

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

**IMPACTO DO SISTEMA SILVIPASTORIL SOBRE VARIÁVEIS
FISIOLÓGICAS, METABÓLICAS E REPRODUTIVAS DE
FÊMEAS BOVINAS DA RAÇA CANCHIM (5/8 *Bos taurus* e 3/8
Bos indicus)**

Amanda Prudêncio Lemes

Médica Veterinária

Jaboticabal - SP

2018

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

**IMPACTO DO SISTEMA SILVIPASTORIL SOBRE VARIÁVEIS
FISIOLÓGICAS, METABÓLICAS E REPRODUTIVAS DE
FÊMEAS BOVINAS DA RAÇA CANCHIM (5/8 *Bos taurus* e 3/8
Bos indicus)**

Amanda Prudêncio Lemes

Médica Veterinária

Orientadora: Profa. Dra. Lindsay Unno Gimenes

Co-orientadores: Dr. Alexandre Rossetto Garcia

Dr. José Ricardo Macedo Pezzopane

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária, área de Reprodução Animal.

Jaboticabal - SP

2018

L552i Lemes, Amanda Prudêncio
Impacto do sistema silvipastoril sobre variáveis fisiológicas,
metabólicas e reprodutivas de fêmeas bovinas da raça Canchim (5/8
Bos taurus e 3/8 Bos indicus) / Amanda Prudêncio Lemes. --
Jaboticabal, 2018
60 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientadora: Lindsay Unno Gimenes
Coorientador: Alexandre Rossetto Garcia

1. bovinos. 2. metabólitos. 3. reprodução. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: IMPACTO DO SISTEMA SILVIPASTORIL SOBRE VARIÁVEIS FISIOLÓGICAS, METABÓLICAS E REPRODUTIVAS DE FÊMEAS BOVINAS DA RAÇA CANCHIM (5/8 *Bos taurus* e 3/8 *Bos indicus*)

AUTORA: AMANDA PRUDÊNCIO LEMES

ORIENTADORA: LINDSAY UNNO GIMENES


COORDENADOR: JOSÉ RICARDO MACEDO PEZZOPANE

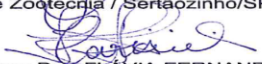
COORDENADOR: ALEXANDRE ROSSETTO GARCIA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em MEDICINA VETERINÁRIA, área: Reprodução Animal pela Comissão Examinadora:


Profa. Dra. LINDSAY UNNO GIMENES
Depto. de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Prof. Dr. JOAQUIM MANSANO GARCIA
Depto. de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Pesquisador Dr. FÁBIO MORATO MONTEIRO
Instituto de Zootecnia / Sertãozinho/SP


Pesquisadora Dra. FLÁVIA FERNANDA SIMILI
Estação Experimental de Sertãozinho / IZ - Sertãozinho/SP


Dra. ROBERTA MACHADO FERREIRA SARAN
Médica Veterinária Autônoma / Casa Branca/SP

Jaboticabal, 26 de julho de 2018

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Amanda Prudêncio Lemes, 31 anos, brasileira, casada, graduou-se Médica Veterinária em 4 de agosto de 2009 na Universidade para o desenvolvimento da região e do estado do Pantanal (Anhanguera), usufruindo de bolsa integral de estudos pelo Programa Universidade para Todos (Prouni). Ingressou no curso de aperfeiçoamento em Reprodução de Ruminantes no mesmo ano, concluindo em 2010 pela Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo. No mesmo ano ingressou no curso de Mestrado em Ciência Animal da mesma Universidade sob orientação e supervisão do médico veterinário Prof. Dr. Roberto Sartori Filho. Durante o mestrado desenvolveu estudos com ênfase na fisiologia e endocrinologia da reprodução de ruminantes, com período sanduíche na Ohio State University de março a julho de 2012. Em setembro de 2012, defendeu a dissertação intitulada “Taxa de prenhez em vacas Nelore pós-parto, submetidas ou não a aplicação de eCG 2 dias antes e 14 dias após a IATF”. Ainda em 2012 ingressou como auxiliar de pesquisa, usufruindo de bolsa DTI-B proveniente do Projeto Universal CNPq da Rede PECUS na Embrapa Pecuária Sudeste em São Carlos/SP sob coordenação da Dra. Patricia Perondi Anção Oliveira, onde trabalhou com temas diversos sobre produtividade e sustentabilidade de sistemas de produção agropecuários. Em 2013, compôs a equipe responsável pela elaboração do “Relatório Nacional de Emissão de Gases de Efeito Estufa do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, sob coordenação do Dr. Paulo Carvalho e supervisão do Dr. Alexandre Berndt, tendo usufruído de bolsa de estudos na categoria DTI-B proveniente do projeto “Apoio à consolidação da rede brasileira de pesquisas sobre mudanças climáticas-bolsas”. Em 2014, ingressou no curso de Doutorado, do departamento de Medicina Veterinária, na área de Reprodução Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, em Jaboticabal/SP em parceria com a Embrapa Pecuária Sudeste de São Carlos/SP, sob orientação da Profa. Dra. Lindsay Unno Gimenes e co-orientação do Dr. Alexandre Rossetto Garcia e Dr. José Ricardo Macedo Pezzopane, propondo o desenvolvimento do projeto: Desempenho reprodutivo de fêmeas bovinas de corte (5/8 *Bos taurus* vs 3/8 *Bos indicus*) em áreas de pastejo intensivo com ou sem a presença de arborização, com bolsas de estudos do Edital CAPES x Embrapa 15/2014 e auxílio à pesquisa FAPESP com processo número 2015/26627-5.

“De fato, não fracassei ao tentar, cerca de 10.000 vezes desenvolver um acumulador. Simplesmente, encontrei 10.000 maneiras que não funcionam.” **Thomas Edison, inventor.**

DEDICATÓRIA

Ao meu avô Antônio Prudêncio (sempre conosco) e à minha avó Dávida Aparecida Prudêncio, que me pediram que não parasse de estudar nunca em minha vida.

Aos meus pais Maria Rita Prudêncio e Aderaldo Lemes da Silva, e também à minha irmã Carolina Prudêncio Lemes, que me possibilitaram, com exemplos de fé e perseverança, chegar até aqui.

Ao meu tão fiel amigo e companheiro Adnan Darin e ao nosso filho Matheus por serem co-autores dessa trajetória.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Profa. Dra. Lindsay Unno Gimenes, por todo auxílio durante esta trajetória. Por ter me ensinado muito sobre o que é ser uma equipe e acima de qualquer coisa pelos desafios, conselhos e conversas amigas.

Ao meu co-orientador Dr. Alexandre Rossetto Garcia, pelo auxílio incansável em todas as etapas do curso, pelas dicas, conselhos e ensinamentos que vou levar para a vida.

Ao meu co-orientador Dr. José Ricardo Pezzopane, pelo auxílio, ensinamentos, parceria durante as decisões importantes do projeto, e aos outros membros do Projeto iLPF: Dr. Sérgio Novita e Dr. Alberto Bernardi, diretamente envolvidos nesse estudo e que me abriram às portas pra esse projeto espetacular.

À Dra. Cíntia Marcondes por ter ajudado criteriosamente na seleção dos animais experimentais.

À Dra. Patricia Anhão por estar sempre ao lado, também auxiliando nas decisões importantes, garantindo entusiasmo para o início de novas etapas. Pelos conselhos de “mãe” durante todo o período que passei na Embrapa Pecuária Sudeste.

Ao Dr. Alexandre Berndt que também foi fundamental durante essa etapa da minha vida, que por vezes, foi parceiro de horas não muito agradáveis, e amigo nas horas de alegria. Obrigada por todas as novas amizades que me proporcionou durante esse período, foram especiais para que eu me tornasse quem sou hoje.

À Dra. Teresa Cristina Alves, que me reforçou durante todos os meus dias aí, o significado da palavra amizade, parceria, dedicação e amor.

Ao Dr. André Pedroso, por atenciosamente, me lapidar como Médica Veterinária, me ensinando o “além” daquilo que vemos na Universidade e me fazendo amar também a produção vegetal e o manejo de forragem.

Ao Laboratório Vitrogen em Cravinhos, em nome da Dra. Yeda Watanabe, a Marina e a Aline. Obrigada por todo entusiasmo, do início ao fim da proposta.

À GS Reprodução Animal, em nome do Gustavo Luis dos Santos, mais uma vez obrigada pelo auxílio nas OPU's.

Ao Laboratório de Fisiologia e Endocrinologia Molecular da FMVZ/USP, em nome do Prof. Mário Binelli e Mariana Sponchiado, por todo auxílio nas etapas finais deste estudo.

Ao Prof. Dr. Marcelo Nogueira e à Patricia Kubo Fontes pelo pronto auxílio nas análises dos embriões e ensinamentos.

Aos Profs. Felipe Brandão e Reinaldo Cooke pelo auxílio nas dosagens hormonais.

Aos meus amigos queridos com quem pude contar nas horas de trabalho duro e de descontração também: Leandro, Paulo, Daniella, Wellyson, Letícia Passeri, Letícia Andrade, Jéssica, Mariana, Giovana, Joyce, Carol Galharte.

A todos estagiários que passaram pela Embrapa durante a realização destes estudos, sem exceção, que sempre estiveram à disposição.

Aos companheiros de laboratório, que me ajudaram para que eu pudesse escrever cada linha deste trabalho: Priscila, Narian, Messy, Ana Beatriz, Alessandro, Daniela, Andréa e André.

Aos amigos que a FCAV me proporcionou, e que foram fundamentais para minha caminhada: Cecília, Ana Paula (Chiquinha), Rodrigo, Julia e Luciana. À República Chopana pela acolhida em vários momentos, vocês são show!!

A todos os funcionários de campo, laboratório e demais setores da Embrapa Pecuária Sudeste, empresa que gosto de dizer com coração cheio de orgulho que é também a minha casa. Obrigada pelo convívio diário e por cada ensinamento, vocês me acolheram e me deram oportunidades ímpares de crescer pessoal e profissionalmente. Aproveito para agradecer a todos os pesquisadores, indiretamente envolvidos neste trabalho, mas que também fizeram parte do meu cotidiano e me ajudaram em outros estudos desenvolvidos.

À FCAV/Universidade Estadual Paulista – “Júlio de Mesquita Filho”, por também ter sido minha casa nos últimos anos e por toda a acolhida pelos professores e alunos com os quais pude cursar disciplinas e aprimorar meus conhecimentos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Às agências financiadoras deste projeto: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES (Edital 15/2014), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP (Processo Nº 2015/26627-5), à Embrapa (Rede Biotec #01.13.06.001.05.04), ao programa de pós-graduação em Medicina Veterinária – Reprodução pelo auxílio financeiro para a execução destes experimentos.

Às novilhas e vacas envolvidas nesse estudo, sem as quais não seria possível o meu trabalho.

Às pessoas que fizeram cada momento bom e cada dificuldade valer mais a pena durante essa caminhada: Minha irmã, Carolina Lemes, e meus pais, obrigada por todo apoio incansável durante essa caminhada. Sem vocês, eu nada sou.

À minha sogra Oneide Pereira Rodrigues, meu sogro Adauto Rodrigues, minhas cunhadas Aurelly e Núbia e meu cunhado Breno por terem abraçado todas as minhas dificuldades e terem me auxiliado de maneira singular na conclusão desta etapa!

A Deus, por ter me concedido saúde, perseverança, amor com meu próximo e com os animais e a capacidade de trabalho junto aos meus irmãos.

Formamos uma equipe e vencemos!

Minha eterna gratidão!

SUMÁRIO

RESUMO	iv
ABSTRACT	vi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS	xii
LISTA DE FIGURAS	xiii
CAPITULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
Introdução	1
REVISÃO DE LITERATURA	3
Desafios ao desempenho animal em sistemas de produção no Brasil.....	3
Componente racial como fator de tolerância	4
Índices de conforto térmico e bem-estar animal	5
Desafio reprodutivo em vacas de corte sob condição de estresse térmico	9
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	13
CAPITULO 2 - CARACTERIZAÇÃO DE ÁREA SILVIPASTORIL E IMPACTO SOBRE O PERFIL METABÓLICO E A PRODUÇÃO EMBRIONÁRIA <i>IN VITRO</i> DE FÊMEAS CANCHIM (5/8 <i>Bos taurus</i> e 3/8 <i>Bos indicus</i>).....	19
Resumo	19
1. Introdução	21
2. Material e Métodos.....	23
2.1 Experimento 1 – Validação e caracterização da área de integração silvipastoril 23	
2.1.1 Área experimental e período	23
2.1.2 Animais experimentais, ingestão alimentar e desempenho.....	24
2.1.3 Caracterização microclimática	25
2.1.4 Avaliação das variáveis fisiológicas e da concentração sérica de cortisol. 25	
2.2 Experimento 2 – Respostas metabólicas e reprodutivas de vacas pós parto mantidas em sistemas RI ou SP.....	27
2.2.1 Área experimental e período	27
2.2.2 Animais e desempenho	27
2.2.3 Caracterização microclimática das áreas experimentais	27

2.2.4	Avaliação das variáveis fisiológicas.....	28
2.2.5	Ultrassonografia e aspiração folicular ovariana	28
2.2.6	Produção in vitro de embriões	29
2.2.7	Dosagens hormonais.....	30
2.2.8	Expressão de Heat Shock Proteins	31
2.3	Análise estatística	32
3.	Resultados	33
3.1.	Experimento 1.....	33
3.2.	Experimento 2.....	39
4.	Discussão.....	46
5.	Conclusão	52
6.	Agradecimentos	52
7.	Referências	53
CAPÍTULO 3 - CONSIDERAÇÕES FINAIS		60


CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "**Desempenho produtivo e reprodutivo de fêmeas bovinas de corte (Bos taurus x Bos indicus) em áreas de pastejo intensivo com ou sem a presença de arborização**", protocolo nº 13829/15, sob a responsabilidade da Prof^a Dr^a Lindsay Unno Gimenes, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de junho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL - SP, em reunião ordinária de 07 de agosto de 2015.

Vigência do Projeto	08 de agosto de 2015 - 31 de janeiro de 2018
Espécie / Linhagem	Bovinos / Raça Canchim
Nº de animais	52
Peso / Idade	200 - 500Kg - 10 - 30 meses
Sexo	Fêmeas
Origem	Fazenda Experimental

Jaboticabal, 07 de agosto de 2015.


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

**IMPACTO DO SISTEMA SILVIPASTORIL SOBRE VARIÁVEIS FISIOLÓGICAS,
METABÓLICAS E REPRODUTIVAS DE FÊMEAS BOVINAS DA RAÇA CANCHIM
(5/8 *Bos taurus* e 3/8 *Bos indicus*)**

RESUMO - O uso do sistema silvipastoril tem sido sugerido como uma alternativa para aumentar a produtividade e sustentabilidade da pecuária, além de oferecer maior conforto térmico aos animais criados em áreas de clima tropical. No entanto, existem diversas dúvidas sobre os impactos de sua adoção quanto a aspectos reprodutivos. Nesta tese, avaliou-se o impacto do sistema silvipastoril (SP) comparado ao sistema de pastejo rotacionado intensivo (RI) sobre o conforto térmico (CT) de fêmeas bovinas da raça Canchim, caracterizando o efeito do microclima desses sistemas sobre variáveis fisiológicas (exp. 1 e 2) e sobre o perfil metabólico e a produção *in vitro* de embriões (PIVE; exp. 2). Em ambos, foi realizada monitoração microclimática e calculados o índice de temperatura de globo úmido (ITGU) e a carga térmica radiante (CTR). Foram também aferidas, as temperaturas: retal (TR), com o uso de termômetro de mercúrio e de superfície corpórea de linha do dorso (TD) por meio de câmera termográfica, além disso, peso vivo (PV;kg), ECC, a estimativa da ingestão de matéria seca (IMS) e colheita de sangue para dosagem de cortisol foram realizados. No experimento 1, 32 novilhas com idade de $16,2 \pm 0,05$ e $249,8 \pm 1,75$ kg de peso vivo, foram também avaliadas quanto a frequência respiratória (FR; mpm) e frequência cardíaca (FC; bpm). No experimento 2, 18 vacas com média de $26,2 \pm 2,2$ dias pós-parto, $41,2 \pm 0,6$ meses de idade e $477,0 \pm 12,0$ de peso vivo (kg), passaram por avaliação ultrassonográfica, e foram submetidas à aspiração folicular guiada por ultrassom (OPU). Foram registrados, o número de folículos observados (FO), de oócitos totais (OT), de oócitos viáveis (OV), de estruturas clivadas (EC), de blastocistos em D₇ (BD₇), as taxas de recuperação (TxR), de clivagem (TxC) e de blastocistos no D₇(TxB). Nas vacas, adicionalmente foi aferida a temperatura de superfície corpórea do tronco (TT). Amostras de sangue foram colhidas para expressão da proteína sinalizadora de estresse térmico (HSP90AA1), dosagem de progesterona (P₄), β-hidroxi-butilato (BHBA), ácidos graxos não esterificados (AGNES) e glicose (GLI). Para a análise das variáveis contínuas foi utilizado o PROC MIXED e das variáveis de contagem foi utilizado o PROC GENMOD, ambos do SAS®. O microclima do SP conferiu maior CT aos animais do que o fornecido pelo RI em ambos experimentos. Além disso, no experimento 1, o aumento nas TT e TD coincidiu com o aumento das variáveis climáticas. A FC e a FR não diferiram entre os sistemas experimentais, porém a TR e as concentrações de cortisol foram menores nas novilhas do SP em comparação às do RI. O PV, o ECC e a IMS foram superiores nas novilhas mantidas na área SP. No experimento 2, a TR foi semelhante entre os sistemas, contudo as vacas do SP tiveram menores TT e TD que vacas do RI. O PV de vacas em SP foi maior que o de vacas em RI. As concentrações de cortisol, P₄, AGNES, GLI, BHB e a expressão de HSP90AA1, bem como FO, TxR, OT, OV, EC, TxC, BD₇ e TxB foram semelhantes entre sistemas. As concentrações de P₄ foram menores nos primeiros 60 dias após o parto, indicando anestro. As condições microclimáticas fornecidas pelo sistema

SP neste estudo, beneficiaram algumas características fisiológicas, e não impactaram sobre as variáveis reprodutivas estudadas, sendo possível concluir que, sob condições climáticas mais amenas, há um aumento no número de OT, OV, EC, BD7, bem como nas TxR, TxC e TxB.

Palavras-chave: bovinos, integração pecuária-floresta, estresse térmico, metabólitos, PIVE.

**IMPACT OF THE SILVIPASTORIL SYSTEM ON PHYSIOLOGICAL,
METABOLIC AND REPRODUCTIVE VARIABLES OF FEMALES CANCHIM
(5/8 *Bos taurus* and 3/8 *Bos indicus*)**

ABSTRACT - Silvopastoral systems has been suggested as an alternative to increase productivity and sustainability in livestock production. In addition, can offer thermal comfort to animals managed in tropical climate areas. However, there are several doubts about the impacts on reproductive performance when using these systems. In this thesis, the impact of use of silvopastoral system (SP) in compare to the intensive rotational grazing (IR) system on the thermal comfort (TC) of Canchim cattle, was evaluated, characterizing the effect of the microclimate of these systems on physiological variables (experiment #1 and #2) and on the metabolic profile and the in vitro production of embryos (PIV) (experiment#2). In both, microclimatic monitoring was performed and the black globe humidity index (ITGU) and radiant heat load (CTR) were calculated. Were also monitored rectal temperature (RT), with the use of a mercury thermometer and body surface temperature of back line (BLT) using thermographic camera. Heifers and cows were evaluated monthly to body weight (BW; kg), BCS measurement, dry matter intake (DMI; kg DM/d) and to collect blood samples for cortisol assay. In experiment 1, 32 heifers (16.2 ± 0.05 mo of age; 249.8 ± 1.75 kg of BW) were also evaluated to respiratory rate (RR; mpm) and heart rate (HR; bpm). In experiment 2, 18 cows (26.2 ± 2.2 d postpartum; 41.2 ± 0.6 mo of age; 477.0 ± 12.0 kg of BW) were evaluated by ovarian ultrasonography, and, were submitted to ultrasound-guided follicular aspiration (OPU). The number of observed follicles (OF), total oocytes (TO), viable oocytes (VO), cleaved structures (CS), blastocysts in D7 (BD7), recovery rates (RR), cleavage rates (CR) and blastocysts in D7 rate (BR). In cows, additionally, were monitored body surface of trunk (TT). Blood samples for progesterone (P₄), β -hydroxy-butyrate (BHBA), non-esterified fatty acids (NEFA) and glucose (GLU). Continuous variables were analyzed by PROC MIXED and counting variables were analyzed by PROC GENMOD, using SAS[®]. The SP microclimate conferred higher CT to the animals in compare to RI. In addition, the increase in TT and BLT coincided with the increase in climatic variables. RF and HR did not differ between experimental systems, but RT and cortisol concentrations were lower in SP heifers compared to IR heifers. BW, BCS and DMI were higher in heifers maintained in the SP area. In experiment 2, RT was similar between systems, however SP cows had lower TT and BLT than IR cows. The BW of cows in SP was higher than cows in IR. Concentrations of cortisol, P₄, NEFA, GLU, BHBA and expression of HSP90AA1, as well as OB, RR, TO, VO, CS, CR, BD7 and BR were similar between systems. P₄ concentrations were lower in the first 60 days postpartum, indicating anestrus. The microclimatic conditions provided by the SP system in this study benefited some physiological characteristics, did not affect the reproductive variables, however, it is possible to conclude that, under milder climatic conditions, there is an increase in TO, VO, CS, BD7, as well as in RR, CR and BR.

Keywords: cattle, livestock-forest integration, thermal stress, metabolites, PIVE.

LISTA DE ABREVIATURAS

% - porcentagem

µg - micrograma

AGNES – ácidos graxos não esterificados

Atr – atrésicos

BD7 – número de blastocistos no dia 7

Be – blastocisto eclodido

BHBA – β-hidroxi-butirato

Bi – blastocisto inicial

Bl – blastocisto

bpm – batimentos por minuto

BSA – albumina sérica bovina (bovine serum albumin)

Bx – blastocisto expandido

cDNA – DNA complementar

cm – centímetro

CO₂ – gás carbônico

COCs – complexos cumulus oóforos

Ct – cycle threshold

CTR – Carga Térmica Radiante

CV – cultivar

D – dia

Deg – degenerados

dia-1 – dia elevado a -1

dL – decilitro

DMI – ingestão de matéria seca (*dry matter intake*)

DNA – ácido desoxirribonucleico

DNase – enzima que quebra a cadeia do DNA

DPBS – solução tampão salina fosfatada de Dulbecco

EC – estruturas clivadas

ECC – escore de condição corporal

EDTA – ácido etilenodiamino tetra-acético (Ethylenediamine tetraacetic acid)

Elm – energia líquida de manutenção

EUA – Estados Unidos da América

Exp – expandidos

FC – frequência cardíaca

FIV – fecundação in vitro

FO – folículos observados

FR – frequência respiratória

FSH – hormônio folículo estimulante

G – gauge

g – grama

GI – Grau I

GII – Grau II

GIII – Grau III

GLI – glicose

h – horas

ha – hectare

HSP90AA1 – Proteína de choque térmico (*Heat shock-protein*) 90, família AA1

ICT – Índice de Carga Térmica

IMS – ingestão diária de matéria seca

IRT – técnica de termografia de infravermelho (infra-red thermography)

ITGU – Índice de Temperatura de Globo Negro e Umidade

ITU – Índice de Temperatura e Umidade

kg – quilograma

LH – hormônio luteinizante

m – metro

m-2 – metros elevado a -2

Mcal – megacalorias

MHz –megahertz

min – minutos

MIV – maturação *in vitro*

MJ – mega Joules

MK – Milikelvin

mL – mililitro

mm – milímetro

mM - milimolar

mmHg – milímetro de mercúrio

mpm – movimentos por minuto

MS – matéria seca

n – número

N₂ - nitrogênio

NCBI – National Center for Biotechnology Information

nm - nanômetro

O₂ - oxigênio

°C – graus Celsius

OPU – aspiração de ovócitos (*ovum pick-up*)

OT – oócitos totais

OV – oócitos viáveis

P₄ – progesterona

PBMCs – células mononucleares sanguíneas periféricas (peripheral blood mononuclear cells)

PBS – tampão fosfato salino (phosphate buffered saline)

PCR – reação de cadeia de polimerase

PCVZ – peso do corpo vazio

PHE – penicilamina, hipotaurina e epinefrina

PIB – produto interno bruto

PP – precipitação pluviométrica

PPIA – ciclofilina

PV – peso vivo

RI – rotacionado intensivo

RIA – radioimunoensaio

RNA – ácido ribonucleico

RSG – radiação solar global

S – Sul (South)

s/c – sem cúmulus

s-1 – segundos, elevado a -1

SFB - soro fetal bovino

SP – silvipastoril

sptz – espermatozoide

Ta – temperatura do ar

TALP – meio Tyrode modificado

TCM199 – meio de cultivo tecidual (*tissue culture medium*)

TD – temperatura da linha dorsal

Tgn – temperatura de globo negro

TR – temperatura retal

TT – temperatura do tronco

TxB – taxa de blastocistos no dia 7

TxC – taxa de clivagem

TxE – taxa de eclosão

TxR – taxa de recuperação

U.A – unidade animal

ug – micrograma

UI – unidade internacional

Ur – umidade relativa

VV – velocidade do vento

W – Oeste (West)

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Respostas fisiológicas e hormonais das novilhas nos sistemas silvipastoril (SP; n=16) ou de pastejo rotacionado intensivo (RI; n=16).....	38
Tabela 2. Médias dos quadrados mínimos \pm erro padrão das variáveis fisiológicas de vacas de corte mantidas em áreas de sistema silvipastoril (SP) ou de pastejo rotacionado intensivo (RI).	43
Tabela 3. Médias dos quadrados mínimos \pm erro padrão das variáveis relativas à OPU e produção <i>in vitro</i> de embriões de vacas de corte mantidas em as áreas de sistema silvipastoril (SP) ou de pastejo rotacionado intensivo (RI).	44

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Modelo hipotético gráfico.....	23
Figura 2. Percentual de transmissão de radiação solar do sistema silvipastoril (SP) de dezembro de 2015 a maio de 2016.....	25
Figura 3. Percentual de transmissão de radiação solar do sistema SP de janeiro a maio de 2017.	28
Figura 4. Caracterização microclimática das áreas de pastagens em sistema silvipastoril (SP) ou de pastejo rotacionado intensivo (RI) por meio dos índices de Temperatura de Globo Negro e Umidade (ITGU; A) e de Carga Térmica Radiante (CTR; B) registrados durante o Experimento 1 durante os meses experimentais.	34
Figura 5. Ganho médio diário (g PV/dia) das novilhas dos sistemas de silvipastoril (SP; n=16) e rotacionado intensivo (RI=16) durante o período experimental.....	35
Figura 6. Temperatura de linha de dorso (TD) das novilhas dos sistemas de silvipastoril (SP; 52 imagens de 16 novilhas) e rotacionado intensivo (RI=54 imagens de 16 novilhas) de janeiro à maio. S: sistema; M: mês (mês experimental).....	36
Figura 7. Concentração sérica de cortisol das novilhas dos sistemas de silvipastoril (SP; n= 66 amostras) e rotacionado intensivo (RI= 86 amostras) de dezembro a abril.	37
Figura 8. Caracterização microclimática das áreas de pastagens em sistema silvipastoril (SP) ou de pastejo rotacionado intensivo (RI) por meio dos índices de Temperatura de Globo Negro e Umidade (ITGU) e de Carga Térmica Radiante (CTR) registrados durante o experimento 2.	40
Figura 9. Escore de condição corporal das vacas dos sistemas de silvipastoril (SP; n=52) e rotacionado intensivo (RI=54) de janeiro a maio.	41
Figura 10. Concentração sérica de cortisol das novilhas de ambos sistemas experimentais (Silvipastoril – SP e Rotacionado Intensivo-RI) de janeiro a maio.	42
Figura 11. Concentração sérica de progesterona (P ₄), glicose, ácidos graxos não esterificados (AGNES) e β-hidroxi-butirato (BHBA) de vacas de corte mantidas em as áreas de sistema silvipastoril (SP) ou de pastejo rotacionado intensivo (RI), ao longo dos meses experimentais.	45

CAPITULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

Introdução

A pecuária apresenta extrema importância econômica para o desenvolvimento nacional. Há alguns anos, o Brasil se consolidou como detentor do maior rebanho comercial de bovinos do mundo e possui 221,8 milhões de cabeças, criadas em diversos tipos de sistema de produção. Além do atendimento ao mercado interno, o Brasil apresenta um constante aumento nas exportações de carne bovina, sendo que cerca de 350 mil de toneladas equivalente-carcaça já foram enviados ao exterior entre janeiro e março de 2018 (ABIEC, 2018). Por isso, o Brasil tem sido mencionado como detentor do maior potencial de produção de proteínas de origem animal do mundo e capaz de suprir demandas de diversos mercados internacionais (FAO, 2015).

Em uma estimativa realizada pela ASBIA (2014), constatou-se que o rebanho de bovinos de corte brasileiro conta com cerca de 57 milhões de fêmeas aptas à reprodução, o que representa 25,7% do rebanho total. Essas fêmeas ocupam áreas de baixo custo e fronteiriças às áreas agrícolas. Contudo, a disponibilidade de áreas para expansão pecuária é cada vez mais restrita, tendo em vista o crescente custo da terra, a ampliação sistemática da agricultura de *commodities* e a pressão de órgãos de conservação ambiental (STRASSBURG et al., 2014). Esses fatores justificam a necessidade de intensificação dos sistemas de produção já existentes e do aumento da eficiência dos rebanhos.

Nesse sentido, o uso das biotecnologias da reprodução e dos acasalamentos raciais possibilita ganhos genéticos e vantagens produtivas adicionais, como a produção de maior número de matrizes para reposição, maior precocidade sexual nas fêmeas e maior taxa de desfrute do rebanho (RODRIGUES et al., 2013). Por essa razão, a utilização de matrizes *Bos indicus* x *Bos taurus* tem sido recomendada nos sistemas de produção (EBERHARDT et al., 2009), bem como o uso de raças compostas, que utilizam complementarmente a genética de animais europeus e zebuínos, visando à maior produtividade.

Paralelamente, a utilização de sistemas integrados de produção, como os silvipastoris e agrossilvipastoris, tem sido recomendada no Brasil como tecnologia inovadora, rompendo o paradigma de adoção da monocultura das pastagens (BALBINO et al., 2011). Estes sistemas podem agregar pastagem, lavoura e floresta, com o objetivo de aproveitar ao máximo a área destinada à agropecuária. Além disso, têm sido apontados como alternativa para redução do estresse térmico pelo calor e para mitigação dos efeitos negativos que a intensa carga térmica radiante impõe aos animais produzidos a pasto. (GARCIA et al., 2011).

Pode-se estimar que no Brasil hajam cerca de 68 milhões de hectares aptos para uso de sistemas integrados de produção no Brasil, ou seja, disponíveis para serem usados sem a necessidade de incorporação de novas áreas agrícolas. Somente o Estado de São Paulo concentra 10,5 milhões de hectares de áreas aptas, sendo o terceiro estado da federação com maior potencial de uso de sistemas integrados, atrás apenas de Minas Gerais e Goiás (EMBRAPA, 2011). Atualmente, os sistemas integrados de produção ocupam cerca de 12 milhões de hectares e há uma estimativa de que até 2020 essa ocupação chegue aos 15 milhões de hectares no país (ASBIA, 2014).

Todavia, existem diversos questionamentos quanto aos impactos positivos da adoção dos sistemas integrados de produção. São desconhecidos, por exemplo, os potenciais ganhos reprodutivos, no conforto térmico e no bem-estar que matrizes bovinas podem apresentar quando mantidas nesses sistemas durante as fases de cria ou recria. Há, portanto, demanda recorrente do setor produtivo e dos órgãos financiadores sobre os indicadores técnicos alcançáveis quando os sistemas integrados de produção pecuária são utilizados.

Deste modo, o objetivo da realização dos estudos apresentados nesta Tese foi avaliar a capacidade de modificação do microclima em áreas de pastejo intensivo quando o componente arbóreo foi incorporado ao sistema de produção, bem como comparar a ambiência proporcionada a fêmeas bovinas Canchim mantidas em sistemas de pastejo rotacionado intensivo ou silvipastoril, considerando suas respostas fisiológicas, produtivas e reprodutivas.

REVISÃO DE LITERATURA

Desafios ao desempenho animal em sistemas de produção no Brasil

Considerando que 92% do território brasileiro está situado na zona intertropical, onde prevalecem altas temperaturas e umidade relativa do ar, pode-se afirmar que a produção de bovinos no Brasil é desempenhada sob condição climática desafiadora e que pode levar os animais a um quadro de desequilíbrio térmico (GARCIA, 2013). Além disso, recentes pesquisas apontam para um incremento nas temperaturas globais, o que também tem contribuído para prejuízos na produtividade animal, em função de desequilíbrios na homeostase e, conseqüentemente, com comprometimento da saúde dos animais (NARDONE et al., 2010).

Quando submetidos a ambientes com temperaturas elevadas, os bovinos podem apresentar quadro de estresse térmico (SCHARF et al., 2010). O estresse térmico reduz o conforto dos animais (VAN LAER et al., 2014), prejudica a ingestão de matéria seca e a eficiência de conversão alimentar (HAHN, 2009), dentre outros aspectos. Há, pois, alterações na secreção de hormônios e conseqüente modificação do padrão metabólico de energia, proteínas e minerais. Essas disfunções alteram o perfil circulante de ácidos graxos não esterificados (AGNEs) e de glicose, predispondo o animal a doenças metabólicas, com conseqüências negativas na produção e na reprodução (NARDONE et al., 2010).

No Brasil, vastas áreas de pastagens são destinadas à produção de bovinos de corte. Contudo, em geral, baixa tecnologia é utilizada nesta atividade, sendo possível observar baixas taxas de lotação animal associadas a baixos índices de produtividade. Em conjunto, esses fatores contribuem para que a atividade não atinja alta lucratividade(EMBRAPA, 2011).

Entretanto, a utilização de tecnologias, como uso de corretivos e fertilizantes, bem como plantio de novas espécies forrageiras e incorporação de outros componentes agrícolas aos sistemas de pastagem, têm contribuído para a redução das áreas degradadas no país, o que desempenha papel importante no modo de produzir, tornando a atividade pecuária mais sustentável. Em 2016 a área de sistemas de integração lavoura-pecuária-floresta (iLPF) no país era de 11,5 milhões de hectares e as principais

razões para a adoção por parte dos pecuaristas são a redução do impacto ambiental, a recuperação das áreas de pastagem, a rotação de culturas por necessidade técnica, o aumento da rentabilidade por hectare e a diminuição do risco financeiro (FARIA, 2016), além de áreas de pastagem bem manejadas determinarem maior produção animal por área de ocupação, o que, em suma, torna o sistema mais eficiente (OLIVEIRA et al., 2015).

Além disso, o uso do componente arbóreo em áreas de pastagens tem apresentado efeito mitigador quanto ao estresse imposto aos animais e resultado em melhor desempenho animal, devido à melhora no seu conforto térmico (GARCIA et al., 2011; VAN LAER et al., 2014). Os sistemas de produção que integram o componente arbóreo, também conhecidos como sistemas silvipastoris, têm sido mencionados na literatura como potenciais em beneficiar o conforto térmico animal, em países nos quais incide o clima tropical. Altas temperaturas são comumente relacionadas a prejuízos em bovinocultura de leite e de corte e podem afetar o desempenho produtivo e reprodutivo dos animais.

Componente racial como fator de tolerância

Sabe-se que o rebanho bovino de corte no país é formado majoritariamente por animais zebuínos, dada sua característica de resistência ao clima tropical (IBGE, 2016). Entretanto, é pertinente considerar que gradativamente têm ocorrido mudanças quanto à composição genotípica dos animais atualmente destinados à produção de carne no Brasil, com crescente participação de animais taurinos para produção de matrizes cruzadas e de animais para terminação (ASBIA, 2014). De modo pioneiro, foi desenvolvida há mais de cinco décadas a raça Canchim, que é resultado do cruzamento de Charolês e Zebu com a contribuição das raças Indubrasil, Guzerá e Nelore (na proporção genética de $\frac{5}{8}$ Charolês x $\frac{3}{8}$ Zebu) (VIANNA et al., 1978).

Em 1984, na Embrapa Pecuária Sudeste, foi iniciado um projeto para o desenvolvimento de uma nova linhagem de Canchim, que consistiu na obtenção de fêmeas cruzadas Canchim x Nelore (grupo A), para posterior acasalamento destas com touros da raça Charolês. Assim sendo, em 1990 nasceram os primeiros animais do grupo

MA (filhos de touros da raça Charolesa com fêmeas do grupo A) e em 1993, os primeiros animais da nova linhagem (bimestiços filhos de touros MA com fêmeas Canchim x Nelore).

Os pesquisadores envolvidos relataram ganhos adicionais com a introdução de genes de raças europeias na formação das matrizes compostas. Matrizes de raças europeias trazidas ao Brasil, mesmo que produtivas nas suas regiões de origem, não eram adaptadas às regiões de clima tropical, deste modo, não apresentavam desempenho compatível com o esperado. Sendo assim, como não era possível a introdução pura e simples de raças europeias nos sistemas de produção do Brasil Central, desenvolveu-se essa nova raça para produção de carne. Esta tem em sua constituição genes de raça europeia, que apresentam elevada produtividade, e genes de raças zebuínas, que lhe possibilitam maior tolerância às condições do clima tropical (ALENCAR, 2000).

Em estudos prévios sobre o desempenho produtivo de fêmeas Canchim criadas em sistemas de pastagens tropicais, foram avaliadas em abordagem zootécnica, dentre outras características, a idade à puberdade, tendo como referência os registros de demonstração do estro e a avaliação de idade ao primeiro parto (ALENCAR, BÜGNER, 1989; RESTLE et al., 1999). Contudo, a fisiologia reprodutiva desse grupo genético sendo manejado em sistemas integrados de produção, ainda são incertas, podendo estar também susceptível aos efeitos benéficos proporcionados por sistemas arborizados (GARCIA et al, 2011). Tais benefícios, podem contribuir para a antecipação da puberdade em fêmeas jovens, diminuir o balanço energético negativo no pós-parto de vacas lactantes, contribuindo para maiores taxas de ciclicidade e prenhez, as quais são características de alto impacto econômico nos sistemas de produção pecuária.

Índices de conforto térmico e bem-estar animal

Denomina-se “termorregulação” a capacidade intrínseca do animal em manter a temperatura corporal dentro de uma determinada faixa fisiológica (HANSEN, 2004). Existem diversas formas de se avaliar as variáveis que interferem na termorregulação, e que podem determinar certo grau de estresse ao animal (ARIAS e MADER, 2009). Em

condições de termoneutralidade, espera-se que o balanço térmico entre o animal e o ambiente seja nulo, ou seja, o calor produzido pelo animal acrescido do calor do ambiente seja igual à perda por radiação, convecção, condução e evaporação (LUZI et al., 2013), configurando uma situação de equilíbrio ou homeostase. Para que seja possível estudar as interferências do meio na homeostase, é necessário o estabelecimento de medidas da variação climática e da fisiologia animal, de modo a entender como as condições climáticas influenciam o conforto térmico animal e sua capacidade termorregulatória (ARIAS e MADER, 2009; TITTO et al., 2011).

Por isso, em pesquisas de interesse bioclimatológico, é importante realizar o monitoramento de variáveis ambientais, tais como as medidas de temperatura de termômetro de bulbo seco, de bulbo úmido, de globo negro, de radiação solar global e da umidade relativa do ar. Essas informações podem compor índices ou serem relacionadas às respostas fisiológicas no animal, gerando relevantes informações sobre a condição de bem-estar animal. Dentre os índices mais conhecidos e rotineiramente utilizados em estudos dessa natureza, citam-se os índices de Temperatura e Umidade (ITU), Temperatura de Globo e Umidade (ITGU) e o de Carga Térmica Radiante (CTR; BOHMANOVA et al., 2007; CASTRO et al., 2008; TORRES-JÚNIOR et al., 2008; FERREIRA, 2012) que podem ser individualmente correlacionados às variáveis fisiológicas (temperatura retal - TR, frequência cardíaca - FC, frequência respiratória - FR).

O ITU desde que foi desenvolvido é utilizado pelo United States Weather Bureau como um índice de conforto térmico humano. Além disso, tem constituído um indicador bioclimatológico nos sistemas de produção animal, com o objetivo de direcionar medidas de manejo para aliviar desconforto térmico dos animais. Seu cálculo deriva de uma equação que considera os valores de temperatura e da umidade relativa do ar, do seguinte modo: $ITU = Ta + 0,36Tpo + 41,7$, em que Ta é a temperatura do ar (°C) e Tpo é a temperatura de ponto de orvalho (°C) (THOM, 1959).

Entretanto, os animais criados em campo aberto sofrem grande influência da radiação solar, e, assim, o ITU pode não ser o melhor indicador para a avaliação do ambiente em que esses animais são criados. Deste modo, BUFFINGTON et al., (1981) desenvolveram o ITGU, que a princípio foi elaborado para vacas leiteiras criadas a pasto,

e, posteriormente, foi utilizado na avaliação do ambiente térmico de outros animais de produção.

O ITGU é calculado considerando-se a temperatura de globo negro, o índice de temperatura e umidade, em substituição à temperatura de bulbo seco, e estima em um único valor os efeitos da temperatura e da velocidade do ar, da umidade relativa e da radiação solar, na seguinte equação: $ITGU = T_{gn} + 0,36T_{po} + 41,7$, em que T_{gn} é a temperatura de globo negro (°C) e T_{po} é a temperatura de ponto de orvalho (°C) (BUFFINGTON et al., 1981).

Quadro 1. Parâmetros para avaliação do ITGU em áreas de produção animal (Adaptado de Baêta e Souza, 2010)

Variação	Descrição
< 72	Ambiente propício para criação de qualquer animal europeu
72 A 76	Elevação da FR, sem comprometer a homeostase
76 A 82	Elevação da FR, da temperatura corpórea, necessidade de manejo cuidadoso para obter sucesso
82 A 86	Somente com meios artificiais de termólise, haverá produção condizente com o potencial genético
>86	Quase incompatível com a produção

O estudo das trocas térmicas por radiação entre os animais e o ambiente é de importância fundamental em climas tropicais. O conjunto dessas fontes de radiação térmica denomina-se carga térmica radiante (CTR). Para determinação da CTR é frequentemente utilizado um globo negro, o mesmo utilizado para o cálculo do ITGU. O globo constitui um modelo físico do animal a ser estudado, trocando energia radiante com o meio ambiente e equilibrando a energia absorvida pelas perdas através de convecção. A CTR é uma determinação da carga térmica adsorvida da radiação direta, ou indireta, ou até refletida do ambiente, e é calculada com a seguinte equação: $CTR = 1,053 \times B \times v^{1/2} (T_{gn} - T_a) + \sigma (T_{gn} + 273,2)^4 = W/m^2$, em que B é o parâmetro de troca térmica ($B = 13,462$ para globos de 15cm de diâmetro), v é a velocidade do vento em m/s, e σ é a constante de Stefan-Boltzmann ($\sigma = 5,6697 \times 10^{-8} W \cdot m^{-2} K^{-4}$) (ESMAY, 1982).

Nesta equação considera-se que toda troca térmica não-radiante ocorra no globo apenas por convecção forçada, o que é fundamental, uma vez que podem ocorrer situações em que a velocidade do vento é baixa ou nula, tal como acontece no interior de ambientes fechados, como câmaras climáticas, por exemplo. Em consequência, a termólise por convecção passiva ou natural torna-se predominante, ao mesmo tempo em que a convecção forçada tende a zero. Isso introduz um erro importante na determinação da CTR pela equação apresentada, a qual indicará então somente as trocas térmicas efetuadas por radiação, uma vez que não prevê as trocas por convecção natural.

A temperatura de superfície cutânea pode ser aferida por termografia de radiação infravermelha (IRT) de alguns pontos do corpo de um indivíduo tem sido altamente correlacionada com a TR (KOTRBA et al., 2007; LUZI et al., 2013; FERREIRA, 2012, TORRES JR. et al, 2008). O uso de termômetros com mira a laser permite aferir a temperatura isolada de um ponto, apontando para a região do corpo do animal que se deseja avaliar a uma distância aproximada de 5 cm da superfície corpórea. Usualmente, medem-se quatro pontos da área a ser estudada e calcula-se uma média da temperatura da região (FERREIRA, 2012; TORRES JR. et al, 2008).

Recentemente, o uso de câmeras de irradiação infravermelha (IRT - *infrared thermography*), também chamadas de termógrafos, tem sido regularmente citado na literatura como eficiente método não invasivo para avaliar temperatura de superfície em animais de produção (ROBERTO e SOUZA, 2014; TALUKDER et al., 2015; PANTOJA et al, 2017) e de companhia (DURRANT et al., 2006). A IRT é de uso comum no setor industrial e nos últimos tempos tem sido de grande utilidade para identificação de patologias na medicina humana e animal. A IRT corpórea produz termogramas, baseado na geração e interpretação de imagens infravermelhas capazes de refletir a dinâmica microcirculatória da superfície cutânea dos pacientes em tempo real (BRIOSCHI et al., 2003).

A IRT é capaz de identificar aumento de perfusão sanguínea e metabolismo através da radiação infravermelha emitida pelo corpo em análise, seja por condições patológicas (traumas e lesões agudas locais) e/ou por condições fisiológicas (início de gestação, cio) (LUZI et al., 2013). Nesse contexto, vem sendo utilizada também para identificar falhas na termorregulação em órgãos específicos, tendo seus resultados

altamente correlacionados às alterações funcionais dos mesmos (TALUKDER et al., 2014; KAHWAGE et al, 2018; MOURA et al, 2019; SILVA et al, 2017). Embora existam diversos estudos em que foram utilizados animais de raças zebuína e taurina com termômetros de radiação infravermelha para a monitoração da superfície cutânea (FERREIRA, 2012; TORRES JR. et al, 2008), ainda são necessários estudos para melhor compreensão da correlação entre variáveis de temperatura corpórea, temperatura de superfície e fertilidade, seja em animais estabulados ou em animais criados a campo (CHURCH et al., 2014).

Tendo em vista a resposta do animal ao ambiente, têm sido propostas modificações nos sistemas de produção, tais como a adoção de sistemas intensivos de produção confinada que possibilitem maior controle da condição climática por meio de exaustores, ventiladores, aspersores e condicionadores de ar (MATARAZZO et al., 2006). Também, outras estratégias já foram propostas, como a utilização de baias sombreadas em confinamentos comerciais e o plantio de árvores, sejam frutíferas ou para exploração da madeira, em áreas de pastejo (CASTRO et al., 2008; SILVA et al, 2014).

Nesse contexto, considerando a importância que assume nos sistemas de produção animal, a resposta termorregulatória de bovinos tem sido alvo de pesquisa no Brasil (BARROS et al., 2006, RIBEIRO et al., 2009), sendo aceito entre os pesquisadores que a sombra mais eficiente em termos de conforto animal é aquela fornecida pelas árvores (BACCARI JUNIOR, 1983; CASTRO et al., 2008; SILVA et al., 2014). Por isso, o sombreamento é considerado elemento importante em áreas de pastagem destinadas à bovinocultura, sejam elas de manejo intensivo ou extensivo, a fim de reduzir a carga térmica radiante proveniente da radiação solar direta sobre os animais.

Desafio reprodutivo em vacas de corte sob condição de estresse térmico

O aumento das temperaturas globais tem sido causa de prejuízos na produção animal por ocasionar danos severos na condição fisiológica, no metabolismo e na saúde dos animais (NARDONE et al., 2010). Há relatos na literatura de que o estresse térmico determina prejuízos no desempenho e no bem-estar dos animais de produção

(LACETERA et al., 2003). A redução da ingestão de matéria seca (IMS) seguida de falhas na eficiência da conversão alimentar com implicações nas variáveis produtivas e reprodutivas são comumente relacionadas a bovinos nestas condições (TORRES JÚNIOR et al., 2008; HAHN, 2009).

Deste modo, é possível observar que o estresse térmico leva à perda de peso nos bovinos (LACETERA et al., 2003; FERRAZA et al., 2017) e, caso os animais se mantenham por longos períodos sob essa condição, a baixa ingestão alimentar (TORRES-JÚNIOR et al., 2008; HAGENMAIER et al., 2016) é seguida por alterações no padrão de secreção de hormônios essenciais (HAHN, 2009) para a manutenção do metabolismo, que determinam redução na produção de calor metabólico (YOUSEF, 1985) e modificam o padrão de energia, proteínas e minerais. Essas alterações modificam o perfil de ácidos graxos não esterificados e glicose dos animais impactando negativamente na produção, na reprodução (FERREIRA et al., 2016) e na saúde geral dos mesmos, tanto em sistemas intensivos quanto extensivos de produção (NARDONE et al., 2010).

Neste contexto, a presença de arborização em áreas de pastagens tem resultado em melhor desempenho animal, devido à melhora no seu conforto térmico (LEME et al., 2005; VAN LAER et al., 2014). Nas últimas décadas, têm sido mais frequentes os estudos que apresentam efeitos da ambiência no comportamento e produção animal (LEME et al., 2005; SOUZA, 2010) e a implementação de melhorias em termos de estrutura da propriedade tem refletido em índices mais satisfatórios de rendimento da atividade pecuária.

Em contrapartida, sabe-se que nos sistemas de produção pecuária em que o grau de sombreamento é baixo ou nulo, o microclima estabelecido nas pastagens, principalmente quanto às variáveis de umidade relativa do ar, temperatura e radiação solar, pode causar desconforto aos animais, elevando seu nível de estresse e reduzindo seu desempenho produtivo (BEEDE e COLLIER, 1986). Por isso, para que se possa obter o sucesso da produção animal em regiões tropicais e subtropicais, torna-se necessária a diminuição dos efeitos climáticos.

O mecanismo pelo qual o estresse térmico diminui o consumo é explicado pela redução no tempo de pastejo e conseqüente elevação do período de ócio dos animais,

resultando em menor IMS (SOUZA, 2010). A redução da ingestão alimentar determina menor aproveitamento dos nutrientes e, conseqüentemente, os ganhos de peso e produção de leite são prejudicados (BOHMANOVA et al., 2007). Adicionalmente, o estresse ocasionado pelo calor também reduz a fertilidade do rebanho, impactando negativamente sobre a qualidade e competência oocitária, bem como sobre as taxas de concepção e sobre o peso ao nascer dos bezerros (AL-KATANANI et al., 2002; FERREIRA et al., 2011; FERREIRA et al., 2016; HANSEN et al., 2001; ROTH et al, 2001; ROTH & HANSEN, 2004; SARTORI et al., 2002; TAO & DAHL, 2013; TORRES-JÚNIOR et al, 2008).

O estresse térmico ocasiona redução da fertilidade de modo multifatorial. Primeiramente, a hipertermia corpórea determina injúrias nos tecidos que compõem o trato reprodutivo das fêmeas (HANSEN, 2004). Posteriormente, pode haver um comprometimento da atividade folicular ovariana e a habilidade do folículo dominante em suprimir o crescimento dos demais folículos (ROTH, 2008). Adicionalmente, há redução na qualidade e na viabilidade do oócito (HANSEN et al, 2001; ROTH et al, 2001; TORRES JR et al, 2008; FERREIRA et al, 2011; FERREIRA et al, 2016 diminuindo as taxas de fecundação e elevando as taxas de perdas embrionárias em novilhas e vacas *Bos taurus*, *Bos indicus* e cruzadas (BURNS et al., 2010).

Ao comprometer a esteroidogênese, o estresse pelo calor constitui um dos principais fatores que impactam negativamente na manutenção da gestação em bovinos de corte (HANSEN et al., 2001). Em estudo retrospectivo, no qual dados de condições ambientais durante a estação de monta foram monitorados durante dez anos, foi observada redução na taxa de prenhez em vacas *Bos taurus* de corte quando a média diária do ITU foi superior a 72,9 (AMUNDSON et al., 2006).

Os efeitos negativos do estresse térmico sofrido pela mãe durante a gestação também podem prejudicar o crescimento fetal. Há, também, evidências de que o desequilíbrio endócrino desencadeado durante o estresse térmico é capaz de bloquear a atividade do estradiol e inibir o comportamento sexual. As altas concentrações de cortisol, comuns em situações de estresse, incrementam a retroalimentação negativa do estradiol, o que interfere no padrão de liberação pulsátil do LH. Isso compromete o pico

pré-ovulatório de estradiol (BREEN et al., 2005), levando ao prolongamento do ciclo estral e a alterações ovarianas em animais criados sob constante desafio calórico.

Muito embora animais *Bos indicus* se mostrem mais resistentes do que os *Bos taurus* às altas temperatura e umidade relativa do ar, estudo retrospectivo evidenciou decréscimo na produção *in vitro* de embriões em vacas Nelore, quando as mesmas tiveram seus oócitos aspirados na estação mais quente do ano (FERRAZ et al., 2005). Além disso os resultados da PIVE em animais de raças zebuínas também podem ser comprometidos quando em condições de estresse térmico (Paula-Lopes et al, 2003) Nesse contexto, o uso de arborização em áreas de pastagens tem apresentado efeito mitigador quanto ao estresse imposto aos animais e tem resultado em melhor desempenho animal, devido à melhora no seu conforto térmico (GARCIA et al., 2011; VAN LAER et al., 2014). Contudo, os efeitos destes tipos de sistema sobre a reprodução não estão esclarecidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIEC. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. **Exportações Brasileiras de Carne Bovina**, 2017. Disponível em: <http://www.abiec.com.br/download/Anual-jan-dez-2017.pdf>. Acesso em: 11 de junho de 2018.
- ALENCAR, M. M.; BUGNER, M. Desempenho produtivo de fêmeas das raças Canchim e Nelore. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 22, p. 867-872, 1987.
- ALENCAR, M.M.; BARBOSA, P.F.; BARBOSA, R.T.; VIEIRA, R.C. Parâmetros genéticos para peso e circunferência escrotal em touros da raça Canchim. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.22, n.4, p.572-583, 1993.
- AL-KATANANI, Y. M.; WEBB, D. W.; HANSEN, P. J. Factor affecting seasonal variation in 90-day nonreturn rate to first service in lactating Holstein cows in a hot climate. *Journal of Dairy Science*, v. 82, n. 12, p. 2611-2616, 1999.
- AL-KATANANI Y, M.; RIVERA, R. M.; HANSEN. P. J. Seasonal variation in development of in vitro produced bovine embryos. *Vet Rec.*, Apr 13;150(15):486-7, 2002.
- AMUNDSON, J.L.; MADER, T.L.; RASBY, R.J.; HU, Q.S. Environmental effects on pregnancy rate in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.84, p.3415-3420, 2006.
- ARIAS, R.; MADER, T. L. Effects of environmental factors on body temperature of feedlot cattle. **Nebraska Beef Cattle Report**, p. 102-104, 2009. Disponível em: <http://digitalcommons.unl.edu/animalscinbcr/510>.
- ASBIA. Associação Brasileira de Inseminação Artificial. **Index Asbia Mercado**, 2014. Disponível em: <http://www.asbia.org.br/novo/upload/mercado/index2014.pdf>.
- BACCARI JUNIOR, F.; JOHNSON, H. D.; HAHN, G. L. Environmental heat stress on growth plasma T3 and post heat compensatory effects on Holstein calves. **Proceedings of The Society for Experimental Biology and Medicine**, v.173, p.312-318, 1983.
- BAÊTA, F. C.; SOUZA, C. F. **Ambiência em edificações rurais: Conforto animal**, ed 2, Viçosa: EDUFV, 269p, 2010.
- BALBINO, L.C.; CORDEIRO, L.A.M.; PORFÍRIO-DA-SILVA, V.; MORAES, A.; MARTÍNEZ, G.B.; ALVARENGA, R.C.; KICHEL, A.N.; FONTANELI, R.S.; SANTOS, H.P.; FRANCHINI, J.C.; GALERANI, P.R. Evolução tecnológica e arranjos produtivos de sistemas de integração lavoura-pecuária-floresta no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, n.10, p. i-xii, 2011.
- BARROS, C. M.; PEGORER, M.F.; VASCONCELOS, J.L.M.; EBERHARDT, B.G.; MONTEIRO, F.M. Importance of sperm genotype (*indicus versus taurus*) for fertility and

embryonic development at elevated temperatures. **Theriogenology**, v. 65, p. 210–218, 2006.

BEEDE, D. K.; COLLIER, R. J. Potential nutritional strategies for intensively managed cattle during thermal stress. **Journal of Animal Science**, v. 62, p. 543-554, 1986.

BREEN, K.M.; BILLINGS, H.J.; WAGENMAKER, E.R.; WESSINGER, E.W.; KARSCH, F.J. Endocrine basis for disruptive effects of cortisol on preovulatory events. **Endocrinology**, v.146, p.2107-2115, 2005.

BOHMANOVA, J.; MISZTAL, I.; COLE, J. B. Temperature-Humidity Indices as indicators of milk production losses due to heat stress. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 1947-1956, 2007.

BRIOSCHI, M. L.; MACEDO, J. F.; MACEDO, R. A. C. Skin thermometry: new concepts. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 2, p. 151-160, 2003.

BUFFINGTON, D.E.; COLLAZO-AROCHO, A.; CANTON, G.H.; PITT, D.; THATCHER, W.W.; COLLIER, R..J. Black globe-humidity index (BGHI) as comfort equation for dairy cows. **Transactions of ASAE**, v.24, n.3, p.711-14, 1981.

BURNS, B.M.; FORDYCE, G.; HOLROYD, R.G. A review of factors that impact on the capacity of beef cattle females to conceive, maintain a pregnancy and wean a calf – Implications for reproductive efficiency in northern Australia. **Animal Reproduction Science**, v.122, p.1-22, 2010.

CASTRO, A.C.; LOURENÇO JÚNIOR, J.B.; SANTOS, N.F.A.; MONTEIRO, E.M.M.; AVIZ, M.A.B.; GARCIA, A.R. Sistema silvipastoril na Amazônia: ferramenta para elevar o desempenho produtivo de búfalos. **Ciência Rural**, v.38, n.8, p.2395-2402, 2008.

CHURCH, J. S.; HEGADOREN, P. R.; PAETKAU, M. J.; MILLER, C. C.; REGEV-SHOSHANI, G.; SCHAEFER, A. L.; SCHWARTZKOPF-GENSWEIN, K. S. Influence of environmental factors on infrared eye temperature measurements in cattle. **Research in Veterinary Science**, v. 96, p. 220-226, 2014.

DURRANT, B. S.; RAVIDA, N.; SPADY, T.; CHENG, A. New technologies for the study of carnivore reproduction. **Theriogenology**, v. 66, n. 6-7, p. 1729-1736, 2006.

EBERHARDT, B.G.;SATRAPA, R.A.;CAPINZAIKI, C.R.;TRINCA, L.A.;BARROS, C.M. Influence of the breed of bull (*Bos taurus indicus* vs. *Bos taurus taurus*) and the breed of cow (*Bos taurus indicus*, *Bos taurus taurus* and crossbred) on the resistance of bovine embryos to heat. **Animal Reproduction Science**, v.14, n.1-3, p.54-61, 2009.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Marco referencial Integração Lavoura-Pecuária-Floresta**. Embrapa: Brasília, 132p. 2011.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO Statistical Pocket book, 2015. Disponível em <http://www.fao.org/3/a-i4691e.pdf>.

FARIA, G. iLPF em números. **Embrapa -Rede ILPF**, v.1, 12 p. 2016. Disponível em: <https://www.embrapa.br/web/rede-ilpf>. Acesso em 11 de junho de 2018

FERRAZ, M.L.; WATANABE, Y.F.; SÁ FILHO, M.F.; REIS, E.L.; BARUSELLI, P.S. Influência dos meses do ano no número, na quantidade ovocitária e na produção in vitro de embriões em vacas Nelore (*Bos indicus*). In: **Anais do XVI Congresso Brasileiro de Reprodução Animal**, Goiânia-GO, Brasil, p.16, 2005.

GARCIA, A.R. Conforto térmico na reprodução de bubalinos criados em condições tropicais. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.37, p.121-130, 2013.

GARCIA, A.R.; MATOS, L.B.; LOURENÇO JUNIOR, J.B.; NAHÚM, B.S.; ARAÚJO, C.V.; SANTOS, A.X. Variáveis fisiológicas de búfalas leiteiras criadas sob sombreamento em sistemas silvipastoris. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, p.1409-1414, 2011.

GAUGHAN, J.B.; MADER, T.L.; HOLT, S.M.; LISLE, A. A new heat load index for feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v.86, p.226-234, 2008.

HAHN, G.L.; GAUGHAN, J.B.; MADER, T.L.; EIGENBERG, R.A. Thermal indices and their applications for livestock environments. In: J.A. De Shazer, ed. **Livestock Energetics and Thermal Environmental Management**, p.113-130, 2009.

HANSEN, P.J. Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, p.349-360, 2004.

HANSEN, P.J.; DROST, M.; RIVERA, R.M.; PAULA-LOPES, F.F.; AL-KATANANI, Y.M.; KRININGER III, C.E.; CHASE JUNIOR, C.C. Adverse impact of heat stress on embryo production: causes and strategies for mitigation. **Theriogenology**, v.55, p.91-103, 2001.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – **Pesquisa Pecuária Municipal**, 2017.

KOTRBA, R.; KNÍZKOVÁ, I.; KUNC, P.; BARTOS, L. Comparison between the coat temperature of the eland and dairy cattle by infrared thermography. **Journal of Thermal Biology**, v.32, p.355-359, 2007.

LACETERA, N.; BERNABUCCI, U.; RONCHI, B.; NARDONE, A. Physiological and productive consequences of heat stress. The case of dairy ruminants. In: Lacetera, N., Bernabucci, U., Khalifa, H.H., Ronchi, B., Nardone, A. (Eds.), **Proceedings of the Symposium on Interaction between Climate and Animal Production**, p. 45-59, 2003.

LEME, T. M. S. P.; PIRES, M. F. A.; VERNEQUE, R. S.; ALVIM, M. J.; AROEIRA, L. J. M. Comportamento de vacas mestiças Holandês x Zebu em pastagem de *Brachiaria decumbens* em sistema de silvipastoril. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 3, p. 668-675, 2005.

LUZI, F.; MITCHELL, M.; COSTA, L. N.; REDAELLI, V. Thermography: Current status and advances in livestock animals and in Veterinary Medicine. **Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche**:Brescia, Itália, v. 1, p. 236, 2013.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Brasil. Decisão dos EUA abre mercado de carne bovina in natura para 13 estados e o DF, 2015. Disponível em <http://www.agricultura.gov.br/comunicacao/noticias/2015/06/decisao-dos-eua-abre-mercado-de-carne-bovina-in-natura-para-13-estados-e-o-df>.

MATARAZZO, S.V.; SILVA, I. J. O.; PERISSINOTTO, M.; FERNANDES, S. A. A. Intermittência do sistema de resfriamento adiabático evaporativo por aspersão em instalação para vacas em lactação. **Engenharia Agrícola**: Jaboticabal, v.26, n.3, p. 654-662, 2006.

NARDONE, A.; RONCHI, B.; LACETERA, N.; RANIERI, M.S.; BERNABUCCI, U. Effects of climate changes on animal production and sustainability of livestock systems. **LivestockScience**, v.130, p.57-69, 2010.

OLIVEIRA, P.P.A.; BERNARDI, A.C.C.; ALVES, T.C.; PEDROSO, A. DE F. 2014. Evolução na recomendação de fertilização de solos sob pastagens: eficiência e sustentabilidade na produção pecuária. Anais... [do] 9. **Simpósio de Produção de Gado de Corte e 5th International Symposium of Beef Cattle Production** / 9. Simpósio de Produção de Gado de Corte e 5th International Symposium of Beef Cattle Production, 19 a 21 de junho de 2014, Viçosa, MG; editores Sebastião de Campos Valadares Filho ... [et al.]. – Viçosa, MG: UFV, DZO, 426 p., 2014.

PAULA-LOPES, F. F.; CHASE, C. C. JR.; AL-KATANANI, Y. M.; RIVERA, R.M.; TEKIN S.; MAJEWSKI, A. C.; OCON, O. M.; OLSON, T.A.; HANSEN, P. J. Genetic divergence in cellular resistance to heat shock in cattle: differences between breeds developed in temperate versus hot climates in responses of preimplantation embryos, reproductive tract tissues and lymphocytes to increased culture temperatures. **Reproduction**, Feb;125(2):285-94, 2003.

RESTLE, J.; POLLI, V. A.; SENNA, D. B. Efeito de grupo genético e heterose sobre a idade e peso à puberdade e sobre o desempenho reprodutivo de novilhas de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 4, p. 701-707, 1999.

RIBEIRO, A. R. B.; ALENCAR, M. M.; FREITAS, A. R.; REGITANO, L. C. A.; OLIVEIRA, M. C. S.; IBELLI, A. M. G.; PAÇÓ, A. L. Análises exploratórias em dados de medidas fisiológicas associadas à termorregulação de bovinos puros e cruzados submetidos a teste de tolerância ao calor. 46ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Maringá, PR, **Anais...**, 2009.

ROBERTO, J. V. B.; SOUZA, B. B. Utilização da termografia de infravermelho na medicina veterinária e na produção animal. **Journal of Animal Behaviour and Biometeorology**, v. 2, n. 3, p. 73-84, 2014.

RODRIGUES, A.D.P.; PERES, R.F.G.; LEMES, A.P.; MARTINS, T.; PEREIRA, M.H.C.; DAY, M.L.; VASCONCELOS, J.L.M. Progesterone-based strategies to induce ovulation in prepubertal Nellore heifers. **Theriogenology**, v.79, p.135-141, 2013.

ROTH, Z.; ARAV, A.; BOR, A.; ZERON, Y.; BRAY-TAL, R.; WOLFENSON, D. Improvement of quality of oocytes collected in autumn by enhanced removal of impaired follicles from previously heat-stressed cows. *Reproduction*, v. 122, n.5, p. 737-744, 2001.

ROTH, Z.; HANSEN, P. J. Involvement of apoptosis in disruption of developmental competence of bovine oocytes by heat shock during maturation. *Biology of Reproduction*, v. 71, n. 6, p. 1898-1906, 2004.

ROTH, Z. Heat stress, the follicle, and its enclosed oocyte: mechanisms and potential strategies to improve fertility in dairy cows. **Reproduction in Domestic Animals**, v.43 (Suppl. 2), p.238-244, 2008.

SCHARF, B.; CARROLL, J.A.; RILEY, D.G.; CHASE, C.C.; COLEMAN, S.W.; KEISLER, D.H.; WEABER, R.L.; SPIERS, D.E. Evaluation of physiological and blood serum differences in heat-tolerant (Romosinuano) and heat-susceptible (Angus) *Bos taurus* cattle during controlled heat challenge. **Journal of Animal Science**, v.88, p.2321-2336, 2010.

SILVA, J.A.R.; ARAÚJO, A.A.; LOURENÇO JÚNIOR, J.B.; SANTOS, N.F.A.; VIANA, R.B.; GARCIA, A.R.; RONDINA, D.; GRISE, M.M. Hormonal changes in female buffaloes under shading in tropical climate of Eastern Amazon, Brazil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.43, n.1, p.44-48, 2014.

SOUZA, W.; BARBOSA, O. R.; MARQUES, J. DE A.; GASPARINO, E.; CECATO, U.; BARBERO, L. M. Behavior of beef cattle in silvipastoral systems with eucalyptus. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 3, p. 677-684, 2010.

STRASSBURG, B.B.N.; LATAWIEC, A.E.; BARIONI, L.G.; NOBRE, C.A.; SILVA, V.P.; VALENTIM, J.F.; VIANNA, M.; ASSAD, E.D. When enough should be enough: Improving the use of current agricultural lands could meet production demands and spare natural habitats in Brazil. **Global Environmental Change**, v.28, p.84-97, 2014.

TALUKDER, S.; THOMSON, P. C.; KERRISCK, K. L.; CLARK, C. E. F.; CELI, P. Evaluation of infrared thermography body temperature and collar-mounted accelerometer and acoustic technology for predicting time of ovulation of cows in a pasture-based system. **Theriogenology**, v.83, n. 4, p. 739-748, 2015.

THOM, E.C. The discomfort index. **Weatherwise**, v.12, p.57-60, 1959.

TITTO, C. G., TITTO, E. A. L., TITTO, R. M., MOURÃO, G. B. Heat tolerance and the effects of shade on the behavior of Simmental bulls on pasture. **Animal Science Journal**, v. 82, p. 591-600, 2011.

TORRES-JÚNIOR, J.R.S.; PIRES, M.F.A.; DE SÁ, W.F.; FERREIRA, A.M.; VIANA, J.H.M.; CAMARGO, L.S.A.; RAMOS, A.A.; FOLHADELLA, I.M.; POLISSENI, J.; FREITAS C.; CLEMENTE, C.A.A.; SÁ FILHO, C.A.A.; PAULA-LOPES, F.F.; BARUSELLI, P.S. Effect of maternal heat-stress on follicular growth and oocyte competence in *Bos indicus* cattle. **Theriogenology**, v. 69, p. 155–166, 2008.

VAN LAER, E.; MOONS, C.P.H.; SONCK, B.; TUYTTENS, F.A.M. Importance of outdoor shelter for cattle in temperate climates: **Livestock Science**, v.159, p.87-101, 2014.

VIANNA, A.T.; PIMENTEL-GOMES, F.; SANTIAGO, M. **Formação do Gado Canchim pelo Cruzamento Charolês-Zebu**. São Paulo: Nobel, 2ed., 193p., 1978.

YOUSEF, M.K. **Stress Physiology in Livestock**. Florida: Boca Raton, p. 171, 1985.

CAPITULO 2 - CARACTERIZAÇÃO DE ÁREA SILVIPASTORIL E IMPACTO SOBRE O PERFIL METABÓLICO E A PRODUÇÃO EMBRIONÁRIA *IN VITRO* DE FÊMEAS CANCHIM (5/8 *Bos taurus* e 3/8 *Bos indicus*)

Resumo

O objetivo deste estudo foi de caracterizar o microclima de áreas de sistema silvipastoril (SP) em comparação ao pastejo rotacionado (RI) e avaliar o impacto dos mesmos no conforto térmico, no perfil metabólico e na produção embrionária de fêmeas bovinas da raça Canchim. Para isso, no Experimento 1, novilhas foram aleatoriamente distribuídas em duas áreas experimentais: SP (n=16) e RI (n=16). O experimento foi conduzido durante o verão (dezembro - quente e chuvoso) e outono (maio - seco) e o índice de temperatura de globo úmido (ITGU) e a carga térmica radiante (CTR) da área foram calculados para todo o período. Mensalmente foi realizada a pesagem, mensurado o escore de condição corporal (ECC) e realizada a estimativa de ingestão de matéria seca (IMS) e semanalmente foram avaliadas a temperatura retal (TR), a temperatura de superfície corpórea da linha dorsal (TD), a frequência cardíaca (FC) e a frequência respiratória (FR), bem como realizada colheita de sangue para dosagem de cortisol por radioimunoensaio (RIA). Embora a área SP não tenha apresentado menor ITGU que a área RI, os valores de CTR foram menores para a área SP durante todo o experimento. Novilhas pastejando as áreas SP, apresentaram maior peso vivo (PV, kg), maior IMS, menor TR e menor concentração sérica de cortisol em relação às mantidas em RI, ao longo do experimento. Deste modo, no ano subsequente iniciou-se o Experimento 2, no qual foram utilizadas 18 vacas Canchim, alocadas nas mesmas áreas experimentais: SP (n=10) e RI (n=8), com 26,2±2,2 dias pós-parto. Estas, foram mensalmente pesadas e avaliadas quanto ao ECC e IMS, além da aferição de TR, TD e TT, nos respectivos sistemas experimentais. Também, a cada 30 dias foram colhidas amostras de sangue para dosagem de cortisol, BHBA, AGNES, glicose e para avaliar a expressão gênica da HSP90AA1A, além da realização da OPU para a colheita dos oócitos que foram direcionados para a produção *in vitro* de embriões (PIVE). Foram avaliadas as variáveis:

número de folículos observados (FO), ovócitos totais (OT), oócitos viáveis (OV), taxa de recuperação (TxR), número de estruturas clivadas (EC), taxa de clivagem (TxC) no D₃, número e taxa de blastocistos em D₇ (BD₇ e TxB, respectivamente). Os índices de ITGU e CTR foram maiores nas áreas RI em comparação com as áreas SP, durante todo o período experimental. Vacas que pastejavam as áreas SP tiveram menores TD e TT, e apresentaram maior PV que vacas que pastejavam as áreas RI durante todo o período experimental. Entretanto, vacas pastejando SP e RI não diferiram na TR, Cortisol, HSP90AA1, FO, OT, OV, TxR, EC, TxC, BD₇ e na TxB. Curiosamente, maiores valores de ITGU e CTR registrados nos meses de março, coincidiram com maiores FO, OT, OV, TxR, EC e TxC. O microclima fornecido por sistemas que integram o componente arbóreo, em suma, possibilita benefícios quanto ao conforto térmico, contudo, o mesmo não foi observado nas variáveis reprodutivas avaliadas na condição do presente estudo.

Palavras-chave: bovinos, integração pecuária-floresta, estresse térmico, metabólitos, PIVE.

1. Introdução

Em 2017 o PIB do agronegócio brasileiro representou 22% do PIB total do país, com expressiva participação da pecuária, a qual foi responsável por 31% do PIB do agronegócio. A relevância econômica da pecuária é também reafirmada quando se considera que o Brasil é o maior produtor e o maior exportador mundial de carne bovina [1]. A fim de suprir a crescente demanda mundial por alimentos, o aumento na produtividade com respeito ao ambiente e ao bem-estar animal é atualmente um dos maiores desafios dos sistemas de produção [2]. Nesse contexto, a integração de componentes dentro de um mesmo sistema produtivo tem sido considerada como uma medida alternativa para maior produtividade e sustentabilidade.

Sistemas que integram os cultivos de lavoura, pecuária e floresta têm ganhado destaque nos modelos de sistemas de produção nos últimos anos [3, 4]. Há relatos de benefícios na produção de bovinos manejados em áreas que integram componentes de lavoura e/ou arbóreo [5], sendo ressaltado o papel do sombreamento fornecido pelas árvores como o elemento mais eficiente para determinação de maior conforto e bem-estar aos animais. Para sistemas que integram o componente arbóreo, especialmente pelo sombreamento fornecido, têm sido mencionados efeitos na redução do estresse térmico e na mitigação dos efeitos negativos que a intensa carga térmica radiante impõe aos animais produzidos a pasto, nas regiões tropicais do planeta [6].

Neste contexto, estudos relacionando as respostas fisiológicas de animais manejados em sistemas que integram o componente arbóreo ou com algum tipo de sombreamento têm ganhado relevância nos últimos anos [5], com maior atenção dada aos índices produtivos [7, 8]. As concentrações de cortisol, hormônio sinalizador de estresse, são inferiores em animais sob temperaturas amenas quando comparados a animais em estresse térmico [9]. Estudos prévios demonstraram que, quando em condição de conforto térmico, vacas leiteiras apresentaram melhor desempenho reprodutivo e maior produtividade [10], mesmo em raças zebuínas, ditas como mais adaptadas ao clima tropical [11]. Contudo, sob altas temperaturas ambientais, ocorre elevação na temperatura corpórea e concomitante diminuição no consumo de matéria seca [11,12] e no escore de condição corporal dos animais. Também há relatos que

bovinos de corte manejados em áreas sombreadas apresentam maior conforto térmico, resultando em melhor desempenho [7].

As alterações metabólicas decorrentes do aumento da temperatura corporal também causam redução na capacidade reprodutiva [13, 14]. O estresse térmico tem efeitos diretos na qualidade oocitária, com menores taxas de produção *in vitro* de embriões em animais *Bos taurus* [13, 15, 16]. Quando em contato com estressores térmicos, a célula animal inicia a produção das *heat shock proteins* (*HSP's*) ou proteínas de choque térmico, também conhecidas como chaperonas. O aumento das *HSP's* coincide com alterações mitocondriais e de permeabilidade celular podendo causar danos irreversíveis às mesmas [17].

Assim, estratégias que associam sombreamento artificial e ferramentas de ventilação forçada em instalações para animais de produção são sugeridas como alternativas que podem melhorar o desempenho reprodutivo de vacas leiteiras [18,19]. Entretanto, pouco se sabe a respeito dos benefícios que sistemas que integram sombreamento natural podem oferecer às fêmeas neles manejadas quanto às variáveis reprodutivas, especialmente no que se refere ao impacto sobre a qualidade oocitária e produção embrionária.

Deste modo, as hipóteses deste estudo são de que sistemas silvipastoris: reduzem a frequência respiratória (FR), a frequência cardíaca (FC), a temperatura retal (TR) e a temperatura de superfície do dorso (TD), bem como as concentrações de cortisol e proporcionam maior ingestão de matéria seca (IMS) e peso vivo (PV; kg) de novilhas (Experimento 1). Do mesmo modo sistemas silvipastoris reduzem a TR, a TD, a TT, as concentrações de cortisol e a expressão gênica de HSP90, proporcionam maior IMS, maior PV (kg), maiores concentrações de P4, menores concentrações de BHBA, AGNEs e Glicose após o parto e maior produção de embriões *in vitro* (Experimento 2). O modelo hipotético gráfico pode ser observado na Figura 1.

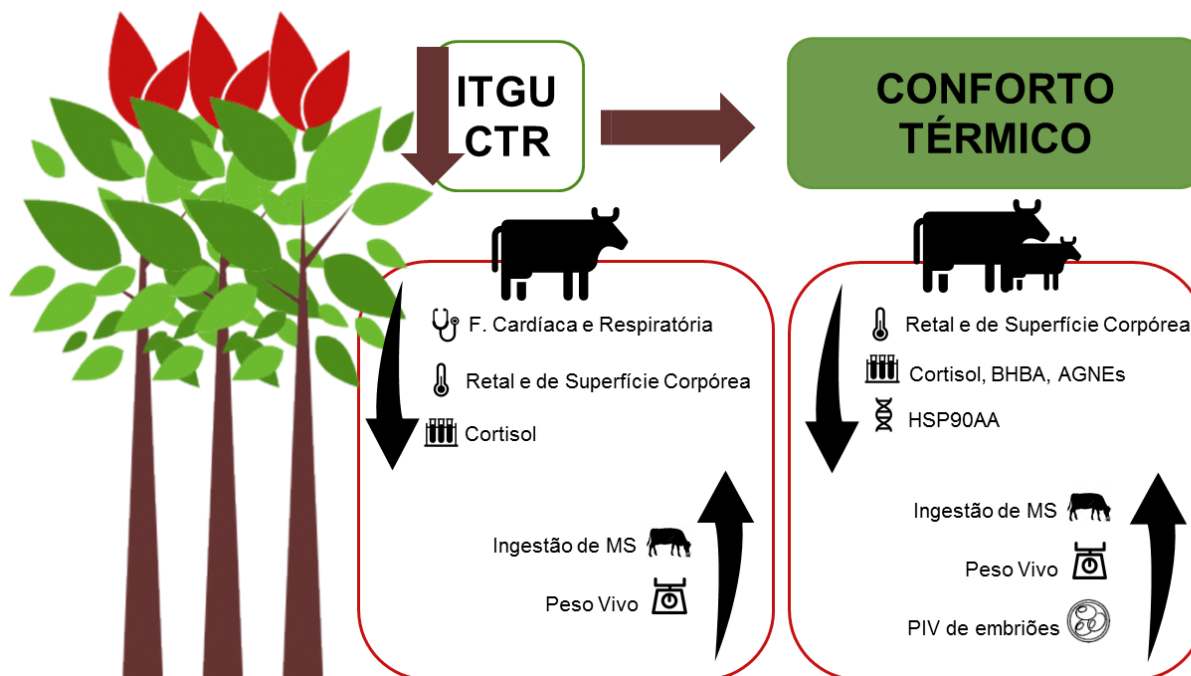


Figura 1. Modelo hipotético gráfico

Sendo assim, os objetivos foram estudar os efeitos de um sistema de produção silvipastoril em comparação a um sistema de pastejo rotacionado convencional, sem arborização, para a manutenção de novilhas (Experimento 1), e avaliar o efeito deste sistema sobre o conforto térmico, o perfil metabólico, a qualidade oocitária e a produção de embriões *in vitro* de vacas primíparas Canchim (Experimento 2).

2. Material e Métodos

Este estudo é composto por dois ensaios experimentais conduzidos em dois anos subsequentes.

2.1 Experimento 1 – Validação e caracterização da área de integração silvipastoril

2.1.1 Área experimental e período

O experimento foi conduzido na Fazenda Canchim, Embrapa Pecuária Sudeste, em São Carlos-SP (21°57'42" S, 47°50'28" W, 860m), nos meses de dezembro de 2015 a maio de 2016, nas estações de verão e outono. Para alocação dos animais, foram adotadas duas áreas, que compuseram dois grupos experimentais: Sistema de pastejo

rotacionado intensivo (Grupo RI): área de 12 ha, estabelecida com pastejo rotacionado intensivo de *Urochloa brizantha* (cv. Piatã), sem presença de árvores ou elementos de sombreamento artificial; e Sistema silvipastoril (Grupo SP): área de 12 ha, estabelecida com pastejo rotacionado intensivo de *Urochloa brizantha* (cv. Piatã), com árvores de eucalipto (*Eucalyptus urograndis*). As árvores foram plantadas com espaçamento de 15 metros entre linhas e dois metros entre plantas, com densidade de 330 árvores por hectare. Ao início do período experimental, as árvores tinham cinco anos de plantio, apresentavam altura média de 21 metros e 20 cm de diâmetro à altura do peito (medida do diâmetro da árvore à altura de 1,30 do solo)[20].

2.1.2 Animais experimentais, ingestão alimentar e desempenho

Foram utilizadas 32 novilhas da raça Canchim, com idade média de $16,2 \pm 0,05$ meses e peso médio de $249,8 \pm 1,75$ kg, todas advindas de mesmo sistema de recria em pastejo intensivo. Os animais foram distribuídos de modo casualizado nos dois grupos experimentais (RI, n=16 ou SP, n=16). Foi adotado período de adaptação de 15 dias dos animais aos sistemas de pastagens. Cada sistema foi conduzido em duas áreas experimentais (repetição de área), de aproximadamente 3 ha cada, nas quais foi utilizado o sistema de manejo rotacionado de pastagens, com seis piquetes (área aproximada de 5000 m² por piquete), 6 dias de ocupação e 30 dias de descanso. Nestes sistemas, as pastagens foram adubadas com 202 kg de N por ano, divididos em cinco fertilizações na forma de ureia. Durante o período experimental, o pastejo nos sistemas foi manejado com lotação ajustada ("put and take" technique [21]) em função da avaliação visual da oferta de forragem em pré-pastejo.e no período de descanso. A taxa de lotação média foi de $2,7 \pm 0,6$ UA/ha para o sistema SP e $3,1 \pm 0,4$ UA/ha para o sistema RI. Em ambas áreas experimentais, os animais receberam sal mineral em cochos cobertos e tiveram acesso *ad libitum* à água, em bebedouros automáticos.

A ingestão diária de matéria seca (IMS; kg MS/dia) dos animais foi dada por meio do modelo $DMI=0,01673 \times PV \text{ final} + 8,123 \times Elm - [3,0042 \times Elm]^2 - 3,6262$. Este considera o peso vivo final (PV final) do animal no período avaliado e a energia líquida de manutenção (Elm) [22]. A Elm teve como base o valor 0,0717 Mcal/PCVZ (peso do corpo vazio) m^{0,75}, conforme proposto pelo BRCORTE, 2010 [23] para animais desta categoria, em

condições de pastagem. Mensalmente os animais foram levados ao centro de manejo para pesagem e aferição do escore de condição corporal (ECC; [24]). O ganho médio diário (GMD; g/dia) foi calculado considerando-se a diferença entre as pesagens.

2.1.3 Caracterização microclimática

Para caracterizar o microclima das áreas experimentais, foram mensuradas diariamente a temperatura do ar (T_a , °C), a umidade relativa do ar (U_r , %), a radiação solar global (RSG, $\text{MJ m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$), a temperatura do globo negro (T_{gn} , °C), a precipitação pluviométrica (PP, mm) e a velocidade do vento (VV , m s^{-1}), durante todo o período experimental. Para tal, foram utilizadas duas estações meteorológicas automáticas, uma instalada a pleno sol na área do sistema RI, e outra imediatamente abaixo do renque de árvores, em local sombreado, na área do sistema SP. Na sequência, para cada sistema, foram calculados o ITGU [25] e a CTR [26]. Para tal, foram utilizados os dados meteorológicos das 11h00 às 15h00, o qual compreende o período do dia de maior desafio térmico imposto aos animais criados a campo em áreas tropicais [27]. A transmissão de radiação solar (RS; %) média no sistema SP foi de 37,6%, tendo o sistema uma efetividade de sombreamento de 62,4%.

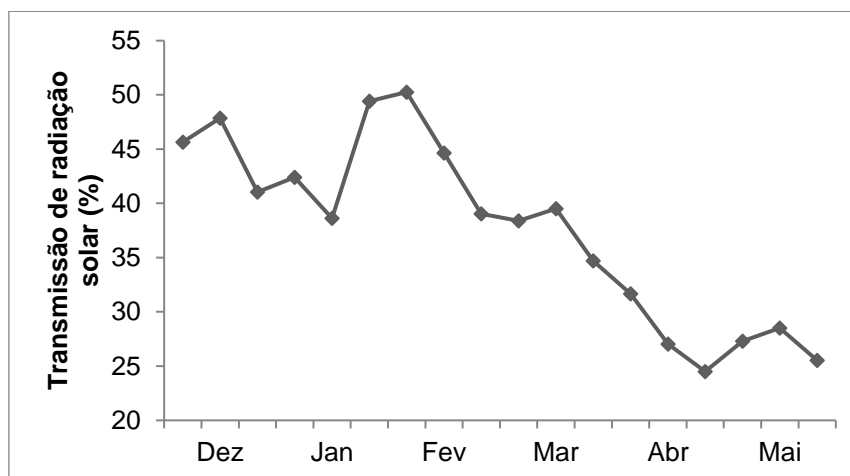


Figura 2. Percentual de transmissão de radiação solar do sistema silvipastoril (SP) de dezembro de 2015 a maio de 2016.

2.1.4 Avaliação das variáveis fisiológicas e da concentração sérica de cortisol

Após o período de adaptação, foram realizadas pesagens e avaliação do ECC (escala 1-5; [24]), a cada 30 dias. Nos mesmos momentos, foram também aferidas as variáveis fisiológicas, respeitando a seguinte ordem: frequência respiratória (FR,

movimentos/min), frequência cardíaca¹ (FC, batimentos/min) e temperatura retal² (TR, °C) [6, 28]. Para determinação das concentrações séricas de cortisol, semanalmente no período da manhã, em que maiores concentrações de cortisol podem ser identificadas devido ao ciclo circadiano [29] foi realizada venopunção jugular em tubos a vácuo siliconizados de 10 mL³. As amostras foram centrifugadas a 1.350 x g por 15 minutos para a separação do soro, fracionadas em alíquotas e armazenadas em microtubos de polipropileno a -20°C para posterior análise. As dosagens foram realizadas no Laboratório de Dosagem Hormonal da Universidade Federal Fluminense, pela técnica de RIA utilizando o kit Cortisol Immuchem Coated Tube⁴. A sensibilidade e o coeficiente intra-ensaio foram de 0,17 ug/dL e 11%, respectivamente.

A temperatura de superfície corpórea foi avaliada quinzenalmente no período da tarde (14h00 às 15h30) com uso da técnica de termografia de infravermelho (IRT). A aquisição das imagens foi realizada com termógrafo portátil⁵ com detector de 640 x 480 pixels, dotado de lente de longo alcance (15° x 11°, 40 mm), sensibilidade térmica <40 mK (<0,04°C à temperatura ambiente de 30°C), escala de temperatura de -20 a 350°C, na opção de ajuste de foco manual. A emissividade adotada foi de 0,98 [30]

As imagens de IRT foram obtidas a campo, nas áreas de SP e RI, com os animais em condição de livre pastejo, possuindo identificação numérica por pintura atóxica. Os termogramas foram registrados individualmente, com o animal imóvel e em estação. O procedimento foi realizado com a câmera posicionada perpendicularmente ao antímero direito do animal. As imagens foram geradas à distância aproximada de 5,0 metros dos animais, de modo a não provocar interferência humana e com os animais dispostos naturalmente no ambiente [31]. A análise dos termogramas foi posteriormente realizada com o programa IRSofit versão 4.0⁶. A temperatura média do dorso (TD, °C) foi determinada utilizando traçado linear da escápula à crista ilíaca [32].

¹Estetoscópio duplo, modelo Rappaport, Brasmed, Paulínia, SP

²Termômetro Veterinário Escala Externa Prismática +35+43 x 0,1°C Incoterm, modelo 5198.2, Porto Alegre, RS

³ Beckton Dickson, São Paulo, SP

⁴ MP Biomedicals, LCC Diagnostics Division, USA

⁵Testo 890, Testo AG, Lenzkirch, Alemanha

⁶Testo AG; Lenzkirch, Alemanha

2.2 *Experimento 2 – Respostas metabólicas e reprodutivas de vacas pós parto mantidas em sistemas RI ou SP*

2.2.1 *Área experimental e período*

As mesmas áreas experimentais já descritas no Experimento 1 foram usadas, com o diferencial de número de árvores por hectare, que passou a ser de 165/ha, em virtude de manejo de desbastes das árvores, visando a manutenção das pastagens e a exploração do componente arbóreo. O ensaio foi conduzido nos meses de janeiro a maio de 2017, compreendendo as estações de verão e outono.

2.2.2 *Animais e desempenho*

Foram utilizadas 18 vacas Canchim primíparas, previamente selecionadas tendo como critério a genealogia e a população folicular ovariana. As fêmeas foram alocadas nas áreas experimentais (Grupo RI, n=8 ou Grupo SP, n=10) com sessenta dias antes da data prevista do parto, visando sua adaptação ao manejo e parto no ambiente experimental. Ao início do experimento, as fêmeas apresentavam idade média de $41,2 \pm 0,6$ meses, peso de $477,0 \pm 12,0$ kg e $26,2 \pm 2,2$ dias pós-parto. Os animais de ambas áreas experimentais permaneceram em sistema de pastejo rotacionado, com período de ocupação de 6 dias e 35 dias de descanso. A taxa de lotação média foi de $2,1 \pm 0,3$ UA/ha para o sistema SP e $2,5 \pm 0,4$ UA/ha para o sistema RI.

2.2.3 *Caracterização microclimática das áreas experimentais*

Para caracterizar o microclima das áreas experimentais, foi utilizada metodologia já descrita no Experimento 1. A transmissão de radiação solar (RS; %) média no sistema SP foi de 56,9%, tendo o sistema uma efetividade de sombreamento de 43,1%.

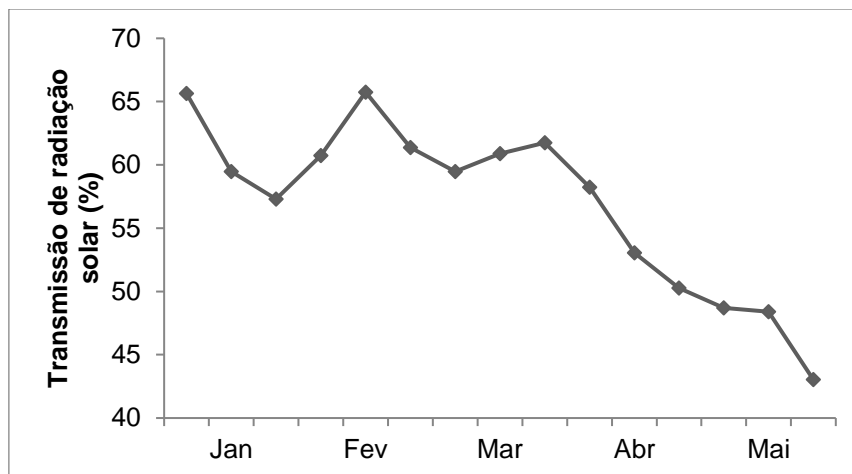


Figura 3. Percentual de transmissão de radiação solar do sistema SP de janeiro a maio de 2017.

2.2.4 Avaliação das variáveis fisiológicas

A ingestão alimentar e a evolução do PV, GMD, bem como o ECC foram monitorados mensalmente, seguindo metodologia já descrita no Experimento 1.

Além da TD, já descrita no Experimento 1, neste estudo, a temperatura do tronco (TT, °C) foi determinada com o traçado de um polígono compreendendo o limite ventral e dorsal de cada animal entre a escápula e a crista íliaca, tendo sido avaliada quinzenalmente no período da tarde (14h00 às 15h30).

2.2.5 Ultrassonografia e aspiração folicular ovariana

A cada 30 dias, as fêmeas foram submetidas à aspiração folicular guiada por ultrassom (OPU), em dia aleatório do ciclo estral, totalizando cinco sessões de aspiração por animal. Para a avaliação ovariana e a OPU, os animais foram contidos em brete, onde inicialmente foi realizada a higienização e anestesia peridural com lidocaína 2% sem vasoconstritor⁷. O sistema de aspiração era composto por equipamento de ultrassom⁸ acoplado a transdutor microconvexo multifrequencial (5,0 MHz), bomba de pressão de vácuo de 75 mmHg, mangueira rígida e agulha de 0,9 x 50 mm (20 G).

Antes de cada OPU, foi avaliada a população folicular ovariana. Todos folículos ovarianos com diâmetro maior ou igual a 5mm foram contados (número de folículos

⁷ LIDOVET, Laboratório Bravet, Engenho Novo, RJ, Brasil

⁸ 2200Vet-DP, Mindray Medical International Limited, Shenzhen, China

ovarianos observados; FO) e aspirados. O conteúdo folicular recuperado foi armazenado em tubo de polipropileno de 50 mL, contendo DPBS, acrescido de 1% de soro fetal bovino⁹ e 5 UI de heparina sódica/mL¹⁰, sob temperatura entre 35° e 37°C.

2.2.6 Produção *in vitro* de embriões

O tubo contendo o material aspirado foi despejado em filtro de colheita de embriões¹¹ e lavado com a mesma solução utilizada na aspiração folicular (PBS acrescido de 1% de SFB e heparina). O sedimento restante no filtro foi então observado em placas de *Petri* e, neste momento, efetuada a contagem e a avaliação dos Complexos CumulusOócitos (COCs) de acordo com a morfologia (número de camadas de células do *cumulus* e aspecto do citoplasma) em Grau I, II e III (GI, GII e GIII), que somados foram considerados oócitos viáveis (OV), além dos oócitos sem *cumulus* (s/c), expandidos (exp), degenerados (deg) e atrésicos (atr), que acrescido aos viáveis foram considerados oócitos totais (OT) [33]. A taxa de recuperação (TxR) foi calculada considerando o número de OT sobre o número de FO.

Após a classificação, os COCs foram lavados em solução de TCM 199 HEPES¹² suplementado com 10% SFB¹² e em meio de maturação (TCM 199 bicarbonato suplementado com 10% SFB, 5 µg/mL FSH, 50 µg/mL LH e 01 µg/mL de estradiol). Em seguida, os OV foram colocados em microtubo de 2 mL¹¹ com meio de maturação (MIV), sob óleo mineral (500µL MIV + 400µL óleo), e mantidos em transportadora de oócitos (Labmix¹¹), a 38,5°C, com pré mistura gasosa (6%CO₂; 5%O₂; 89%N₂) e pressão hidrostática controlada de 15mmHg.

Na chegada ao laboratório, os microtubos com os COCs foram transferidos para incubadora de bancada (EVE¹¹) para continuar o processo de maturação até completar 24 horas, com as mesmas condições de temperatura (38,5°C) e atmosfera gasosa do transporte.

Para a fecundação *in vitro* (FIV) foram utilizadas amostras de sêmen congelado de touro da raça Nelore previamente testado (mesma partida e touro), preparadas

⁹DPBS e SFB Nutricell®, Nutrientes Celulares, Campinas, SP, Brasil

¹⁰Liquemine®, Roche, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

¹¹WTA, Cravinhos, SP

¹²Gibco, São Paulo, SP

mediante a técnica de gradiente de Percoll para obtenção de espermatozoides (sptz) móveis, remoção do diluidor e plasma seminal. A concentração foi ajustada para 1×10^6 sptz/mL. O meio utilizado na FIV foi o meio Tyrode modificado (TALP) acrescido de soluções de Penicilamina, Hipotaurina e Epinefrina (PHE) e $10 \mu\text{g/mL}$ de heparina. Os gametas permaneceram incubados em placas com microgotas de $70 \mu\text{L}$ cobertas com óleo mineral, por 20-22 horas a $38,5^\circ\text{C}$ com baixa tensão de oxigênio e pressão hidrostática de 5 mmHg.

Após o tempo de incubação dos gametas, os prováveis zigotos foram lavados, pipetados para retirar o excesso de células do cumulus e transferidos para uma placa de 5 poços, contendo $500 \mu\text{L}$ de meio de cultivo (CR2 modificado acrescido de 2,5% SFB e 5mg/mL BSA), cobertos por óleo mineral. Estes foram mantidos em incubadora de bancada (EVE¹¹) por 7 dias nas mesmas condições descritas para a FIV.

Após 72 horas da inseminação, foi realizada a contagem dos zigotos clivados (EC) e calculada a taxa de clivagem ($[\text{número de EC}/\text{número de OV} \times 100]$). A contagem dos blastocistos (inicial-Bi, blastocisto-BI, blastocisto expandido-Bx e blastocisto eclodido-Be) foi realizada em D7 (BD7) e calculada a taxa de blastocistos ($[\text{número de BD7}/\text{número de OV}]$; TxB).

2.2.7 Dosagens hormonais

Concomitantemente às avaliações ultrassonográficas, sempre entre as 8:00 e 11:00 da manhã, foram colhidas amostras de sangue por venopunção jugular, para dosagem de progesterona (P_4), β -hidroxi-butilato (BHBA), ácidos graxos não esterificados (AGNEs), glicose e cortisol. Após as colheitas em tubos distintos, as amostras foram centrifugadas a $1350 \times g$ por 15 minutos e congeladas para análise posterior.

As dosagens de cortisol foram realizadas pela técnica de RIA utilizando o kit Cortisol Immuchem Coated Tube¹³. A sensibilidade e o coeficiente intra-ensaio foram de $0,20 \mu\text{g/dL}$ e 9%, respectivamente. As dosagens de AGNEs e BHBA foram realizadas

¹³ MP Biomedicals, LCC Diagnostics Division, USA

com uso de kits enzimáticos colorimétricos¹⁴. Os coeficientes de variação intra e inter ensaio foram de 5,9% e 2,5 para AGNEs, e de 7,0% e 7,5% para BHBA. Para a quantificação da concentração de glicose plasmática, foi utilizado o método quantitativo colorimétrico¹⁵, tendo apresentado coeficiente de variação intra-ensaio de 2,7% e inter-ensaio de 3,3%. A dosagem das concentrações de P₄ foi realizada com kit de imunensaio por quimiluminescência¹⁶, tendo sido observado coeficiente de variação intra-ensaio de 4,1%.

As dosagens de AGNEs, BHBA, glicose e P₄ foram realizadas no Laboratório de Ciência Animal da Oregon State University, EUA, enquanto que as dosagens de cortisol foram efetuadas no Laboratório de Dosagem Hormonal da Universidade Federal Fluminense.

2.2.8 *Expressão de Heat Shock Proteins*

Para avaliação de proteínas de estresse térmico foi adotado o método de avaliação da abundância de transcritos de HSP90AA1 em linfócitos. Amostras de sangue (8 mL) foram colhidas em tubos Vacutainer revestidos com heparina lítica e mantidas a 24°C até processamento. As células mononucleares sanguíneas periféricas (PBMCs) foram isoladas do sangue total por gradiente de densidade utilizando Ficoll® Paque Plus¹⁷, seguindo instruções do fabricante. As células isoladas foram lavadas três vezes com PBS e armazenadas a -80 °C. Para a extração do RNA total, utilizou-se 1 mL de Trizol(15596026, Thermo Fisher Scientific, São Paulo, Brasil) para cada amostra, seguindo as instruções do fabricante. O RNA foi diluído em 30 µL de água livre de nucleases. A concentração e pureza do RNA foram verificadas por meio de espectrofotômetro (Nano Vue Plus; GE, São Paulo, Brasil) pela absorbância a 260 nm e pelas razões 260/280 e 260/230, respectivamente. Uma alíquota de 1 µg de RNA total diluído em 8 µL de volume final de água foi tratado com DNase I para degradar o DNA proveniente de possível contaminação por DNA genômico durante a etapa de extração

¹⁴ HR Series NEFA-2; Wako Pure Chemical Industries Ltd., Richmond, VA, EUA; kit #H7587; Pointe Scientific, Inc., Canton, MI, EUA

¹⁵ kit G7521; Pointe Scientific, Inc., Canton, MI, EUA

¹⁶ Immulite 1000; Siemens Medical Solutions Diagnostics, Los Angeles, CA

¹⁷ GE17-1440-02, GE Healthcare, Darmstadt, Germany

de RNA. Para isso, as amostras foram incubadas com DNase I por 10 min a 37 °C, seguindo por inativação enzimática com EDTA a 65 °C por 10 min. A síntese de cDNA foi realizada utilizando o kit High-Capacity DNA Reverse Transcription (Applied Biosystems™), seguindo as instruções do fabricante. O cDNA preparado foi armazenado a -20 °C até a utilização.

A análise de abundância relativa do transcrito *HSP90AA1* em amostras de PBMC foi realizada por *Real Time* PCR. Os primers foram obtidos utilizando o banco de dados NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). As reações foram realizadas em termociclador Step One Plus (Applied Biosystems™), em placas de 96 poços e em triplicatas. Para isso, utilizou-se como sonda Power Up SYBR Green Master Mix (Thermo Fisher). O *Cycle Threshold* (*Ct*) de cada reação foi determinado por meio do software LinReg, identificando-se a região de maior eficiência da curva de amplificação exponencial. Os valores de *Ct* para *HSP90AA1* foram, então, normalizados pelos valores de *Ct* do gene endógeno (*PPIA*) pela metodologia descrita por Pfaffl (2001) para obtenção dos valores de abundância relativa.

2.3 Análise estatística

As variáveis de PV (kg), ECC, TR, de TD e TT, das concentrações sanguíneas de cortisol, P₄, BHBA, glicose, AGNEs, a expressão de *HSP90AA1*, o ITGU e a CTR, que apresentam variação contínua (distribuição de frequência dos resíduos Normal – media=0 e variância=1), foram analisadas por modelo misto considerando medidas repetidas no tempo pela metodologia da máxima verossimilhança restrita, usando o PROC MIXED (SAS, Inst., Inc., Cary, NC, USA). Para o modelo estatístico, foram considerados o efeito aleatório de animal (grupo), e os efeitos fixos de sistema, mês e interações entre ambos.

Para as contagens de folículos ovarianos visualizados, oócitos totais, oócitos viáveis, taxa de recuperação, número de embriões clivados, taxa de clivagem, número de blastocistos em D_{7e} a taxa de blastocistos em D₇ utilizou-se a distribuição de Poisson, que é um caso particular de Modelos Lineares Generalizados [34]. Estas variáveis foram analisadas pelo modelo logístico como medidas repetidas no tempo por meio do PROC GENMOD (SAS, Inst., Inc., Cary, NC, USA). O modelo incluiu os efeitos de ECC, sistema,

mês e a interação sistema x mês como variáveis classificatórias. Considerou-se como co-variáveis, as variáveis microclimáticas de ITGU e CTR, e os efeitos fixos estudados nesse modelo estatístico foram também de sistema, mês e interações entre sistema x mês.

3. Resultados

3.1. Experimento 1

Houve interação entre os efeitos de sistema e mês sobre os valores de ITGU registrados durante o período experimental ($P < 0,01$). O sistema SP apresentou registros mais baixos de ITGU do que o sistema RI nos meses de dezembro ($79,5 \pm 0,2$ vs $84,0 \pm 0,2$), janeiro ($79,2 \pm 0,4$ vs $83,9 \pm 0,4$) fevereiro ($81,1 \pm 0,4$ vs $86,5 \pm 0,4$), abril ($81,8 \pm 0,3$ vs $86,1 \pm 0,3$) e maio ($73,2 \pm 0,4$ vs $79,1 \pm 0,4$) exceto pelo mês de março ($81,4 \pm 0,3$ vs $83,9 \pm 0,3$) quando foram iguais, respectivamente.

Também houve interação entre sistema e mês para a CTR ($P < 0,01$). O sistema SP apresentou registros mais baixos de CTR do que o sistema RI nos meses de dezembro ($559,8 \pm 4,9$ vs $710,6 \pm 4,9$), janeiro ($553,4 \pm 5,6$ vs $691,0 \pm 5,6$), fevereiro ($559,9 \pm 5,6$ vs $726,6 \pm 5,6$), abril ($592,2 \pm 4,9$ vs $714,8 \pm 4,9$) e maio ($520,6 \pm 5,6$ vs $657,5 \pm 5,6$), exceto pelo mês de março ($586,5 \pm 4,9$ vs $687,9 \pm 4,9$) quando foram iguais, respectivamente (Figura 4). Tanto o ITGU quanto a CTR, em ambos os sistemas apresentaram queda no mês de maio.

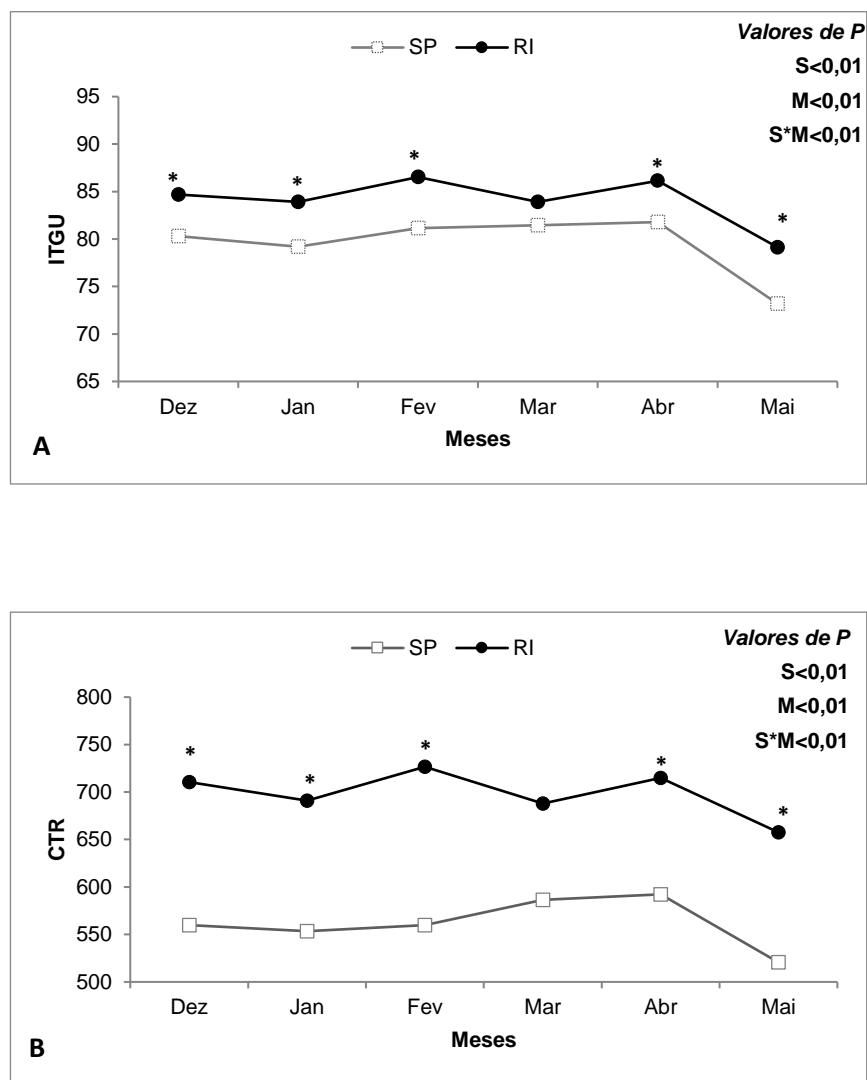


Figura 4. Caracterização microclimática das áreas de pastagens em sistema silvipastoril (SP) ou de pastejo rotacionado intensivo (RI) por meio dos índices de Temperatura de Globo Negro e Umidade (ITGU; A) e de Carga Térmica Radiante (CTR; B) registrados durante o Experimento 1 (dezembro de 2015 e de janeiro a maio de 2016). S: sistema; M: mês (mês experimental); S*M: interação entre sistema e mês. * = indicam médias significativamente diferentes de acordo com a interação sistema x mês.

Não foram observados efeitos de interações entre sistema e mês para as variáveis de PV, ECC, IMS, FR, FC e TR.

O PV ($P < 0,01$), o ECC ($P < 0,01$) e a IMS ($P < 0,01$) das novilhas do sistema SP foram maiores que o das novilhas do sistema RI. (Erro! Fonte de referência não encontrada.).

Independente dos sistemas, a IMS foi maior nos meses de março, abril e maio do que nos meses de dezembro, janeiro e fevereiro ($P < 0,01$), coincidente com as maiores médias de PV ($P < 0,01$; Tabela 1). Houve interação entre sistema e mês experimental sobre o GMD (g PV/dia), uma vez que novilhas do sistema SP tiveram GMD semelhantes aos do sistema RI nos meses de dezembro ($601,0 \pm 0,11$ vs $549,4 \pm 0,11$), janeiro ($425,0 \pm 0,11$ vs $181,3 \pm 0,11$), fevereiro ($168,7 \pm 0,11$ vs $-106,3 \pm 0,11$), março ($506,3 \pm 0,11$ vs $437,5 \pm 0,11$) e maio ($-178,1 \pm 0,11$ vs $-303,8 \pm 0,11$), exceto no mês de abril ($468,8 \pm 0,11$ vs $906,3 \pm 0,11$) no qual, as novilhas do sistema RI tiveram maior GMD médio. Adicionalmente, em ambos os sistemas, foram observadas queda no GMD nos meses de fevereiro e maio (Figura 5).

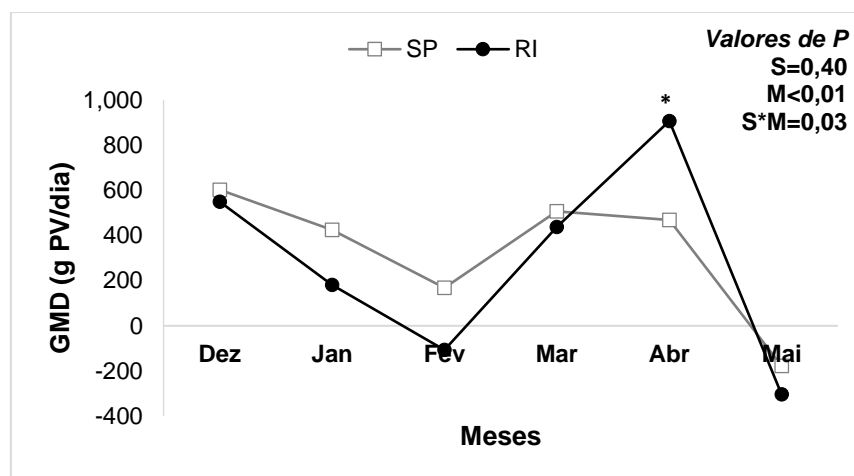


Figura 5. Ganho médio diário (g PV/dia) das novilhas dos sistemas de silvipastoril (SP; n=16) e rotacionado intensivo (RI=16) durante o período experimental. S: sistema; M: mês (mês experimental); S*M: interação entre sistema e mês. * = indicam médias significativamente diferentes de acordo com a interação sistema x mês.

A TR ($^{\circ}\text{C}$) foi superior nas novilhas mantidas na área RI em relação às mantidas na área SP ($P < 0,01$), sendo maior nos meses de dezembro e janeiro ($P < 0,01$; **Erro! Fonte d e referência não encontrada.**). Houve interação entre sistema e mês experimental para a variável de TD ($P < 0,01$) entre as áreas SP e RI (Figura 6), sendo que novilhas do sistema RI tiveram TD superior à de novilhas do sistema SP nos meses de março ($36,1 \pm 0,5$ vs $33,6 \pm 0,6$, respectivamente), abril ($34,5 \pm 0,5$ vs $32,4 \pm 0,5$) e maio ($33,0 \pm 0,4$ vs $30,0 \pm 0,4$), exceto nos meses de janeiro ($34,5 \pm 0,6$ vs $33,5 \pm 0,7$) e fevereiro ($36,1 \pm 0,4$ vs $37,0 \pm 0,4$), quando foram semelhantes.

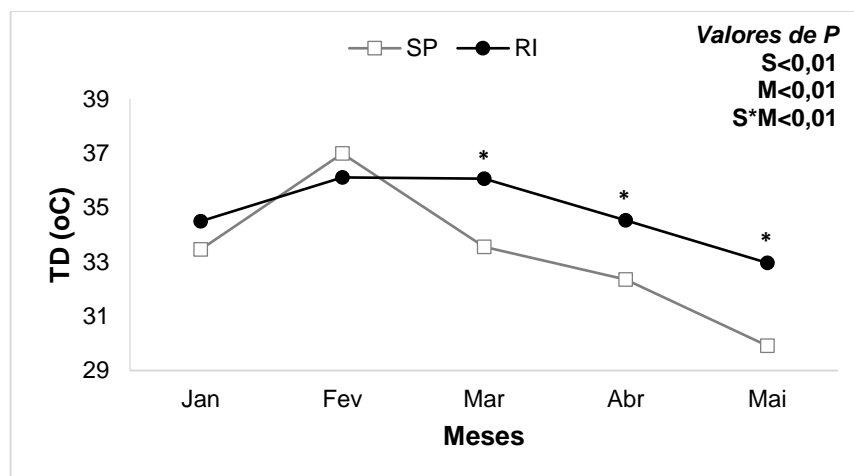


Figura 6. Temperatura de linha de dorso (TD) das novilhas dos sistemas de silvipastoril (SP; 52 imagens de 16 novilhas) e rotacionado intensivo (RI=54 imagens de 16 novilhas) de janeiro à maio. S: sistema; M: mês (mês experimental); S*M: interação entre sistema e mês. * = indicam médias significativamente diferentes de acordo com a interação sistema x mês.

A FR ($P=0,13$) e a FC ($P=0,06$) não foram influenciadas pelas áreas experimentais distintas. Nos meses de janeiro e fevereiro, a FC foi maior ($P<0,01$), entretanto a FR se manteve semelhante em todos os meses do estudo ($P=0,59$; **Erro! Fonte de referência não encontrada.**). Houve interação entre o sistema e o mês experimental ($P=0,01$) sobre as concentrações de cortisol das novilhas do sistema RI e SP, sendo que as novilhas do sistema RI e SP apresentaram concentração semelhante nos meses de dezembro ($37,6 \pm 4,2$ vs $30,1 \pm 4,4$ ng/mL), janeiro ($24,5 \pm 4,1$ vs $31,9 \pm 4,5$ ng/mL) e fevereiro ($28,7 \pm 4,7$ vs $25,8 \pm 4,7$ ng/mL), porém nos meses de março e ($26,7 \pm 4,1$ vs $10,7 \pm 5,2$ ng/mL) e abril ($27,4 \pm 3,8$ vs $9,4 \pm 4,4$ ng/mL) as novilhas do sistema SP apresentaram menor concentração sérica de cortisol)(Figura 7).

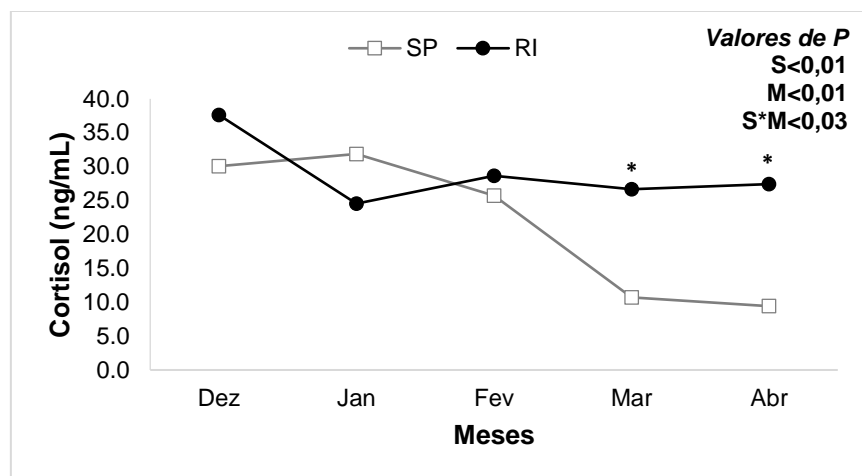


Figura 7. Concentração sérica de cortisol das novilhas dos sistemas de silvipastoril (SP; n=66 amostras) e rotacionado intensivo (RI=86 amostras) de dezembro a abril. S: sistema; M: mês (mês experimental); S*M: interação entre sistema e mês. * = indicam médias significativamente diferentes de acordo com a interação sistema x mês.

Tabela 1. Respostas fisiológicas e hormonais das novilhas nos sistemas silvipastoril (SP; n=16) ou de pastejo rotacionado intensivo (RI; n=16).

Fatores	Variáveis ¹					
	PV (kg)médio	ECC	IMS (kgMS/dia)	FR (cont/min)	FC (bat/min)	TR (°C)
<i>Sistema</i>						
Silvipastoril	278,9 ± 2,0	3,0 ± 0,01	6,5 ± 0,03	46,4 ± 1,0	96,5 ± 1,2	39,2 ± 0,03
Rotacionado Intensivo	267,1 ± 2,0	2,9 ± 0,01	6,4 ± 0,03	44,4 ± 1,0	93,1 ± 1,2	39,4 ± 0,03
<i>Mês</i>						
Dezembro	249,8 ± 3,5 ^c	2,9 ± 0,02 ^b	6,1 ± 0,06 ^c	45,4 ± 1,7	83,0 ± 2,1 ^b	39,6 ± 0,05 ^a
Janeiro	260,7 ± 3,5 ^b	2,9 ± 0,02 ^b	6,2 ± 0,06 ^c	48,3 ± 1,9	100,9 ± 2,2 ^a	39,5 ± 0,05 ^a
Fevereiro	261,3 ± 3,5 ^b	2,9 ± 0,02 ^b	6,2 ± 0,06 ^c	44,2 ± 1,9	105,2 ± 2,2 ^a	39,3 ± 0,05 ^b
Março	275,9 ± 3,5 ^b	2,9 ± 0,02 ^b	6,4 ± 0,06 ^b	44,6 ± 1,7	95,0 ± 2,1 ^b	39,2 ± 0,05 ^b
Abril	291,2 ± 3,5 ^a	3,0 ± 0,02 ^a	6,8 ± 0,06 ^a	43,8 ± 1,7	94,4 ± 2,1 ^b	39,3 ± 0,05 ^b
Maio	298,9 ± 3,5 ^a	3,0 ± 0,02 ^a	6,7 ± 0,06 ^a	46,1 ± 1,9	90,3 ± 2,2 ^b	39,1 ± 0,05 ^b
<i>Valor de P²</i>						
S ³	<0,01	<0,01	<0,01	0,19	0,06	<0,01
M ⁴	<0,01	<0,01	<0,01	0,52	<0,01	<0,01
S*M ⁵	0,33	0,63	0,36	0,45	0,61	0,69

¹PV: peso vivo; IMS: ingestão de matéria seca; FR: frequência respiratória; FC: frequência cardíaca; TR: temperatura retal; TD: temperatura da linha do dorso; ²valores de p≤0,05 foram considerados significativos; ³S: sistema; M: mês (mês experimental); S*M: interação entre sistema e mês. ^{a-b} = médias seguidas por letras diferentes na mesma linha são significativas.

3.2. Experimento 2

Os valores de ITGU foram influenciados pelo sistema experimental, sendo que este indicador se apresentou mais elevado no sistema RI ($82,9 \pm 0,4$) em comparação ao sistema SP ($81,1 \pm 0,4$) ($P < 0,01$). Independente dos sistemas, o ITGU foi mais alto ($P < 0,01$) nos meses de fevereiro ($85,6 \pm 0,6$) e março ($84,3 \pm 0,5$) do que nos meses de janeiro ($82,2 \pm 0,5$), abril ($79,9 \pm 0,5$) e maio ($78,2 \pm 0,8$).

Foi observada interação entre área experimental e mês nos valores de CTR ($P < 0,01$). A CTR foi mais alta no sistema RI nos meses de janeiro ($692,3 \pm 12,5$ vs $592,9 \pm 12,5$), fevereiro ($755,1 \pm 13,2$ vs $657,0 \pm 13,2$), abril ($674,8 \pm 12,7$ vs $591,2 \pm 12,7$) e maio ($679,7 \pm 18,6$ vs $575,5 \pm 18,6$), exceto no mês de março ($707,4 \pm 12,5$ vs $684,9 \pm 12,5$), quando se igualou a do sistema SP. (Figura 8).

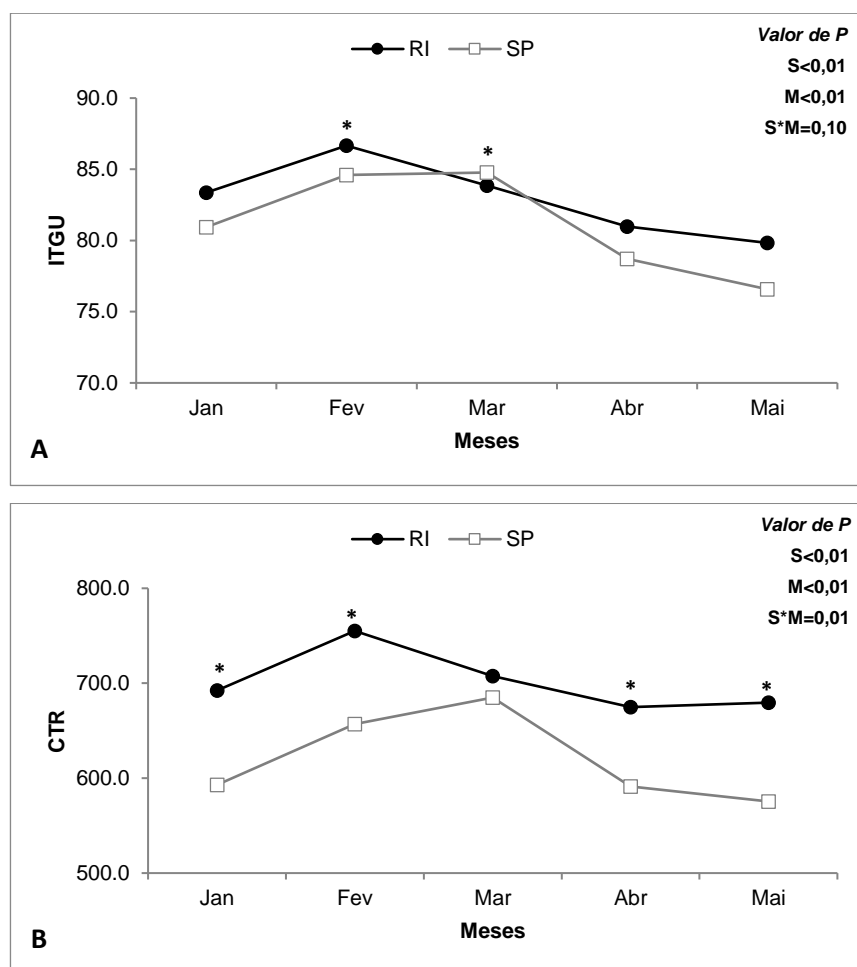


Figura 8. Caracterização microclimática das áreas de pastagens em sistema silvipastoril (SP) ou de pastejo rotacionado intensivo (RI) por meio dos índices de Temperatura de Globo Negro e Umidade (ITGU) e de Carga Térmica Radiante (CTR) registrados durante o experimento 2. S: sistema; M: mês (mês experimental); S*M: interação entre sistema e mês. Na figura A * = indicam médias significativamente diferentes de acordo com o mês e na figura B * = indicam médias significativamente diferentes de acordo com a interação sistema x mês.

Com exceção do ECC (Figura 9) não foi observada interação entre sistema e mês experimental para nenhuma das outras variáveis analisadas (Tabela 2).

O PV médio ($P < 0,01$) foi maior nas vacas pastejando áreas SP quando comparadas às pastejando áreas RI. Foi observada interação entre sistema e mês experimental sobre o ECC das vacas ($P = 0,02$), sendo que aquelas vacas do sistema SP tiveram ECC corporal maior do que o daquelas no sistema RI no mês de fevereiro (3,40

$\pm 0,07$ vs $2,97 \pm 0,07$), entretanto o ECC das vacas do sistema SP foi semelhante ao das vacas do sistema RI nos meses de janeiro ($2,93 \pm 0,07$ vs $2,86 \pm 0,08$), março ($2,83 \pm 0,07$ vs $2,81 \pm 0,07$), abril ($2,99 \pm 0,07$ vs $2,66 \pm 0,07$) e maio ($2,75 \pm 0,07$ vs $2,69 \pm 0,07$)(Erro! Fonte de referência não encontrada.).

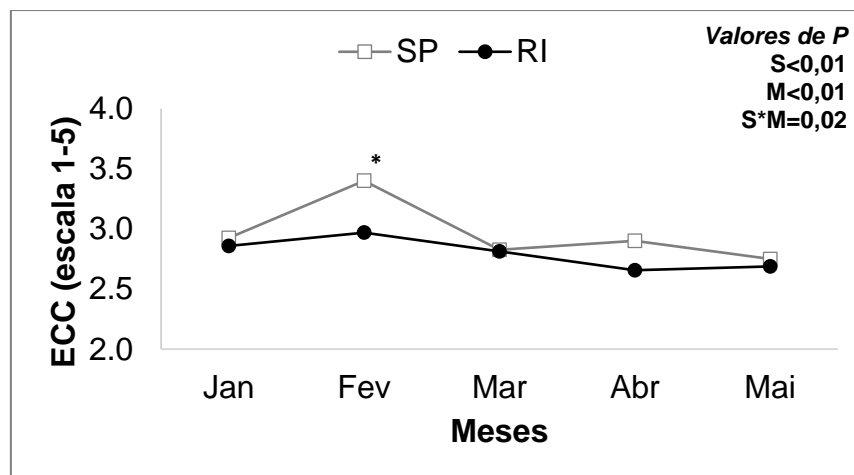


Figura 9. Escore de condição corporal das vacas dos sistemas de silvipastoril (SP; n=52) e rotacionado intensivo (RI=54) de janeiro a maio. S: sistema; M: mês (mês experimental); S*M: interação entre sistema e mês. * = indicam médias significativamente diferentes de acordo com a interação sistema x mês.

A IMS ($P=0,37$), a TR ($^{\circ}\text{C}$) ($P=0,60$) e a abundância da proteína de estresse térmico, HSP90AA1 ($P=0,40$), não foram diferentes entre as áreas experimentais SP e RI. Por outro lado, o sistema SP determinou menores TD ($P<0,01$) e TT ($P<0,01$) durante todo o período experimental (Tabela 2).

Com relação ao efeito de mês, foram observadas maiores TD e TT nos meses de janeiro e fevereiro, e maiores TR nos meses de janeiro e março (Tabela 2). Já a concentração sérica de cortisol não diferiu entre os grupos SP e RI ($15,5 \pm 2,1$ vs $20,9 \pm 2,3$, respectivamente; $P=0,08$). Contudo, observou-se maior concentração sérica média de cortisol no mês de janeiro ($28,1 \pm 3,6$) em comparação aos meses de fevereiro ($12,0 \pm 3,4$), março ($17,1 \pm 3,4$), abril ($15,0 \pm 3,4$) e maio ($18,6 \pm 3,4$) ($P=0,02$) (Figura 10).

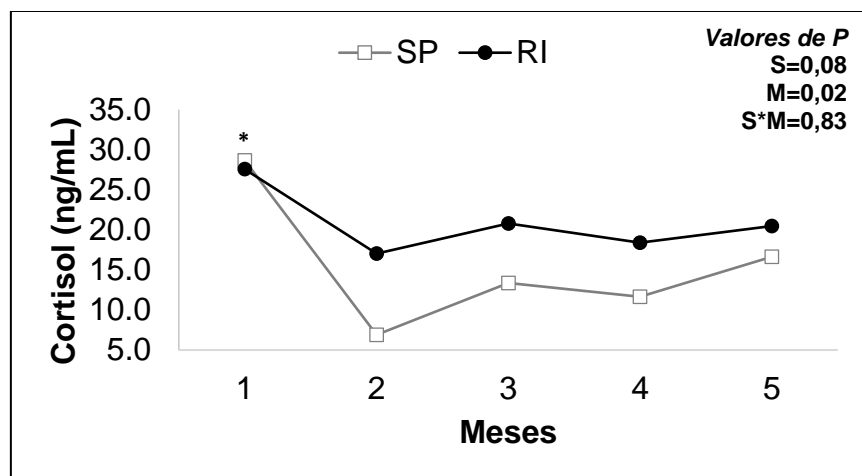


Figura 10. Concentração sérica de cortisol das novilhas de ambos sistemas experimentais (Silvipastoril – SP e Rotacionado Intensivo-RI) de janeiro a maio. S: sistema; M: mês (mês experimental); S*M: interação entre sistema e mês. * = indicam médias significativamente diferentes de acordo com o mês.

Quanto à OPU-PIVE em vacas Canchim, não se observaram interações, tampouco efeito de sistema para nenhuma das variáveis analisadas (Tabela 3).

O número de FO foi semelhante entre os meses experimentais, contudo, os números de OT e OV foram maiores nos meses de janeiro, março e maio. A TxR, o número de EC e a TxC foram maiores nos meses de março e maio. E o número de BD7 e a TxB foram maiores no mês de maio (Tabela 3).

Tabela 2. Médias dos quadrados mínimos \pm erro padrão das variáveis fisiológicas de vacas de corte mantidas em áreas de sistema silvipastoril (SP) ou de pastejo rotacionado intensivo (RI).

Fatores	Variáveis ¹					
	PV (kg)médio	IMS (kg MS/dia)	TR (°C)	TT (°C)	TD (°C)	HSP90AA1
<i>Sistema</i>						
Silvipastoril	491,0 \pm 6,4	9,0 \pm 0,08	38,8 \pm 0,09	33,0 \pm 0,19	32,9 \pm 0,25	1,03 \pm 0,06
Rotacionado Intensivo	456,8 \pm 7,2	8,9 \pm 0,10	38,9 \pm 0,10	34,4 \pm 0,21	34,9 \pm 0,27	1,11 \pm 0,07
<i>Mês</i>						
Janeiro	488,2 \pm 10,9	9,1 \pm 0,14	39,4 \pm 0,16 ^a	36,0 \pm 0,32 ^a	36,3 \pm 0,42 ^a	1,14 \pm 0,09
Fevereiro	472,6 \pm 10,5	9,1 \pm 0,14	38,4 \pm 0,15 ^b	34,4 \pm 0,31 ^b	34,7 \pm 0,41 ^b	1,15 \pm 0,09
Março	471,8 \pm 11,2	9,0 \pm 0,14	39,2 \pm 0,15 ^a	32,5 \pm 0,32 ^c	32,3 \pm 0,42 ^c	1,05 \pm 0,09
Abril	477,3 \pm 10,5	9,0 \pm 0,15	38,5 \pm 0,15 ^b	32,8 \pm 0,32 ^c	33,0 \pm 0,42 ^c	0,93 \pm 0,09
Maio	459,8 \pm 10,8	8,7 \pm 0,14	38,6 \pm 0,15 ^b	32,9 \pm 0,1 ^c	33,1 \pm 0,41 ^c	1,08 \pm 0,09
<i>Valor de P²</i>						
S ³	<0,01	0,37	0,60	<0,01	<0,01	0,40
M ⁴	0,47	0,21	<0,01	<0,01	<0,01	0,51
S*M ⁵	0,71	0,65	0,49	0,34	0,24	0,66

¹PV: peso vivo; IMS: ingestão de matéria seca; TR: temperatura retal; TD: temperatura da linha do dorso; TT: temperatura do tronco; HSP90AA1: abundância de *heat-shock-protein* 90²valores de $p \leq 0,05$ foram considerados significativos; ³S: sistema; ⁴M: mês (mês experimental); ⁵S*M: interação entre sistema e mês. ^{a-b} = médias seguidas por letras diferentes na mesma linha são significativas.

Tabela 3. Médias dos quadrados mínimos \pm erro padrão das variáveis relativas à OPU e produção *in vitro* de embriões de vacas de corte mantidas em as áreas de sistema silvipastoril (SP) ou de pastejo rotacionado intensivo (RI).

Fatores	Variáveis ¹							
	FO (n)	OT (n)	OV (n)	TxR (%)	EC (n)	TxC (%)	BD7 (n)	TxB (%)
<i>Sistema</i>								
Silvipastoril	25,8 \pm 2,1	20,9 \pm 1,7	13,1 \pm 1,3	74,3 \pm 2,7	11,8 \pm 1,1	85,7 \pm 2,6	5,1 \pm 0,6	42,9 \pm 4,0
Rotacionado Intensivo	28,8 \pm 2,4	20,2 \pm 2,0	12,1 \pm 1,4	65,3 \pm 3,1	10,3 \pm 1,3	82,0 \pm 3,0	4,1 \pm 0,6	35,9 \pm 4,6
<i>Mês</i>								
Janeiro	30,5 \pm 3,7	19,1 \pm 3,0 ^{ab}	13,0 \pm 2,2 ^{ab}	62,6 \pm 4,6 ^{bc}	11,0 \pm 2,0 ^{ab}	78,5 \pm 4,7 ^{bc}	3,9 \pm 1,0 ^b	34,8 \pm 7,1 ^b
Fevereiro	20,1 \pm 3,5	14,4 \pm 2,9 ^b	9,4 \pm 2,1 ^{ab}	64,3 \pm 4,6 ^{bc}	8,6 \pm 1,9 ^b	78,8 \pm 4,6 ^{bc}	3,1 \pm 0,9 ^b	31,3 \pm 7,0 ^b
Março	28,5 \pm 3,5	24,9 \pm 2,9 ^{ab}	16,9 \pm 2,1 ^a	79,0 \pm 4,6 ^{ab}	15,5 \pm 1,8 ^a	92,7 \pm 4,3 ^{ab}	4,7 \pm 0,9 ^b	34,1 \pm 6,5 ^b
Abril	28,5 \pm 3,5	16,6 \pm 2,9 ^b	8,5 \pm 2,2 ^b	57,3 \pm 4,6 ^c	6,1 \pm 1,9 ^b	75,3 \pm 4,4 ^c	2,6 \pm 0,9 ^b	38,6 \pm 6,7 ^b
Maio	28,8 \pm 3,5	27,5 \pm 2,9 ^a	15,1 \pm 2,1 ^{ab}	85,7 \pm 4,6 ^a	14,1 \pm 1,8 ^a	94,1 \pm 4,3 ^a	8,6 \pm 0,9 ^a	58,3 \pm 6,5 ^a
<i>Valor de P²</i>								
S ³	0,35	0,79	0,61	0,03	0,35	0,36	0,24	0,25
M ⁴	0,26	<0,01	0,03	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,04
S*M ⁵	0,87	0,99	0,86	0,32	0,84	0,22	0,94	0,67

¹FO: folículos observados; OT: oócitos totais; OV: oócitos viáveis; TxR: taxa de recuperação; EC: número de estruturas clivadas; TxC: taxa de clivagem; BD7: número de blastocistos no D₇; TxB: taxa de blastocistos no D₇²; valores de $p \leq 0,05$ foram considerados significativos; ³S: sistema; ⁴M: mês (mês experimental); ⁵S*M: interação entre sistema e mês. ^{a-b} = médias seguidas por letras diferentes na mesma linha são significativas.

As concentrações séricas de P₄ ($1,0 \pm 0,3$ vs $1,6 \pm 0,4$; $P=0,32$), glicose ($58,8 \pm 2,1$ vs $60,9 \pm 2,4$; $P=0,51$), BHBA ($0,5 \pm 0,03$ vs $0,4 \pm 0,03$; $P=0,22$) e AGNES ($0,49 \pm 0,05$ vs $0,50 \pm 0,05$; $P=0,95$) não diferiram entre os sistemas SP e RI, respectivamente (Figura 11).

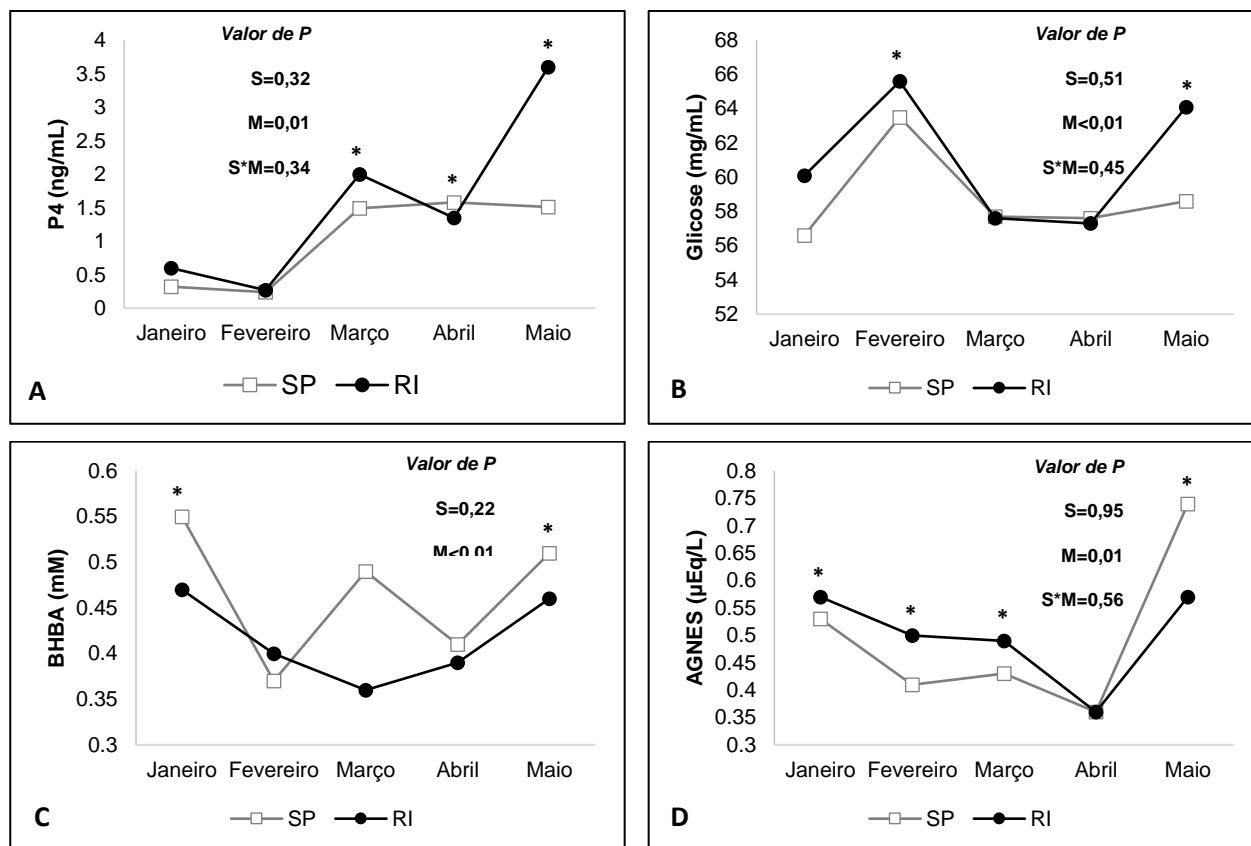


Figura 11. Concentração sérica de progesterona (P₄), glicose, ácidos graxos não esterificados (AGNES) e β-hidroxi-butirato (BHBA) de vacas de corte mantidas em as áreas de sistema silvipastoril (SP) ou de pastejo rotacionado intensivo (RI), ao longo dos meses experimentais. S: sistema; M: mês (mês experimental); S*M: interação entre sistema e mês. * = indicam médias significativamente diferentes de acordo com o mês.

As concentrações de P₄ se mantiveram abaixo de 1 ng/mL nos meses de janeiro ($0,5 \pm 0,5$) e fevereiro ($0,3 \pm 0,5$), entretanto, nos meses de março ($1,8 \pm 0,5$) e abril ($1,5 \pm 0,5$) foram maiores, atingindo a maior concentração no mês de maio ($2,6 \pm 0,5$) ($P=0,01$; Figura 11). As concentrações de glicose foram maiores nos meses de fevereiro ($64,6 \pm 2,2$) e maio ($61,4 \pm 2,0$) em comparação aos meses de janeiro ($58,3 \pm 2,1$), março ($57,7 \pm 1,9$) e abril ($57,4 \pm 2,0$) ($P<0,01$; Figura 11). Maiores concentrações de BHBA foram

observadas nos meses de janeiro ($0,5 \pm 0,03$) e maio ($0,5 \pm 0,03$) em comparação aos meses de fevereiro ($0,4 \pm 0,03$), março ($0,4 \pm 0,03$) e abril ($0,4 \pm 0,03$) ($P < 0,01$). A concentração de AGNES foi menor no mês de abril ($0,4 \pm 0,1$) em comparação com os meses de janeiro ($0,6 \pm 0,1$), fevereiro ($0,5 \pm 0,1$), março ($0,5 \pm 0,1$) e maio ($0,7 \pm 0,1$) ($P = 0,01$).

4. *Discussão*

Os benefícios que as áreas de pastagens consorciadas ao componente arbóreo causam aos animais em crescimento, principalmente no que diz respeito às variáveis reprodutivas, não estão totalmente elucidados e estudos que buscam responder essas questões ainda são escassos na literatura. Desta forma, os resultados deste estudo podem auxiliar a nortear não somente novas pesquisas, mas também novos modelos de produção de fêmeas a pasto no Brasil.

Para avaliar o impacto das características ambientais na criação de bovinos, é necessário conjugar algumas variáveis microclimáticas aferidas por estações meteorológicas e gerar índices, tais quais o ITGU e a CTR. Nos experimentos 1 e 2, a presença das árvores no sistema SP determinou menores valores de ITGU e CTR quando comparados aos do sistema RI. Este resultado agrega novas informações sobre o uso do sombreamento natural a estudos prévios, nos quais foi relatado maior conforto térmico em instalações para animais com sombreamento artificial ou natural, caracterizado principalmente por redução nos índices de ITU [11,35,36], de ITGU [36, 37,38] e de CTR [36,39].

Durante o experimento 1, no sistema RI foram observados valores de ITGU entre 83 e 87, enquanto no sistema SP se manteve entre 73 e 82. Há um consenso no que diz respeito a variação dos valores de ITGU em sistemas de produção, no qual se observa que acima de 82 pontos, valor considerado crítico e prejudicial à produtividade, é fundamental a utilização de mecanismos que auxiliem na térmolise pelos animais [26]. Deste modo, a redução dos valores de ITGU proporcionada pela presença do componente arbóreo no sistema SP tornou o microclima confortável e o sistema compatível para o bom desempenho das novilhas, corroborando resultados prévios [6, 36]. Conforme o esperado, no mês de maio, época transicional entre o final do outono e

início do inverno, ambos sistemas registram os valores mais baixos de ITGU[40], o que está diretamente relacionado com a redução natural da radiação solar e da temperatura do ar nesta época, tornando o clima mais ameno, e característico dessas estações do ano na região do estudo [41].

A CTR expressa a radiação total recebida pelo globo negro proveniente do ambiente ao seu redor [26]. Há relatos na literatura de que instalações com cobertura artificial para animais estabulados são eficientes em reduzir de 30 a 50% da carga de calor sobre os animais [42]. No experimento 1, o aumento da CTR no mês de março foi mais evidente, ao ponto que não pôde ser compensado pela arborização do sistema SP. Nos demais meses, a redução da transmissividade da radiação foi eficiente para reduzir a CTR sobre os animais. Isto significa que o sistema silvipastoril é efetivo para reduzir a CTR, mas em certas condições ambientais mais pontuais, a adoção de outras ações para elevar o conforto térmico poderiam ser apropriadas.

A estimativa de IMS, o PV e o ECC das novilhas pastejando áreas do sistema SP foram maiores que de novilhas pastejando áreas do sistema RI. Condições climáticas desfavoráveis comprometem a ingestão alimentar e, por consequência, podem levar a perda de peso e ECC ao longo do tempo [11; 43,44], sobretudo porque animais em condição de estresse apresentam altas concentrações de cortisol e menor GMD [29]. Independente do sistema em que estavam lotadas, as novilhas deste estudo tiveram decréscimo do GMD no mês de fevereiro (GMD de 168,7 para novilhas em área sombreada x -106,3 para novilhas em sistema convencional), o que permite, em associação com as altas concentrações de cortisol observadas nos meses de verão, inferir que o desconforto térmico neste período gerou um limiar de estresse, de tal modo, que influenciou negativamente a IMS, diminuindo o desempenho. Já no período final do experimento, a perda de peso dos animais se justifica pela queda na produção de forragem em função da redução de chuvas [41], ainda que a estimativa de IMS tenha sido maior para os animais nesse período.

Sabe-se que o efeito benéfico da disponibilidade de sombra no sistema SP no conforto animal e na produtividade se dá pela melhora nas variáveis fisiológicas (FR, FC e TR) em função do microclima favorável [45,46]. O processo de termorregulação, que consiste na perda do calor metabólico do corpo do animal, ocorre por fluxo do calor

corpóreo ao ambiente. Esse fluxo dependerá da área corpórea por unidade de peso vivo, da magnitude do gradiente de temperatura entre o corpo e o ambiente e da condução do calor do centro do corpo até a pele e da pele até o ambiente [25]. As novilhas que pastejavam as áreas SP tiveram menor TR que aquelas que pastejavam a área RI, o que indica que, em decorrência da ambiência proporcionada pelas condições microclimáticas do sistema SP [47], a perda de calor corpóreo das novilhas nele distribuídas foi mais eficiente, corroborando resultados prévios em búfalas [6] e em novilhas zebuínas [48]. Do mesmo modo, a TD de novilhas do sistema SP foi menor do que a de novilhas do sistema RI, exceto no mês de fevereiro, quando houve um aumento pronunciado da TD de novilhas do sistema SP e fez que com que a média se igualasse a de novilhas do sistema RI. A TD, por ser uma medida direta e instantânea da temperatura de superfície corpórea, pode ser influenciada por aumentos imediatos das variáveis climáticas. Neste estudo, no mês de fevereiro coincidentemente, embora a CTR tenha sido a mesma no sistema SP, foi registrado aumento no ITGU de ambos sistemas, o que explica o aumento na TD em ambos. A relação existente entre as variáveis climáticas ambientais e a resposta aguda na temperatura de superfície corpórea já foi descrita em estudos prévios [31,32]. Em todos os demais meses, embora o ITGU tenha permanecido aumentado, o sistema SP foi eficiente em facilitar a perda de calor corpóreo das novilhas nele manejadas e as TD registradas se mantiveram inferiores às de novilhas do sistema RI. Menores TD favorecem o fluxo de energia térmica do núcleo corpóreo para a periferia, facilitando o processo de trocas térmicas condutivas.

Dados da literatura demonstram que animais sob condição de estresse calórico, ao ativarem o mecanismo de perda de calor corpóreo, apresentam além do aumento da TR já discutido, o aumento compensatório das FR e FC [45, 46]. Esta última se eleva em reação ao estresse devido ao estímulo da adrenal e conseqüente aumento da concentração sérica de adrenalina e noradrenalina [28, 29]. Embora tenham ocorrido mudanças climáticas nos sistemas experimentais compatíveis com o aumento dessas variáveis[26], as novilhas dos sistemas RI e SP apresentaram FR e FC semelhantes durante todo o período experimental. As médias da FC e da FR observadas nas novilhas nos sistemas SP (96,5 bpm e 46,4 mpm, respectivamente) e RI (93,1 bpm e 44,4 mpm, respectivamente) foram superiores à faixa considerada fisiológica para bovinos adultos

(70 bpm e 35 mpm, respectivamente) [28]. O aumento nas FC e FR de bovinos se dá não somente por estresse calórico, e são caracterizados por apresentar resposta aguda à estímulos intrínsecos, tais como medo, excitação e exercícios físicos[28,49]. As novilhas deste estudo, estando sob condições de calor intenso, tiveram a ativação dos primeiros mecanismos utilizados para a manutenção da homeostasia, ou seja, o aumento da FR bem como da FC, que pode ser observado até mesmo antes que as condições climáticas se apresentassem severamente adversas ao animal [50].

Durante os três primeiros meses experimentais (estação de verão) as concentrações de cortisol se encontraram mais altas em ambos os sistemas, contudo no quarto e quinto mês experimental as novilhas do sistema SP atingiram níveis basais de cortisol (5-10 ng/mL; [51]). É provável que nos meses de dezembro, janeiro e fevereiro em função de maiores ITGU e CTR, tenha havido maior estímulo à liberação de cortisol [6, 11, 13]. Entretanto, nos meses em que menores registros de ITGU e CTR foram encontrados (meses de abril e maio, correspondentes ao fim do verão e início do outono), ou seja, com um menor desafio aos mecanismos de termólise, novilhas do sistema SP não tiveram estímulo para o aumento das concentrações séricas de cortisol, o que demonstra a efetividade do sistema SP em relação ao sistema RI em períodos com menor desafio térmico. Fica evidente que em situações climáticas muito severas são necessárias ferramentas complementares ao sombreamento natural para auxiliar o conforto térmico.

É interessante notar que, embora o sistema SP tenha se mostrado eficiente quando em temperaturas mais amenas, nos meses em que se registraram maiores ITGU e CTR em ambos experimentos, pôde-se verificar aumento na TR e nas concentrações séricas de cortisol nas novilhas, independente do sistema em que estavam alocadas, corroborando outros relatos da literatura [6,9,10]. Com isso é possível observar que o efeito do mês, devido aos altos índices microclimáticos registrados, é muito relevante na mudança do padrão de resposta fisiológica dos animais.

Com relação às respostas das variáveis microclimáticas observadas no experimento 2, a variação do ITGU e CTR seguiu o mesmo padrão observado no experimento 1, uma vez que foi diferente entre os sistemas experimentais, exceto pelo mês de março em que se igualaram. Contudo, é importante ressaltar que a efetividade

de sombreamento existente no sistema SP para esse período foi 19,3% menor do que a existente durante o experimento 1, em função da menor densidade arbórea adotada neste período, em decorrência de manejo silvicultural para manutenção do equilíbrio do desenvolvimento dos componentes vegetais do sistema. O aumento da radiação solar média dentro de sistemas SP, embora positivo para o manejo das pastagens, pode reduzir sua eficiência quanto ao benefício do conforto térmico [38].

A TR observada nas vacas neste estudo apenas excedeu a faixa fisiológica para bovinos adultos nos meses de janeiro e março, contudo foi semelhante entre os sistemas durante todo o período experimental. Conforme o esperado, as TT e TD foram mais baixas nas vacas que pastejavam no sistema SP, em função do microclima mais favorável à termólise [38, 39, 45] e à redução da carga térmica diretamente incidente sobre os animais. Sabe-se que a superfície corpórea constitui área de troca de calor radiante do ambiente ao interior do corpo do animal [26, 31]. Deste modo, a TT e a TD são reflexo do acúmulo do calor proveniente pela radiação solar que incide sobre o corpo do animal além de todo calor produzido pelo metabolismo e que alcança a superfície corpórea por meio de vasos sanguíneos que originam o plexo vascular subcutâneo. Neste sentido, é possível que as TT e TD tenham sido, neste estudo, mais sensíveis do que a TR quanto à mudança do microclima. Contudo, considerando a condição metabólica das vacas, estando as mesmas lactantes, a TR pode ter sido mais susceptível aos fatores intrínsecos relacionados ao aumento do calor produzido pelo metabolismo [6, 10, 15, 16] e, além disso, é possível que a redução no potencial de sombreamento da área neste estudo, que culminou com altos valores de ITGU e CTR, dificultou a capacidade de termólise das vacas lá manejadas [40].

As concentrações de cortisol das vacas se apresentaram acima dos níveis basais durante todo o período experimental neste estudo (5-10 ng/mL; [51]), independente do sistema. Além disso, foi maior no primeiro mês de avaliação (janeiro), tendo ocorrido redução nos meses seguintes até o final do experimento. É comum que vacas no início do pós-parto apresentem maiores concentrações de cortisol sérico, principalmente se forem primíparas [52]. Do mesmo modo, embora tenha sido esperado uma redução na expressão gênica da enzima HSP90AA1, que sinaliza o estresse térmico celular, nas novilhas que estavam alocadas no sistema SP, a concentração encontrada não diferiu,

tampouco foi influenciada pela variação da condição climática ao longo do experimento, sendo similar àquela encontrada em animais zebuínos [53]. É possível que a sinalização do estresse térmico a nível celular ocorra em função de exposição cumulativa, conforme já reportado em alguns trabalhos [11, 13, 17], cabendo ainda considerar que esses efeitos podem se tornar evidentes apenas após longos períodos de exposição do animal ao estímulo estressor.

As vacas do sistema SP apresentaram maior peso médio do que as do sistema RI durante todo o período experimental, contudo a IMS e o ECC foi similar entre elas, exceto pelo mês de fevereiro em que o ECC das vacas do sistema SP foi maior. Paralelamente, observaram-se menores concentrações de glicose e maiores de BHBA, que são indicativos de balanço energético negativo (BEN) [40], o que é comum no pós-parto mais imediato próximo ao pico de lactação. Segundo alguns autores, o BEN está mais relacionado à IMS do que à quantidade de leite produzido em vacas leiteiras [54]. Mesmo que os sistemas não tenham impactado na IMS, no presente estudo observou-se IMS média de 1,8% do PV e o esperado para vacas de corte seria em torno de 2,2% do PV [55], o que permite especular que as fêmeas estavam nesta condição metabólica. O aumento das concentrações de glicose e redução nas concentrações de BHBA e AGNES observadas em fevereiro, coincidem com a melhora do ECC, evidenciando a redução do BEN [55].

Adicionalmente e, de forma esperada, a P₄ apresentou-se mais baixa no início do que ao final do presente trabalho, conforme previamente relatado por diversos autores [56, 57].

No presente estudo não houve diferença no número de FO das vacas de acordo com o sistema. Isto é esperado, uma vez que o número de folículos antrais em vacas é influenciado inicialmente pela população pré-antral pré-existente, que é determinada ainda na fase embrionária. Há, portanto, grande influência genética no número de folículos que se pode observar nos ovários de vacas adultas [15].

Entretanto, nos meses de janeiro e fevereiro foram observados menores números de OT, OV, TxR, EC, TxC e BD7, independente da área em que se encontravam as vacas, evidenciando mais uma vez o efeito deletério de altas temperatura e umidade

relativa do ar concordando com estudos em vacas leiteiras, em que se evidenciou o efeito negativo das estações mais quentes do ano sobre a fertilidade [35, 60, 61].

Muito embora tenha sido observada a elevação de BHBA e AGNES no mês de maio, que é coincidente com a queda da qualidade das forrageiras compatível com o período das secas, indicando início da mobilização de tecido adiposo como fonte energética, neste período foram observadas maior número de OT, OV, EC, BD7 e maiores TxR, TxC e TxB. Parte dos relatos de literatura demonstram que altas concentrações séricas de BHBA e AGNES levam ao aumento das concentrações destes no fluido folicular [58], prejudicando a fertilidade no pós-parto, via redução na taxa de maturação, na taxa de clivagem e na produção de blastocistos *in vitro* [59]. Contudo, frente aos dados do presente estudo, a explicação mais plausível para esse achado seria a de que embora as vacas estivessem iniciando um novo período de BEN neste período, o impacto na PIVE não pôde ser observado imediatamente, uma vez que os efeitos deletérios apenas comprometerão a ovogênese que se inicia concomitantemente.

5. Conclusão

No presente estudo, o sistema SP foi eficiente em melhorar o microclima em comparação ao sistema RI, determinando maior conforto térmico e desempenho para as novilhas. Além disso, proporcionou melhor ambiência também para vacas lactantes com bezerro ao pé. Contudo, mesmo que o sistema SP tenha propiciado maior PV às vacas em comparação ao sistema RI, não foi possível observar evidências de intenso estresse calórico nesses animais, observado pela manutenção dos parâmetros fisiológicos e pela produção *in vitro* de embriões. Por outro lado, nos meses em que foram registrados índices microclimáticos mais altos, foi possível observar efeitos deletérios na manutenção dos parâmetros fisiológicos, bem como na produção *in vitro* de embriões.

6. Agradecimentos

À Universidade Estadual Paulista, à Embrapa (Rede Pecu, grant #01.10.06.001.05.07 e Rede Biotec, grant #01.13.06.001.05.04). e à FAPESP pelo suporte financeiro (Processo 2015/26627-5). À CAPES (Edital 15/2014), pela bolsa de estudos para a primeira autora.

7. Referências

- [1] ABIEC. Perfil da Pecuária no Brasil – Relatório Anual. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne 2017.
- [2] Strassburg BBN, Latawiec AE, Barioni LG, Nobre CA, da Silva VP, Valentim JF, Vianna M, Assad ED. When enough should be enough: Improving the use of current agricultural lands could meet production demands and spare natural habitats in Brazil. *Global Environmental Change* 2014; 28: 84–97.
- [3] Balbino LC, Cordeiro LAM, Porfírio-Da-Silva V, Moraes A, Martínez, GB, Alvarenga RC, Kichel AN, Fontaneli RS, Santos HP, Franchini JC, Galerani PR. Evolução tecnológica e arranjos produtivos de sistemas de integração lavoura-pecuária-floresta no Brasil. *Pesq Agrop Bras* 2011; 46: n.10, i-xii.
- [4] Gil J, Siebold M, Berger T. Adoption and development of integrated crop–livestock–forestry systems in Mato Grosso, Brazil. *Agriculture, Eco and Env* 2015; 199: 394–406.
- [5] Nardone A, Ronchi B, Lacetera N, Ranieri M.S, Bernabucci U. Effects of climate changes on animal production and sustainability of livestock systems. *Liv Sci* 2010; 130: 57-69.
- [6] Garcia AR, Matos LB, Lourenço Júnior JB, Nahúm BS, Araújo CV, Santos AX. Variáveis fisiológicas de búfalas leiteiras criadas sob sombreamento em sistemas silvipastoris. *Pesq Agrop Bras* 2011; 46: 1409-1414.
- [7] Hagenmaier JA, Reinhardt CD, Bartle SJ, Thomson DU. Effect of shade on animal welfare, growth performance, and carcass characteristics in large pens of beef cattle fed a beta agonist in a commercial feedlot. *J Anim Sci* 2016; 94: 5064–5076.
- [8] Joele MRSP, Lourenço LFH, Lourenço Júnior JB, Araujo GS, Budel JCC, Garcia AR. Meat quality of buffaloes finished in traditional or silvopastoral system in the Brazilian Eastern Amazon. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2016; 97: 1740-1745.
- [9] Brown-Brandl TM, Chitko-McKown CG, Eigenberg RA, Mayer JJ, Welsh Jr TH, Davis JD, Purswell JL. Physiological responses of feedlot heifers provided accessto different levels of shade. *Animal* 2017; 11: 1344–1353.
- [10] Collier RJ, Renquist BJ, Xiao Y. A 100-Year Review: Stress physiology including heat stress. *J Dairy Sci* 2017; 100: 10367–10380.

- [11] Torres-Júnior JRS, Pires MFA, De Sá WF, Ferreira AM, Viana JHM, Camargo LSA, Ramos AA, Folhadela IM, Polisseni J, Freitas C, Clemente CAA, Sá Filho CAA, Paula-Lopes FF, Baruselli PS. Effect of maternal heat-stress on follicular growth and oocyte competence in *Bos indicus* cattle. *Theriogenology* 2008;69: 155–166.
- [12] Brown-Brandl TM, Eigenberg RA, Nienaber JA. Heat stress risk factors of feedlot heifers. *Livestock Science* 2006; 105: 57– 68.
- [13] Hansen PJ. Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. *Ani Reprod Sci* 2004; 82–83: 349–360.
- [14] Kahwage PR, Esteves SN, Jacinto MAC, Barioni Junior W, Pezzopane JRM, Pantoja MHA, Bosi C, Miguel MCV, Mahlmeister K, Garcia, AR. High systemic and testicular thermolytic efficiency during heat tolerance test reflects better semen quality in rams of tropical breeds. *International Journal of Biometeorology* 2017; 61: 1-11.
- [15] Roth Z. Heat Stress, the Follicle, and Its Enclosed Oocyte: Mechanisms and Potential Strategies to Improve Fertility in Dairy Cows. *Reprod Dom Anim* 2008; 43 (Suppl. 2): 238–244.
- [16] Ferreira RM, Ayres H, Chiaratti MR, Ferraz ML, Araújo AB, Rodrigues CA, Watanabe YF, Vireque AA, Joaquim DC, Smith LC, Meirelles FV, Baruselli PS. The low fertility of repeat-breeder cows during summer heat stress is related to a low oocyte competence to develop into blastocysts. *J Dairy Sci* 2011; 94:2383–2392.
- [17] Ferreira RM, Macabelli CH, Carvalho NAT, Soares JG, Gimenes LU, Ferraz, ML, Watanabe YF, Rodrigues CA, Vieira LM, Meirelles FV, Baruselli PS, Chiaratti MR. Molecular evaluation of developmental competence of oocytes collected in vivo from buffalo and bovine heifers during winter and summer. *Buffalo Bulletin JCR*, v. 32, p. 596-600, 2013.
- [18] Anderson SD¹, Bradford BJ, Harner JP, Tucker CB, Choi CY, Allen JD, Hall LW, Rungruang S, Collier RJ, Smith JF. Effects of adjustable and stationary fans with misters on core body temperature and lying behavior of lactating dairy cows in a semi-arid climate. *J Dairy Sci*. 2013; 96(7):4738-50.
- [19] Smith JF¹, Bradford BJ², Harner JP², Potts JC², Allen JD³, Overton MW⁴, Ortiz XA¹, Collier RJ⁵. Short communication: Effect of cross ventilation with or without

evaporative pads on core body temperature and resting time of lactating cows. *J Dairy Sci.* 2016;99(2):1495-1500.

[20] Westfall, JA. New Models for Predicting Diameter at Breast Height from Stump Dimensions. *Northern Journal of Applied Forestry* 2010; 27: 21-27.

[21] Mott GO, Lucas HL. The desing, conduct, and interpretation of grazing trials on cultivated and improved pastures. In: *International Grassland Congress, 6, 1952, Pennsylvania. Proceedings...* Pennsylvania: State College Press, 1952: 1380-1385.

[22] Anele UY, Dombay EM, Galyean ML. Predicting dry matter intake by growing and finishing beef cattle: Evaluation of current methods and equation development. *J Anim Sci* 2014; 92: 6, 2660-2667.

[23] Azevêdo JAG, Valadares Filho SC, Pina DS, Valadares RFD, Detmann E. Predição de consumo de matéria seca por bovinos de corte em confinamento. In: S. C. Valadares Filho, editor, *Exigências Nutricionais de Bovinos Puros e Cruzados BR-CORTE* 2010;Viçosa, MG: 1-11.

[24] Houghton P, Lemenager R, Moss G, Hendrix K. Prediction of postpartum beef cow body composition using weight to height ratio and visual body condition score. *J Ani Sci* 1990; 68: 1428-37.

[25] Buffington DE, Collazo-ArochoA, Canton GH, Pitt D, Thatcher WW, Collier RJ. Black globe-humidity index (BGHI) as comfort equation for dairy cows. *Transactions of ASAE* 1981; 2: 3, 711-14.

[26] Esmay ML. *Principles of animal environment.* Westport: The AVI Publishing Company 1979; 325. (Environmental Engineering in Agriculture and Food Series).

[27] Domiciano LF, Mombach MA, Carvalho P, Silva NMF, Pereira DH, Cabral LS, Lopes LB, Pedreira BC. Performance and behaviour of Nellore steers on integrated systems. *Animal Production Science* 2016; 58: 920–929.

[28] Stöber M. Identificação, anamnese, regras básicas da técnica de exame clínico geral. In: DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H.D.; STÖBER, M. Rosenberger - Exame Clínico dos Bovinos. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, p.44-80, 1990.

[29] Cooke RF, Arthington, JD, Austin, BR, Yelich, JV. Effects of acclimation to handling on performance, reproductive, and physiological responses of Brahman-crossbreed heifers. *J Ani Sci* 2009; v.87, p.3403-3412.

- [30] Hoffmann G, Schmidt M, Ammon C, Rose-Meierhöfer S, Burfeind O, Heuwieser W, Berg W. Monitoring the body temperature of cows and calves using video recordings from an infrared thermography camera. *Veterinary Research Communication* 2013; 37: 2, 91-99.
- [31] Kotrba R, Knížková I, Kunc P, Bartos L. Comparison between the coat temperature of the eland and dairy cattle by infrared thermography. *Journal of Thermal Biology* 2007; 32: 355-359.
- [32] Pantoja MHA, Esteves, SN, Jacinto MAC, Pezzopane JRM, de Paz CCP, Silva JAR, Lourenco Junior JB, Brandao FZ, Moura ABB, Romanello N, Botta D, Garcia AR. Thermoregulation of male sheep of indigenous or exotic breeds in a tropical environment. *Journal of Thermal Biology* 2017; 69: 302–310.
- [33] Lonergan P. Studies in the in vitro maturation, fertilization and cultivation of bovine follicular oocytes. 1992. 157f. Thesis (PhD). National University of Ireland, Dublin.
- [34] Mccullagh P, Nelder JA. *Generalized Linear Models* 1989; 2: 193-236, ISBN 9780412317606.
- [35] Ferreira, RM. A baixa fertilidade de vacas Holandesas (*Bos taurus*) repetidoras de serviço durante o estresse térmico está relacionada à sua baixa competência oocitária. Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Reprodução Animal. Tese 2012: 140.
- [36] Van laer E, Moons CPH, Ampe B, Sonck B, Vandaele L, De Campeneere S, Tuytens FAM. Effect of summer conditions and shade on behavioural indicators of thermal discomfort in Holstein dairy and Belgian Blue beef cattle on pasture. *Animal* 2015; 9 (9): 1536–1546.
- [37] Bohmanova J, Misztal I, Cole JB. Temperature-Humidity Indices as indicators of milk production losses due to heat stress. *Journal of Dairy Science* 2007; 90: 1947-1956.
- [38] Castro AC, Lourenço Jr JB, Santos, NFA, Monteiro EMM, Aviz MAB, Garcia AR. Sistema silvipastoril na Amazônia: ferramenta para elevar o desempenho produtivo de búfalos. *Ciência Rural* 2008; 38 (8): 2395-2402.
- [39] Veissier I, Van Laer E, Palme R, Moons CPH, Ampe B, Sonck B, Andanson S, Tuytens FAM. Heat stress in cows at pasture and benefit of shade in a temperate climate region. *Int J Biometeorol*, 2017; 62(4): 585-595.

- [40] Avila AS, Jacome AMTD, Faccenda A, Panazzolo DM, Müller ER. Evaluation and correlation of physiological parameters and bioclimatic indexes holstein cows in different seasons. *Revista do Centro de Ciências Naturais e Exatas* 2013; 14 (14): 2878-2884.
- [41] CPPSE 2018. Caracterização Climática - Dados Meteorológicos. Disponível em: <http://www.cppse.embrapa.br/meteorologia/index.php?pg=inicio>. Acesso em 10/06/2018.
- [42] Baccari Jr F. Manejo ambiental da vaca leiteira em climas quentes. Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 2001. 142p
- [43] Hahn GL, Gaughan JB, Mader TL, Eigenberg RA. Thermal index and their applications for livestock environments. In: J.A. De Shazer, ed. *Livestock Energetics and Thermal Environmental Management* 2009: 113-130.
- [44] Arias R, Mader TL. Effects of environmental factors on body temperature of feedlot cattle. *Nebraska Beef Cattle Report* 2009; 102-104. Disponível em: <http://digitalcommons.unl.edu/animalscinbcr/510>.
- [45] Baêta FC, Souza C. *Ambiência em edificações rurais: conforto animal* 1997. Viçosa: UFV, 1997; 246 p.
- [46] Titto EAL, Pereira AMF, Vilela RA, Titto CG, Amadeu CCB. Manejo ambiental e instalações para vacas leiteiras em ambiente tropical. In: *Workshop de ambiência na produção de leite*, I., 2008, Nova Odessa. Palestras ... Nova Odessa: Centro Apta - Bovinos de Leite do Instituto de Zootecnia, 2008. p.1-24.
- [47] Gaughan B, Mader TL, Holt SM, Josey MJ, Rowan KJ. Heat tolerance of Boran and Tuli crossbred steers. *Anim Sci* 1999; 77: 2398-2405.
- [48] Navarini FC, Klosowski ES, Campos AT, Teixeira RA, Almeida CP. Conforto térmico de bovinos da raça Nelore a pasto sob diferentes condições de sombreamento e a pleno sol. *Eng Agrícola* 2009; 29 (4): 508-517.
- J. Dairy Sci* 2002; 85: 2803–2812
- [49] Marai IFM, Habeeb AAM, Farghaly HM. Productive, physiological and biochemical changes in imported and locally born Holstein lactating cows under hot summer conditions of Egypt. *Trop. Anim. Health Prod.* 1999; 31: 233-243.

- [50] Dalcin VC, Fischer V, Daltro DS, Alfonzo EPM, Stumpf MT, Kolling GJ, Silva MVGB, MacManus C. Physiological parameters for thermal stress in dairy cattle. *R. Bras. Zootec.* 2016; 45 (8): 458-465.
- [51] Yoshida C, Nakao T. Response of plasma cortisol and progesterone after ACTH challenge in ovariectomized lactating dairy cows. *Journal of Reproduction and Development* 2005; 51 (1): 99-107.
- [52] Aengwanich W, Kongbuntad W, Boonsorn T. Effects of shade on physiological changes, oxidative stress, and total antioxidant power in Thai Brahman cattle. *Int J Biometeorol* 2011; 55: 741-748.
- [53] Hooper HB, Titto CG, Gonella-Diz AM, Henrique FL, Pulido-Rodríguez LF, Longo ALS, Leme-dos-Santos MC, Geraldo ACAPM, Pereira AMF, Binelli M, Balieiro JCC, Titto EAL. Heat loss efficiency and HSPs gene expression of Nelore cows in tropical climate conditions. *International Journal of Biometeorology; Special Issue Brazilian Congress – Jaboticabal 2017.*
- [54] Villa-Godoy A, Hughes TL, Emery RS, Chaplin TL, Fogwell ERL. Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci* 1988; 71:1063-1069.
- [55] Coleman SW, Gunter SA, Sprinkle, JE, Neel JPS. BEEF SPECIES SYMPOSIUM: Difficulties associated with predicting forage intake by grazing beef cows. *J Anim Sci* 2014; 92:2775-2784.
- [56] Baruselli PS, Gimenes LU, Sales JNS. Reproductive physiology of *Bos taurus* and *Bos indicus* females. *Rev. Bras. Reprod* 2007; 31:205–211.
- [57] Sá Filho OG, Thatcher WW, Vasconcelos JLM. Effect of progesterone and/or estradiol treatments prior to induction of ovulation on subsequent luteal lifespan in anestrous Nelore cows. *Animal Reproduction Science* 2009; 112: 95–106.
- [58] Vanholder T, Opsomer G, De Kruif A. A etiology and pathogenesis of cystic ovarian follicles in dairy cattle: a review. *ReprodNutrDev* 2006; 46: 105-119.
- [59] Leroy JL, Vanholder T, Mateusen B, Christophe A, Opsomer G, DeKruif A. Non-esterified fatty acids in follicular fluid of dairy cows and their effect on developmental capacity of bovine oocytes in vitro. *Reproduction* 2005; 130:485-95.

[60] Vasconcelos JLM, Demetrio DGB. Manejo reprodutivo de vacas sob estresse calórico. *Revista Brasileira de Zootecnia* 2011; 40:396-401.

[61] Sartori R, Sartor-Bergfelt R, Mertens SA, Guenther JN, Parrish JJ, Wiltbank MC. Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. *J Dairy Sci.* 2002; 85(11): 2803-12.

CAPÍTULO 3 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sistemas que integram o componente arbóreo às pastagens, bem como aqueles que também incluem o componente agrícola (lavouras) são realidade no cenário brasileiro, muito embora ainda predominem no país os sistemas de monocultura de pastagens e escassez de arborização, quando se considera a produção de gado de corte. Os sistemas silvipastoris (florestas integradas às pastagens) influenciam positivamente, como constatado neste e em outros estudos prévios, o conforto de novilhas e vacas de corte. Apesar de serem eficientes para redução da carga térmica radiante, é possível que um nível maior de sombreamento seja requerido para impactar constantemente certas variáveis fisiológicas e reprodutivas de vacas lactantes com bezerro ao pé.

É possível que, em raças que apresentam menor capacidade termotolerante, como animais taurinos, ou de pelagem escura, que naturalmente apresentam menor reflectância, o efeito positivo do uso do componente arbóreo em sistemas de pastagens seja mais evidente, principalmente por causa do efeito de barreira física à radiação solar direta. Além disso, é importante considerar o fator genético associado à capacidade termolítica, uma vez que animais zebuínos, têm como principal característica a adaptabilidade ao clima das regiões tropicais. Logo, para animais de raças compostas em que prevalece o genótipo taurino, a utilização de arborização nas áreas de pastagem possa ser uma alternativa, como já propuseram diversos autores para raças com aptidão leiteira.

Como perspectiva futura, além de se considerar o efeito dos sistemas sombreados na resposta homeostática e reprodutiva das matrizes, uma vertente de estudo que pode ampliar a fronteira do conhecimento sobre a fertilidade dos bovinos de corte seria o estudo dos efeitos do estresse calórico diretamente sobre os gametas masculinos e femininos, bem como sobre o conceito em fases iniciais de gestação, abordando eventuais mecanismos moleculares envolvidos na capacidade adaptativa dos animais aos desafios pelo calor.