

Karen Brigitte Diaz Magaña

Pulso de oxigênio para determinação da produção de calor em vacas leiteiras

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Produção Animal Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Produção Animal.

Área de Concentração: Produção animal.

Linha de Pesquisa: Nutrição e alimentação animal

Orientador: Dsc. Amália Saturnino Chaves

Co-orientador (es): Dsc. Luciana Castro Geraseev

MONTES CLAROS

2019

Diaz, Karen Brigitte Magaña.

D542p Pulso de oxigenio para determinacao da producao de calor em vacas
2019 leiteiras / Karen Brigitte Diaz Magaña. Montes Claros, 2019.

40 f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Área de concentração em Ciência Animal,
Universidade Federal de Minas Gerais / Instituto de Ciências Agrárias.

Orientador: Prof.^a. Amália Saturnino Chaves.

Banca examinadora: Luciana Castro Geraseev, Luiz Gustavo Ribeiro
Pereira, Almira Biazon França

Inclui referências: f. 20-25.; 33-35.

1. Bovino. 2. Oxigênio. 3. Batimento cardíaco. I. Chaves, Amália
Saturnino (Orientador). II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto
de Ciências Agrárias. III. Título.

CDU: 636.2.034

Elaborada pela BIBLIOTECA Universitária do ICA/UFMG

EDÉLZIA CRISTINA SOUSA VERSIANI CRB6 1349

KAREN BRIGITTE DIAZ MAGAÑA

Pulso de oxigênio para determinação da produção de calor em vacas leiteiras

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Produção Animal Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Produção Animal.
Área de Concentração: Produção animal.
Linha de Pesquisa: Nutrição e alimentação animal

Orientador: Dsc. Amália Saturnino Chaves

Aprovado pela banca examinadora constituída pelos professores:

Prof.^a Dsc. Luciana Castro Geraseev
UFMG/ICA

Pesq. Dsc. Luiz Gustavo Ribeiro Pereira
EMBRAPA GADO DE LEITE

Prof.^a Dsc. Almira Biazon França
UFJF

Prof.^a Dsc. Amália Saturnino Chaves
UFJF

Montes Claros, 10 julho de 2019.

Dedicado aos meus pais que são o princípio e o final dos meus pensamentos. Também dedicado para mim a filha Morena, que seja um exemplo do caminho que eu gostaria de ver no futuro dela. Finalmente para meu irmão mais novo Frey para demonstrar que é possível cruzar as fronteiras que limitam nossos sonhos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por ser meu guia nesse caminho e me colocar com as pessoas certas.

À minha família pelo apoio e compreensão.

Ao meu amigo e mentor, o professor Hector Magaña Sevilla pelo impulso e apoio para fazer o mestrado.

À minha orientadora, Prof^a Amalia, excelente profissional e exemplo a ser seguido. Obrigada pela paciência, amizade e por todo o tempo de orientação e oportunidades.

O meu colega e amigo, André Santos Souza, obrigada pela paciência, amizade, pelo apoio, disponibilidade e por todo o tempo de orientação e aprendizado.

Aos meus amigos, no México que acreditaram em mim e me apoiaram na minha estadia no Brasil, em especial ao Santiago Alvarado meu amigo e irmão da alma. A Eulalia Contreras, “cuatacha” pelas conversas de apoio. Ao meu novo melhor amigo Andrés Pech, pela compreensão, e por terem aturado o meu estresse.

A coordenação, secretaria e professores pertencentes ao mestrado em Produção Animal da UFMG em especial a minha co-orientadora, Prof.^a Luciana Geraseev e o Prof. Eduardo Robson pelas atenções e oportunidade de fazer parte da instituição.

Ao Brasil por me acolher durante o mestrado, a todas aquelas pessoas que me fizeram sentir em casa, colegas de mestrado e aos amigos que fiz durante o mesmo, em especial a Cláudia, João, Gabriel, Peu, Patty, Lourdes, Sara, Thiago, Matheus, Rafael, Igor, Diego, João Sacramento, Rebeca, Lais, Carol, Gisele, Layanne, Rafael Menezes, Abias, Dodô, Paulo, Del, Brenda e Palas com quem compartilhei gratas experiências. Também agradeço a todas aquelas pessoas extraordinárias que ajudaram no meu caminho pelo Brasil deixando a marca deles no meu coração.

Ao governo do México mediante o Conselho Nacional de Ciência e Tecnologia (CONACYT) em colaboração com o Grupo Coimbra de Universidades Brasileiras (GCUB) e o Programa de Bolsas de Pós-graduação em Pecuária e Agricultura Tropical Brasil-México (PROPAT-BRASIL-MÉXICO) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu país México, pelos programas e oportunidades que permitem o crescimento acadêmico e pelo constante resguardo e apoio fora de nossa pátria.

A EMBRAPA Gado Leite e todas aquelas pessoas que facilitaram o estágio e recursos materiais e intelectuais para fazer a pesquisa. Aos pesquisadores Luiz R. Pereira, Thierry Ribeiro e Fernanda Machado pela ajuda e oportunidade de crescer com o ensinado.

E a todos que acreditaram na minha capacidade, me dando suporte e forças para crescer cada dia mais, além de terem me ajudado mesmo que indiretamente. Meu muito obrigada! Sem vocês nada disso seria possível!

“Educação é a inimiga número um dos ignorantes e dos governantes tiranos. É o pilar básico de um país enorme. É quem leva oportunidade para os lugares mais distantes. É a força capaz de mudar o mundo. É mais do que conhecimento decorado e provas objetivas. É o que faz o ser humano evoluir. É aquilo que sobrevive graças a corajosos. É quem faz mais do que abrir olhos, faz eles brilharem” (João Doederlein).

LISTA DE ABREVIATURAS

O₂P	Pulso de oxigênio
CO₂	Dióxido de carbono
FC	Frequência cardíaca
O₂	Oxigênio
PC	Peso corporal
PC^{0,75}	Peso corporal metabólico
PCE	Produção de calor estimado
PCE_{CR}	Produção de calor estimado na câmara respirométrica
PCE_{O₂P}	Produção de calor estimado com o método de O ₂ P
REML	Máxima verossimilhança restrita
EHP	Estimate heat production
EHP_{RC}	Estimate heat production with respirometry chamber
EHP_{O₂P}	Estimate heat production with oxygen pulse
HR	Heart rate
O₂P	Oxygen pulse
VO₂	Volume de oxigênio
VO₂	Oxygen consumption
bpm	Batimento por minuto
bat	Batimento

RESUMO

Objetivou-se avaliar a eficiência da metodologia do pulso de oxigênio (O₂P) em diferentes tempos de mensuração utilizando câmara respirométrica para estimar a produção de calor em vacas leiteiras. Utilizou-se 11 vacas leiteiras (seis da raça Holandesa e cinco vacas ¾ Holandes x ¼ Gir) com uma média de 100 dias de lactação e produção média de leite 23 kg/dia e média 576,5 ± 70 kg de peso. A produção de calor foi estimada usando a metodologia da câmara respirométrica (PCE_{CR}) e do pulso de oxigênio (PCE_{O₂P}), na qual a frequência cardíaca (FC) foi monitorada por quatro dias consecutivos. O O₂P foi obtido pela medida simultânea da FC e do consumo de oxigênio durante 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 e 24 horas em dois dias consecutivos. Duas câmaras respirométrica de fluxo aberto para grandes ruminantes foram empregadas para determinar o consumo de oxigênio (VO₂) e a produção de dióxido de carbono. Os dados foram analisados como medidas repetidas, com a metodologia de modelos mistos pelo procedimento através PROC MIXED do SAS® (versão 9.0) e a máxima verossimilhança restrita (REML). A variação entre PCE_{CR} e PCE_{O₂P} foi de 10% e foi observada uma correlação de 70,6% entre as duas metodologias (P = 0,03). FC e O₂P apresentaram diferença (P <0,05) até três horas de mensuração. O VO₂ apresentou diferença apenas às 9 e 12 horas do tempo de mensuração (P <0,05). O uso da metodologia O₂P para determinar a produção de calor tem alta correlação com a metodologia da câmara respirométrica. No entanto, é necessário um mínimo de 3 horas de avaliação para obter uma estimativa mais precisa.

Palavras-chave: Consumo de oxigênio; Câmara respirométrica; Girolando; Holandes; Frequência cardíaca.

ABSTRACT

The objective of this study was evaluating the efficiency of the oxygen pulse (O₂P) methodology at different measurement times, using a respirometry chamber to estimate heat production in dairy cows. were used eleven dairy cows, (Six of breed Holstein and five ¾ Holstein x ¼ Gyr) with a mean of 100 lactating days, milk production of 23 kg/day and 576.5 ± 70 kg of body weight. A heat production was estimate using the respirometry chamber (EHP_{RC}) and oxygen pulse (EHP_{O₂P}) methodology, in which heart rate (HR) was monitored for 4 consecutive days. Oxygen pulse was obtained by simultaneously measuring of HR and oxygen consumption (VO₂) during 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 and 24 hours in two consecutive days. Two open flow respirometry chamber for big ruminants was employed to determine VO₂ and carbon dioxide production. Data were analysis of repeat measurements, with the methodology of mix models through the PROC MIXED of SAS® (version 9.0) and the maximum restrained likelihood (REML) as the estimation method. Variation between estimate heat production EHP_{RC} and EHP_{O₂P} was of 10% and was founded a correlation of 70.6% between methodologies. (P=0.03). HR and O₂P showed difference (P<0.05) at time of three hours. VO₂ showed difference just at 9 and 12 hours of measurements time (P<0.05). The use of the O₂P methodology to determine the heat production has a high correlation with the respirometry chamber methodology. However, a minimum of 3 hours of evaluation is necessary to obtain a more accurate estimate.

Keywords: Oxygen consumption; Respirometry chamber; Girolando; Holstain; Heart rate.

LISTA DE FIGURAS

Figure 1. Pearson correlation between estimate heat production with O ₂ pulse methodology (EHP _{O₂P} Kcal/MBW) and estimate heat production with respirometry chamber methodology (EHP _{RC} kcal/MBW). MBW= metabolic body weight	36
---	----

LISTA DE TABELAS

Table 1. Ingredients and composition of experimental diet	37
Table 2. Mean, standard deviation, minimum and maximum of heart rate, oxygen consumption and estimate heat production in dairy cows	36
Table 3. Akaike Corrected Information Criteria (AICC) values for the choice of the best structure for the variance and covariance matrix of the variables along the times modeled for HR, VO ₂ , O ₂ P and HP	38
Table 4. Variation of HR _{RC} , VO ₂ , O ₂ Pulse and EHP _{O₂P} in dairy cows (n = 11), expressed as the difference between the mean of the measurement in each time studied and that obtained for 24 hours in day 1, and the difference between the mean of the day 1 and day 2	39

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	13
2.1. Objetivo geral.....	13
2.2. Objetivos específicos.....	13
3. REVISÃO DE LITERATURA	14
3.1 Metabolismo energético e produção de calor.....	14
3.2 Calorimetria indireta.....	15
3.2.1 Câmara respirométrica.....	15
3.2.2 Frequência cardíaca.....	16
3.2.2.1 Pulso de oxigênio.....	18
3.2.2.2 Períodos de mensuração do consumo de oxigênio.....	19
4 REFERÊNCIAS	20
5 ARTIGO	26
5.1 O ₂ pulse at different measurement times for determination of heat production in dairy cows.....	27
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	40

1 INTRODUÇÃO

A energia de manutenção perdida na forma de calor pode representar 70-75% do consumo total de energia em ruminantes (FERRELL; JENKINS, 1984). É por isto que têm sido investigado por muito tempo metodologias que permitam entender a relação entre dióxido de carbono e metano produzido em relação à taxa de oxigênio consumido para estimar a produção de calor (PCE) em ruminantes. No entanto, a variação deste parâmetro pode ser afetada pela qualidade e consumo do alimento, condições climáticas, o tipo e nível de produção como também pelas diferenças entre raças e indivíduos dentro de uma mesma raça.

A calorimetria mede a produção de calor no organismo e pode ser determinada de forma direta ou indireta. A calorimetria indireta quantifica os produtos provenientes do metabolismo animal como trocas gasosas com o ambiente (DIJKSTRA; FORBES; FRANCE, 2005) (consumo de oxigênio, produção de gás carbônico e metano), combinado com a excreção de nitrogênio urinário (SILVA, 2011; OSS *et al.*, 2016). O uso das metodologias de calorimetria indireta permite avaliar as exigências nutricionais de energia em bovinos sem a necessidade de serem sacrificados (SILVA, 2011).

Em condições de laboratório, a câmara respirométrica é um método acurado para determinar a PCE, porém além de ser praticado em condições artificiais, é extremamente caro e requer considerável experiência e infraestrutura, o que o torna impraticável para pequenas fazendas (RODRIGUEZ *et al.*, 2007; MACHADO *et al.*, 2016). Neste sentido, pesquisadores exploram a possibilidade de prever a produção de calor a partir da frequência cardíaca, uma vez que a maior parte de O₂ utilizado pelo animal é transportado aos tecidos pela ação do coração, órgão cuja atividade representa cerca de 10% da produção total de calor (CHAVES *et al.*, 2014). Esta metodologia é conhecida como pulso de oxigênio (O₂P) e tem sido utilizada amplamente por sua elevada praticidade, na qual o oxigênio é liberado dos pulmões para os tecidos do corpo como produto da frequência cardíaca e consumo de O₂ por batimentos cardíacos. Medições realizadas em diferentes horas do dia, sugerem diferenças na frequência cardíaca a qual depende da atividade do momento (BARKAI *et al.*, 2002) e que se traduz em uma diferença no consumo de O₂.

O uso da frequência cardíaca, sem a calibração para o volume de oxigênio consumido por batimento cardíaco, pode apresentar estimativas de baixa acurácia, no entanto a estimativa de calor estimada por este método é altamente correlacionada com a obtida na câmara respirométrica (CHAVES *et al.*, 2014; BROSH, 2007). Neste contexto, a metodologia do O₂P é eficiente na estimativa da produção de calor e é necessário menor tempo de mensuração de consumo de oxigênio, quando comparada à metodologia em câmaras respirométrica.

2 OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência da metodologia do pulso de oxigênio (O_2P) em diferentes tempos de mensuração para determinar a produção de calor, utilizando câmara respirométrica, em vacas leiteiras.

2.2. Objetivos específicos

- Correlacionar a produção de calor estimada pela câmara respirométrica com a metodologia do pulso de oxigênio.
- Estimar o tempo ideal de mensuração do oxigênio em câmara respirométrica para determinar a produção de calor pela metodologia do pulso de oxigênio.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Metabolismo energético e produção de calor

Os sistemas de recomendação de exigências se baseiam nos requerimentos de energia dos animais para atender as necessidades metabólicas (KU *et al.*, 2014; POSADA *et al.*, 2017). Os ruminantes são um grupo de animais que tem como particularidade converter alimentos ricos em celulose e hemicelulose em carne e leite dependendo do propósito produtivo no qual estão destinados, isto graças à atividade fermentativa que ocorre no rúmen (SHIMADA, 2015). O rúmen permite fermentação microbiana dos componentes dietéticos ingeridos (carboidratos, lipídeos e proteínas) onde os carboidratos são convertidos a ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), principalmente acético, butírico e propiônico, sendo absorvidos pelos ruminantes e utilizados como fonte de energia (KOZLOSKI, 2011). Conseqüentemente, esta fermentação gera produção de gases e calor, considerados como perda de energia que poderia ser aproveitada pelo animal (TEIXEIRA *et al.*, 2015).

Parte da energia bruta dos alimentos consumida pelo animal, é perdida nas fezes e é chamada de energia digestível (ED). Da ED disponível o animal perde energia na urina e produção de metano, que é chamada de energia metabolizável (EM). A partir da EM subtraída do incremento calórico ou produção de calor é possível chegar à energia líquida de manutenção e energia líquida de produção. Dentro desse processo, os sistemas de produção bovina diferem na eficiência da utilização da energia, e a partição energética em ruminantes é estudada para gerar alternativas no manejo nutricional que permita incrementar a energia retida nos produtos (MENDOZA *et al.*, 2008).

A maior parte da energia metabolizável consumida pelos ruminantes é dissipada como calor, denominada produção de calor ou gasto de energia (BROSH, 2007), sendo que no metabolismo energético, a produção de calor nos animais é determinada como produção de calor total, nas quais estão contidos o calor requerido para manutenção e o calor perdido como incremento calórico (RODRIGUEZ *et al.*, 2007). O custo energético de manutenção perdido na forma de calor pode representar de 70-75% do consumo de energia (FERREL; JENKINS, 1984) e as diferenças nas exigências de manutenção, são componentes chaves que definem as variações na eficiência entre os animais (BROSH *et al.*, 1998a).

Desta forma, pesquisas têm se dedicado a estudar as exigências nutricionais de energia em ruminantes em condições tropicais (SILVA *et al.*, 2002, 2011, 2017; BACKES, 2003; MACHADO *et al.*, 2016; OS *et al.*, 2017). Ferreira (2011) utilizando 12 novilhas não gestantes Gir e seis F1 Holandês x Gir, com peso corporal médio de 450 kg, em um estudo para determinar o fracionamento energético da exigência de energia líquida para manutenção e a eficiência de utilização da energia metabolizável para manutenção desses grupos encontrou perdas de energia nas fezes, urina e metano em média de 61%; 5,8% e 5,9% respectivamente da energia bruta (EB) ingerida para ambos grupos. Já o percentual da EB perdida como incremento calórico (IC)

da dieta foi semelhante para os dois grupos correspondendo a cerca de 18%. A energia metabolizável correspondeu a 49% da EB ingerida e a conversão da EM para energia líquida apresentou eficiência de 63%.

Outro estudo com 42 vacas em lactação avaliou o efeito de duas dietas, diferindo no teor de volumosos e na digestibilidade *in vitro* da matéria seca, sobre a taxa respiratória, temperatura corporal, o comportamento alimentar e o balanço energético. Os autores observaram que a EM e sua eficiência de utilização para produção de energia retida foi similar entre os tratamentos (121 vs 127 MJ/vaca/dia) (ADIN *et al.*, 2008).

3.2 Calorimetria indireta

A calorimetria é um ramo da física que estuda a medição de calor e suas constantes térmicas. Existem duas maneiras de se conhecer sua produção, a primeira é de forma direta, em que o calor liberado pelo animal altera a temperatura do meio (LACHICA; AGUILERA, 2008), sendo a segunda de forma indireta que permite determinar de maneira mais prática as exigências nutricionais dos animais. Na metodologia de calorimetria indireta, mensura-se as trocas gasosas, sendo eles, consumo de oxigênio e produção de dióxido de carbono (DIJKSTRA; FORBES; FRANCE, 2005).

A respirometria permite obter resultados que ajudam a determinar o efeito que a taxa de passagem, o consumo animal e a qualidade da forragem têm na produção de calor e metano entérico (TEIXEIRA *et al.*, 2015). Nessa metodologia, a energia produzida pelo organismo animal em forma de calor é determinada por médio da medição das trocas gasosas (consumo de oxigênio, produção de dióxido de carbono e metano) em combinação com o nitrogênio urinário excretado (KLEIBER, 1975).

3.2.1 Câmara respirométrica

A câmara respirométrica foi desenvolvida a partir de estudos em nutrição animal para espécies domésticas, onde por médio do isolamento de organismos em repouso eram avaliados a liberação de CO₂ e consumo de O₂, em conjunto com as excretas produzidas para calcular o calor gerado (FERRANNINI, 1988).

Este tipo de câmara pode ser composto por sistemas de circuito fechado ou aberto, sendo que em ambos os sistemas contam com controle de temperatura e umidade, e uma bomba de ar que realiza a circulação dele dentro da câmara (MACHADO *et al.*, 2016; CANUL *et al.*, 2017). A principal diferença entre os dois sistemas é que o circuito fechado não permite a entrada de ar externo dentro da câmara, sendo que uma bomba de ar realiza a circulação interna. Já no circuito aberto, ocorre entrada de ar de fora da câmara, no qual realiza-se a renovação de ar interno por um fluxo constante durante o período de medição (SILVA, 2011).

No Brasil a utilização dos estudos com calorimetria indireta para determinar as exigências nutricionais em ruminantes é recente, sendo a técnica mais utilizada a do abate comparativo. Ferreira (2014) determinou a energia líquida de manutenção em machos holandês x Gir utilizando a técnica do abate comparativo e câmara respirométrica, e observou resultados similares em ambas as metodologias. Por sua vez, Oss *et al.* (2016) utilizando câmara respirométrica de circuito aberto para avaliar 24 touros mestiços com 10 meses de idade para determinar os requerimentos de energia e proteína (Holstein x Gir) observou que a exigência de energia líquida para manutenção foi 74,8 kcal/kg PC^{0,75} por dia e a energia metabolizável para manutenção foi 120 kcal/kg PC^{0,75} por dia.

Da mesma forma, Oliveira (2017) estimou a produção de calor e emissão de CH₄ por calorimetria indireta em novilhas da raça Holandesa, Girolando e Gir, fornecendo uma dieta composta por silagem de milho e concentrado. Os animais da raça Holandesa apresentaram consumo de energia metabolizável (Kcal/kg PC^{0,75}) superiores em 9,63 e 16,52% em relação a novilhas Girolando e Gir, respectivamente. As exigências de energia líquida para manutenção (ELm) nas novilhas Holandês, Gir e Girolando obtidas foram de 83,0; 63,5 e 80,6 Kcal/kg PC^{0,75}, sendo que a de energia metabolizável de manutenção (EMm) de 130; 106 e 123 Kcal/kg PC^{0,75}, respectivamente. Com isso, o autor observou que o aumento da oferta de alimentos resultou em redução da produção de calor como proporção da energia bruta ingerida para todas as composições genéticas. Animais zebuínos ou mestiços (Holandês x Gir) não emitem maiores quantidades de CH₄ em relação a animais taurinos criadas em condições tropicais, mas possuem menor exigência de ELm e EMm. Posada *et al.* (2017) utilizaram 5 animais da raça Nelore para determinar as exigências de manutenção e ganho de peso durante a fase de crescimento e terminação. Foi estimado a produção de calor por meio de calorimetria indireta de circuito aberto com três níveis de alimentação (*ad libitum*, restrito e rápido) e 4 períodos: 210, 315, 378 e 454 kg PC). A energia exigida para manutenção por kg de peso corporal metabólico variou entre 348 e 517 kJd⁻¹ mostrando uma tendência decrescente com a idade, enquanto as exigências da energia para ganho de peso variaram entre 48,3 e 164 kJ kg⁻¹ PV. Com isso, os autores observaram que os parâmetros foram influenciados pela idade, nível de estresse e atividade do animal dentro da câmara de respirometria. Carvalho *et al.* (2018) utilizaram câmara respirométrica e não observaram diferença entre as exigências de manutenção de vacas Gir e F1 (Holandes x Gir) com 130 dias de lactação (426,6 MJ/Kg PV^{0,75}), entretanto observaram maior exigência para produção de leite nas vacas F1 pela alta produtividade em relação às vacas Gir.

3.2.2 Frequência cardíaca

A frequência cardíaca (FC) também conhecida como pulso é a medida do número de vezes que o coração bate por minuto. É um dos sinais vitais mais importantes que pode ser monitorado tanto para humanos como para animais (KOVACS *et al.*, 2013).

A frequência cardíaca nos animais é controlada por um mecanismo complexo que considera a demanda de oxigênio das células ao mesmo tempo em que garante que essa demanda é suprida pelo coração (CUNNINGHAM, 1999). Por exemplo, atividades que exigem exercício (movimento, deslocamento, corrida etc.) envolvem uma maior demanda nos músculos, maior consumo de oxigênio e, conseqüentemente, o coração tem que trabalhar mais rápido para suprir a demanda (BROSH *et al.*, 2004).

Situações que envolvem algum tipo de estresse em animais, são outra condição que pode implicar em aumento da frequência cardíaca, interpretado como medo, que também ocorre em seres humanos de forma semelhante, o corpo se prepara para uma situação de luta ou fuga e isso causa o aumento previsto na demanda de oxigênio (HOPSTER; BLOKHUIS, 1994; KOVÁCS *et al.*, 2013; COSTA *et al.*, 2018).

Dependendo da raça, idade, condição fisiológica e dieta, a frequência cardíaca pode variar entre os indivíduos (COSTA *et al.*, 2018), No entanto, a literatura apresenta uma média para bovinos adultos variando de 60 a 80 bat / min, que também pode ser afetada pelo tipo de atividade no qual o animal está exposto e a temperatura ambiente (HOPSTER; BLOKHUIS, 1994). Adin *et al.* (2008) reporta uma média de 76 batimentos por minuto em 42 vacas multíparas Holandesas em lactação avaliadas. Da forma similar Aharoni *et al.* (2003), observou uma média normal de 82,7 batimentos por minuto em 20 vacas leiteiras de alta produtividade.

Em um estudo realizado com 16 bezerros da raça Holandes entre um e 6 meses de idade criados em duas altitudes diferentes, os autores observaram que os bezerros mantidos ao nível do mar apresentaram menor frequência cardíaca em relação aos bezerros que eram criados em altitudes mais elevadas ($87,33 \pm 9,7$ bat / min x $127,40 \pm 7,52$ bat / min; $P < 0,05$). A menor frequência cardíaca em altas altitudes está associada a distúrbios causados pela baixa pressão parcial do oxigênio atmosférico, produzindo estreitamento do lúmen das artérias pulmonares (BEGAZO *et al.*, 2017).

As metodologias convencionais utilizadas para determinar a PCE em ruminantes caracterizam-se por utilizar equipamentos caros, e demandam elevado de tempo para mensuração, alterando o comportamento e condições normais de criação dos animais. Neste sentido, pesquisas tem buscado processos mais viáveis, de menor custo e tempo, capazes de mensurar a PCE por meio da frequência cardíaca (PAYNE *et al.*, 1971; WEBSTER, 1967). A utilização de frequência cardíaca (FC) como indicador de gasto energético, comumente chamado de produção de calor, em ovelhas e bovinos foi sugerido anteriormente (WEBSTER, 1967; YAMAMOTO *et al.*, 1989).

A frequência cardíaca é uma variável fisiológica de fácil mensuração e mais prática para determinar o gasto energético dos animais (BROSH, *et al.*, 1998a). Para isso existem equipamentos denominados frequencímetros que permitem realizar um monitoramento constante da FC. A correlação entre produção de calor e FC em humanos (ANDREWS, 1971) e animais (WEBSTER, 1967), e a relativa simplicidade de mensuração da FC, fizeram com que

esta técnica tivesse potencial para determinar a produção de calor em animais em seus ambientes naturais.

Porém, ao utilizar somente a FC como preditora da PCE, a mesma pode fornecer estimativas incorretas devido aos efeitos do nível de atividade, variações diárias e individuais dos animais, dietas e outras condições fisiológicas não consideradas (YAMAMOTO, 1989; BROSH, 2007).

3.2.2.1 Pulso de oxigênio

Em mamíferos o oxigênio usado é transportado para os tecidos pelo coração, e esse órgão representa 10% do consumo total de energia corporal. Portanto, ao ajustarmos individualmente a FC pelo consumo de oxigênio é possível acessar o volume de O₂ bombeado por batimento (Pulso de O₂-O₂P). Portanto, o O₂P, e esse por sua vez multiplicado pelo total de batimentos diários pode de produzir estimativas da produção de calor de maneira bastante acurada, tanto em humanos sob condições de exercícios e descanso (CEESAY *et al.*, 1989; LIVINGSTONE, 1997), quanto em animais na pecuária (AHARONI *et al.*, 2003, 2005, 2006; ARIELI *et al.*, 2002; BROSH *et al.* 1998a, 1998b, 2002, 2004). A produção de calor estimada pelo método do O₂P é altamente correlacionada com aquela obtida diretamente na câmara calorimétrica ($r = 0,943$) (CEESAY *et al.*, 1989). Sendo assim, a metodologia do pulso de oxigênio é capaz de determinar produção de calor e então selecionar animais mais eficientes quanto à metabolização e aproveitamento dos nutrientes (BROSH, *et al.*, 1998a).

A execução e a estimativa da metodologia dependem da variabilidade do pulso de oxigênio, dada as diferentes condições ambientais dentro das diferentes horas do dia. O que permite que essa metodologia seja utilizada em períodos curtos de avaliação é o fato que o O₂P de cada indivíduo é considerado constante, desde que o animal não esteja em condições de estresse (AHARONI *et al.*, 2003). Se os animais estiverem estressados ao ponto de elevar a FC em mais de 20% daquela expressa em condições normais (BROSH, 2007), o O₂P deixa de ter uma relação linear com a frequência cardíaca e passa a ter uma relação quadrática, o que produz estimativas superestimadas da produção de calor.

Além disso, em condições de temperatura elevada e estresse, a acurácia desta metodologia pode ser afetada por algumas variáveis, tais como, a variação do O₂P ao longo do dia e sob diferentes condições ambientais, principalmente em termos de temperatura e número de calibrações por animal (AHARONI *et al.*, 2003; BROSH, 2007; ADIN *et al.*, 2008; COSTA *et al.*, 2018).

Um estudo realizado com novilhos nelore avaliando índices de eficiência alimentar, frequência cardíaca, consumo de oxigênio, parâmetros sanguíneos e produção de calor, utilizando a técnica de pulso de oxigênio, os autores não observam diferenças na produção de calor estimada, entretanto os animais mais eficientes apresentaram menor frequência cardíaca e menores concentrações de hematócritos e hemoglobina sanguíneo (CHAVES *et al.*, 2015).

Oss *et al.* (2016) comparou a metodologia de pulso de oxigênio com a câmara respirométrica para determinar a produção de calor em touros mestiços (Holandês x Gir) e não encontraram diferença entre as duas metodologias. Entretanto, os autores observaram que o método de O₂P apresentou elevado coeficiente de variação entre animais e em bovinos, e que estudos adicionais devem ser realizados para minimizar os erros associados à metodologia a fim aumentar a precisão da técnica.

3.2.2.2 Períodos de mensuração do consumo de oxigênio

Aharoni *et al.* (2003) e Brosh *et al.* (1998a) sugeriram um período de 15 a 20 minutos para determinar o consumo de oxigênio por batimento cardíaco para uma adequada estimativa da produção de calor no método de O₂P. No entanto a acurácia desta metodologia pode ser afetada pela variação de O₂P ao longo do dia, sob diferentes condições ambientais e pelo número de calibrações por animal (Brosh, 2014). Os autores avaliaram O₂P durante os períodos de manhã e à tarde e não observaram mudanças de O₂P nos animais avaliados (BROSH *et al.*, 1998b; AHARONI *et al.*, 2003). Aharoni *et al.* (2003) avaliando bezerros de dois meses de idade, borregos de cinco meses e vacas leiteiras de alta produção, com diferentes dietas e ambientes, observaram que a metodologia do pulso de oxigênio pode ser utilizada para estimar a energia gasta em ruminantes, embora variações entre animais estejam relacionadas com o ambiente. Neste estudo, os autores encontraram diferenças na frequência cardíaca e volume de oxigênio nas diferentes horas do dia, entretanto não foram observados efeito sobre o pulso de oxigênio em bezerros e borregos. Portanto, os autores concluíram que não importa a hora do dia na qual se realize as mensurações do consumo de oxigênio e sim a quantidade de medições obtidas.

4 REFERÊNCIAS

ADIN, G.; SOLOMON, R.; SHOSHANI, E.; FLAMENBAUM, I.; NIKBACHAT, M.; YOSEF, E.; ZENOU, A.; HALACHMI, I.; SHAMAY, A.; BROSH, A.; MABJEESH, S.J.; MIRON, J. Heat production, eating behavior and milk yield of lactating cows fed two rations differing in roughage content and digestibility under heat load conditions. **Livestock Science**. v. 119, no. 1, p. 145–153, 2008. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/248565787_Heat_production_eating_behavior_and_milk_yield_of_lactating_cows_fed_two_rations_differing_in_roughage_content_and_digestibility_under_heat_load_conditions>. Acesso em 19 de junho 2019

AHARONI, Y.; BROSH, A.; HARARI, Y. Night feeding for high-yielding dairy cows in hot weather: effects on intake, milk yield and energy expenditures. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 92, p. 207-219, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.livprodsci.2004.08.013>> Acesso em 10 outubro 2018.

AHARONI, Y.; BROSH, A.; KAFCHUK, E. The efficiency of utilization of metabolizable energy for milk production: a comparison of Holstein with F1 Montbeliarde X Holstein cows. **Animal Science**. Liverpool, v. 82, p. 101–109, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1079/ASC200515>> Acesso em 10 janeiro 2019.

AHARONI, Y.; BROSH, A.; KOURILOV, P.; ARIELI, A. The variability of the ratio of oxygen consumption to heart rate in cattle and sheep at different hours of the day and under different hours of the day and under different heat load conditions. **Livestock Production Science**, v. 79, p. 107-117, 2003. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(02\)00147-1](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(02)00147-1)> Acesso em 10 outubro 2017.

ANDREWS, R.B. Net heart rate as a substitute for respiratory calorimetry. **The American Journal of Clinical Nutrition**. USA, p. 1139-1147, 1971. Disponível em: <<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.903.6077&rep=rep1&type=pdf>> Acesso em 10 maio 2019.

ARIELI, A.; KALOUTI, A.; AHARONI, Y.; BROSH, A. Assessment of energy expenditure by daily heart rate measurement: validation with energy accretion in sheep. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 78, p. 99-105, 2002. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(02\)00094-5](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(02)00094-5)> Acesso em 30 maio 2019.

BACKES, A. A. **Composição corporal e exigências de energia, proteína e macrominerais, para bovinos mestiços leiteiros e zebu, castrados, em fase de recria e engorda,**

em confinamento. 2003. 97f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2003.

BARKAI, D.; LANDAU, S.; BROSH, A.; BARAM, H.; MOLLE, G. Estimation of energy intake from heart rate and energy expenditure in sheep under confinement or grazing condition. **Livestock Production Science.** v. 73, no. 2 p. 237-246, 2002. Disponível em: < [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(01\)00251-2](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(01)00251-2)> Acesso em 25 maio 2019.

BGAZO, C.C.; PORTOCARRERO, P. H.; DAVILA, F. R. Electrocardiographic parameters in holstein calves reared at high altitude and at sea level. **Revista Investigación Veterinaria Perú.** Lima, v. 28, no. 2, p. 227-235, 2017. Disponível em: <http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S160991172017000200001&lng=es&nrm=iso> Acesso em 26 março 2019.

BROSH, A. Heart rate measurements as an index of energy expenditure and energy balance in ruminants: a review. **Journal of Animal Science.** Savoy, v. 85, p. 1213-1227, 2007. Disponível em: < <https://jas.fass.org/cgi/content/full/85/5/1213>>. Acesso em 17 outubro 2017.

BROSH, A.; AHARONI, Y.; DEGEN, A.A.; WRIGHT, D.; YOUNG, B. A. Effects of solar radiation, dietary energy, and time of feeding on thermoregulatory responses and energy balance in cattle in a hot environment. **Journal of Animal Science.** Savoy, v. 76, no. 10, p. 2671-2677, 1998a. Disponível em: < <https://doi.org/10.2527/1998.76102671x>> Acesso em 10 outubro 2017.

BROSH, A.; AHARONI, Y.; DEGEN, A.A.; WRIGHT, D.; YOUNG, B.A. Estimation of energy expenditure from heart rate measurements in cattle maintained under different conditions. **Journal of Animal Science.** Savoy, v. 76, no. 12, p. 3054–3064, 1998b. Disponível em: <<https://doi.org/10.2527/1998.76123054x>>. Acesso em 17 outubro 2017.

BROSH, A.; AHARONI, Y.; HOLZER, Z. Energy expenditure estimation from heart rate: Validation by long-term energy balance measurement in cows. **Livestock Production Science.** Amsterdam, v. 77, p. 287–299, 2002. Disponível em: < [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(02\)00033-7](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(02)00033-7) >. Acesso em 17 maio 2018.

BROSH, A.; AHARONI, Y.; SHARGAL, E.; SHARIR, B.; GUTMAN, M.; CHOSHNIK, I. Energy balance of grazing beef cattle in Mediterranean pasture, the effects of stocking rate and season. 2. Energy expenditure as estimated from heart rate and oxygen consumption, and energy balance. **Livestock Production Science.** Amsterdam, v. 90, p. 101–115, 2004. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.livprodsci.2004.03.008>>. Acesso em 17 maio 2018.

CANUL, S. J. R.; PIÑEIRO, V. A. T.; ARCEO, C. J. I.; ALAYÓN, G. J. A.; AYALA, B. A. J.; AGUILAR, P. C. F.; SOLORIO, S. F. J.; CASTELÁN, O. O. A.; LACHICA, L. M.; QUINTANA, O. P.; KU V. J. C. Design and construction of low-cost respiration chambers for ruminal methane measurements in ruminants. **Revista mexicana de ciencias pecuarias**. México, v. 8, no. 2, p. 185-192, 2017. Disponível em: < <https://dx.doi.org/10.22319/rmcp.v8i2.4442>>. Acesso em 17 maio 2018.

CARVALHO, A. P. H.; BORGES, C. C. A. L.; SILVA, R. R.; LAGE, F. H.; VIVENZA, D. P. A.; RUAS, M. J. R.; FACURY, F. E. J.; ARAUJO, P. R. L.; GONCALVES, L. C.; BORGES, I.; OLIVEIRA, S. S. E.; GONZAGA, D. J.; ULTIMO, C. A. Energy metabolism and partition of lactating Zebu and crossbred Zebu cows in different planes of nutrition. **PLoS ONE**. v. 13, no. 8, 2018. Disponível em: < <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202088>>. Acesso em: 17 maio 2019.

CEESAY, S. M.; PRENTICE, A. M.; DAY, K. C.; MURGATROYD, P. R.; GOLDBERG, G. R.; SCOTT, W.; SPURR, G. B. The use of heart rate monitoring in the estimation of energy expenditure: a validation study. **British Journal of Nutrition**. Cambridge, v. 61, no. 2, p. 175–186, 1989. Disponível em: <<https://doi.org/10.1079/BJN19890107>>. Acesso em: 17 maio 2018.

CHAVES, A. S.; FELTRIN, G. B.; NASCIMENTO, M. L.; LANNA, D. P. D. Pulso de oxigênio: Predição da produção de calor em bovinos e relações com consumo alimentar residual. **Arquivos de Zootecnia**, v. 63, no. R, p. 133-145, 2014. Disponível em: < <https://doi.org/10.21071/az.v63i241>> Acesso em: 13 agosto 2019

CHAVES, A. S.; NASCIMENTO, M.L.; TULLIO, R.R.; ROSA, A.N.; ALENCAR, M.M.; LANNA, D.P. Relationship of efficiency indices with performance, heart rate, oxygen consumption, blood parameters, and estimated heat production in Nelore steers. **Journal of Animal Science**. v. 93, no.10, p. 5036-5046, 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26523596> > Acesso em: 2 março 2018

COSTA, D. DOS S.; TURCO, S. H. N.; RAMOS, R. P.; SILVA, F. M. F. M.; FREIRE, M. S. Electronic monitoring system for measuring heart rate and skin temperature in small ruminants. **Engenharia Agrícola**. v. 38, no. 2, p. 166–172, 2018. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1590/1809-4430-eng.agric.v38n2p166-172/2018>> Acesso em: 15 março 2018

CUNNINGHAM, J. (1999). **Fisiología Veterinaria**. 2º ed. (2009 ed.). México D.F., México: Editorial McGrawHill Interamericana.

DIJKSTRA, J.; FORBES, J. M.; FRANCE, J. **Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism: Calorimetry** 2.ed. Canada: CABI, 2005. 736 p.

FERRANNINI, E. The theoretical bases of indirect calorimetry: a review. **Metabolism**. v. 37, n. 3, p. 287-301, 1988. Disponível em < [https://doi.org/10.1016/0026-0495\(88\)90110-2](https://doi.org/10.1016/0026-0495(88)90110-2)>. Acesso em 18 setembro 2017.

FERREIRA, A.L. **Exigências nutricionais de energia de bovinos machos F1 Holandês x Gir determinadas pelas metodologias de abates comparativos e respirometria calorimétrica**. 2014. 117f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

FERREIRA, L. H. **Partição da energia e exigência de energia líquida para manutenção de novilhas gyr e f1 holandês x gyr**. 2011. 78f. Dissertação (Mestrado em zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

FERRELL, C. L.; JENKINS, T. G. Energy utilization by mature, nonpregnant, nonlactating cows of different types. **Journal of Animal Science**. Savoy, v.58, p. 234–243, 1984. Disponível em: < <https://dl.sciencesocieties.org/publications/jas/ab>> Acesso em 27 outubro 2017.

HOPSTER, H.; BLOKHUIS, H. J. Validation of a heart-rate monitor for measuring a stress response in dairy cows. **Canadian Journal of Animal Science**. v. 74, no. 3, p. 465–474, 1994. Disponível em: < <https://doi.org/10.4141/cjas94-066>> Acesso em 27 maio 2019.

KLEIBER, M. **The Fire of Life: an introduction to animal energetics**. Edición revisada. New York: Krieger Publishing Co, 1975. 453p.

KOVÁCS, L.; JURKOVICH, V.; BAKONY, M.; SZENCI, O.; PÓTI, P.; TÓZSÉR, J. Welfare implication of measuring heart rate and heart rate variability in dairy cattle: literature review and conclusions for future research. **Animal**. v. 8, no. 02, p. 316–330, 2013. Disponível em: < <https://doi.org/10.1017/S1751731113002140> >Acesso em: 27 maio 2019.

KOZLOSKI, V. G. **Bioquímica dos ruminantes**. 3.ed. rev. e ampl. Santa Maria: ufsm, 2011. 212 p.

KU, V. J. C.; BRICEÑO, E. G.; RUIZ, A.; MAYO, R.; AYALA, A. J.; AGUILAR, C. F.; SOLORIO, F. J.; RAMÍREZ, L. Manipulación del metabolismo energético de los rumiantes en los trópicos: opciones para mejorar la producción y la calidad de la carne y leche. **Revista Cubana de Ciencia Agrícola**, v.48 n.1 p. 43-53, 2014. Disponível em: < <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193030122011> >. Acesso em: 20 outubro 2017.

LACHICA M.; AGUILERA J. F. Methods to estimate the energy expenditure of goats: from the lab to the field. **Small Ruminant Research**, v. 79, p. 179–182, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2008.07.016>> Acesso em: 29 outubro 2017.

MACHADO F. S.; TOMICH T. R.; FERREIRA A. L.; CAVALCANTI L. F. L.; CAMPOS M. M.; PAIVA C. A. V.; RIBAS M. N.; PEREIRA L. G. R. Technical note: A facility for respiration measurements in cattle. **Journal of Dairy Science**. v. 99, p. 4899-4906, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.3168/jds.2015-10298>> Acesso em: 29 maio 2019.

MENDOZA, M. G. D.; PLATA, P. F. X.; ESPINOSA, C. R.; LARA, B. A. Manejo nutricional para mejorar la eficiencia de utilización de la energía en bovinos. **Universidad y ciencia**. Villahermosa, v. 24, no. 1, p. 75-87, 2008. Disponível em <http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S018629792008000400009&lng=es&nrm=iso>. Acesso em 2 jul. 2019.

OLIVEIRA, F. C. A. **Exigências nutricionais, partição de energia e emissão de metano entérico por novilhas Holandês, Gir e Girolando**. 2017. 110f. Tese (Doutorado em Zootecnia). universidade estadual do sudoeste da Bahia, Itapetinga, Bahia, 2017.

OSS, D. B.; MACHADO, F. S.; TOMICH, T. R.; PEREIRA, L. G. R.; CAMPOS, M. M.; CASTRO, M. M. D.; DA SILVA, T. E.; MARCONDES, M. I. Energy and protein requirements of crossbred (Holstein × Gyr) growing bulls. **Journal of Dairy Science**. v. 100, no. 4, p. 2603–2613 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.3168/jds.2016-11414>>. Acesso em 22 junho 2019.

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.; MAURICIO, 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**. v. 216, p. 49–57, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.03.008>>. Acesso em 22 junho 2019

PAYNE, P.R.; WHEELER, E.F.; SALVOSA, C.B. Prediction of daily energy expenditure from average pulse rate. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 24, p. 161-170, 1971. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/ajcn/24.9.1164>>. Acesso em 18 junho 2019.

POSADA, O. S. L.; NOGUERA, R. R.; RODRÍGUEZ, N. M.; COSTA, A. L.; REIS, R. Indirect calorimetry to estimate energy requirements for growing and finishing Nellore bulls. **Journal of Integrative Agriculture**. v. 16, no. 1, p. 151–161, 2017. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(16\)61443-0](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61443-0)>. Acesso em 18 junho 2019

RODRIGUEZ, N. M.; CAMPOS, W. E.; LACHICA, M. L.; BORGES, I.; GONCALVES, L. C.; BORGES, A. L. C. C.; SALIBA, E. O. S. A calorimetry system for metabolism trials. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, p. 495-500, 2007. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352007000200033>> acesso em 27 maio 2019.

SHIMADA, M. A. **Nutrición animal**. 3. ed. México: Trillas, 2015. 544 p.

SILVA, A. L.; MARCONDES, M. I.; DETMANN, E.; CAMPOS, M. M.; MACHADO, F. S.; FILHO, S. C. V.; CASTRO, M. M. D.; DIJKSTRA, J. Determination of energy and protein requirements for crossbred Holstein × Gyr preweaned dairy calves. **Journal of Dairy Science**. v. 100, no. 2, p. 1170–1178, 2017. Disponível em: < <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11197>>. Acesso em: 6 Mar. 2019

SILVA, F. F.; VALADARES FILHO, S. C.; ÍTAVO, L. C. V.; VELOSO, C. M.; VALADARES, R. F. D.; CECON, P.R.; PAULINO, P. V. R.; MORAES, E. H. B. K. Exigências líquidas e dietéticas de energia, proteína e macroelementos minerais de bovinos de corte no Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, no. 2, p. 776-792, 2002. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982002000300029>>. Acesso em: 6 Mar. 2019

SILVA, R. R. **Respirometria e determinação das exigências de energia e produção de metano de fêmeas bovinas leiteiras de diferentes genótipos**. 2011. 61 f. Tese (Doutor em Zootecnia) Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

TEIXEIRA, A. DE M.; GONÇALVES, L. C.; VELASCO, F. O.; RIBEIRO JUNIOR, G. DE O.; FARIA JÚNIOR, W. G.; CRUZ, D. S. G.; JAYME, D. G. Respirometria e emissão de metano por ovinos alimentados com capim-elefante cortado com diferentes idades. **Bioscience Journal**. Uberlândia, v. 31, no. 3, p. 841-849, 2015. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.14393/BJ-v31n3a2015-22577> >. Acesso em: 18 ago. 2018.

WEBSTER, A.J. Continuous measurement of heart rate as an indicator of the energy expenditure of sheep. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 21, p. 769–785, 1967. Disponível em: <<https://doi.org/10.1079/BJN19670077>>. Acesso em: 6 Mar. 2018

YAMAMOTO, S. Estimation of heat production from heart rate measurement of free-living farm animals. **Jpn. Agriculture Reserch**, v. 23, p. 134-143, 1989. Disponível em: <<http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=JP9203564>>. Acesso em: 6 Mar. 2018

5 ARTIGO

5.1 Artigo - O₂ pulse at different measurement times for determination of heat production in dairy cows

(Nas normas da revista Animal Feed Science and Technology)

1 **O2 PULSE AT DIFFERENT MEASUREMENT TIMES FOR DETERMINATION OF HEAT**
2 **PRODUCTION IN DAIRY COWS**

3
4 Karen B. Diaz-Magaña^{1*}, Diego Santana-Costa², João P. Sacramento³, Thierry Ribeiro-
5 Tomich⁴, Fernanda Samarini-Machado⁴, Luiz G. Ribeiro-Pereira^{4*}, Amália Saturnino-Chaves^{5*}

6
7 ¹Instituto de ciências Agrárias - Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, Minas
8 Gerais, 39404-547, Brazil. ²Universidad Estatal del Sudoeste de Bahía, Itapetinga, Bahía, 45700-
9 000, Brazil. ³Universidade Federal de São João del-Rei, São João del-Rei, Minas Gerais, 36307-
10 352, Brazil. ⁴Brazilian Agricultural Research Corporation, Embrapa Dairy Cattle, Juiz de Fora,
11 Minas Gerais, 36038-330, Brazil. ⁵Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas
12 Gerais, 36036-900, Brazil.

13
14 *Corresponding authors. Tel.: +52 1 999 1302041; +55 38 9869-8244; +55 32 9197-0170.

15 E-mail addresses: blueperfec@hotmail.com (Karen B. Diaz-Magaña),
16 amaliaschaves@yahoo.com.br (Amália Saturnino-Chaves), luiz.gustavo@embrapa.br (Luiz G.
17 Ribeiro-Pereira).

18 **Abstract**

19 The objective of this study was to evaluate the efficiency of the oxygen pulse (O₂P) methodology
20 at different measurement times, using a respirometry chamber to estimate heat production (EHP)
21 in dairy cows. Eleven dairy cows (Six of breed Holstein and five $\frac{3}{4}$ Holstein x $\frac{1}{4}$ Gyr), with a mean
22 of 100 lactating days, milk production of 23 kg/day and weight of 576.5 ± 70 kg were used to
23 estimate heat production using respirometry chamber (EHP_{RC}) and oxygen pulse (EHP_{O₂P})
24 methodology, in which heart rate (HR) was monitored for 4 consecutive days. Oxygen pulse was
25 obtained by simultaneously measuring HR and oxygen consumption (VO₂) during 3, 6, 9, 12, 15,
26 18, 21 and 24 hours in two consecutive days. Two open flow respirometry chamber for large
27 ruminants was employed to determine VO₂ and CO₂ production. Data were analysis of repeat
28 measurements, with the methodology of mix models through the PROC MIXED procedure of
29 SAS® (version 9.0) and the maximum restrained likelihood (REML) as the estimation method.
30 Variation between EHP_{O₂P} and EHP_{RC} was of 10%. It was founded a correlation of 70.6% between
31 them (P=0.03). HR and O₂P showed difference (P<0.05) at time of three hours. VO₂ showed
32 difference just at 9 and 12 hours of measurements time (P<0.05). The use of the O₂P
33 methodology to determine the heat production has a high correlation with the respirometry
34 chamber methodology. However, a minimum of 3 hours of evaluation is necessary to obtain a
35 more accurate estimate.

36 **Keywords:** Oxygen consumption; Respirometry chamber; Holstain; Calorimetry; Heart rate

37

Introduction

38

It has been invested for a long time in respirometry methodologies who work with the relation between carbon dioxide and methane produced by the rate of oxygen consumed to estimate the heat production (EHP) and energy expenditure in ruminants through the measurement of gas exchange. However, the response variation between these parameters can be affected by feed intake and quality, climatic conditions, different levels of production (milk or body tissue gain), as well as the variability between breeds and the different what is showed between animals in the same breeds. These are directly associated with the efficiency of use of energy in the animal for maintenance and production (Brosh, 2007; Renaudeau et al., 2012)

46

These methodologies of indirect calorimetry, named like this because measure heat production from the oxidation of organic components in the animal metabolism (Rodríguez et al., 2007), allow to approach problems in relation to the loss energy that can compromise the productivity in animals, without this being an invasive method that could put at risk their health and animal welfare (Lachica and Aguilera, 2008).

51

Heat production can be indirectly estimated from heart rate (HR) calibrated to oxygen consumed per HR, because most oxygen used by homoeothermic animals is transported to the tissues by the heart (Chaves et al., 2015). For this reason, by individually adjusting the heart rate for oxygen consumption it is possible to obtain the volume of oxygen pumped per beat and in turn multiplied by the total number of daily beats, it is able to produce estimates of heat production (Brosh et al., 1998a; 1998b; 2002; 2004). The heat production obtained by this method is highly correlated to that obtained by respirometry chamber ($r = 0.943$; Ceesay et al., 1989). However, unknowns about the time necessary to estimate gas exchange through this methodology in respirometry chamber, have been a motive to study for improve animal welfare conditions as well as reduce investment costs by using those methodologies that are usually costly. For this reason, the objective of this study was evaluating the efficiency of the oxygen pulse (O2P) methodology at different measurement times, using a respirometry chamber to estimate heat production in dairy cows.

64

Materials and methods

66

Animals and study site

67

The study was performed at the Bioenergetics Laboratory of the Brazilian Agricultural Research Corporation (Embrapa), at the Multi-use Livestock Complex of Bioefficiency and Sustainability at Embrapa Dairy Cattle, in Coronel Pacheco, Minas Gerais, Brazil. All animal care and handling procedures were approved by the Embrapa Dairy Cattle Animal Care and Use Committee (Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil; Protocol CEUA 9817210818).

72

Eleven dairy cows (six Holstein and five crossbred $\frac{3}{4}$ Holstein x $\frac{1}{4}$ Gyr) averaging 23 kg/d of milk yield and mean of 100 lactating days were used. The experimental period was since February until March 2019. 15 days were used for adaptation of the diet and the respirometry

74

75 chamber for each animal before to get into the chamber for the collection of oxygen consumption
76 for 24 hours (total of 21 days of evaluation for each animal).

77

78 *Animal management*

79 Cows were fed after milking twice a day at 7 a.m. and 3 p.m. in amounts to allow ad
80 libitum intake (allowing for 5 to 10% leftovers). The diet (Table 1) was formulated to meet the
81 protein and energy requirements of a 576.5 ± 70 kg cow producing 30 kg/d of milk with a restriction
82 of zero weight gain, according to the NRC (2001). The intake was determined daily by the
83 difference in weight between the feed offered and orts collected after the morning milking. The
84 weighing of the animals was performed at the beginning and end of the experiment to determine
85 the metabolic body weight.

86 Cows were housed in free stall fitted with electronic feed bins and head gates (AF-1000
87 Master Gate, Intergado Ltd., Contagem, MG, Brasil), as well as electronic water troughs (WD-
88 1000, Intergado Ltd., Contagem, Minas Gerais, Brazil). Feed and water bins were attached to
89 radio frequency identification (RFID) antennas that monitored individual feed and water intake, as
90 well as feeding and drinking behavior (Chizzotti et al., 2015). The visit duration and the number
91 of visits to feed and water bins, and fresh feed and water intake data were exported to Intergado®
92 web software. Cows were fitted with an ear tag containing a unique passive transponder (FDX –
93 ISO 11784/11785; Allflex, Joinville, SC, Brazil) in the right ear, and each feed bin was randomly
94 assigned to a single cow. Each respiratory chamber was also fitted with the Intergado® feed
95 technology. where the animal welfare conditions were maintained daily (cleaning of beds and free
96 areas, ventilation with spray to mitigate high temperatures).

97 Cows were milked twice a day (7:00 a.m. and 3:00 p.m.) in a fishbone milking parlor (2x4)
98 equipped with a semiautomatic system (DeLaval Alpro MM27BC milk meter system; DeLaval
99 International, Tumba, Sweden). Milk yield data were obtained by Alpro software (DeLaval,
100 Tumba, Sweden).

101 To obtain average beats per minute (bpm) and total daily beats, HR per minute was
102 recorded using heart monitors RS800CX® (G3 Polar Electro Inc., Kempele, Finland) for 4
103 consecutive days, before to get in the respirometry chamber. Electrodes were fitted to cows with
104 stretch belts. Frequency transmitter accompanied the animals both in the milking and when they
105 were free in the confinement barn, as well as when they had contact with the handlers, just like
106 described for Aharoni et al. (2003).

107

108 *Estimation of heat production whit respirometry chamber*

109 Two open flow respirometry chamber (described it by Machado et al., 2016) for big
110 ruminants were used to determine the gaseous exchange (O_2 consumption and CO_2 , CH_4
111 production). which were operated in three steps: 1) Animal handling within the physical chamber
112 system, 2) Calibration of equipment and sample analyzers, and 3) Capture and transformation of

113 data with specific software. For the calculation of EHP_{RC} was used the equation of Brouwer
 114 (1965) but in this trial urinary nitrogen was dismissed in Brouwer's equation due to the small
 115 contribution for EHP compared with O_2 and CO_2 (Verstegen et al., 1987), where:

$$116 \quad EHP_{RC} \text{ (MJ / day)} = 16.18VO_2 + 5.02VCO_2 - 2.17CH_4$$

117 VO_2 = volume of oxygen consumption, VCO_2 = volume of CO_2 produced, VCH_4 = volume of
 118 methane produced.

119 The chambers were equipped with infrared cameras and electronic feed and water bins for
 120 intake measurements. All animals were weighed before getting in the chambers to adjuster flow
 121 rate inlet to chamber (1L for each Kg of BW each animal per minute). The animals remained
 122 confined for two consecutive days. In that period the cows were milked and fed two times per day.
 123 The time lost by this activity was employed to clean and placed the feed. Data between each
 124 measurement time and missing data when the chambers were open (for animal feeding and
 125 milking) was estimated by interpolation (penalized spline model).

126 *Estimation of heat production with O_2P*

127 For this method was used the protocol established for Brosh et al. (1998b) with
 128 adaptations. To that protocol is necessary measure oxygen volume during 20 minutes with a
 129 respirometry mask of open circuit (Taylor et al., 1982). However, in this project the consumption
 130 of oxygen was obtained with respirometry chambers. To calculate O_2P , oxygen consumption and
 131 HR were simultaneously measured for 48 hours.

132 Because O_2P is constant only under stress-free conditions, calibration of oxygen
 133 consumption per beat was taken only when HR was up to 20% greater than the HR previously
 134 obtained under normal conditions (4 d) to avoid biased results.

135 The daily consumption was obtained between the multiplication of O_2 consumption per
 136 beat per total daily beats. The daily EHP_{O_2P} was obtained with the multiplication of the total
 137 consumption of oxygen per the constant 4.89 kcal/L the oxygen (Nicol and Young, 1990). The
 138 equation for EHP_{O_2P} , was:

$$139 \quad EHP_{O_2P} \text{ (kcal/kgBW}^{0.75}\text{)} = (\text{TDB} \times O_2P \times 4.89 \text{ kcal/LO}_2\text{)} / \text{kgBW}^{0.75}$$

140 Where: TDB = Total daily beats; O_2P = O_2 consumption per beat (L/beat). To estimate the
 141 effect of measurement time about the values of parameters for the O_2P methodology, the data
 142 was analyzed in eight times each day (3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 and 24 hours) in two consecutive
 143 days.

144

145 *Statistical analysis*

146 To estimate the effect of measurement time, data were analyzed as repeat measurements
 147 on time, where each parameter was analyzed in eight times (3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 and 24 hours),
 148 in two different days. It was used mix models through the PROC MIXED of SAS® (version 9.0)
 149 and the maximum restrained likelihood (REML) as the estimation method.

150 For the modeling of the variance and covariance matrix (R matrix), five structures were
151 tested: VC: (components of variance) characterized by equal variances and independent
152 observations (no correlation between observations over time); CS: (composite symmetry)
153 characterized by the equality of variances and covariates; AR (1): (first order auto regression) that
154 is identified by equal variances and covariates with greater correlation between adjacent
155 measures; ANTE (1): (Ante Dependency) where the magnitude of covariance depends on the
156 values of the correlation and associated standard deviation; UN: (unstructured) is characterized
157 by no mathematical model being imported into the covariance matrix (SAS, 2004). The best fitting
158 spatial covariance structure was selected based on Akaike's information criterion (smallest) or
159 convergence of the model. After the best R matrix structure was defined, the result of the fixed
160 effect test (measurement time) obtained with this matrix was used as a decision criterion about
161 the significance of the treatment effect ($\alpha = 0.05$). In cases where the effect of time was considered
162 significant, the contrast between the mean of the measurement in each time studied and that
163 obtained during 24 hours in day 1, and 24 hours in day 1 and the difference between the mean
164 of the day 1 and day 2 , by Tukey's test.

165 Association between measured EHP_{RC} and EHP_{O_2P} was evaluated using Pearson
166 Correlation Coefficients by PROC CORR (SAS, 2004). Statistical differences were considered
167 significant at $P < 0.05$.

168

169 **Results and discussion**

170 The normal heart rate (85 ± 7 beats/min) collected during four days in the usual activities
171 of the cows was within the normal ranges reported by literature for cattle (Table 2). Hopster and
172 Blokhuis (1994) reported a range of heart rate taken during two consecutive days from 65 to 97
173 beats/min in a study made with 10 lactating Holstein-Friesian dairy cows, aged between 2 and 9
174 years.

175 While Adin et al. (2008) reported a mean of 76 beats/min in 42 lactating multiparous
176 Holstein cows treated with two different mixed rations, as well Aharoni et al. (2003), with 20 high-
177 yielding dairy cows showed a normal means of 82.7 beats/min, in a range 73.5- 96.7 beats/min,
178 in this experiment the author evaluated the HR as measured over 10 min periods during VO_2
179 measurements (with a respirometry mask) determined over 3 days period, the respectively HR
180 was 80.6 bpm with a range of 67-100.9.

181 In actual experiment HR collected when the animals were inside the chamber compared
182 with period of four days showed a variation of 10%. Variations until 20% during calibration period
183 are considered within the regular pattern (Brosh, 2007), for this reason it is inferred that the
184 animals were not stressed due to the atypical conditions generated by the respirometry chamber.
185 The consumption of oxygen and O_2P (Table 2) were similar with the results founded for Aharoni
186 et al. (2003) using a respirometry mask ($32 \text{ ml/min/kg BW}^{0.75}$ and $0.420 \text{ ml/beat/kg/}$
187 $BW^{0.75}$ respectively), however, the small variation could be explained for the different in method,

188 environment and animals, factors which are strongly related with consumption of oxygen and in
189 consequences with O₂P.

190 The variation between estimate heat production in O₂P and respirometry chamber was of
191 10% (Table 2), however it was founded a correlation of 70.6% between EHP_{CR} and EHP_{O₂P}
192 (P=0.03) (Figure 1), which means that O₂P method can be a reliable method as well when is
193 compared with a respirometry chamber, like also was reported for other authors. When heat
194 production is estimated for the O₂P methodology and is comparator with others method like
195 respirometry chamber or animal sacrifice, a range variation of 2 to 10 % is accepted (Close, 1990).

196 Oss et al. (2016) found a correlation of 70 % between methodologies in a study using
197 Twenty-four Holstein × Gyr crossbred 10-month-old bulls for EHP. The similar way Ceesay et al.
198 (1989) reported a correlation of 94% between methods. Nevertheless, the greater coefficient of
199 determination, the greater the precision. In this sense, the variation found between authors and
200 the results of this study are associated with the precision to develop the methods and handling
201 conditions, also the number of replication can be affect the results because O₂P tends to have a
202 greater coefficient of variation between animals for EHP in low number of replication when is
203 compared with chambers (Oss et al., 2016).

204 For the measurement time variations, the variance and covariance matrices that best fit
205 the data were chosen by the Akaike Corrected Information Criterion (AICC) (Littell et al., 2006).
206 (Table 3). The AR (1) matrix provided the most appropriate adjustment of the errors for the all
207 parameters and (ANTE (1)) not converging with any variable.

208 HR showed difference (P<0.05) at time of three hours in first day, but it was not different
209 between days 1 and 2 (P>0.05) (Table 4). This probably occurred because the cows were still
210 shaken at the beginning of the measurement, and so, this result shown that is necessary at least
211 three hours to stabilized HR. This is contrary to the Brosh et al., (1998a) methodology shows
212 where it determines that 20 minutes is enough to calibrate HR for VO₂. However, if the values of
213 HR are not greater than 20% of the HR taken in the four days before to the calibration in chamber,
214 according with this author the EHP will not be super estimated VO₂ showed difference just at 9
215 and 12 hours of measurements time (P<0.05)(Table 4). This variation can be explained for the
216 activity of the animal inside the chamber like feeding, lie down, stand up, rumination and supplied
217 the internal metabolism. We should also consider the times when the animal had to leave the
218 chamber to be milked, period where the cows needs to stabilize its organism with the environment
219 inside the chambers because oxygen consumption is correlated with activity and intensity of the
220 activity (Ketelaars and Tolkamp, 1996). In this sense, more period of measurements also, different
221 levels of activity can be useful to explain consumption of oxygen and could helping to have a solid
222 database.

223 Despite the variation of VO₂ at 9 and 12 hours, O₂P was similar in the same periods
224 (P<0.05), and it was different at time of three hours in first day (P<0.05). This result was similar
225 to those of Aharoni et al. (2003), where in an experiment with calf's determinate that oxygen
226 consumption can variate, but this will not be affected O₂P. The same way, the authors assumed

227 that, the maximum deviation of a single O₂P measurement from the whole day O₂P average could
228 reach 5%. In other words, measuring more than once this variable on the same day, can help to
229 decrease this error.

230 EHP_{O₂P} in Kcal/day was similar in all the period, but EHP_{O₂P} adjusted to metabolic body
231 weigh showed difference (P<0.0001) at time of three hours in first day. This can be explained for
232 the regulation of environment inside the chamber with the animal and the intervention of the
233 relation between O₂ consumption and CO₂ produced also for the different at time of three hours
234 in HR.

235

236 **Conclusions**

237 The use of the O₂P methodology to determine the heat production has a high correlation
238 with the respirometry chamber methodology. However, a minimum of 3 hours of evaluation is
239 necessary to obtain a more accurate estimate.

240

241 **Conflit of Interest Statement**

242 We understand that the Corresponding Author is the sole contact for the Editorial process
243 (including Editorial Manager and direct communications with the office). He is responsible for
244 communicating with the other authors about progress, submissions of revisions and final approval
245 of proofs. We confirm that we have provided a current, correct email address which is accessible
246 by the Corresponding Author.

247

248 **Acknowledgements**

249 The authors gratefully acknowledge the funding support from CNPq (Conselho Nacional
250 de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brasília, Brazil), and EMBRAPA (Empresa
251 Brasileira de Pesquisa Agropecuária). The first author gratefully acknowledges CONACyT
252 (National Council for Science and Technology of Mexico) for the master scholarship.

253

254 **Reference**

255 Adin, G., Solomon, R., Shoshani, E., Flamenbaum, I., Nikbachat, M., Yosef, E., Miron, J.
256 2008. Heat production, eating behavior and milk yield of lactating cows fed two rations
257 differing in roughage content and digestibility under heat load conditions. *Livestock*
258 *Science*, 119(1-3), 145–153.

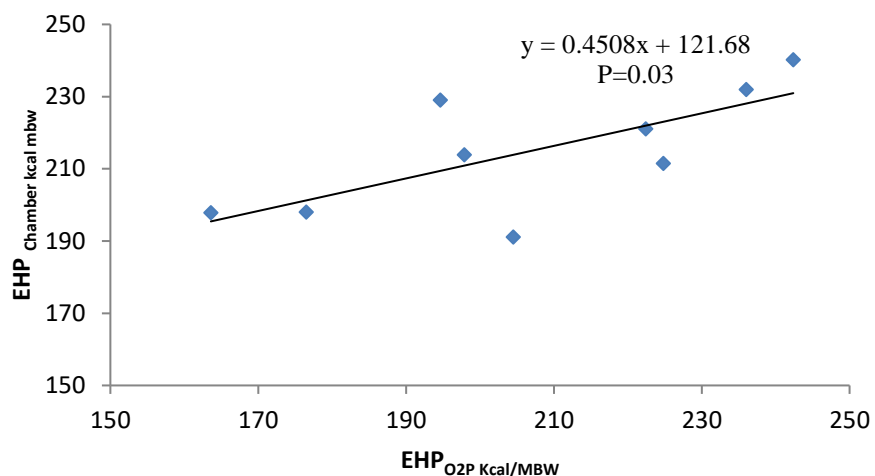
259 Aharoni, Y., Brosh, A., Kourilov, P., Arieli, A., 2003. The variability of the ratio of oxygen
260 consumption to heart rate in cattle and sheep at different hours of the day and under
261 different heat load conditions. *Livestock production Sci.* 79, 107-117.

262 Brosh, A. Aharoni, Y., Degen, A. A., Wright, D., & Young, B. A. Effects of solar radiation,
263 dietary energy, and time of feeding on thermoregulatory responses and energy balance in
264 cattle in a hot environment. *Journal of Animal Science*, Savoy, v. 76, p. 2671-2677, 1998a.

- 265 Brosh, A., 2007. Heart rate measurements as an index of energy expenditure and energy
266 balance in ruminants: A review. *J. Anim. Sci.* 85, 1213-1227.
- 267 Brosh, A., Aharoni, Y., Degen, A.A., Wright, D., Young, B.A., 1998b. Effects of solar radiation,
268 dietary energy, and time of feeding on thermoregulatory responses and energy balance in
269 cattle in a hot environment. *J. Anim. Sci.* 76, 2671-2677.
- 270 Brosh, A., Aharoni, Y., Degen, A.A., Wright, D., Young, B.A., 1998b. Estimation of energy
271 expenditure from heart rate measurements in cattle maintained under different conditions.
272 *J. Anim. Sci.* 76, 3054–3064.
- 273 Brosh, A., Aharoni, Y., Holzer, Z., 2002. Energy expenditure estimation from heart rate:
274 Validation by long-term energy balance measurement in cows. *Livest. Prod. Sci.* 77, 287–
275 299.
- 276 Brosh, A., Aharoni, Y., Shargal, E., Sharir, B., Gutman, M., Choshniak, I., 2004. Energy
277 balance of grazing beef cattle in Mediterranean pasture, the effects of stocking rate and
278 season 2. Energy expenditure as estimated from heart rate and oxygen consumption, and
279 energy balance. *Livest. Prod. Sci.*, 90, 101–115.
- 280 Brouwer, E., 1965. Report of Sub-committee on Constants and Factors. In: *Proceedings of*
281 *3rd Symposium on Energy Metabolism*. EEAP Publication 11. Academic Press, London.
- 282 Ceesay, S.M., Prentice, A.M., Day, K.C., Murgatroyd, P.R., Goldberg, G.R., Scott, W., Spurr,
283 G.B., 1989. The use of heart rate monitoring in the estimation of energy expenditure: a
284 validation study. *Br. J. Nutr.*, 61, 175–186.
- 285 Chaves, A. S.; Nascimento, M.L.; Tullio, R.R.; Rosa, A.N.; Alencar, M.M.; Lanna, D.P. 2015.
286 Relationship of efficiency indices with performance, heart rate, oxygen consumption, blood
287 parameters, and estimated heat production in Nellore steers. *Journal of Animal Science*.
288 v. 93, no.10, p. 5036-5046.
- 289 Chizzotti, M. L., F.S. Machado, E.E.L. Valente, L.G.R. Pereira, M.M. Campos, T.R. Tomich,
290 S.G. Coelho, and M.N. Ribas. 2015. Technical note: Validation of a system for monitoring
291 individual feeding behavior and individual feed intake in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 98:3438–
292 3442. doi:10.3168/jds.2014-8925.
- 293 Close, W.H. The evaluation of feedstuffs through calorimetry studies. In: Wiseman, J., Cole,
294 D.J.A. (Ed.). *Feedstuffs evaluation*. London: Butterworths, 1990. p. 21–39.
- 295 Hopster, H., & Blokhuis, H. J. (1994). Validation of a heart-rate monitor for measuring a stress
296 response in dairy cows. *Canadian Journal of Animal Science*, 74(3), 465–474.
297 doi:10.4141/cjas94-066
- 298 Ketelaars, J. J., & Tolkamp, B. J. (1996). Oxygen efficiency and the control of energy flow in
299 animals and humans. *Journal of Animal Science*, 74(12), 3036.
300 doi:10.2527/1996.74123036x
- 301 Lachica M., Aguilera J.F., 2008. Methods to estimate the energy expenditure of goats: from
302 the lab to the field. *Small Rumin. Res.* 79, 179–182.

- 303 Lassen, J., & Løvendahl, P. (2016). Heritability estimates for enteric methane emissions from
304 Holstein cattle measured using noninvasive methods. *Journal of Dairy Science*, 99(3),
305 1959–1967.
- 306 Littell, R. C., Milliken, G. A., Stroup, W. W., Wolfinger, R. D., & Schabenberger, O.O. SAS®
307 for Mixed Models. SAS Institute Inc., Cary, 2006
- 308 Machado F. S., Tomich T. R., Ferreira A. L., Cavalcanti L. F. L., Campos M. M., Paiva C. A.
309 V., Ribas M. N., Pereira L. G. R. 2016. Technical note: A facility for respiration
310 measurements in cattle. *J. Dairy Sci.* 99, 4899-4906.
- 311 N.R.C. National Research Council. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle, 7, (National
312 Academic of Sciences, Washington, D.C), 381.
- 313 Nicol, A.M., Young, B.A., 1990. Short-term thermal and metabolic responses of sheep to
314 ruminal cooling: effects of level of cooling and physiological state. *Can. J. Sci.* 70, 833-
315 843.
- 316 Oss, D.B.; Marcondes, M.I.; Machado, F.S.; Pereira, L.G.R.; Tomich, T.R.; Ribeiro, G.O.;
317 Chizzotti, M.L.; Ferreira, A.L.; Campos, M.M.; Mauricio, R.M.; Chaves, A.V.; Mcallister,
318 T.A. 2016. An evaluation of the face mask system based on short-term measurements
319 compared with the sulfur hexafluoride (SF 6) tracer, and respiration chamber techniques
320 for measuring CH₄ emissions. *Animal Feed Science and Technology*. v. 216, p. 49–57.
- 321 Renaudeau, D., Collin, A., Yahav, S., De Babilio, V., Gourdine, J., Collier, R., 2012.
322 Adaptation to hot climate and strategies to alleviate heat stress in livestock production.
323 *Anim.* 6(5), 707-728.
- 324 Rodríguez, N.M., Campos, W.E., Lachica, M.L., Borges, I., Gonçalves, L.C., Borges,
325 A.L.C.C., Saliba, E.O.S., 2007. A calorimetry system for metabolismo trials. *Arq. Bras.*
326 *Med. Vet. Zoot.*, 59, 495-500.
- 327 Taylor, C.R., Heglund, N.C., Maloiy, G.M.O., 1982. Energetics and mechanics of terrestrial
328 locomotion as a function of speed and body size in birds and mammals. *J. Exp. Bio.*, 97,
329 1-21.
- 330 Verstegen, M. W. A., W. Van der Hel, H. A. Brandsma, A. M. Henken, and A. M. Bransen.
331 1987. The Wageningen respiration unit for animal production research: A description of
332 the equipment and its possibilities. Pages 21–48 in *Energy Metabolism in Farm Animals:*
333 *Effects of Housing, Stress and Disease.* M. W. A. Verstegen, and A. M. Henken, ed.
334 MartinusNijhoff Publishers, Dordrecht, the Netherlands.

335



336

337

338

339

340

341

342

343

344

Figure 1. Pearson correlation between estimate heat production with O₂P methodology (EHP_{O₂P} Kcal/MBW) and estimate heat production with respirometry chamber methodology (EHP_{CR} kcal/MBW). MBW= metabolic body weight.

Table 2. Mean, standard deviation, minimum and maximum of heart rate, oxygen consumption and estimate heat production in dairy cows.

Variables	Mean	SD ⁸	Min.	Max.
HR ¹ , bpm	85.53	7.73	77.15	98.25
HR _{RC} ² , bpm ³	94.55	21.29	72.17	136.77
⁴ VO ₂ , ml/min/kg PV ^{0.75}	28.34	2.46	24.55	31.61
⁵ O ₂ Pulse, ml /beat/kg/ BW ^{0.75}	0.312	0.068	0.188	0.404
⁶ EHP _{O₂P} , kcal/day/kg BW ^{0.75}	192.08	41.28	111.73	242.38
⁷ EHP _C , kcal/day/kg BW ^{0.75}	214.06	17.70	190.28	240.23
Milk production L/d	19.70	3.69	13.45	24.50
⁸ DMI	172.10	22.00	134.77	201.73

345

346

347

348

349

¹Heart rate at period of four days ² Heart rate in respirometry chamber. ³Beats per minutes; ⁴ Oxygen volume; ⁵ Oxygen pulse; ⁶ Estimate heat production with O₂ pulse methodology. ⁷ Estimate heat production with respirometry chamber. ⁸Standard deviation error. ⁸Dry matter intake

350 **Table 1.** Ingredients and composition of experimental diet

Ingredients	% DM	Rate, %DMI
Corn silage	37.5	58.49
Soybean meal	88.9	11.09
Cottonseed	92.0	11.48
Ground corn	90.0	10.67
Premix mineral*	92.8	8.22
Nutrients **		
¹ CP	15.82	-
² ME (Mcal/kg)	2.59	-
³ ADF	19.50	-
⁴ NDF	20.88	-
⁵ EE	4.28	-
Ashes	6.91	-
Lignin	11.23	-

351 *Mineral Salt Bovigold® for dairy cows. Sodium bicarbonate. Magnesium. Calcium carbonate. ** %

352 in 100 grams of the complete diet. ¹Crude protein. ²Metabolic energy. ³Acid detergent fiber. ⁴Neutral353 detergent fiber. ⁵Ethereal extract.

354

355

356

357

358

359

360

361

362

363 **Table 3.** Akaike Corrected Information Criteria (AICC) values for the choice of the best structure for the variance and covariance matrix of the variables
 364 along the times modeled for HR, VO₂, O₂P and HP.

365

Parameters							
Estruture	HR _{RC} beat/min*	VO ₂ l/day	VO ₂ ml/min/BW ^{0,75}	O ₂ P ml/beat	O ₂ P ml/beat/BW ^{0,75}	EHP _{O₂P} Kcal/day	EHP _{O₂P} Kcal/day/BW ^{0,75}
VC	755.1	1229.5	406.9	-501.8	-161.1	1623.7	860.7
CS	639.5	1059.6	234.8	-645.0	-295.1	1512.4	747.7
AR(1)	†635.9	†1043.2	†220.9	†-649.5	†-298.6	†1507.4	†743.4
ANTE (1)	**	**	**	**	**	**	**
UN	**	1094.4	255.8	**	**	1413.3*	712.3 *

366 †Selected model. VC: Variance Components; CS: Compound Symmetry; AR (1): Autoregressive; ANTE (1): Ante-dependence. UN: Unstructured ** did
 367 not converge. HR = Heart rate; EHP = Estimate heat production; BW = Body weigh; VO₂ = volume of oxygen; O₂P = Pulse of oxygen.

368

369

370

371

372

373

374

375

376

377

378 **Table 4.** Variation of HR_{RC}, VO₂, O₂Pulse and EHP_{O₂P} in dairy cows (n = 11), expressed as the difference between the mean of the measurement in each
 379 time studied and that obtained for 24 hours in day 1, and the difference between the mean of the day 1 and day 2.

Trait	Measurements time (h)								
	3	6	9	12	15	18	21	24-Day 1	24-Day2
HR _{RC} , beat/min	7.60*	4.69	2.69	-2.17	-0.07	0.21	0.01	93.01	94.73
VO ₂ , l/day	32.58	-29.60	-131.05*	148.71*	113.99	63.07	3.20	4906.90	4755.28
VO ₂ , ml/min/BW ^{0.75}	0.11	-0.23	-0.80*	0.89*	0.68	0.37	0.01	28.84	27.96
O ₂ P, l/beat	-0.003*	-0.002	-0.002	0.002	0.0008	0.0003	0.00004	0.038	0.036
O ₂ P, ml/beat/BW ^{0.75}	-0.029*	-0.022	-0.018	0.018	0.007	0.002	0.0003	0.32	0.30
EHP _{O₂P} , Kcal/day	-1962.36	-1443.35	-1194.71	1169.90	505.18	202.27	26.66	22918	21760
EHP _{O₂P} , Kcal/day/BW ^{0.75}	-17.91***	-13.51	-10.91	10.56	4.29	1.73	0.21	193.99	184.60

380 ¹Day 1; ² Day 2; ***P<0.0001, **P<0.001, *P<0.05, HR_C = Heart rate; EHP_{O₂P} = Estimate Heat production with O₂Pulse method; BW^{0.75} = Metabolic

381 body weigh; VO₂ = volume of oxygen; O₂P = Pulse of oxygen

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi observada elevada correlação entre a metodologia do O₂P e da câmara respirométrica, o que demonstra que O₂P pode ser utilizado como método alternativo para determinar a produção de calor, entretanto deve ser calibrado pelo menos por um período de três horas nas condições de manejo e ambiente onde foi desenvolvida a pesquisa.