the variation in the air temperature from 25 to 34 °C. On the other hand, Brown-Brandl et al. (2003) verified that mean heat production of cross-bred steers (¼ Angus, ¼ Hereford, ¼ Pinzgauer, ¼ Red Poll) reduced significantly as ambient air temperature rose up from 18 to 30 °C, and from 30 to 34 °C, being a consequence of the reduction in feed intake. Certainly, these results can justify the adaptation and superior thermal tolerance of Zebu cattle when compared with *Bos taurus* breeds raised in warm climates.

Thermal energy produced by the metabolism is transferred to the environment and is dependent of the tissue and external conductance. This conductance is related to the alterations in the blood flow to the skin and physical properties of the animal cutaneous surface, respectively (Finch et al., 1984; Hales, 1978; De Shazer et al., 2009; Gebremedhin et al., 2010). This mechanism can maintain skin temperature relatively constant, regarding large fluctuations of the air temperature. The ability to maintain and increase tissue conductance is one of the features that explain the high heat tolerance of *Bos indicus* cattle bred in tropical regions (Hansen, 2004). In the present study, skin temperature (T_{EP}) of Nellore cattle presented small changes throughout the thermal amplitude examined, suggesting a certain constancy of the tissue conductance over the 24 hours. Furthermore, hair coat surface temperature (T_s) followed the same pattern of the T_{EP} , presenting minimal differences between them; both variables increased from approximately 32 °C to 35 °C.

De Melo Costa et al. (2017) reported a similar pattern during the diurnal period in the skin and hair coat temperature of the Nellore cattle. Comparing thermoregulation of Brahman (*Bos indicus*) and Shorthorn (*Bos taurus*) cattle under air temperature ranging from 24 to 45 °C, Finch et al. (1984) highlighted superior capacity of the Brahman in the increase and maintenance of tissue conductance. Similarity responses of the skin and hair coat temperature observed in the present work can be explained by the external conductance

of the subjects evaluated. Thermophysical and radiative properties of the cutaneous surface of Nellore cattle as short, and dense hair coat (da Silva et al., 2003; McManus et al., 2005) favors heat exchanges through this interface, and therefore, weak changes in the temperature profile (Jiang et al., 2005; Gebremedhin and Wu, 2002; Kahn et al., 2006).

Determination of convective and radiant losses depends on surface (T_{EP} and T_S), air temperature, and wind displacement of the animal surrounding environment (daSilva and Maia, 2013). Despite moderate variation of the T_S , thermal gradient ($T_S - T_A$) presented large amplitude throughout the nyctemeral period, which was approximately 11.5 °C at times of lower temperature and 4 °C under largest levels of T_A . This amplitude was driven by the substantial circadian pattern of the air temperature, a marked feature of the tropical climates. At the higher thermal gradient ($T_S - T_A$; from 24:00 to 07:00 h), heat transferred by long wave radiation and surface convection corresponded near to 60 % of the metabolism, which long-wave radiation was the dominant process. This occurred because wind displacement presented moderate daily variation and intensity, ranging from 0.5 to 1.5 m s⁻¹ at times of greater and lower thermal gradient, respectively. Thus most of the day, the heat flow was governed by the natural convection. At intervals of lower thermal gradient ($T_S - T_A$; from 11:00 to 17:00 h), non-evaporative heat loss accounted for close to 30 % of the metabolism. Maia et al. (2005) reported that when air temperature was between 10 °C and 20 °C, sensible heat ways accounted for 80 to 30 % of the total heat loss of the Holstein cows bred in a tropical region; on the other hand, when air temperature was greater than 30 °C, moisture evaporation heat became the primary venue for heat elimination, accounting for 85 % from the sweating and the rest by the respiratory system.

As the ambient air temperature increases, the latent loss gains progressive importance in dissipating excess body heat to maintain animal thermal equilibrium. Sweating and panting are two of the primary autonomic responses used by animals to transfer heat and mass to the environment. However, what was the main way used by the Nellore cattle? The degree of dependence of sweating and panting may be associated with the hair-coat physical properties and nature of the environment (Silva et al., 2002; Gebremedhin et al., 2008; Gagge and Gonzalez; 2011; Fonsêca et al., 2017). In this sense,

due to the short hair coat, it seems that the surface of Nellore cattle is a favorable to remove heat from cutaneously derived water vapor diffusion to the environment. Our findings showed that when air temperature ranged from 28 to 30 °C, moisture evaporation was the principal mode to losing metabolic heat, which the sweating activity represented the greatest percentage ($\cong 95\%$).

Cutaneous surface evaporation of Nellore cattle ranged from 42 to 85 W m⁻², following a positive relationship with skin and hair coat temperature. Surveys have confirmed that skin surface temperature is the primary driving force for sweating (Maia et al., 2005; Gebremedhin et al., 2008; Silva and Maia, 2011). Even at night, cutaneous evaporation accounted for approximately 28 % of the metabolism, which may have been caused by the small changes of T_{EP} over the day. Data obtained in the present study were lesser to those determined by McManus et al. (2005) with Nellore bulls managed under similar meteorological condition, which moisture production of 215.22 g/m² h⁻¹.

At the respiratory tract, the sensible heat is used to vaporize moisture from the lungs and transfer thermal energy to the ambient, being dependent of the volume of the air passing through the respiratory system and gradient vapor pressure ($P_S\{T_{EXP}\} - P_P\{T_A\}$). In this study, slight alterations in respiratory rate (R_R), ventilation, and gradient vapor pressure reflected in a stable pattern of the heat flowed by respiratory evaporation (q^{''}_{er}) throughout the 24 hours, presenting insignificant ($\cong 2\%$) percentage on the heat produced by metabolism of Nellore bulls. Largest and minimal R_R was 20.95 and 16.61 breaths min⁻¹, observed at 03:00 h and 14:00 h, respectively. These changes were in accordance to those reported by McManus et al. (2009) to Nellore cattle managed protected from solar radiation and under average air temperature of 30 °C. Moderate increase (24 to 30 breaths min⁻¹) in R_R of Nellore bulls exposed to solar radiation was also described by Milan et al. (2016).

Some results concerning *Bos taurus* breeds suggested that significant differences may occur in the use of evaporative heat loss. Thermoregulation of four cattle breeds (Alentejana, Mertolenga, Limousin, Frisian) were assessed by Pereira et al. (2014) under climatic chambers ranging air temperature from 16 °C to 40 °C, where at level of 30 °C, they described relevant increases in the respiratory frequency of all breeds. Brown-Brandl

et al. (2003) showed that respiration rate of cross-bred steers ($\frac{1}{4}$ Angus, $\frac{1}{4}$ Hereford, $\frac{1}{4}$ Pinzgauer, $\frac{1}{4}$ Red Poll) increased close to 50 breaths min^{-1} when air temperature increases from 18 to 30 °C; furthermore, percentage of respiratory evaporation increased on the mean heat production represented approximately 55.2 %. All these findings and the results of the present study make it clear the low significance of the respiratory system to maintain thermal equilibrium of Nellore cattle.

Findings of the present investigation and those observed by de Melo Costa et al. (2017) revealed that from 20 to 35 °C, physiological parameters of adult Nellore cattle as rectal, skin and hair coat temperature, respiratory ventilation, oxygen consumption and carbon dioxide output remain relatively stable when protected from direct solar radiation and rain, reflecting in a constancy of the metabolic heat production, tissue conductance, insignificant recruitment of the respiratory system to evaporate the latent heat, and moderate sweating activity. Certainly, these results seem to be a good indicator of lower energy expenditure for body thermal regulation, high heat tolerance and adaptation of Nellore cattle to tropical environment.

5. Conclusions

[1] Metabolic heat production of Nellore cattle remains relatively stable, regardless of the changes in the ambient air temperature from 20 to 35 °C.

[2] When the ambient air temperature is above to 29 °C, cutaneous evaporation is the main avenue to dissipate the heat produced by metabolism of Nellore bulls.

[3] The respiratory system is an insignificant way to maintain the thermal equilibrium of Nellore bulls maintained at ambient air temperature ranging from 20 to 35 °C, and protected from solar radiation.

6. Acknowledgements

This study was supported by São Paulo Research Foundation (FAPESP), process number

2014/11170-7 and 2014/09639-7. Preliminary data of this investigation was presented in the VII Brazilian Conference of Biometeorology, Ambience, Behaviour and Animal Welfare.

7. References

- Bianchini, E., McManus, C., Lucci, C.M., Fernandes, M.C.B., Prescott, E., Mariante, A. da S., Egito, A.A. do, 2006. Características corporais associadas com a adaptação ao calor em bovinos naturalizados brasileiros. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 41, 1443–1448. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2006000900014>
- Brown-Brandl, T., Nienaber, J., Eigenberg, R., Hahn, G., Freetly, H., 2003. Thermoregulatory responses of feeder cattle. *Journal of Thermal Biology* 28, 149–157. [https://doi.org/10.1016/S0306-4565\(02\)00052-9](https://doi.org/10.1016/S0306-4565(02)00052-9)
- Camerro, L.Z., Maia, A.S.C., Chiquitelli Neto, M., Costa, C.C. de M., Castro, P.A., 2016. Thermal equilibrium responses in Guzerat cattle raised under tropical conditions. *Journal of Thermal Biology* 60, 213–221. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2016.07.007>
- Carvalho, F.A., Lammoglia, M.A., Simoes, M.J., Randel, R.D., 1995. Breed affects thermoregulation and epithelial morphology in imported and native cattle subjected to heat stress. *J. Anim. Sci.* 73, 3570–3573.
- Chan, E.K.F., Nagaraj, S.H., Reverter, A., 2010. The evolution of tropical adaptation: comparing taurine and zebu cattle: Comparing taurine and zebu cattle. *Animal Genetics* 41, 467–477. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2010.02053.x>
- da Silva, R.G., Guilhermino, M.M., de Moraes, D.A.E.F., 2010. Thermal radiation absorbed by dairy cows in pasture. *International Journal of Biometeorology* 54, 5–11. <https://doi.org/10.1007/s00484-009-0244-1>
- da Silva, R.G., La Scala Jr. N., Tonhati, H., 2003. Radiative properties of the skin and haircoat of cattle and other animals. *Transactions of the ASAE* 46. <https://doi.org/10.13031/2013.13567>
- daSilva, R.G., Maia, A.S.C., 2013. *The Environment. Principles of animal biometeorology*. New York: Springer, p. 1-37.

- daSilva, R.G., Minomo, F.R., 1995. Circadian and seasonal variation of the body temperature of sheep in a tropical environment. *Int J Biometeorol* 39, 69–73.
- de Melo Costa, C.C., Maia, A.S.C., Nascimento, S.T., Nascimento, C.C.N., Chiquitelli Neto, M., de França Carvalho Fonsêca, V., 2017. Thermal balance of Nellore cattle. *International Journal of Biometeorology*. <https://doi.org/10.1007/s00484-017-1349-6>
- DeShazer, J., Hahn, G., Xin, H., 2009. Chapter 1: Basic Principles of the Thermal Environment and Livestock Energetics. *Livestock Energetics and Thermal Environment Management* 1–22.
- Finch, V.A., 1985. Comparison of non-evaporative heat transfer in different cattle breeds. *Australian Journal of Agricultural Research* 36, 497. <https://doi.org/10.1071/AR9850497>
- Finch, V.A., Bennett, I.L., Holmes, C.R., 1984. Coat colour in cattle: effect on thermal balance, behaviour and growth, and relationship with coat type. *The Journal of Agricultural Science* 102, 141. <https://doi.org/10.1017/S0021859600041575>
- Findlay, J.D., 1957. The respiratory activity of calves subjected to thermal stress. *The Journal of Physiology* 136, 300–309. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1957.sp005761>
- Fonseca, V.C., Saraiva, E.P., Maia, A.S.C., Nascimento, C.C.N., da Silva, J.A., Pereira, W.E., Filho, E.C.P., Almeida, M.E.V., 2017. Models to predict both sensible and latent heat transfer in the respiratory tract of Morada Nova sheep under semiarid tropical environment. *International Journal of Biometeorology* 61, 777–784. <https://doi.org/10.1007/s00484-016-1255-3>
- Gagge, A.P., Gonzalez, R.R., 2011. Mechanisms of Heat Exchange: Biophysics and Physiology, in: Terjung, R. (Ed.), *Comprehensive Physiology*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA. <https://doi.org/10.1002/cphy.cp040104>
- Gebremedhin, K. G., Hillman, P. E., Lee, C. N., Collier, R. J., Willard, S. T., Arthington, J. D., Brown-Brandl, T. M., 2008. Sweating Rates of Dairy Cows and Beef Heifers in Hot Conditions. *Transactions of the ASABE* 51, 2167–2178. <https://doi.org/10.13031/2013.25397>

Gebremedhin, K. G., Lee, C. N., Hillman, P. E., Collier, R. J., 2010. Physiological responses of dairy cows during extended solar exposure. *Transactions of the ASABE*, 53(1): 239–247. doi: 10.13031/2013.29499

Gebremedhin, K.G., Wu, B., 2002. Simulation of sensible and latent heat losses from wet-skin surface and fur layer. *Journal of Thermal Biology* 27, 291–297. [https://doi.org/10.1016/S0306-4565\(01\)00091-2](https://doi.org/10.1016/S0306-4565(01)00091-2)

Hales, J.R., Fawcett, A.A., Bennett, J.W., Needham, A.D., 1978. Thermal control of blood flow through capillaries and arteriovenous anastomoses in skin of sheep. *Pflugers Arch.* 378, 55–63.

Hansen, P., 2004. Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. *Animal Reproduction Science* 82–83, 349–360. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.04.011>

Harvey, W. R., 1960. Least-Squares analysis of data with unequal subclass numbers, Beltsville: U.S.D.A., publi, n° 20-8.

Hill, W.R., Wyse, G.A., Anderson, M., 2012. *Animal physiology*. Third ed., Sunderland, Massachusetts.

Jiang, M., Gebremedhin, K. G., Albright, L. D., 2005. Simulation of skin temperature and sensible and latent heat losses through fur layers. *Transactions of the ASAE* 48, 767–775. <https://doi.org/10.13031/2013.18319>

Khan, W.A., Culham, J.R., Yovanovich, M.M., 2006. Convection heat transfer from tube banks in crossflow: Analytical approach. *International Journal of Heat and Mass Transfer* 49, 4831–4838. <https://doi.org/10.1016/j.ijheatmasstransfer.2006.05.042>

Latawiec, A.E., Strassburg, B.B.N., Valentim, J.F., Ramos, F., Alves-Pinto, H.N., 2014. Intensification of cattle ranching production systems: socioeconomic and environmental synergies and risks in Brazil. *animal* 8, 1255–1263. <https://doi.org/10.1017/S1751731114001566>

Maia, A.S.C., Gomes DaSilva, R., Battiston Loureiro, C.M., 2005. Respiratory heat loss of Holstein cows in a tropical environment. *International Journal of Biometeorology* 49, 332–336. <https://doi.org/10.1007/s00484-004-0244-0>

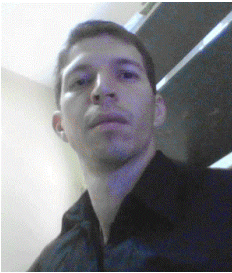
- Maia, A.S.C., Nascimento, S.T., Nascimento, C.C.N., Gebremedhin, K.G., 2016. Thermal equilibrium of goats. *Journal of Thermal Biology* 58, 43–49. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2016.03.012>
- Mariante, A.S., Egito, A.A., 2002. Animal genetic resources in Brazil: result of five centuries of natural selection. *Theriogenology* 57, 223–235. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00668-9](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00668-9)
- McAlpine, C.A., Etter, A., Fearnside, P.M., Seabrook, L., Laurance, W.F., 2009. Increasing world consumption of beef as a driver of regional and global change: A call for policy action based on evidence from Queensland (Australia), Colombia and Brazil. *Global Environmental Change* 19, 21–33. <https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2008.10.008>
- McLean, J.A., Whitmore, W.T., Young, B.A., Weingardt, R., 1984. Body heat storage, metabolism and respiration of cows abruptly exposed and acclimatized to cold and 18 °C environments. *Canadian Journal of Animal Science* 64, 641–653. <https://doi.org/10.4141/cjas84-073>
- McManus, C., Barcellos, J.O.J., Formenton, B.K., Hermuche, P.M., Carvalho, O.A. de, Guimarães, R., Gianezini, M., Dias, E.A., Lampert, V. do N., Zago, D., Neto, J.B., 2016. Dynamics of Cattle Production in Brazil. *PLOS ONE* 11, e0147138. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147138>
- McManus, C., Paludo, G.R., Louvandini, H., Garcia, J.A.S., Egito, A.A., Mariante, A.S., 2005. Heat tolerance in naturalised cattle in Brazil: physical factors. *Archivos de Zootecnia* 54, 453–458.
- McManus, C., Prescott, E., Paludo, G.R., Bianchini, E., Louvandini, H., Mariante, A.S., 2009. Heat tolerance in naturalized Brazilian cattle breeds. *Livestock Science* 120, 256–264. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2008.07.014>
- Milan, H.F.M., Maia, A.S.C., Gebremedhin, K.G., 2016 Technical note: Device for measuring respiration rate of cattle under field conditions. *J. Anim. Sci.*, 94:5434-5438. [doi:10.2527/jas.2016-0904](https://doi.org/10.2527/jas.2016-0904)
- O’Kelly, J.C., Reich, H.P., 1981. Sebum output and water metabolism in different genotypes of cattle in hot environments.

- Pereira, A.M.F., Titto, E.L., Infante, P., Titto, C.G., Geraldo, A.M., Alves, A., Leme, T.M., Baccari, F., Almeida, J.A., 2014. Evaporative heat loss in *Bos taurus*: Do different cattle breeds cope with heat stress in the same way? *Journal of Thermal Biology* 45, 87–95. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2014.08.004>
- Renaudeau, D., Collin, A., Yahav, S., de Basilio, V., Gourdine, J.L., Collier, R.J., 2012. Adaptation to hot climate and strategies to alleviate heat stress in livestock production. *animal* 6, 707–728. <https://doi.org/10.1017/S1751731111002448>
- SAS Institute, 1995. User's guide: statistics. Version 6, 10 ed. SAS Institute Inc., Cary, NC, p. 295.
- Schleger, A., Turner, H., 1965. Sweating rates of cattle in the field and their reaction to diurnal and seasonal changes. *Australian Journal of Agricultural Research* 16, 92. <https://doi.org/10.1071/AR9650092>
- Silva, R.G. da, Maia, A.S.C., 2011. Evaporative cooling and cutaneous surface temperature of Holstein cows in tropical conditions. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40:1143–1147. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982011000500028>
- Silva, R.G., LaScala JR, N., Lima Filho, A. E., Catharin, M. C., 2002. Respiratory heat loss in the sheep: a comprehensive model. *International Journal of Biometeorology*, Berlin, v. 46, p. 136-140.
- Stanier, M.W., Mount, L.E., Bligh, J., 1984. Energy balance and temperature regulation. Cambridge University Press, Cambridge.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA), 2016. Brazil, Livestock and Products Annual, Annual Livestock 2016.

8. Vitae



Cíntia Carol de Melo Costa is a PhD candidate in the Graduate Program of Animal Science at Sao Paulo State University (UNESP), Jaboticabal, São Paulo, Brazil. Her master's thesis focused on the thermoregulation of beef cattle in tropical environments, which is also the topic of her doctoral work.



Alex Sandro Campos Maia received his undergraduate degree in agronomy engineering in 2000 from the Federal University of Acre (UFAC). He received his doctorate in Animal Science from São Paulo State University (UNESP) where he currently teaches animal biometeorology. His interests include the development of thermal propagation models, thermal balance, and thermal regulation applied to animal production.



Marcos Chiquitelli Neto is an Assistant Professor at São Paulo State University (UNESP/FEIS), Ilha Solteira, São Paulo, Brazil. He has extensive experience in studies with cattle bred in tropical environments with a focus on animal welfare and thermoregulation.



Tami Brown-Brandl is Ph.D. Agricultural and Biosystems Engineering, University of Kentucky. Works at USDA, ARS Meat Animal Research Center. Dr. Brown-Brandl has research program that is focused on an engineering approach to improved animal well-being and production efficiency. Her interests include precision animal management, prediction of individual animal susceptibility to heat stress, calorimetry and animal energetics, development of sensors and control systems and forecasting feedlot cattle heat stress.



Vinícius F. C. Fonsêca is a D.Sc. in Animal Science - Federal University of Paraiba – Brazil, currently, is a post-doc position in the Innovation Group of Animal Biometeorology at the Sao Paulo State University – Brazil. His research interest included investigations on the behavior animal welfare, evaluation of the thermal equilibrium under field, and development of methods to study heat and mass transfer process in livestock.

Supplementary file

Experimental design

Table 1: First Latin Square arrangement

		TIME OF THE DAY																							
		07:00 08:00	08:00 09:00	09:00 10:00	10:00 11:00	11:00 12:00	12:00 13:00	13:00 14:00	14:00 15:00	15:00 16:00	16:00 17:00	17:00 18:00	18:00 19:00	19:00 20:00	20:00 21:00	21:00 22:00	22:00 23:00	23:00 24:00	24:00 01:00	01:00 02:00	02:00 03:00	03:00 04:00	04:00 05:00	05:00 06:00	06:00 07:00
D A Y S	1	An6	An2	An3	An1	An5	An4	An6	An3	An2	An1	An5	An4	An2	An4	An5	An6	An1	An3	An6	An3	An2	An5	An4	An1
	2	An4	An6	An1	An5	An3	An2	An1	An4	An3	An2	An6	An5	An6	An2	An3	An4	An5	An1	An5	An2	An1	An4	An3	An6
	3	An3	An5	An6	An4	An2	An1	An2	An5	An4	An3	An1	An6	An3	An5	An6	An1	An2	An4	An3	An6	An5	An2	An1	An4
	4	An1	An3	An4	An2	An6	An5	An5	An2	An1	An6	An4	An3	An5	An1	An2	An3	An4	An6	An4	An1	An6	An3	An2	An5
	5	An2	An4	An5	An3	An1	An6	An4	An1	An6	An5	An3	An2	An1	An3	An4	An5	An6	An2	An2	An5	An4	An1	An6	An3
	6	An5	An1	An2	An6	An4	An3	An3	An6	An5	An4	An2	An1	An4	An6	An1	An2	An3	An5	An1	An4	An3	An6	An5	An2

Table 2: Replications of the Latin Square design

		TIME OF THE DAY																							
		07:00 08:00	08:00 09:00	09:00 10:00	10:00 11:00	11:00 12:00	12:00 13:00	13:00 14:00	14:00 15:00	15:00 16:00	16:00 17:00	17:00 18:00	18:00 19:00	19:00 20:00	20:00 21:00	21:00 22:00	22:00 23:00	23:00 24:00	24:00 01:00	01:00 02:00	02:00 03:00	03:00 04:00	04:00 05:00	05:00 06:00	06:00 07:00
D A Y S	7	An6	An2	An3	An1	An5	An4	An6	An3	An2	An1	An5	An4	An2	An4	An5	An6	An1	An3	An6	An3	An2	An5	An4	An1
	8	An4	An6	An1	An5	An3	An2	An1	An4	An3	An2	An6	An5	An6	An2	An3	An4	An5	An1	An5	An2	An1	An4	An3	An6
	9	An3	An5	An6	An4	An2	An1	An2	An5	An4	An3	An1	An6	An3	An5	An6	An1	An2	An4	An3	An6	An5	An2	An1	An4
	10	An1	An3	An4	An2	An6	An5	An5	An2	An1	An6	An4	An3	An5	An1	An2	An3	An4	An6	An4	An1	An6	An3	An2	An5
	11	An2	An4	An5	An3	An1	An6	An4	An1	An6	An5	An3	An2	An1	An3	An4	An5	An6	An2	An2	An5	An4	An1	An6	An3
	12	An5	An1	An2	An6	An4	An3	An3	An6	An5	An4	An2	An1	An4	An6	An1	An2	An3	An5	An1	An4	An3	An6	An5	An2

The six subjects were represented by An1, An2... An6;

Physiological parameters

Measurements were taken using a system for thermal equilibrium evaluation coupled to the face mask adjusted to the animals' muzzles, developed by the Innovation Group of Animal Biometeorology (Figure 1). Physiological responses assessed included respiratory rate (R_R ; breaths min^{-1}), ventilation (V_E , L s^{-1}), proportions (%) of oxygen (O_2), carbon dioxide (CO_2), methane (CH_4), saturation pressure [$P_S\{\text{T}_{\text{EXP}}\}$, kPa] in the exhaled air, and saturation pressure [$P_S\{\text{T}_{\text{EP}}\}$] in the air leaving of the ventilated capsule placed over the animal surface. Air temperature of the exhaled air (T_{EXP} , $^{\circ}\text{C}$), hair coat (T_s , $^{\circ}\text{C}$), skin surface (T_{EP} , $^{\circ}\text{C}$) and rectal temperature (T_R , $^{\circ}\text{C}$) were also recorded. The mask was

designed to make sure that the volume of the ventilated dead space (V_d) was as close to zero as possible, because it affects the true concentration of the expired gases (McLean, 1963); thus, the best geometry of the facial mask was an ellipsoidal shape with a V_d of approximately 0.2 L (Maia et al., 2014). We used aluminum material with low thickness, which is a good heat exchanger that ensured similar temperature inside and outside of the mask, besides being resistant to breakage.

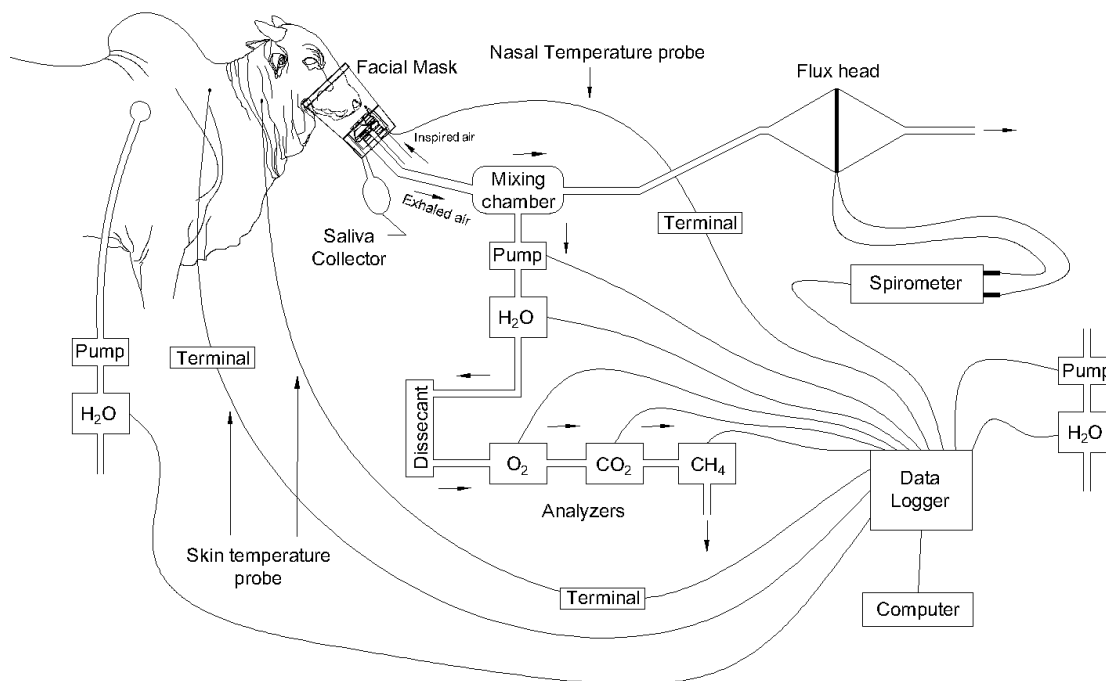


Figure 1 Design of the System for thermal equilibrium evaluation, adapted from Camerero et al. 2016.

Operation of the System for thermal equilibrium evaluation

During each breath the inflow (inspired air) and the outflow (exhaled air) passed through one valve (Y-Shape valve, Hans Rudolph, USA). Exhaled air coming out from the facial mask was directed through a tracheal tube (MLA1015 Breathing Tube, ADInstruments, Australia) to the gas mixing-chamber (MLA246, ADInstruments, Australia). The gas-mixing chamber was connected to the Field Metabolic System (FMS-

1201-05, Sable System, USA) through a plastic tube (Bevaline Tubing, Sable System, USA). An air pump at the FMS kept a continuous flow of exhaled air (145 mL min^{-1}) through this tube and into a gas analyzer (H_2O , O_2 , CO_2 and CH_4). The air sample first went into the H_2O vapor analyzer and the dryer (Magnesium perchlorate - $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$); then, it was carried through the CO_2 and O_2 analyzers; and finally to the CH_4 analyzer (MA-10, Sable System, USA). Air leaving the mixing-chamber went through a flow head (MLT 1000, ADInstruments, Australia) with a spirometer coupled to it (ML 141, ADInstruments, Australia), which measured the respiratory rate (R_R , breaths min^{-1}) and ventilation (V_E , L s^{-1}).

Proportions of oxygen, carbon dioxide, and methane in the atmosphere (O_{2A} and CO_{2A}) were analyzed whenever the facial mask was not on animal muzzle. Simultaneously, atmospheric vapor pressure ($P_P\{T_A\}$) was recorded by an external H_2O vapor analyzer (RH-300, Sable System, USA) connected to a pump (SS4, Sable System, USA), which continuously pulled samples of atmospheric air (145 ml min^{-1}) from near the mask's influx valve. Moreover, body surface saturation pressure ($P_S\{T_{EP}\}$) was measured with a ventilated capsule (Maia et al. 2005) using a pump (SS4 Sable System, USA) that was connected to the tube leaving the capsule. This equipment pulled the air through the influx tube, into the capsule, over the animal's body surface and out into the vapor analyzer (RH-300, Sable System, USA).

A nasal temperature sensor (MLT 415/AL, ADInstruments, Australia, Accuracy ± 0.3 °C) was placed inside the facial mask, just in front of the animal's nostrils, to measure the exhaled air temperature (T_{EXP} , °C). The hair coat surface temperature (T_S , °C) was measured with a thermocouple (MLT 422A, ADInstruments, Australia, accuracy ± 0.3 °C) placed on the back of the animals just under the hair coat surface. At the same body region, another thermocouple (MLT 422A ADInstruments, Australia, Accuracy ± 0.3 °C) was used for the skin surface temperature (T_{EP} , °C), but in this case the skin area was previously shaved. These sensors and ventilated capsule were fixed on the animal's surface with a plastic board with the aid of an elastic belt around the animal's upper body. The rectal temperature (T_R , °C) was continuously recorded by a thermocouple (MLT 1404, ADInstruments, Australia,

accuracy ± 0.3 °C). The FMS, CH₄ analyzer, spirometer, H₂O vapor analyzers and temperatures sensors were connected to a data acquisition system (PowerLab 16/32, ADInstruments, Australia), which in turn was connected to a computer that recorded continuously and simultaneously all the measurements at a rate of one observation per second.

System calibration

Prior to the trials, analyzers (O₂, CO₂ and CH₄) were calibrated with gases of known concentrations, being injected 99% of N₂ in the O₂ and CO₂ analyzers, and 1% of methane in the CH₄ analyzer; baselines of the analyzers were performed by the air sample of the atmosphere, which was fixed in 20.95 %, 0.04 %, and 0.0 % for oxygen, carbon dioxide and methane analyzers, respectively. Spirometer was calibrated using a syringe (557, Hans Rudolph, USA, volume: 3 L) with known volume of the air passing throughout the flow head. In addition, during the preliminary tests we observed condensation inside the tubes of air leaving of the mixing chamber, ventilated capsule, and inside of the flow head when data were recorded at night; tests performed on this condition revealed problems of spirometer calibration. Thus, to solve condensation inside the flow head, it was built a box with insulating material to place the flow head and mixing chamber, ensuring that the internal temperature was close as possible to the exhaled air temperature. As heating source, an incandescent lamp (100 W) was used, which the intensity was regulating by a dimer, while internal temperature control was performed with a thermocouple (K-Type, Fluke, USA, accuracy: ± 0.2 °C). To avoid condensation inside the tubes, they were changed at each animal data recorded, and it was used a pump (SS4, Sable System, USA, volume: 1000 ml min⁻¹) to dry the next tube. Similarly, tubes that flowed air leaving from the ventilated capsule were also changed to dry using another pump (SS4, Sable System, USA, volume: 1000 ml min⁻¹).

Thermal equilibrium evaluation

The metabolic heat production (q''_{met}), heat exchanges by long-wave radiation (q''_{rl}), surface convection (q''_{conv}), and the heat lost by cutaneous (q''_{es}) and respiratory evaporation (q''_{er}) were determined using biophysical equations as described in Silva and Maia (2013). All terms were given in energy per unit of surface area (W m^{-2}), being surface area determined using 3-dimensional modeling as described by Simão et al. (2017); mean surface area of the animals was $6.50 \pm 0.04 \text{ m}^2 \text{ SEM}$ (Figure 2).

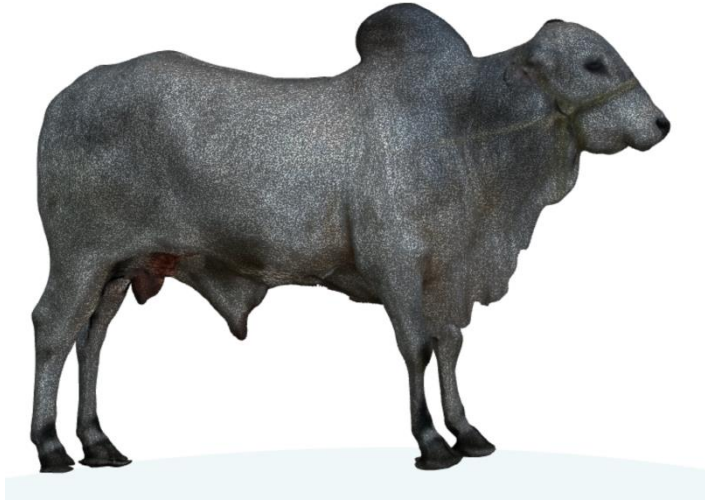


Figure 2 3D model of an animal used in the present study; 3D image extracted from Simão et al. (2017).

Metabolic heat production

The volumes (L s^{-1}) of O_2 , CO_2 , and CH_4 were calculated according to McLean (1972), using a Haldane transformation:

$$V_{\text{ESTPD}} = V_{\text{E}} \left\{ \left[\frac{(P_{\text{P}}\{T_{\text{A}}\} - P_{\text{S}}\{T_{\text{EXP}}\})}{(T_{\text{EXP}} + 273.15)} \right] \left(\frac{273.15}{101.325} \right) \right\} \quad (1)$$

$$V_{\text{O}_2} = V_{\text{ESTPD}} \left[\text{O}_{2\text{ATM}} \left(\frac{1 - \text{O}_{2\text{ATM}} - \text{CO}_{2\text{ATM}} - \text{CH}_{4\text{ATM}}}{1 - \text{O}_{2\text{EXP}} - \text{CO}_{2\text{EXP}} - \text{CH}_{4\text{EXP}}} \right) - \text{O}_{2\text{EXP}} \right] \quad (2)$$

$$VCO_2 = V_{ESTPD} \left[CO_{2EXP} - CO_{2ATM} \left(\frac{1 - O_{2ATM} - CO_{2ATM} - CH_{4ATM}}{1 - O_{2EXP} - CO_{2EXP} - CH_{4EXP}} \right) \right] \quad (3)$$

$$VCH_4 = V_{ESTPD} \left[CH_{4EXP} - CH_{4ATM} \left(\frac{1 - O_{2ATM} - CO_{2ATM} - CH_{4ATM}}{1 - O_{2EXP} - CO_{2EXP} - CH_{4EXP}} \right) \right] \quad (4)$$

Where V_{ESTPD} is the ventilation at the standard normal conditions for temperature and pressure; then, the metabolic heat production (q''_{met} , $W m^{-2}$) was calculated in accordance with daSilva and Maia (2013), adapted from Brouwer (1965) and McLean (1972):

$$q''_{met} = \frac{16180VO_2 + 5160VCO_2 - 2420VCH_4}{A_n} \quad (5)$$

where A_n (m^2) is the body surface area of the animal.

Latent heat loss from the respiratory tract

The latent heat flow from the respiratory tract (q''_{er} , $W m^{-2}$) was calculated by the volume of the air passing through the respiratory system and the difference between the moisture content of the exhaled and the inspired air (daSilva and Maia, 2013):

$$q''_{er} = \frac{\lambda V_T R_R (\Psi_{EXP} - \Psi_{ATM})}{A_n} \quad (6)$$

where λ is the latent heat of water vaporization ($J g^{-1}$); V_T is the tidal volume (m^3 breath $^{-1}$); R_R is the respiratory rate (breath s^{-1}); Ψ_{ATM} ($g m^{-3}$) is the absolute humidity of atmosphere; Ψ_{EXP} ($g m^{-3}$) is the absolute humidity of exhaled air:

$$\Psi_{ATM} = \frac{2166.87P_p \{T_A\}}{T_A} \quad (7)$$

$$\Psi_{\text{EXP}} = \frac{2166.87P_S\{T_{\text{EXP}}\}}{T_{\text{EXP}}} \quad (8)$$

Latent heat from the cutaneous evaporation

The ventilated capsule method was used to quantify the latent heat transferred from cutaneous surface by moisture evaporation (Maia et al., 2005). A capsule with 5 cm of diameter was placed under the unshaved cutaneous surface, being connected to a water vapor analyzer (RH-300, Sable System, USA), coupled to a pump (SS4, Sable System, USA), that maintained an air flow rate through the capsule near to 146 mL min⁻¹. The output of the system was recorded by a computer, providing the actual atmospheric pressure ($P_p\{T_A\}$, kPa) and the saturation pressure of the air leaving from the capsule ($P_S\{T_{EP}$, kPa). Thus, the latent heat flow (q''_{es}) from the cutaneous surface was calculated as proposed by daSilva and Maia (2013):

$$q''_{es} = \lambda fc(\Psi_S - \Psi_{\text{ATM}})A_C^{-1} \quad (9)$$

where λ is the latent heat of water vaporization (J g⁻¹); A_C is the ventilated capsule area (m²); fc (m³ s⁻¹) is the air flux passing throughout the capsule; Ψ_{ATM} (g m⁻³) is the absolute humidity of the atmosphere, and the Ψ_S (g m⁻³) is the absolute humidity of the animal skin surface (g m⁻³), estimated by the equation:

$$\Psi_S = \frac{2166.87P_S\{T_{EP}\}}{T_{EP}} \quad (10)$$

Sensible heat exchanges

Long-wave radiation

The heat exchange by long wave radiation (q''_{RL} , W m⁻²) was calculated in accordance with daSilva and Maia (2013):

$$q''_{rl} = \varepsilon\sigma(T_S^4 - T_{RM}^4) \quad (11)$$

where ε is the thermal radiation emissivity of animal surface; σ ($5.67051 \times 10^{-8} \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-4}$) is the Stefan-Boltzmann constant; T_S (K) is the hair coat surface temperature; T_{RM} (K) is the mean radiant temperature, estimated according to Silva et al. (2010):

$$T_{RM} = \left[\frac{hg(T_g - T_A) + \varepsilon_g\sigma T_g^4}{\varepsilon_g\sigma} \right]^{\frac{1}{4}} \quad (12)$$

where hg ($\text{W m}^{-2} \text{ K}^{-1}$) is the convection coefficient of the black globe; T_g is the black globe temperature (K); T_A is the ambient air temperature (K); ε_g is the black globe emissivity ($\varepsilon_g = 0.95$); σ is the Stefan-Boltzmann constant.

Surface convection

Heat flow by convection (q''_{conv} , W m^{-2}) was calculated with the application of Newton's law of cooling, in accordance to Incropera et al. (2013):

$$q''_{conv} = h_C(T_S - T_A) \quad (13)$$

where h_C is the convection coefficient ($\text{W m}^{-2} \text{ K}^{-1}$); T_S is the hair coat surface temperature (K); T_A is the air temperature (K). The h_C was calculated assuming that the animal body was a horizontal cylinder according to daSilva and Maia (2013).

Images captured during the physiological data recording



Figure 3: Animal at the chute squeeze during the data recording; source: personal archive.



Figure 4: Ventilated capsule under the unshaved cutaneous surface area of the Nellore cattle.

References

Brouwer, E., 1965. In *Energy Metabolism*, p. 441 [K. L. Blaxter, editor]. London: Academic Press.

- Camerro, L.Z., Maia, A.S.C., Chiquitelli Neto, M., Costa, C.C.M., Castro, P.A., 2016. Thermal equilibrium responses in Guzerat cattle raised under tropical conditions. *Journal of Thermal Biology*, 60: 213–221. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtherbio.2016.07.007>
- Da Silva, R.G.; Maia, A.S.C., 2013. *Principles of Animal Biometeorology*. Springer Dordrecht Heidelberg New York London, 261 p. DOI 10.1007/978-94-007-5733-2
- Incropera, F.P., Dewitt, D.P., Bergman, T.L., Lavine, A.S., 2008. *Fundamentals of Heat and Mass Transfer*, 6th ed. Hoboken, New Jersey, p. 643.
- Maia, A.S.C., Gebremedhin, K.G., Nascimento, S.T., Carvalho, M.D., Simão, B.R., Camerro, L.Z., Chiquitelli Neto, M., 2014. Development of Facial Masks for Indirect Calorimetric Studies for Livestock. In: ASABE and CSBE/SCGAB Annual International Meeting Sponsored by ASABE – Montreal, Quebec, Canada.
- Maia, A.S.C.; Silva, R.G.; Loureiro, C.M.B, 2005. Sensible and Latent Heat Loss from the Body Surface of Holstein Cows in a Tropical Environment, *International Journal of Biometeorology*, v. 50, n 1, p. 17-22.
- McLean, J.A., 1963. The partition of in sensible losses of body weight in heat from cattle under various climatic conditions. *J. Physiol.* 167, 427–447.
- McLean, J.A., 1972. On the calculation of heat production from open-circuit calorimetric measurements. *Br. J. Nutr.* 27, 597–600.
- Silva RG, De Moraes DAEF, Guilhermino MM (2010) Thermal radiation absorbed by dairy cows in pasture. *Int J Biometeorol* 54:5–11
- Simão, B.R., Maia, A.S.C., Chiquitelli Neto, M., Culhari, E.C., Castro, P.A., Fonseca, V.F.C., 2017. A way to measure surface area in livestock, In *Proceedings of the 21st International Congress of Biometeorology*, Durham, United Kingdom, pp. 100–104.

CAPÍTULO 3 – Circadian variation of enteric methane emission by Nellore beef cattle

(According to Animal)

Cíntia Carol de Melo Costa¹, Alex Sandro Campos Maia¹, Christopher J. O'Neill²,
Telma Teresinha Berchielli³, Marcos Chiquitelli Neto⁴, Vinícius de França Carvalho
Fonsêca¹, Patric André Castro¹

¹ Innovation group of Animal Biometeorology (INO BIO); São Paulo State University (Unesp), School of Agricultural and Veterinarian Sciences, Access road Prof. Paulo Donato Castellane w/n, zip code: 14884-900, Jaboticabal-SP, Brazil.

² School of Health, Medical and Applied Sciences, Central Queensland University, Rockhampton, Queensland, Australia.

³ Department of Animal Science, São Paulo State University (Unesp), School of Agricultural and Veterinarian Sciences, Jaboticabal, São Paulo, Brazil.

⁴ Nucleo de Manejo Racional (MANERA); São Paulo State University (Unesp), School of Natural Sciences and Engineering, Ilha Solteira-SP, Brazil.

Corresponding author: Cíntia Costa. Email: cintiacarolmc@yahoo.com.br

Short title: Methane emission of Nellore cattle

Abstract

The aim of this study was to quantify the enteric methane emission of Nellore bulls from the open indirect calorimetry system using a non-ventilated face device, and to investigate the circadian variation of the CH₄ production coupled with meteorological conditions, respiratory ventilation, and metabolic heat production. Six adult 30-mo-old Nellore cattle (669 ± 65 kg BW) were randomly assigned in a Latin Square design, which each one was replicated three times within the 24 hours and repeated, totaling twelve days of data collection. Ambient air temperature (T_A), relative humidity (R_H), local solar irradiance (G_S) on a plane surface, and black globe temperature inside (T_{G_{IN}}) and outside (T_{G_{OUT}}) the room were recorded at regular one-minute intervals with an automated weather station. Oxygen (V_{O₂}), carbon dioxide (V_{CO₂}) and methane (V_{CH₄}) volumes (L h⁻¹ kg⁻¹) in the exhaled air of the Nellore cattle were measured using an indirect calorimetry system with a facial mask adjusted on the animal's muzzle, developed by Innovation Group of Animal Biometeorology (INO BIO). Metabolic heat production (W kg⁻¹) and enteric methane emission (g h⁻¹ kg⁻¹) were determined. Daily volumes of O₂, CO₂ and CH₄ were 4.60, 4.00 and 0.08 L day⁻¹ kg⁻¹, respectively. Despite large amplitude of the thermal environment, volume of methane produced (V_{CH₄}) did not combine with lowest or largest levels of T_A, R_H and G_S. Circadian variation of enteric methane emission was clearly associated to the time that feed was offered. The open indirect calorimetry system using a non-ventilated facial device provided valuable details on daily pattern of enteric CH₄ production of Nellore cattle

and its association with O₂ consumption and CO₂ output. Enteric methane emission of housed 30-mo-old Nellore cattle fed at requirement maintenance on DM basis is approximately 0.05 g day⁻¹ kg⁻¹.

Keywords: daily pattern, greenhouse gases, *Bos indicus* cattle

Implication

The Nellore breed comprises the one of most cattle population in world, and beef cattle sector is considered the biggest contributor of CH₄ emission in livestock. In this sense, the present study detailed the daily pattern of enteric CH₄ production of Nellore cattle and its association with O₂ consumption, CO₂ output and metabolic heat production, using an open indirect calorimetry system using a non-ventilated facial device, and the relationship of these variables with meteorological conditions.

Introduction

Livestock intensification has been brought into international scientific and political debate as a response to the concerns for world food security, and the impact and mitigation abatement strategies on incrementally greenhouse gases emissions (Latawiec et al., 2014; Mazzetto et al., 2015). Approaches to determine enteric methane emission for the main livestock species (beef and dairy cattle, sheep, and goats) are based on an index of their productivity (kg/animal/year), and referencing both sex- and age-related factors (MCTI, 2016).

Many biological and environmental factors, other than gender and age, can influence the methane losses from cattle, as breed (*Bos indicus*; *B. taurus*), level of feed intake, type of carbohydrate or lipid in the diet, animal activity, and meteorological conditions (Molano et al., 2006; Storm et al., 2012; Ngwabie et al., 2011; Fiorentini et al., 2014; Hünenberg et al., 2015; Ramírez-Restrepo et al., 2016a and 2016b). For instance, Ngwabie et al. (2011) studied the effect of air temperature and cow activity on CH₄ production, addressing that daily methane emission was influenced more by animal activity than thermal conditions. Enteric methane yielded of growing Nellore cattle were determined from earlier reports under grazing and confinement systems (0.012 g h⁻¹ kg⁻¹; Cota et al. 2014), testing diets with different levels of crude protein (range from 0.021 to 0.023 g h⁻¹ animal⁻¹; Menezes et al., 2016), and levels of crude glycerin (0.011 g h⁻¹ kg⁻¹; San Vitto et al., 2016). As observed in most research, methane production has been assessed predominantly using the sulfur hexafluoride (SF₆) tracer gas technique (Johnson et al., 1994; Primavesi et al. 2004). However, almost all worries were not monitoring daily fluctuations of enteric CH₄ exhaled, or the interrelationship with meteorological variables and other respiratory parameters.

These details from a circadian variation of methane emission are very important to develop mitigation strategies. Such refinement can result in more accurate estimates, development of mitigation ways to reduce methane losses by cattle, and bring important practical aspects against the impossibility to perform intermittent measure; for example, it is possible to reduce the number of measurements if

sampling is conducted at a time that strongly correlates with total daily CH₄ emission (Oss et al., 2016).

Presently, we are unaware of any studies that have specifically examined continuous measurements of CH₄ losses by Nellore cattle over the 24 hours and its association with thermal environment, uptake of O₂ and CO₂ output. The present research was designed with the objective of: (i) quantify the enteric methane emission of Nellore bulls (a *B. indicus* of Indian origins) from the open indirect calorimetry system using a non-ventilated facial mask, and (ii) to investigate the circadian variation of the CH₄ production coupled with meteorological conditions, ventilation, respiratory rate and metabolic heat production. This study has a relevant application for inventory purposes Greenhouse Gas agricultural database, and development of new cost-effective systems for accurately estimative of greenhouse gases emissions from ruminants.

Material and methods

Site

The experiment was approved by the Ethics, Bioethics, and Animal Welfare Committee of São Paulo State University (Unesp) – School of Agricultural and Veterinarian Sciences (process number 8410/15). It was conducted at the Animal Biometeorology Laboratory of the São Paulo State University, Jaboticabal - São Paulo, Brazil (21°08' S, 48°11' W, 583 m altitude) over the summer of 2016 (November to December).

Animals and experimental design

Six adult 30-month-old Nellore cattle (669 ± 65 kg BW) were randomly assigned in a Latin Square (LS) design during six days and duplicates, totaling twelve days of data collection. A LS was replicated three times within the 24 hours (LS1^(0°): 6-7h; 7-8h...11-12h; LS1^(1°):12-13h; 13-14h...17-18h – LS1^(2°): 18-19h; 19-20h....23-24h; LS1^(3°): 24-01h; 1-2h....5-6h). For example, on the LS1^(0°) the first animal was evaluated from 06:00 to 07:00 h, the second animal from 07:00 to 08:00 h, the third animal from 08:00 to 09:00 h, and so on until the last evaluation was assessed between 11:00 h and 12:00 h; for the LS1^(1°) the first animal was evaluated from 12:00 to 13:00 h, the second between 13:00 and 14:00 h, until the last evaluation was performed between 17:00 and 18:00 h; in the sequence, cattle were assessed in the LS1^(2°) and LS1^(3°) to complete 24 hours of records during six days. The second Latin Square was designed in the same way (LS2^(0°) – LS2^(1°) – LS2^(2°) – LS2^(3°)) total twelve days of evaluation. So, the experiment consisted in two periods and it is important to remember that in each first LS the animals were randomly assigned.

Training process, housing, and feeding management

Prior to the experimental period, animals were habituated and conditioned to decrease reactivity to humans, chute restraint and use of the facial mask (Maia et al., 2014; Camerero et al., 2016). The training process lasted approximately nine

months (From February to October, 2016) and animal temperament evolution was evaluated using visual score of movement at the crush (Grandim, 1993).

Cattle were placed in individual pens (15 m²/pen) protected from direct solar radiation and rain. For data records, animal was conducted throughout the holding pen to a crush placed in a room protected from direct solar radiation and rain, which had a peak height of 8.0 m. The room was completely open in the front; thus, outdoor and indoor environment had similar conditions of air temperature, humidity and wind-speed. A total mixed ration (TMR) was offered individually to the animals twice daily (07:00 h and 17:00 h) in two approximately equal portions. Diet consisted of corn silage and concentrate (corn, soy and urea; 70:30 DM basis), being calculated the dry matter intake (DMI) at 1.5 % of the live weight (LW) to meet maintenance requirements. Mineral salt and water was providing *ad libitum*.

Meteorological variables

Air temperature (T_A ; accuracy: ± 0.1 °C), relative humidity (R_H ; accuracy: ± 3 %), local solar irradiance (G_S , W m⁻²; model CMP – 22, Kipp and Zonen, Delft, Netherlands; spectral range (λ): 0.300 to 3.6 μ m) and ultraviolet radiation (G_{SUV} , W m⁻²; spectral range (λ) = 0.280 to 0.400 μ m) on a plane surface, wind speed (U ; accuracy: ± 0.44 m s⁻¹), black globe temperature inside ($T_{G_{IN}}$; °C) and outside ($T_{G_{OUT}}$; °C) the room were recorded at regular one-minute intervals with an automated weather station (Model 110 - Nova Lynx., Auburn, CA, USA) placed on the outdoor environment near to the squeeze chute (± 2.0 m).

Gases exchanges: System design and operation

Respiratory parameters as ventilation (V_E , $L\ s^{-1}$), respiratory rate (R_R , breaths min^{-1}), and proportions (%) of oxygen (O_2), carbon dioxide (CO_2) and methane (CH_4) in the inspired and exhaled air of the Nellore cattle were recorded using an indirect calorimetry system with a facial mask adjusted on the animal's muzzle, developed by Innovation Group of Animal Biometeorology (INO BIO; Figure 1). Details on mask design, system operation, and sensors resolution were given in earlier reports (Maia et al., 2014; Camerero et al., 2016; De Melo Costa et al., 2017). Prior to the start data recording, all span and zero calibrations in the system were performed; analyzers (O_2 , CO_2 and CH_4) were calibrated to zero using nitrogen gas (N_2) with 99.99%. To span the CH_4 analyzer was calibrated with N_2 gas with 99% of concentration and 1% of CH_4 . While the O_2 analyzer was calibrated with atmosphere air, being fixed at 20.95 % for oxygen. Finally, the carbon dioxide analyzer was calibrated with gas with concentration of 93% of N_2 and 7% of CO_2 . In addition, the spirometer calibration was made using a syringe (557, Hans Rudolph, USA, volume: 3 L) with a known volume of the air passing throughout the flow head.

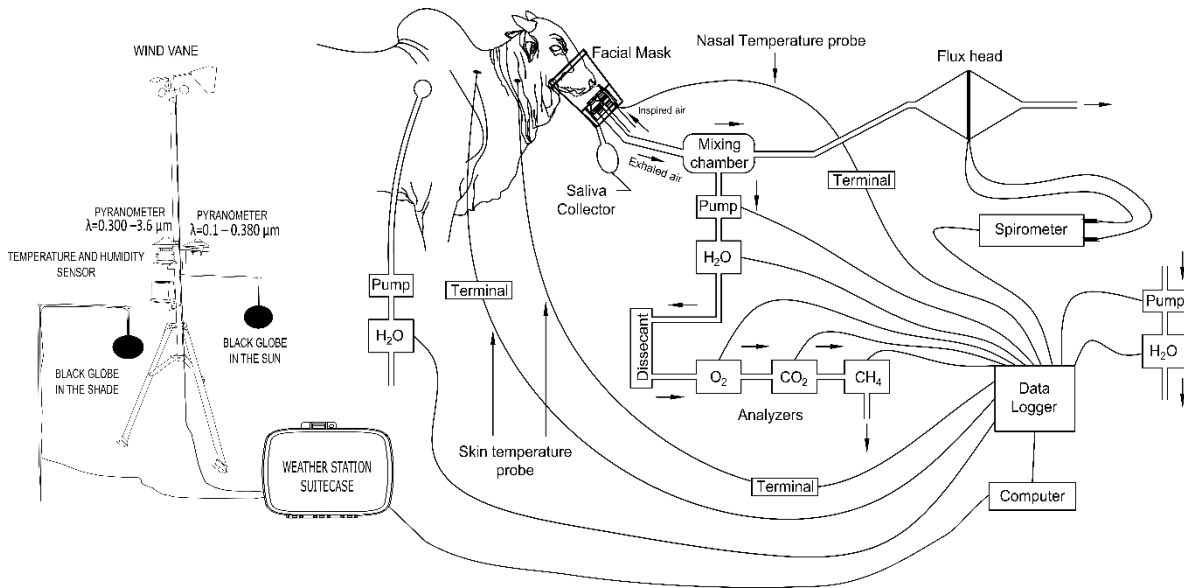


Figure 1 Design of the indirect calorimetry system coupled with weather station

Methane emission and metabolic heat production

The ventilation (V_{ESTPD} , $L \text{ day}^{-1} \text{ kg}^{-1}$), and volumes of oxygen (VO_2 , $L \text{ h}^{-1}$), carbon dioxide (VCO_2 , $L \text{ h}^{-1}$) and methane (VCH_4 , $L \text{ h}^{-1}$) were calculated according to McLean (1972), using a Haldane transformation,

$$V_{ESTPD} = \frac{V_E}{B_W} \left\{ \left[\frac{(P_P \{T_A\} - P_S \{T_{EXP}\})}{(T_{EXP} + 273.15)} \right] \left(\frac{273.15}{101.325} \right) \right\} \quad (1)$$

$$VO_2 = V_{ESTPD} \left[O_{2A} \left(\frac{1 - O_{2A} - CO_{2A} - CH_{4A}}{1 - O_{2E} - CO_{2E} - CH_{4E}} \right) - O_{2E} \right] \quad (2)$$

$$VCO_2 = V_{ESTPD} \left[CO_{2E} - CO_{2A} \left(\frac{1 - O_{2A} - CO_{2A} - CH_{4A}}{1 - O_{2E} - CO_{2E} - CH_{4E}} \right) \right] \quad (3)$$

$$VCH_4 = V_{ESTPD} \left[CH_{4E} - CH_{4A} \left(\frac{1 - O_{2A} - CO_{2A} - CH_{4A}}{1 - O_{2E} - CO_{2E} - CH_{4E}} \right) \right] \quad (4)$$

where V_{ESTPD} ($L h^{-1} kg^{-1}$) is ventilation at the standard conditions for temperature and pressure; V_E is ventilation ($L s^{-1}$); B_w is the body weight (kg); $P_P\{T_A\}$ is the atmospheric vapor pressure (kPa); $P_S\{T_{EXP}\}$ is saturation pressure at exhaled air (kPa); T_{EXP} is the exhaled air temperature ($^{\circ}C$); O_{2E} and O_{2A} are the proportion of expired and inspired oxygen; CO_{2E} and CO_{2A} are the proportion of expired and inspired carbon dioxide; CH_{4E} and CH_{4A} are the proportion of expired and inspired methane, respectively. The conversion from $L h^{-1} kg^{-1}$ to $g h^{-1} kg^{-1}$ was performed using the "Ideal Gas Law" ($PV=nRT_A$), which P_{atm} is the local atmospheric pressure (atm); $R = 0.082 \text{ atm L mol}^{-1} K^{-1}$ (universal gas constant), $n = 1.0 \text{ mol}$ (number of moles) and T_A (K) is the ambient air temperature. Thus, from the molecular mass of CH_4 ($m_{CH_4} = 16g$), the enteric methane emission (e_{CH_4} ; $g h^{-1} kg^{-1}$) was calculated as follow:

$$e_{CH_4} = 3600 \frac{V_{CH_4} P_{atm} m_{CH_4}}{R T_A} \quad (4)$$

The metabolic heat production (q''_{met} , $W kg^{-1}$) was calculated in accordance with the equation of DaSilva and Maia (2013), adapted from Brouwer (1965) and McLean (1972):

$$q''_{met} = \frac{16180V_{O_2} + 5160V_{CO_2} - 2420V_{CH_4}}{B_w} \quad (5)$$

Skin temperature (T_{EP} , °C) and hair coat temperature (T_S , °C) were measured using a sensor (MLT422A, ADInstruments, Australia; accuracy: ± 0.3 °C) as was described in Camerero et al. (2016), the same was done for the rectal temperature (T_R , °C). The exhaled air temperature (T_{EXP} , °C) was measured using a sensor inside the mask, in front of the nostrils, how was described in Camerero et al. (2016) and de Melo Costa et al. (2017) (Figure 1).

Statistical analysis

The program used to analyze the data was Statistical Analyses System (SAS Institute, 1995). Data were analyzed by the least-squares method for the mathematical model from the General Linear Model procedure used to describe the variables was:

$$Y_{ijklm} = \mu + Q_i + R_j + (QR)_{ij} + D_k(QR)_{ij} + A_L + H_m + e_{ijklm}$$

which Y_{ijklm} is a m^{th} observation of the variables; Q is the fixed effect of i^{th} period ($i=1$ and 2); R is the fixed effect of j^{th} replication ($j=1, 2, 3, 4$); interaction between i^{th} period and j^{th} replication; D is the fixed effect of the k^{th} sample day ($k=1, 2, 3, \dots, 12$) within i^{th} period and j^{th} replication; A is the random effect of the L^{th} animal ($j = 1, \dots, 6$); H is the fixed effect of the m^{th} hour ($m= 1, 2, 3, \dots, 22, 23, 24$); e_{ijkLm} is the residual term, including the random error, which was assumed to be

independent and distributed identically; μ is the overall mean. Pearson correlations were also tested between all variables studied.

Results

The solar irradiance (G_s) ranged from 0 to 800 W m^{-2} , which means that the ultraviolet band accounted for close to 6 % of solar irradiance. Such variation reflected an amplitude around $10 \text{ }^\circ\text{C}$ of the ambient air temperature (T_A), ranging from 20.57 ± 0.07 to $30.86 \pm 0.07 \text{ }^\circ\text{C}$ at 04:00 and 13:00 hours, respectively, following an inverse relationship ($r = -0.97$; $P < 0.0001$) with relative humidity (R_H) (Figure 2). Black globe temperature inside the room (T_{Gin}) showed similar distribution of T_A ; nevertheless, in response to the effect of direct and diffuse solar radiation, black globe temperature measured outside the facility showed peak of $40 \text{ }^\circ\text{C}$ at 14:00 h. Despite a large amplitude of the thermal environment (Figure 2), volume of methane produced (V_{CH_4}) did not relation with lowest or largest levels of T_A , R_H and G_s , as confirmed by weak Person correlation with solar irradiance ($r = 0.37$; $P = 0.1826$); moderate with ambient air temperature ($r = 0.54$; $P = 0.0062$) and relative humidity ($r = -0.51$; $P = 0.0101$).

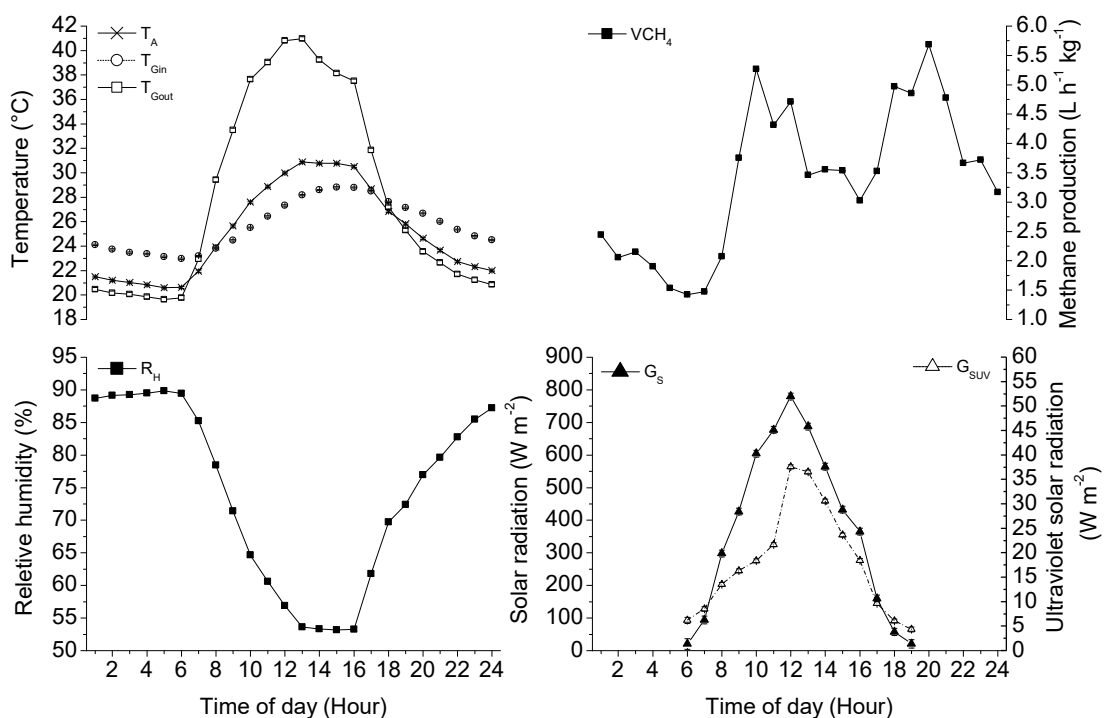


Figure 2 Least square mean (\pm SEM) of air temperature (T_A , °C), black globe temperature inside (T_{Gin} , °C) and outside (T_{Gout} , °C), relative humidity (RH, %), volume of methane (VCH_4 , $L h^{-1}$) and solar radiation (G_s , $W m^{-2}$) and ultraviolet solar radiation (G_{suv} , $W m^{-2}$). Values of VCH_4 were multiply by 1000 for better view in the figure.

During the experimental period, feed was offered to the cattle at 07:00 and 17:00 in similar portions. The first peak of VCH_4 occurred at 10:00 h ($0.005 L h^{-1} kg^{-1}$), followed by a gradual decline to $0.003 L h^{-1} kg^{-1}$ until the next feeding. After that, increased until 20:00 h with values of $0.006 L h^{-1} kg^{-1}$, decreasing again to $0.001 L h^{-1} kg^{-1}$ at 06:00 h (Figure 3). The largest ($P < 0.0001$) VCH_4 were observed three

hours after the feeding stations (morning and afternoon), and the lowest was found ten hours after the second feeding time, on average.

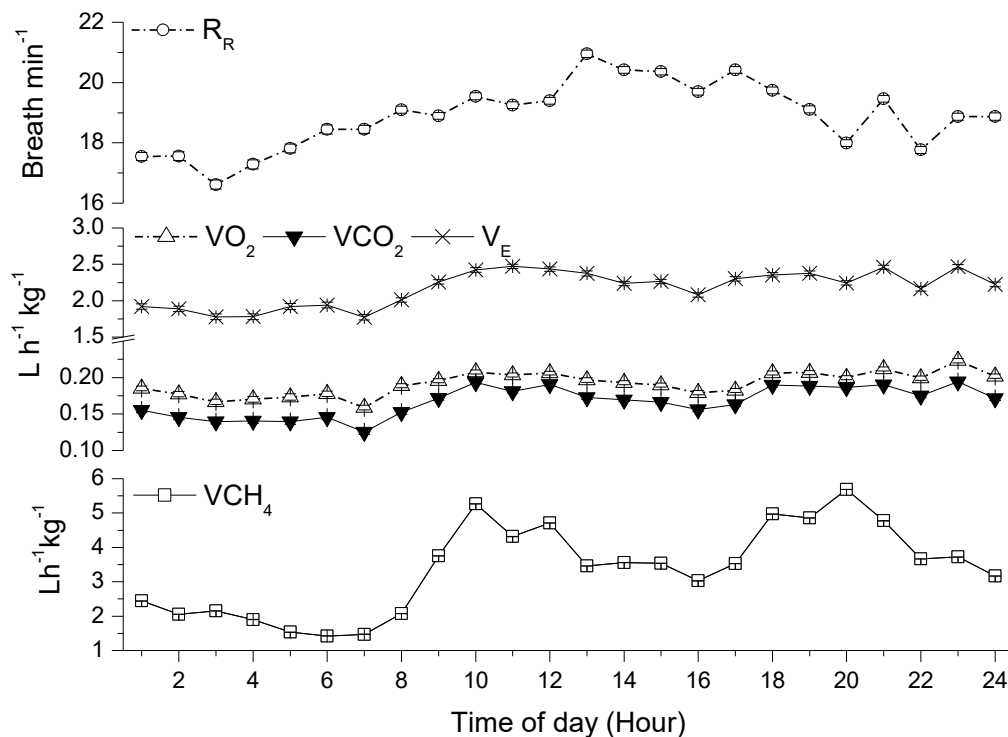


Figure 3 Least squares means (\pm standard error mean) of the volumes ($\text{L h}^{-1} \text{kg}^{-1}$) of O_2 consumed; CO_2 and CH_4 produced, respiratory rate (R_R , breaths min^{-1}), and ventilation (V_E , L s^{-1}) of Nellore cattle according to the hour of the day. Values of VCH_4 were multiply by 1000 for better view in the figure.

Ventilation and consequently gases exchanges has a direct relationship with ambient thermal load (Maia et al., 2016). In this view, as the methane is exhaled throughout the superior respiratory tract, an increase in respiration rate can alter

the patterns of daily CH₄ emission. Nevertheless, according to our findings, the range of meteorological conditions caused weak changes (Figure 3) in respiratory rate (R_R) and ventilation (V_E) of Nellore cattle, resulting in non-significant correlations with VCH₄ for R_R (r = 0.44 and P = 0.03), but a significant and positive correlation for V_E (r = 0.85 and P < 0.0001). Despite positive correlation with T_A (r = 0.84; P < 0.0001), largest and minimal R_R was 21 and 16 breaths min⁻¹, observed at 03:00 h and 14:00 h, respectively. Similar pattern, but in a different magnitude, was seen with VO₂ and VCO₂ (Figure 3). As observed with VCH₄, consumption of O₂ and CO₂ output had gradual increases after feeding stations; indeed, they were highly correlated with VCH₄ (r = 0.81 and r = 0.93 respectively; P < 0.0001).

In the present study, an exponential curve (Figure 4) was fitted to predict the VCH₄ of Nellore cattle as a function of VCO₂ (R² = 0.87) and VO₂ (R² = 0.69); the best fit for VCO₂ is expected due these two gases are emitted from the same source, i.e. through methanogenesis in the rumen and CO₂ from respiration.

Our findings showed that a daily CH₄ emission per animal was estimate in 0.003 L h⁻¹ kg⁻¹ (VCH₄) or 0.002 g h⁻¹ kg⁻¹ (eCH₄). Indeed that distinct rates of enteric CH₄ emission may be attributed to a number of interacting factors including differences in dietary treatment, age, measurement strategies and techniques, and physiological status (steers, heifers, mature cattle, and lactating animals).

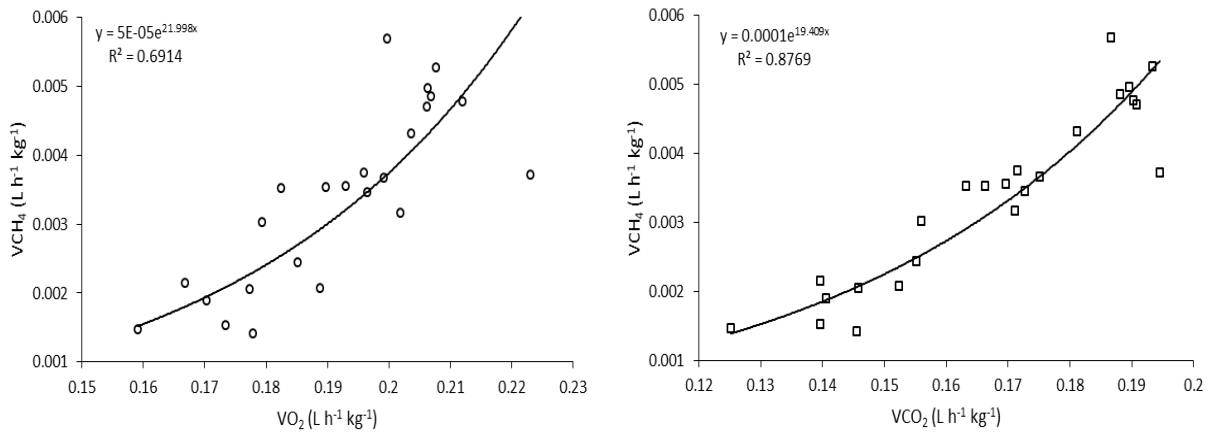


Figure 4 Least-square means of volume of methane exhaled (VCH_4 , $L h^{-1} kg^{-1}$) as a function of the least square means of VCO_2 ($L h^{-1} kg^{-1}$) and VO_2 ($L h^{-1} kg^{-1}$) by Nellore cattle.

The q''_{met} present a mean of $1.09 \pm 0.09 W kg^{-1}$ and followed similar pattern of eCH_4 and VCH_4 throughout the 24 hours ($r = 0.85$; $P < 0.0001$; Figure 5), and this relationship help us to understand discrepant values when we compare results of the present investigation to those observed in previous findings with Nellore cattle. Skin temperature and hair coat temperature showed a positive correlation with methane emission ($r = 0.66$ and 0.62 ; $P < 0.000$ and $P = 0.0004$, respectively). The highest values of methane emission overlap with T_{EP} and T_S (Figure 5), however they do not have the same pattern. Both temperatures do not present a strong correlation with q''_{met} ($r = 0.51$ and $P = 0.01$; $r = 0.44$ and $P = 0.03$, respectively). But these temperatures are strongly influenced by meteorological conditions, as air temperature with correlations of 0.80 and 0.79 ($P < 0.0001$), respectively. The same occurs with T_{EXP} , that was highly influenced by T_A ($r = 0.90$, $P < 0.0001$) and

moderately by $e\text{CH}_4$ ($r=0.62$, $P=0.001$), presenting an average of 30.10 ± 0.06 °C. T_R showed a circadian pattern, with higher values from 17:00 h (Figure 6) but was not influenced by the methane emission ($r= 0.52$, $P=0.008$). However, unlike the others T_R did present an influence by meteorological conditions, the correlations with T_A , H_R and T_{Gin} , for example, were -0.01 , 0.05 and 0.33 ($P=0.01$, 0.08 , 0.10) respectively.

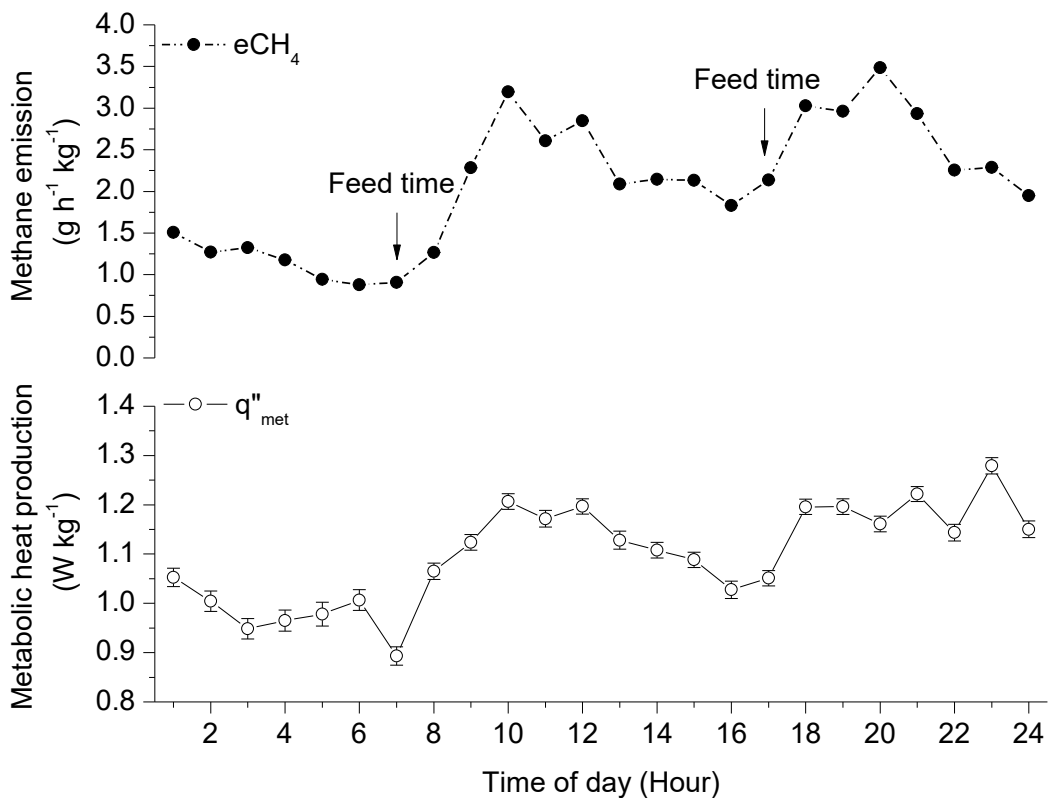


Figure 5 Least squares mean (\pm SEM) of metabolic heat production (q''_{met}) and methane emission ($\text{g h}^{-1} \text{kg}^{-1}$) of Nellore cattle. Values of $e\text{CH}_4$ were multiply by 1000 for better view in the figure.

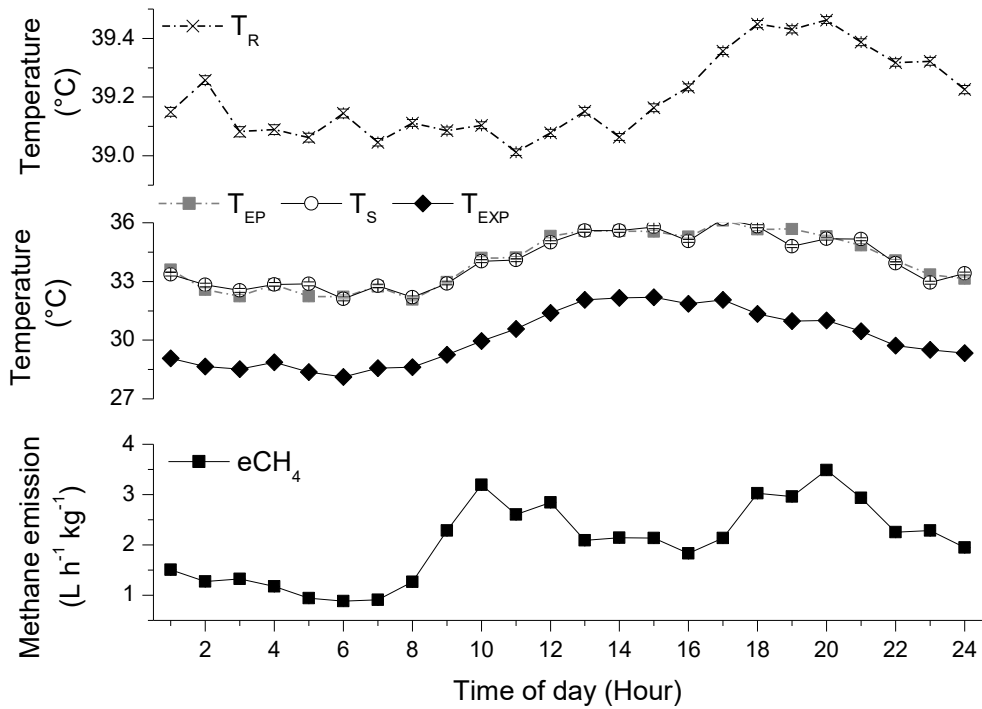


Figure 6 Least squares mean (\pm SEM) of skin temperature (T_{EP} , °C), hair coat temperature (T_S , °C), exhaled air temperature (T_{EXP} , °C), rectal temperature (T_R , °C) and methane emission ($g\ h^{-1}\ kg^{-1}$) of Nellore cattle. Values of eCH_4 were multiply by 1000 for better view in the figure.

Discussion

The relationship between VCH_4 and feed time is consistent with the findings of Crompton et al. (2011) who examined the effect of feeding at different intervals on pattern of methane emission by lactating dairy cows. They described an asymmetrical shape exhibiting a continuous rise to a peak followed by a period of

linear decline; also, when the cows were fed twice daily, peak of methane exhaled occurred around 140 min post-prandially period, on average. Similarly, Hünenberg et al. (2015) observed that when heifers were fed diets to facilitate growth their methane emission increased immediately after feeding, but the peak was reached 8 h post-feeding.

Feed intake is the primary driver of CH₄ production (Yan et al., 2010), which the feeding regime determine the availability of fermentable substrate at the rumen over the time, and therefore, appears as the main source of variation on the daily enteric CH₄ emissions profiles (Ramirez Restrepo et al., 2016; Andreini et al., 2017). From the present investigation, daily variations of enteric methane emission of Nellore cattle seems have been weakly influenced by the thermal environment, being strongly associated to the time that feed was offered. The most of surveys were conducted under controlled environment as in respiratory chambers (Jonker et al., 2014; Oss et al., 2016; Andreini et al., 2016) or under grazing system, but using the sulfur hexafluoride (SF₆) tracer gas technique (Cota et al., 2014; Menezes et al., 2016; San Vitto et al., 2016), which does not allow to assess the daily pattern of enteric CH₄ emission.

Indeed, the indirect effect of ambient air temperature on CH₄ eliminated to the atmosphere by housed cattle has been investigated from infrared spectroscopy (OP-FTIR) techniques (Ngwabie et al., 2011); for example, these authors reported a decrease in the dairy cow activity with increasing daily indoor air temperature,

resulting in a lower methane emission to the environment; but manure, flatus and enteric methane sources were considered on this finding.

Alternative approaches have been proposed to predict CH₄ emissions of feedlots by modeling CO₂ production (Madsen et al., 2010). Bai et al. (2014) fitted a good function ($R^2 > 0.90$) to estimate CH₄ losses from CO₂ expelled in the Australia southern and northern intensive feedlot finishing systems. Such prediction was performed based on enteric fermentation (CH₄ and CO₂) and respiration (CO₂) as the main sources of these gases. In this study, we also found a good relationship between CO₂ and CH₄.

The daily emission rates are comparable to reported by Oss et al. (2016) for crossbred (Holstein x Gyr) 10 month old bulls (LW = 155.2 ± 5.6 kg) fed at 1.2 % of the LW on DM basis, which mean enteric CH₄ losses (g day⁻¹ kg⁻¹) was approximately 0.013 0.014 and 0.012 for trials using SF₆ gas tracer technique, ventilated face mask, and respiratory chambers, respectively. Similarly, from approach of CH₄/CO₂ ratio, Bai et al. (2014) verified enteric CH₄ emission between 0.003 and 0.002 L h⁻¹ kg⁻¹ from Australia feedlots. Beauchemin and McGinn (2005) determined emissions of Angus heifers ranging from 0.007 to 0.021 g h⁻¹ kg⁻¹ fed a growing diet. However, specifically for Nellore cattle and other *Bos indicus* genotypes, surveys have been reported largest daily estimations of enteric methane emission (Kurihara et al., 1999; Fiorentini et al., 2014; Cota et al., 2014; Menezes et al., 2016; San Vitto et al., 2016).

Data recorded on enteric methane emission in a confinement-type respiration chamber for growing (LW= 366 kg) Brahman cattle (*Bos indicus*) fed three different diets ranged from 0.012 to 0.029 g h⁻¹ kg⁻¹ (Kurihara et al., 1999). According to Cota et al. (2014), young 13 month Nellore cattle presented CH₄ emission between 0.012 and 0.011 g h⁻¹ kg⁻¹, for subjects fed with corn silage and on grazing system, respectively. Furthermore, Menezes et al. (2016) tested the effect of three levels of crude protein (10, 12 and 14%) on enteric CH₄ yielded by 20-mo-old Nellore bulls (264 ± 5.4 kg LW), observing range from 0.023 to 0.026 g h⁻¹ kg⁻¹.

For instance, metabolism calculated of the Nellore animals (2.74 W kg⁻¹) from Menezes's et al. (2016) study was nearly to 1.65 W kg⁻¹ greater than the mean q^{''}_{met} of the present work, which reflected in an eCH₄ five times higher. In addition, similarly to the scenarios verified in the most Brazilian studies on this topic, these animals were young and fed *ad libitum* diets, collected from the SF₆ technique. Daily enteric methane emissions from animals fed *ad libitum* diet can be almost 30 % higher than those managed with restrict feeding regimes (Andreini et al., 2017). About the technique used, studies have confirmed that determination of daily enteric CH₄ losses performed using the SF₆ tracer gas, open circuit of indirect calorimetry systems from respiratory chambers or ventilated face device bring similar results (Ramírez-Restrepo et al., 2016; Oss et al., 2016; Andreini et al., 2017). Thus, it's seems that this factor is not a significant source of variation for estimative of daily CH₄ emissions (g h⁻¹ kg⁻¹) from cattle. The SF₆ technique,

however, has a limitation in not providing information about daily variations and peaks in emissions, as well as its relationship with other respiratory gases.

In this was not possible to set up a relationship between body surface temperatures and methane emission, because the temperatures are more related with meteorological conditions. The same was found in Maia et al. (2017) working with Jersey in similar meteorological conditions.

Conclusions

The open indirect calorimetry system using a non-ventilated facial device provided a viable option for the accurate estimation of the daily pattern of enteric CH₄ production of a *B.indicus* breed of beef cattle in a sub-tropical environment and its association with O₂ consumption and CO₂ output. Nellore cattle consumed approximately 4.60 L day⁻¹ kg⁻¹ of oxygen, and produced nearly to 4.00 and 0.08 L day⁻¹ kg⁻¹ of CO₂ and CH₄, respectively. Enteric methane emission of housed 30-month-old Nellore cattle fed at requirement maintenance on DM basis is nearly 0.05 g day⁻¹ kg⁻¹, corresponding to approximately 0.21 CO₂eq per day. eCH₄ in this situation was not influenced by meteorological conditions, but by feeding time and showed a strong correlation with metabolic heat production.

Acknowledgement

This study was supported by São Paulo Research Foundation (FAPESP), process number 2014/11170-7 and 2014/09639-7.

Declaration of interest

The authors of this paper certify that they have no conflict of interest.

Ethics statement

This experiment was approved by the Ethics, Bioethics, and Animal Welfare Committee of São Paulo State University (Unesp) – School of Agricultural and Veterinarian Sciences (process number 8410/15).

References

- Andreini EM, Calvo-Lorenzo MS, Richards CJ, White JE and Place SE 2017. Technical note: valuation of an enteric methane emissions measurement system for cattle¹. *Journal of Animal Science* 95, 2481–2487.
- Bai M, Griffith DWT, Phillips FA, Naylor T, Muir SK, McGinn SM and Chen D 2016. Correlations of methane and carbon dioxide concentrations from feedlot cattle as a predictor of methane emissions. *Animal Production Science* 56, 108.
- Beauchemin KA and McGinn SM 2005. Methane emissions from feedlot cattle fed barley or corn diets¹. *Journal of Animal Science* 83, 653–661.
- Brosh A 2007. Heart rate measurements as an index of energy expenditure and energy balance in ruminants: A review¹. *Journal of Animal Science* 85, 1213–1227.
- Brouwer E 1970. In *Energy Metabolism* (eds. KL Blaxter Editor), pp. 441.

Academic Press, London.

Camerro LZ, Maia ASC, Neto MC, Costa CC de M and Castro PA 2016. Thermal equilibrium responses in Guzerat cattle raised under tropical conditions.

Journal of Thermal Biology 60, 213–221.

Cota OL, de Figueiredo DM, Branco RH, Magnani E, do Nascimento CF, de Oliveira LF and Mercadante MEZ 2014. Methane emission by Nellore cattle subjected to different nutritional plans. *Tropical Animal Health and Production* 46, 1229–1234.

de Melo Costa CC, Maia ASC, Nascimento ST, Nascimento CCN, Neto MC and de França Carvalho Fonsêca V 2017. Thermal balance of Nellore cattle.

International Journal of Biometeorology.

Crompton LA, Mills JAN and Reynolds CK 2010. Effect of feeding frequency and replacing calcium salts of palm oil with crushed rapeseed or coconut oil on methane emissions in lactating dairy cows. *Proceedings of the Nutrition Society* 69.

Crompton LA, Mills JAN, Reynolds CK and France J 2011. Fluctuations in methane emission in response to feeding pattern in lactating dairy cows. In *Modelling nutrient digestion and utilisation in farm animals* (eds. D. Sauvant, J. Van Milgen, P. Faverdin and N. Friggens), pp. 176–180. Wageningen Academic Publishers, Wageningen.

daSilva RG and Maia ASC 2013. *Principles of animal biometeorology*. New York: Springer.

- Fiorentini G, Carvalho IPC, Messana JD, Castagnino PS, Berndt A, Canesin RC, Frighetto RTS and Berchielli TT 2014. Effect of lipid sources with different fatty acid profiles on the intake, performance, and methane emissions of feedlot Nellore steers¹. *Journal of Animal Science* 92, 1613–1620.
- Grandin T 1993. Behavioral agitation during handling of cattle is persistent over time. *Applied Animal Behaviour Science* 36, 1–9.
- Hünerberg M, McGinn SM, Beauchemin KA, Entz T, Okine EK, Harstad OM and McAllister TA 2015. Impact of ruminal pH on enteric methane emissions¹. *Journal of Animal Science* 93, 1760–1766.
- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) 1996. Revised IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories, Workbook, 2, Module 4, Agriculture.
- Johnson KA and Johnson DE 1995. Methane emissions from cattle. *Journal of Animal Science* 73, 2483–2492.
- Jonker A, Molano G, Antwi C and Waghorn G 2014. Feeding lucerne silage to beef cattle at three allowances and four feeding frequencies affects circadian patterns of methane emissions, but not emissions per unit of intake. *Animal Production Science* 54, 1350–1353.
- Kurihara M, Magner T, Hunter RA and McCrabb GJ 1999. Methane production and energy partition of cattle in the tropics. *British Journal of Nutrition* 81, 227–234.
- Latawiec AE, Strassburg BBN, Valentim JF, Ramos F and Alves-Pinto HN 2014.

Intensification of cattle ranching production systems: socioeconomic and environmental synergies and risks in Brazil. *animal* 8, 1255–1263.

Madsen J, Bjerg BS, Hvelplund T, Weisbjerg MR and Lund P 2010. Methane and carbon dioxide ratio in excreted air for quantification of the methane production from ruminants. *Livestock Science* 129, 223–227.

Maia ASC, Gebremedhin KG, Nascimento ST, Carvalho MD, Simão BR, Camarro LZ and Chiquitelli Neto M 2014. Development of Facial Masks for Indirect Calorimetric Studies for Livestock. pp. 1–4. American Society of Agricultural and Biological Engineers.

Maia ASC, Nascimento ST, Nascimento CCN and Gebremedhin KG 2016. Thermal equilibrium of goats. *Journal of Thermal Biology* 58, 43–49.

Maia ASC, Nascimento ST, Carvalho MD, Fonsêca VFC, Pinheiro MG 2017. Enteric methane emission of Jersey dairy cows: an investigation on circadian pattern. In *Proceedings of the 21st International Congress of Biometerology*, 3-6 September 2017, Durham, United Kingdom, pp. 100–104.

Mazzetto AM, Feigl BJ, Schils RLM, Cerri CEP and Cerri CC 2015. Improved pasture and herd management to reduce greenhouse gas emissions from a Brazilian beef production system. *Livestock Science* 175, 101–112.

McLean JA 1972. On the calculation of heat production from open-circuit calorimetric measurements. *British Journal of Nutrition* 27, 597.

Menezes ACB, Valadares Filho SC, Costa e Silva LF, Pacheco MVC, Pereira JMV, Rotta PP, Zanetti D, Detmann E, Silva FAS, Godoi LA and Rennó LN 2016.

Does a reduction in dietary crude protein content affect performance, nutrient requirements, nitrogen losses, and methane emissions in finishing Nellore bulls? *Agriculture, Ecosystems & Environment* 223, 239–249.

Molano G, Clark H, Knight TW and Cavanagh A 2006. Methane emissions from growing beef cattle grazing hill country pasture. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 66, 172-175.

Ministry of Science, Technology and Innovation MCTI - Brazil 2016. Secretariat of Policies and Programs of Research and Development. General Coordination of Global Climate Change. Third National Communication of Brazil to the United Nations Framework Convention on Climate Change – Volume III/ Ministry of Science, Technology and Innovation. Brasília: Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação.

Ngwabie NM, Jeppsson K-H, Gustafsson G and Nimmermark S 2011. Effects of animal activity and air temperature on methane and ammonia emissions from a naturally ventilated building for dairy cows. *Atmospheric Environment* 45, 6760–6768.

Oss DB, Marcondes MI, Machado FS, Pereira LGR, Tomich TR, Ribeiro GO, Chizzotti ML, Ferreira AL, Campos MM, Maurício RM, Chaves AV and McAllister TA 2016. An evaluation of the face mask system based on short-term measurements compared with the sulfur hexafluoride (SF₆) tracer, and respiration chamber techniques for measuring CH₄ emissions. *Animal Feed Science and Technology* 216, 49–57.

- Primavesi O, Frighetto RTS, Pedreira M dos S, Lima MA de, Berchielli TT and Barbosa PF 2004. Dairy cattle enteric methane measured in Brazilian tropical conditions. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 39, 277–283.
- Ramírez-Restrepo CA, Tan C, O’Neill CJ, López-Villalobos N, Padmanabha J, Wang J and McSweeney CS 2016. Methane production, fermentation characteristics, and microbial profiles in the rumen of tropical cattle fed tea seed saponin supplementation. *Animal Feed Science and Technology* 216, 58–67.
- Ramírez-Restrepo CA, O’Neill CJ, López-Villalobos N, Padmanabha J, Wang JK and McSweeney C 2016. Effects of tea seed saponin supplementation on physiological changes associated with blood methane concentration in tropical Brahman cattle. *Animal Production Science* 56, 457.
- SAS Institute 1995. User’s guide: statistics. Version 6. (10 edition). SAS Institute Inc., Cary, NC. 295.
- San Vito E, Lage JF, Messana JD, Dallantonia EE, Frighetto RTS, Reis RA, Neto AJ and Berchielli TT 2016. Performance and methane emissions of grazing Nellore bulls supplemented with crude glycerin¹. *Journal of Animal Science* 94, 4728–4737.
- Storm IMLD, Hellwing ALF, Nielsen NI and Madsen J 2012. Methods for Measuring and Estimating Methane Emission from Ruminants. *Animals* 2, 160–183.
- Yan T, Mayne CS, Gordon FG, Porter MG, Agnew RE, Patterson DC, Ferris CP and Kilpatrick DJ 2010. Mitigation of enteric methane emissions through

improving efficiency of energy utilization and productivity in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 93, 2630–2638.