

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CAMPUS DE ARAÇATUBA

MARCO ANTONIO RUIZ LOPES

**O efeito do estresse térmico associado à produção de leite
e índices reprodutivos de vacas da raça Holandesa**

ARAÇATUBA – SP
2022

MARCO ANTONIO RUIZ LOPES

**O efeito do estresse térmico associado à produção de leite
e índices reprodutivos de vacas da raça Holandesa**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP – Campus de Araçatuba/SP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal (Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal).

Orientador: Prof. Adj. Guilherme de Paula Nogueira
Coorientador: Francisco Leydson Formiga Feitosa

ARAÇATUBA – SP
2022

L864e Lopes, Marco Antonio Ruiz

 O efeito do estresse térmico associado à produção de leite e índices reprodutivos de vacas da raça Holandesa / Marco Antonio Ruiz Lopes. -- Araçatuba, 2002

 114 p. : il., tabs.

 Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba

 Orientador: Guilherme de Paula Nogueira

 Coorientador: Francisco Leydson Formiga Feitosa

 1. estresse por calor. 2. lactação. 3. concepção. 4. vaca leiteira. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: O efeito do estresse térmico associado à produção de leite e índices reprodutivos de vacas da raça Holandesa

AUTOR: MARCO ANTONIO RUIZ LOPES

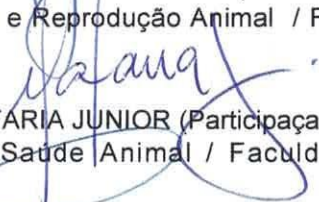
ORIENTADOR: GUILHERME DE PAULA NOGUEIRA

COORDENADOR: FRANCISCO LEYDSON FORMIGA FEITOSA

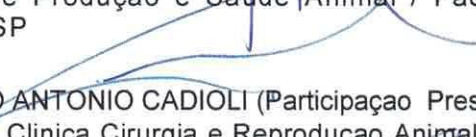
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Ciência Animal, área: Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. FRANCISCO LEYDSON FORMIGA FEITOSA (Participação Presencial)
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP



Prof. Dr. MAX JOSÉ DE ARAUJO FARIA JUNIOR (Participação Presencial)
Departamento de Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP



Prof. Dr. FABIANO ANTONIO CADIOLI (Participação Presencial)
Departamento de Clínica Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP



Dr. DANIEL DE JESUS CARDOSO DE OLIVEIRA (Participação Presencial)
Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios - APTA / Secretaria da Agricultura, Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Araçatuba/SP

Dr. MARCOS ANTONIO MAIOLI (Participação Virtual)
Doutor em Ciência Animal pela Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba - UNESP

Araçatuba, 07 de novembro de 2022.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araçatuba

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: O efeito do estresse térmico associado à produção de leite e índices reprodutivos de vacas da raça Holandesa

AUTOR: MARCO ANTONIO RUIZ LOPES

ORIENTADOR: GUILHERME DE PAULA NOGUEIRA

COORIENTADOR: FRANCISCO LEYDSON FORMIGA FEITOSA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Ciência Animal, área: Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. FRANCISCO LEYDSON FORMIGA FEITOSA (Participação Presencial)
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Prof. Dr. MAX JOSÉ DE ARAUJO FARIA JUNIOR (Participação Presencial)
Departamento de Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Prof. Dr. FABIANO ANTONIO CADIOLI (Participação Presencial)
Departamento de Clínica Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária Campus de Araçatuba/UNESP

Dr. DANIEL DE JESUS CARDOSO DE OLIVEIRA (Participação Presencial)
Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios - APTA / Secretaria da Agricultura, Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Araçatuba/SP


Dr. MARCOS ANTONIO MAIOLI (Participação Virtual)
Doutor em Ciência Animal pela Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba - UNESP

Araçatuba, 07 de novembro de 2022.

Dedico esta conquista a minha esposa (Gilza) e filha (Maria Eduarda) que se mantiveram firmes ao meu lado me apoiando, motivando e aconselhando durante todo o processo de doutoramento.

Graças a nossa união conseguimos superar todas as dificuldades....

Aos meus pais (Hélio e Deyse) que apesar da distância estiveram torcendo por mim.

Ao meu orientador Prof. Dr. Guilherme P. Nogueira por ter me orientado e proporcionado grandes aprendizados durante essa jornada.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba (FMVA-UNESP) e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, por me receber e proporcionar a realização desse projeto.

Ao meu orientador Guilherme de Paula Nogueira que acreditou desde o começo na minha pessoa e no meu projeto.

Ao, Prof. Dr. Francisco Leydson Formiga Feitosa, por ter me auxiliado a entrar no programa de doutoramento

A CAPES, por acreditar e apoiar de forma financeira meu projeto. Apoio esse que veio em um período essencial.

Aos colegas “Dado” Consentini e Marcos A. Maioli pelo apoio e disponibilidade para as reuniões no quesito estatística.

E a todos os novos amigos e colegas que fiz durante toda a jornada de doutoramento.

Meu muito obrigado!!!!

**“Se você quer mudar o mundo, comece arrumando a sua cama... e nunca, nunca
toque o sino.”**

Almirante Willian H. McRaven.

LOPES, M.A.R. **O efeito do estresse térmico associado à produção de leite e índices reprodutivos de vacas da raça Holandesa.** 2022. 114 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2022.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a taxa de concepção de vacas leiteiras sob influencia da produção de leite e estresse térmico ambiental. Um total de 250 fêmeas leiteiras Holandesas foi convertido em 1.238 observações. Essas observações foram de nulíparas que receberam inseminação artificial (IA; n = 297), múltiparas com IA (n = 465) e múltiparas com inseminação artificial em tempo fixo (IATF; n = 476). As observações foram agrupadas em cinco classes térmicas ambientais, cada uma dividida em variáveis acima ou abaixo do limite de tolerância térmica para as estações climáticas (primavera/verão (Q) vs. outono/inverno (F)); temperatura ambiente (°C, temperatura máxima diurna (TMD) e temperaturas máximas médias (MTM) diárias no intervalo de 50 dias antes do IA/IATF (< 30°C vs ≥ 30°C)) e índice de temperatura e umidade (THI, índice de temperatura-umidade diário (THId) e THI médio diário (MTHI) durante um intervalo de 50 dias antes da IA/IATF, < 72 vs ≥ 72); dias em lactação (DEL), produção de leite em litros (L). Houve diferença na taxa de concepção (P/AI) após 30 dias de IA entre nulíparas e múltiparas (62,3% [185/297] vs. 24,8% [233/941]) e entre IA e IATF em múltiparas (29,9% [139/465] vs. 19,7% [94/476]). A produção de leite foi maior nas múltiparas (29,23 ± 0,43 L/dia) do que nas primíparas (25,18 ± 0,28 L/dia). Vacas acima de 201 DEL apresentaram menor produção média de leite (L/dia) em comparação aos intervalos de 1 a 100 DIM e 101 a 200 DIM em primíparas (21,84 ± 0,58 vs. 25,68 ± 0,37 vs. 26,83 ± 0,54) e múltiparas (23,84 ± 0,74) vs. 31,85 ± 0,60 vs 30,16 ± 0,74). Houve associação de melhor taxa de concepção em nulíparas quando expostas a menor limiar térmico (estações outono/inverno; ambiente com temperatura < 30°C e THI < 72, quando avaliados em dia e em médias). Em vacas múltiparas em lactação a taxa de concepção foi menor quando comparadas a nulíparas e sofreram interferência negativa da produção de leite. O aumento do THId diminuiu a taxa de concepção em nulíparas e múltiparas com produção > 32 L/dia. Nas condições

climáticas do ambiente tropical, as nulíparas apresentaram melhores taxas de concepção quando comparadas as primíparas e multíparas, mesmo com THId > 72, acreditamos ser resultado da ausência da produção de leite apesar de serem termossensíveis. Por outro lado, vacas primíparas e multíparas em lactação mostraram-se termossensíveis diminuindo a taxa de concepção e probabilidade de prenhez à medida que a produção de leite e THId aumentam para vacas da raça Holandesa criadas em sistema estabulado.

Palavras-chave: estresse por calor, lactação, concepção, vaca leiteira.

LOPES, M.A.R. **The effect of heat stress associated with milk production and reproductive rates of Holstein cows.** 2022. 114 f. Thesis (Doctorate) – Faculty of Veterinary Medicine, São Paulo State University, Araçatuba, 2022.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the conception rate of dairy cows under the influence of milk production and environmental thermal stress. A total of 250 Holstein dairy cows were converted in 1238 observations. These observations were from heifers who received artificial insemination (AI; n = 297), multiparous with AI (n = 465) and multiparous with fixed-time artificial insemination (TAI; n = 476). The observations were grouped into five environmental thermal classes, each divided into variables above or below the thermal tolerance threshold for climatic seasons (spring/summer (Q) vs. autumn/winter (F)); ambient temperature (°C) (maximum daytime temperature (TMd) and average maximum temperatures (MTM) daily during a 50 day interval prior to the AI/TAI (< 30°C vs ≥ 30°C)) and temperature and humidity index (THI, daily temperature-humidity index -THId, and daily average THI -MTHI, during a 50 day interval prior to AI/TAI, < 72 vs ≥ 72); days in milk (DIM), milk production in liters (L). There was a difference in the conception rate after 30 days of AI (P/AI) between nulliparous and multiparous (62.3% [185/297] vs. 24.8% [233/941]) and between AI and TAI in multiparous (29.9% [139/465] vs. 19.7% [94/476]). Milk production was higher in multiparous (29.23 ± 0.43 L/day) than in primiparous (25.18 ± 0.28 L/day). Cows above 201 DIM had a lower average milk production (L/day) compared to intervals 1 to 100 DIM and 101 to 200 DIM in primiparous (21.84 ± 0.58 vs. 25.68 ± 0.37 vs. 26.83 ± 0.54) and multiparous (23.84 ± 0.74 vs. 31.85 ± 0.60 vs

30.16 ± 0.74). There was an association of better conception rate in nulliparous when exposed to lower thermal threshold (autumn/winter seasons; environment with temperature < 30°C and THI < 72, when evaluated in day and in averages). In lactating multiparous cows the conception rate was lower when compared to nulliparous and suffered negative interference of milk production. The increase in THId decreased conception rate in both nulliparous and multiparous with production > 32 L/day. In the tropical environment, nulliparous had better conception rates when compared to primiparous and multiparous, even with THId > 72, which we believe is the result of the absence of milk production despite being thermosensitive. On the other hand, primiparous and lactating multiparous cows were thermosensitive, decreasing the conception rate and pregnancy probability as milk production and THId increase for Holstein cows reared in a stabled system.

Keywords: heat stress, lactation, conception, dairy cow.

LISTA DE FIGURA

Figura 1-	Diagrama do protocolo de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) adotado (B.E. – Benzoato de Estradiol; PGF - Prostaglandina F2 α ; eCG – Gonadotrofina Coriônica Equina).....	52
------------------	---	----

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1-	Distribuição da temperatura máxima diária e THI diário durante o experimento delimitado pela temperatura crítica superior (TCS, 25°C; Berman et al. (1985)) e limite superior da zona de conforto térmico (ZCT, > 68; De Rensis et al.(2015), respectivamente para <i>Bos taurus taurus</i>	56
Gráfico 2-	Escalas de THI (termoneutro, limite, moderado, severo e risco), para <i>Bos taurus taurus</i> , em porcentagem da média de horas mensais nos meses dos anos de 2014 (jan/14) a 2018 (mai/18).....	57
Gráfico 3-	Médias das temperaturas mensais durante os anos de 2014 a 2018, no município de Valparaíso / SP.....	58
Gráfico 4a-	Dias em lactação (DEL médio) de multíparas submetidas a IA e IATF.....	62
Gráfico 4b-	Dias em lactação (DEL médio) de multíparas prenhez submetidas a IA e IATF.....	62
Gráfico 5-	Taxa de concepção (aos 30 dias) após as vacas serem submetidas à IA (n=762) ou em vacas inseminadas após IATF (n=476).....	63
Gráfico 6-	Taxa de concepção aos 30 dias nos grupos nulíparas, multíparas inseminadas convencional (IA) e multíparas inseminadas em tempo fixo (IATF)	64
Gráfico 7-	Taxa de concepção aos 30 dias em vacas lactantes e não lactantes (nulíparas e secas).....	65
Gráfico 8-	Taxa de concepção 30 dias após IA ou IATF em vacas leiteiras considerando o número de partos.....	66
Gráfico 9-	Taxa de concepção de vacas leiteiras nas estações do ano no período de 2014 a 2018.....	70

Gráfico 10a-	Temperaturas máximas diárias e taxa de concepção nas estações do ano no período de 2014 a 2017 (média e erro padrão da média) de vacas em lactação.....	71
Gráfico10b-	THI diário e taxa de concepção nas estações do ano no período de 2014 a 2017 (média e erro padrão da média) de vacas em lactação.....	72
Gráfico11-	Probabilidade prenhez em relação ao THI médio de 50 dias que antecedem a data de IA / IATF de nulíparas (n = 297), primíparas (n = 473) e multíparas (n = 439).....	79
Gráfico12a-	Probabilidade de prenhez (%) em relação ao número de dias com THI igual ou superior a 72 nos 50 dias que antecederam a IA / IATF para nulíparas (n = 296), primíparas (n = 471) e multíparas (n = 434).....	81
Gráfico12b-	Probabilidade de prenhez (%) em relação ao número de horas com temperatura ambiente igual ou superior a 22°C nos 50 dias que antecederam a IA / IATF para nulíparas (n = 297), primíparas (n = 473) e multíparas (n = 439).....	81
Gráfico 13a-	Probabilidade de prenhez (em porcentagem) em relação ao (a) THI de nulíparas (n = 288); primíparas (n = 460) e multíparas (n = 426) no dia e do evento IA / IATF.....	82
Gráfico 13b-	Temperatura ambiente máxima de nulíparas (n = 288); primíparas (n = 461) e multíparas (n = 433) no dia e do evento IA / IATF.....	83
Gráfico 14-	Probabilidade de prenhez (em porcentagem) em relação ao número de horas com temperatura ambiente acima de 25°C no dia da IA / IATF de nulíparas (n = 297); primíparas (n = 473) e multíparas (n = 439).....	84
Gráfico 15-	Probabilidade de prenhez em relação ao THI no dia da IA / IATF nos animais como produção de leite abaixo (< 27 l; n = 396) e acima (≥ 27 l; n = 414) da mediana.....	85

Gráfico 16-	Probabilidade de prenhez em relação ao THI no dia da IA / IATF nas vacas separadas por quartis de produção de leite (≤ 21.8 Kg/d, n = 205; 21.9 a 27.1 Kg/d, n = 218; 27.2 a 32 Kg/d, n = 194; > 32 Kg/d, n = 193).....	86
--------------------	---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Produção de leite (média $\pm$ EPM) considerando o número de crias e os intervalos de dias em lactação.....	60
Tabela 2-	Produção de leite (litros, média $\pm$ EPM) de vacas primíparas e vacas multíparas comparadas entre os DEL equivalentes nos tratamentos de IA e IATF.....	61
Tabela 3-	Taxa de concepção (%) e (total de observações) de vacas primíparas e multíparas em diferentes dias em lactação (DEL) inseminadas por IA ou IATF.....	68
Tabela 4-	Taxa de concepção e (total de observações) de primíparas e multíparas separadas pela média da produção de leite, submetidas a IA e IATF.....	69
Tabela 5-	Taxa de concepção e (total de observações) de animais submetidos à IA (nulípara, primípara + multípara) e IATF (primípara + multípara) separados pela média de produção de leite (L) em diferentes classes térmicas.....	73
Tabela 6-	Taxa de concepção (%) e (total de observações) de animais submetidos à IA separados por quartis de produção de leite (L) em diferentes classes térmicas.....	75
Tabela 7-	Taxa de concepção (%) e (total de observações) de nulíparas submetidas à IA e, primípara + multípara submetidas a IA + IATF separados por quartis de produção de leite (L) em diferentes classes térmicas.....	77

LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH =	Hormônio adrenocorticotrófico
ADH =	Hormônio antidiurético
ANOVA =	Análise de variância
AVP =	Vasopressina
B.E. =	Benzoato de estradiol
BEM =	Balanço energético negativo
°C =	Graus Celsius
CO ₂ =	Dióxido de carbono
CRH =	Hormônio liberador de corticotrofina
DCAD =	Diferença cátio-ânion na dieta
DEL =	Dias em lactação
dL =	Decilitros
E2 =	Estradiol
eCG =	Gonadotrofina coriônica equina
EPM =	Erro padrão da média
EROs =	Espécies reativas de oxigênio
FSH =	Folículo estimulante
g =	Grama
GH =	Hormônio do crescimento
GSH =	Glutathione
H ⁺ =	Hidrogênio
H ₂ CO ₃ =	Ácido carbônico
HCO ₃ ⁻ =	Bicarbonato
HHG =	Hipotalâmico-hipofisário-gonadal
HSP =	<i>Heat shock protein</i>
IA =	Inseminação artificial
IATF =	Inseminação artificial em tempo fixo
IGF-I =	Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1
IM =	Intramuscular
INMET =	Instituto Nacional de Meteorologia
K =	Potássio
kDa =	Kilodalton
Kg =	Kilograma
L =	Litros
LBP =	Proteína de ligação ao LPS
LH =	Hormônio luteinizante
LPS =	Lipopolissacarídeo
µg =	Micrograma
µm =	Mícron
mg =	Miligrama
MHz =	Mega-hertz.

ng mL ⁻¹ =	Nanograma por mililitro
MTHI =	Média de THI diário no intervalo de 50 dias pré IA/IATF
MTM =	Média das temperaturas máximas diárias no intervalo de 50 dias pré IA/IATF,
Na =	Sódio
ng mL ⁻¹ =	Nanograma por mililitro
P ₄ =	Progesterona
PgF =	Prostaglandina
pH =	Potencial Hidrogeniônico
rbST =	Somatotropina recombinante bovina
STH =	Hormônio somatotrófico
T3 =	Triiodotironina
T4 =	Tiroxina
TA =	Temperatura do ar
Tbs =	Temperatura de bulbo seco
TCS =	Temperaturas crítica superior
THI =	<i>Temperature and humidity index</i> (índice de temperatura e humidade)
THId =	THI do dia
TMd =	Temperatura máxima do dia
Tpo =	Temperatura do ponto de orvalho
TSH =	Hormônio tireotrófico
UR =	Umidade relativa do ar
ZCT =	Zona de Conforto Térmico

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

MARCO ANTONIO RUIZ LOPES- nascido em 13 de junho de 1977, no município de Guarulhos – SP. É médico veterinário formado pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba/SP (2001). Trabalhou na área comercial de fármacos e minerais para bovinos, de janeiro a agosto de 2002 pela empresa Minerthal e a partir desta data passou a desenvolver trabalhos técnicos a campo para bovinos de leite e corte nas áreas de reprodução, gestão, sanidade, clínica e cirurgia na região de Araçatuba/SP e no estado do Mato Grosso do Sul. Ingressou no mestrado em agosto de 2012, pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba no programa em Ciência Animal, na área de concentração Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal finalizando em janeiro de 2015. Em agosto de 2018 iniciou o processo de doutoramento pela mesma universidade.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	20
2	REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1	Clima e estresse térmico	22
2.2	Zona de Conforto Térmico	23
2.3	Índice de temperatura e umidade (THI - temperature humidity index).....	25
2.4	Processos de troca de calor	26
2.5	Parâmetros fisiológicos e comportamentais	28
2.6	Reprodução	32
2.7	Desenvolvimento fetal e recém-nascidos	36
2.8	Produção e qualidade de leite.....	38
2.9	Alterações hemogasométricas e eletrolíticas.....	43
2.10	Estresse oxidativo.....	44
2.11	Sistema Imune	45
3	OBJETIVOS.....	47
3.1	Objetivo geral.....	47
4	HIPÓTESE.....	48
5	MATERIAL E MÉTODOS	49
5.1	Características ambientais.....	49
5.2	Animais, instalações, e dieta	49
5.3	Classificação e avaliação dos animais.....	50
5.3.1	Dados reprodutivos, sincronização de estro e tratamento hormonal	51
5.3.2	Dados de produção de leite, secagem de vacas e pré-parto.....	52
5.3.3	Dados de ambiente	53
5.4	Modelos estatísticos	54
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
6.1	Ambiente.....	55
6.2	Produção de leite e dias em lactação (DEL)	58
6.3	Eficiência reprodutiva.....	62
6.4	Associações de taxa de concepção e dias em lactação e produção de leite.....	67
6.5	Associações de taxa de concepção com classes térmicas.....	70
6.6	Associações de taxa de concepção e produção de leite e classes térmicas	73
7	CONCLUSÕES.....	88

REFERÊNCIAS.....89

1 INTRODUÇÃO

A Organização das Nações Unidas (ONU) estipula que a população mundial em 2050 será superior a 9 bilhões de pessoas. O crescimento populacional requer uma adequada produção de alimentos que necessita de um sistema agrícola mais eficiente. Concomitantemente o efeito perturbador das mudanças climáticas, como o aumento da temperatura está estritamente ligada à viabilidade econômica e eficiência da produção de alimentos (RODRIGUES, 2009). St-Pierre et al (2003) relata que o estresse por calor custe mais de US\$ 1,7 bilhão anualmente para a pecuária, afetando principalmente a leiteira com perdas de produção atingindo US\$ 1,2 bilhão (KEY et al., 2014) nos Estados Unidos.

O clima representa um conjunto de fenômenos meteorológicos que agem de maneira isolada ou conjuntamente sobre o comportamento animal exercendo efeito sobre o bem-estar animal e a produtividade (PEREIRA, 2005). O clima é composto por fatores como a temperatura do ar (McDOWELL, 1974), a umidade atmosférica (NEIVA, 2004) e a radiação solar direta ou indireta, ou seja, reflexão dos raios solares do solo e das instalações para o animal (LEME et al., 2005).

Aproximadamente dois terços do território brasileiro estão situados na faixa tropical do planeta, onde predominam temperaturas elevadas, como consequência da grande intensidade da radiação solar incidente. Em torno de 64% dos bovinos no mundo são criados nessa região. No entanto, a produtividade é menor que aquela das regiões temperadas, ocorrendo lentas taxas de crescimento e baixa produção de leite (BACCARI Jr., 1990), sendo o estresse térmico atribuído como uma das principais causas desse decréscimo na produção.

Um dos pontos chave para o sucesso da atividade leiteira é a eficiência reprodutiva, com o objetivo de iniciar um novo ciclo de lactação e produzir bezerras(os) para reposição ou comercialização (WALSH et al., 2011).

Vacas leiteiras (*Bos taurus*) de boa eficiência reprodutiva devem emprenhar no intervalo de 75 a 85 dias pós parto, para ter uma cria por ano. Nesse período as mesmas encontram-se em balanço energético negativo (BEN), ou seja, o consumo de alimento passa a ser insuficiente para atender as exigências de manutenção além de ser o período de aumento progressivo na produção leiteira (WALSH et al., 2011), fator esse que contribui para um declínio na eficiência

reprodutiva nos últimos anos (LUCY, 2001; ROYAL et al., 2000; WASHBURN et al., 2002)

Verificou-se que vacas com maior produção de leite ovulam folículos maiores, embora as concentrações circulantes de estrógenos sejam inferiores (LOPEZ et al., 2004) e, paralelamente apresentam um maior volume de tecido luteal e menor concentração de progesterona (P_4) sérica (LOPEZ et al., 2005). O maior consumo de matéria seca pelas vacas em lactação aumenta o fluxo sanguíneo hepático e a metabolização do estrogênio e P_4 em cerca de 2,3 vezes comparado com as vacas não lactantes (SANGSRITAVONG et al., 2002), provocando um declínio nas concentrações sérica de estradiol (E_2) e P_4 ao ponto de reduzir a eficiência reprodutiva (WILTBANK et al., 2006).

Reduzidas concentração de P_4 podem comprometer o desenvolvimento folicular. Folículos expostos a reduzidas concentrações de P_4 podem ovular com tamanhos maiores do que o normal e com oócitos de qualidade inferior por sofrerem maturação nuclear precoce, o que pode resultar em perdas embrionárias precoces resultando em uma menor taxa de prenhez por inseminação.

O estresse por calor pode agravar ainda mais o BEN com perda acelerada do apetite e escore de condição corporal, resultando em diminuição das concentrações de glicose, fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-I) e colesterol e aumento de ácidos graxos não esterificados e uréia no sangue e fluido folicular (SHEHAB-EL-DEEN et al., 2010), dificultando ainda mais a eficiência reprodutiva de vacas leiteiras em climas tropicais e subtropicais.

Como as vacas de alta produção de leite geram mais calor que as de baixa produção, os efeitos do estresse térmico são mais intensos à medida que aumenta a produção leiteira (HANSEN, 2019).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Clima e estresse térmico

O clima é uma combinação de elementos que incluem temperatura, umidade, precipitação, movimento do ar, radiação, pressão barométrica e ionização (JOHNSON, 1987). As zonas climáticas diferem em todo o mundo e dependem da latitude, ventos predominantes, condições evaporativas, disponibilidade de água, elevação, proximidade de montanhas e outros fatores (WEST, 2003).

Segundo Pires (2006) o estresse térmico é um distúrbio devido ao desequilíbrio no organismo do animal ao ambiente em que ele se encontra, quando produz ou acumula mais calor do que pode dissipar (FILHO et al., 2002). Todos os animais respondem a estímulos com diferentes componentes de ordem neural, humoral ou metabólica visando à manutenção ou reposição da homeostase (WAGNER, 1991).

O esforço das homeotermas para estabilizar a temperatura corporal dentro de limites bastante estreitos é essencial para controlar reações bioquímicas e processos fisiológicos associados ao metabolismo normal (SHEARER; BEEDE, 1990). Para manter a homeotermia, o animal deve estar em equilíbrio térmico com o ambiente, o que inclui radiação, temperatura do ar, movimento e umidade do ar (KADEZERE et al., 2002).

O bovino sob estresse térmico necessita de ajustes fisiológicos e comportamentais para se adaptar as mudanças climáticas (CATTELAM; do VALE, 2013).

Brown-Brandl et al. (2005) relatam reduções na ingestão de alimentos, crescimento e eficiência são reportadas em bovinos sob estresse calórico, assim como Tratcher et al. (1974) citam perdas significativas nos índices reprodutivos de novilhas e vacas devido às altas temperaturas. St Pierre et al. (2003) estimaram perdas superiores a 1 bilhão de dólares.

Vale ressaltar que não somente fatores externos ao animal são implicadores do estresse térmico, outros fatores também contribuem para acentuar ou somar. Uma das principais fontes de produção de calor no organismo animal são os processos metabólicos oxidativo (catabolismo), os quais necessitam de oxigênio e, desta forma a produção de calor pode ser medida através de consumo de

oxigênio que o animal gasta em determinado tempo e a oferta de água, pois em temperaturas externas elevadas os animais necessitam de grandes quantidades de água para perda de calor por transpiração (MEDEIROS; VIEIRA, 1997).

2.2 Zona de Conforto Térmico

Uma Zona de Conforto Térmico (ZCT), ou termoneutralidade, é delimitada pelas Temperaturas Crítica Superior (TCS) e Crítica Inferior (TCI), com custos fisiológicos mínimos e produtividade máxima (JOHNSON, 1987). Na zona de termoneutralidade o balanço térmico é nulo, isto é, o calor que o organismo do animal produz, mais o que ele ganha do ambiente é igual ao calor perdido por intermédio da condução, radiação, convecção, evaporação e do calor contido nas substâncias corporais eliminadas (SILVA, 2000).

As raças bovinas são divididas em dois grandes grupos: de origens europeia (*Bos taurus taurus*) e indiana (*Bos taurus indicus*), sendo cada espécie com limites diferentes para TCS. Berman et al. (1985) relatam que a TCS para o estresse térmico inicia-se entre 25 e 26 °C com elevação da temperatura retal, da pele e do pelo do gado bovino europeu e, no zebu o aumento é menor. No primeiro a frequência respiratória a 26,5 °C já é acentuada e no segundo apenas a 33-35 °C (MEDEIROS; VIEIRA, 1997).

Segundo Muller (1982), a zona de termoneutralidade para a produção de leite está entre -5°C e 21°C para vacas holandesas, sendo ligeiramente maior, 24°C, para vacas Jersey. Para raças Zebuínas, esse limite atinge 29 °C. A TCS difere bastante entre as literaturas, 16 °C (BAÊTA; SOUZA, 1997); 18°C (NÃÃS, 1989) e 25 °C (YOUSEF, 1985). A partir desses dados, pode-se constatar que a maior parte do Brasil apresenta freqüentemente temperaturas superiores a essas por várias horas do dia, em grande parte do ano, sujeitando as vacas leiteiras ao estresse térmico por calor (BAÊTA; SOUZA, 1997).

Uribe-Velasquez et al., (1998) relatam que a intensidade dos efeitos negativos do estresse térmico não dependem somente da temperatura ambiente e de uma análise em conjunto da eficiência dos mecanismos termorreguladores dos animais, idade, espécie, raça, consumo e composição de dieta, produção (estado fisiológico), sistema de criação, isolamento de tecidos (gordura, pele), isolamento externo (pelagem) e estado anterior de aclimação (YOUSEF, 1985). Finch, 1986,

complementa, a manutenção da temperatura corporal é herdável por meio de características que incluem competência de sudorese, baixa resistência tecidual, estrutura e cor da pelagem, mas existem evidências de que, nos bovinos *Bos taurus*, um aumento da capacidade de termorregulação é acompanhado por uma redução no metabolismo energético.

Vale ressaltar que características zootécnicas expressas em raças distintas também auxiliam no processo de termorregulação, são elas:

a) relação entre tamanho (peso) do indivíduo e sua superfície corporal. Essa relação tende a diminuir à medida que aumenta o tamanho do animal. Assim, um animal pequeno tem mais superfície corporal por unidade de peso do que um grande. Em outras palavras, à medida que há um decréscimo do tamanho do corpo, a relação superfície/volume do corpo aumenta e, portanto, a superfície relativa através do qual o calor é dissipado aumenta.

b) o desenvolvimento da pele em dobras, pregas, barbelas, etc. O aumento de dobras na pele, sendo esta pele mais solta, grossa e vascularizada, permite o aumento da superfície corporal e facilita a eliminação do excesso de calor, conferindo maior adaptação aos animais zebuínos ao clima tropical.

c) pelagem, cor da pele e sua conformação. A cor dos pelos e da pele, além de sua conformação, também afetam o comportamento de absorção e reflexão solar e consequentemente na adaptação ao calor. O ideal é a conjugação de pelagem branca ou creme com pele pigmentada, característica que se apresenta na maioria das raças zebuínas tropicais.

d) as raças zebuínas apresentam um maior número de glândulas sudoríparas, de forma que perdem calor mais facilmente pela sudorese que as raças taurinas, e por isso são mais tolerantes a temperaturas elevadas que as raças taurinas, ou seja, elas possuem uma temperatura crítica superior mais elevada que os taurinos (MEDEIROS; VIEIRA, 1997).

Coppock et al. (1982) concluíram que as vacas de alta produção são afetadas mais do que as de baixa produção, porque a zona de termoneutralidade deve ser ajustada para temperaturas mais baixas à medida que a produção de leite, a ingestão de ração e a produção de calor metabólico aumentam. Entretanto, as novilhas geram muito menos calor metabólico do que as vacas, pois têm maior área

superficial em relação à massa corporal interna e espera-se que sofram menos com o estresse térmico (BARBOSA et al. 2021).

Collier et al. (2014) acrescenta portanto que o estresse térmico é definido quando o índice de temperatura e umidade (temperature and humidity index, em inglês, THI) excede 68 para *Bos taurus taurus*.

2.3 Índice de temperatura e umidade (THI - temperature humidity index)

Para avaliar o conforto térmico, Thom (1959) desenvolveu o Índice de Temperatura e Umidade, onde se associa a temperatura ambiente às 18h00min e umidade relativa do ar, conforme descrito na equação abaixo:

$$THI = (0,8 \times TA + (UR/100) \times (TA - 14,4) + 46,4)$$

Em que; TA = temperatura do ar °C; UR = umidade relativa do ar (%).

E, Armstrong (1994) classificou do estresse térmico em categorias de acordo com a variação de THI sendo < 71 como um zona conforto térmico, 72-79 como leve, 80-90 como moderado e > 90 como grave. Comparativamente, De Rensis et al. (2015) definiu THI <68 fora da zona de perigo térmico para vacas. Atualmente os dois autores se complementam sendo encontrado na literatura as seguintes categorias: termoneutro (THI < 68), limite (THI ≤ 68 – 71,9), moderado (THI ≤ 72 – 79,9), severo (THI ≤ 80 – 89,9), e risco (THI ≥ 90).

Collier et al. (2012) complementaram essa classificação identificando alterações na frequência respiratória e quedas na produção a partir de 65 unidades de THI, estabelecendo como limite máximo de 68 para vacas com produção acima de 35 kg/dia.

O efeito do THI provavelmente é mediado pelos efeitos do aumento da temperatura corporal no desempenho da vaca, já que conforme a umidade aumenta a capacidade de resfriamento da vaca por evaporação diminui (BAILEY et al. 2018). A redução estimada da produção de leite foi de 0,32 kg por unidade de aumento no THI (INGRAHAM; STANLEY; WAGNER, 1979), e a produção de leite e a ingestão de nutrientes digestíveis totais diminuíram 1,8 e 1,4 kg para cada aumento de 0,55°C na temperatura retal (JOHNSON et al., 1963).

2.4 Processos de troca de calor

Os bovinos são animais homeotérmicos, mantendo a sua temperatura corporal constante pelo fluxo de calor determinado por processos que dependem da temperatura e da umidade do ambiente, até certos limites, apesar das variações do ambiente (URIBE-VELASQUEZ et al., 2001).

O controle da temperatura corporal é realizado pelo sistema termorregulador, regulado pelo hipotálamo, as células termorreceptoras periféricas são estimuladas a enviarem ao hipotálamo anterior a mensagem de perda de calor, enquanto sob baixas temperaturas, essas células enviam ao hipotálamo posterior a determinação de ganho de calor (LISTA et al., 2005).

Isso gera efeitos como:

- vasodilatações ou vasoconstrições;
- sudorese;
- taquipnéia ou bradipnéia;
- hipofagia ou hiperfagia;
- hiperdipsia ou hipodipsia;
- maior ou menor intensidade do metabolismo;
- presença ou ausência de eriçamento dos pelos;
- maior ou menor termogênese (produção de calor) ou maior ou menor termólise (eliminação de calor).

Curtis (1984) descreve que a perda de calor corporal para o ambiente está relacionada a diferentes fatores combinados, como temperatura do ar, umidade relativa do ar e velocidade do vento. Quando a umidade do ar está baixa ocorre desidratação e irritação da pele e das mucosas (STARLING; SILVA; MUÑOZ, 2002), ao passo que quando a umidade se eleva há diminuição da perda de calor para o meio, comprometendo o equilíbrio térmico (SILVA, 2000). Há dois mecanismos de perda de calor: sensíveis / não evaporativos (que se faz por condução, convecção e radiação) e insensíveis / evaporativos, através da evaporação (sudação e respiração) (SILVA, 2000).

A condução é o processo no qual o animal troca calor com o ambiente por contato direto, aquecimento da água fria ingerida principalmente ou de outros alimentos ingeridos frios, no interior do aparelho digestivo, rouba calor ao corpo (MEDEIROS; VIEIRA, 1997).

Quanto à troca por convecção, esse é um processo de transporte de massa caracterizado pelo movimento de um fluido devido à sua diferença de densidade, especialmente por meio de calor, e no animal dá-se através da saída do calor do corpo para o ar mais frio, sendo este processo bastante influenciado pela velocidade do ar (ventos) (FERREIRA, 2010). Esta perda de calor ocorre também em maior proporção, com temperatura ambiente baixa (MEDEIROS; VIEIRA, 1997).

A radiação é a ação direta dos raios solares sobre o animal e também se manifesta pela reflexão dos raios solares do solo e das instalações para o animal (LEME et al., 2005).

Os processos de condução, convecção e radiação são todos dependentes de um gradiente térmico, portanto, como a temperatura do ar sobe acima de um ponto crítico, o gradiente térmico é reduzido e a dissipação de calor é menos eficaz. Com o aumento da temperatura ambiente, ocorre uma mudança acentuada do resfriamento não evaporativo para o resfriamento evaporativo (KIBLER; BRODY, 1950). O resfriamento evaporativo é um meio eficaz de resfriar o gado, mas é comprometido pela alta umidade relativa, o que impede a evaporação, dificultando o resfriamento da vaca, de modo que, em condições quentes e úmidas comuns no verão, a vaca leiteira não pode dissipar calor corporal suficiente para evitar um aumento na temperatura corporal. O aumento da temperatura do ar, o índice de temperatura e umidade e o aumento da temperatura retal acima dos limites críticos estão relacionados às alterações de parâmetros fisiológicos e comportamentais (WEST, 2003).

Com o aumento da temperatura ambiente os métodos sensíveis tornam-se menos eficazes, ficando os bovinos mais dependentes dos métodos insensíveis (WEST, 2003).

Nos bovinos a evaporação (respiração e sudorese respectivamente) são os principais meios para dissipação de calor no estresse térmico (BLACKSHAW; BLACKSHAW, 1994). Os bovinos elevam a frequência respiratória, pois a evaporação e a convecção pelo trato respiratório auxiliam a dissipação de calor corporal e a manutenção do equilíbrio térmico (LEGATES et al., 1991).

Assim, em altas temperaturas os mecanismos evaporativos são de relevante importância para a dissipação de calor, enquanto que em baixas

temperaturas a eficácia maior é devido aos mecanismos não evaporativos (MEDEIROS; VIEIRA, 1997).

A termólise evaporativa é o único meio efetivo de dissipação do excesso de calor corporal, sendo que a evaporação cutânea representa aproximadamente 85% da perda total de calor latente, enquanto o restante é perdido através da evaporação respiratória (MAIA; SILVA; LOUREIRO, 2005). Em adição, quando a temperatura corporal se eleva, uma das primeiras reações dos bovinos é aumentar a sudorese e a frequência respiratória, a fim de eliminar excesso de calor endógeno (RANDAL; BURGEE; FRENCH, 1997).

2.5 Parâmetros fisiológicos e comportamentais

Quando submetidos a estresse térmico, os animais reagem com mudanças fisiológicas e comportamentais (BACCARI JÚNIOR, 2001) que tentam manter a homeostase (VAN BORELL, 1995). A fisiologia é regulada pelos sistemas endócrino e nervoso que enviam mensagens por meio de fibras aferentes ao hipotálamo, através do receptor potencial transiente localizados na derme e epiderme (COLLIER; GEBREMEDHIN, 2015), que têm diferentes limiares de ativação de temperatura (PATAPOUTIAN et al., 2003) essas fibras têm receptores anatomicamente diferentes ao frio e ao calor, e podem ser periféricos ou centrais (SOUZA; BATISTA, 2012). Uma vez que a temperatura externa é detectada, o sinal é enviado dos neurônios TRP através do trato espinotalâmico até o hipotálamo anterior (COLLIER; GEBREMEDHIN, 2015). No hipotálamo anterior as fibras aferentes térmicas se integram, enquanto que no hipotálamo posterior inicia-se as respostas através de fibras eferentes até os órgãos efetores que produzem os efeitos necessários à regulação da homeostase tais como: respostas cardiovasculares, vasodilatação da pele e alterações metabólicas (ISHIWATA et al., 2001). E existe a termorregulação comportamental, na qual os animais utilizam métodos comportamentais para equilibrar sua temperatura como abrigar-se à sombra por exemplo. Também há receptores termossensíveis localizados na pele e nas membranas mucosas que medeiam a sensação térmica e contribuem para a ocorrência dos reflexos termorregulatórios, esses receptores também respondem à sensação mecânica (SOUZA; BATISTA, 2012), dilatação dos vasos sanguíneos superficiais, o que acarreta maior quantidade do sangue junto à superfície do corpo

para ser resfriado, passando por condução para a pele e daí para o ambiente, por radiação (MEDEIROS; VIEIRA, 1997).

As principais mensurações utilizadas para verificar o estresse térmico em bovinos são a frequência respiratória e a temperatura corporal, empregadas como medidas de adaptabilidade e conforto animal (HEMSWORTH et al., 1995).

A frequência respiratória dos bovinos varia de 10 a 30 movimentos/minuto (FEITOSA, 2014). Conforme Bianca (1965) ocorre primeiramente aumento da frequência respiratória em relação ao aumento da temperatura corporal e Pinto et al. (2020) complementa que vacas em lactação deitadas há um aumento de 6 movimentos respiratórios por minuto com THI de 65 quando comparadas com vacas em estação.

A temperatura retal que pode variar de 38 e 39,5°C sob condições termoneutras (DUPREEZ, 2000). Para os animais não adaptados tropicalmente mostram um aumento na temperatura corporal que chega aos bovinos a 41°C. Os animais jovens, desde o nascimento até um ano de idade, sofrem muito mais que os adultos. O mecanismo termorregulador do animal jovem não funciona adequadamente, resultando em um retardo no seu desenvolvimento (MEDEIROS; VIEIRA, 1997).

Dentre as alterações comportamentais que se observam nos animais sob estresse calórico podem ser citadas: aumento no consumo de água (MEYER; STAHL; FLACHOWSKY, 2006), diminuição da ruminação (PIRES; CAMPOS, 2008), aumenta a escolha por alimentos concentrados durante o dia, diminuição do pastoreio diurno e aumento do pastoreio noturno e tempo de ócio (PARANHOS DA COSTA, 2000), a redução da ingestão de alimento reduz o incremento calórico da atividade digestiva (SILANIKOVE, 2000). A redução do tempo de ruminação, associado com a preferência de alimentos concentrados e a perda de dióxido de carbono (CO_2) e/ou bicarbonato (HCO_3) graças à taquipnéia (aumento do número de 13 incursões respiratórias) e sialorréia (produção excessiva de saliva) respectivamente, aumenta consideravelmente o risco de acidose ruminal e metabólica causando uma redução na digestibilidade da fibra graças à menor atividade das bactérias fibrolíticas (MALAFAIA et al. 2011).

A busca pela sombra, distensão dos membros buscando aumentar a superfície de troca, procura por pisos frios e resfriar a superfície corporal também foram observados por Pires (1998).

Os bovinos alteram seu padrão comportamental para se ajustar ao ambiente térmico, permanecendo mais tempo em pé para aumentar a perda de calor (PIRES; VERNEQUE; VILELA, 2001).

Todas essas respostas citadas têm um efeito deletério na produção e no status fisiológico da vaca (WEST, 2003).

Já no sistema endócrino o estresse promove alterações metabólicas, hormonais e hemodinâmicas que podem ser reproduzidas. Estas respostas são caracterizadas por alterações na homeostase de proteínas, hiper metabolismo, alteração no metabolismo de carboidratos, retenção de água e sódio e um aumento na lipólise. As alterações no metabolismo dos carboidratos incluem estímulo à gliconeogênese e redução na captação da glicose por inibição da insulina o que resulta em hiperglicemia. A fonte principal de energia do organismo baseia-se em lipídios, sendo reduzida a lipogênese e elevada a lipólise. A tendência catabólica manifesta-se nas proteínas ocasionando um balanço negativo de nitrogênio. A magnitude destas alterações está relacionada com a intensidade da agressão (WEISSMAN, 1990).

As respostas ao estresse começam no cérebro como uma atividade neural que é integrada no hipotálamo. O hipotálamo produz hormônios específicos que regulam as atividades das células anteriores da hipófise que, no caso do eixo adrenal agem como liberadoras de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). Os principais hormônios liberadores de ACTH, o hormônio liberador de corticotrofina (CRH) e a vasopressina (AVP), produzem alguns efeitos distintos. O CRH influencia o comportamento em parâmetros como a ansiedade e a fome. A AVP tem pouca influência no comportamento, mas por outro lado, possui uma marcante atividade na função renal inclusive a qual atribui a este hormônio o nome de anti-diurético. Uma vez na hipófise, estes dois hormônios estimulam a secreção de ACTH o qual atua nas glândulas adrenais, liberando cortisol. A elevação do cortisol plasmático inibe a atividade de hipotálamo e hipófise, produzindo um estímulo negativo a manutenção da resposta orgânica ao estresse (ALEXANDER; IRVINE, 1998).

Dentre os hormônios associados com a adaptação ao estresse térmico estão a prolactina, hormônio do crescimento (GH), glicocorticóides, hormônio antidiurético (ADH), aldosterona, catecolaminas (epinefrina, norepinefrina) e tiroxina (T4) (BEEDE; COLLIER, 1986).

A maioria das respostas hormonais a hipertermia estão associadas a alteração na reciclagem de água e eletrolítica. Assim o aumento na concentração de ADH está claramente associado à necessidade de conservar e aumentar a ingestão de água. Do mesmo modo, a baixa concentração de aldosterona, é um reflexo da necessidade de conservar potássio (K), em razão da elevação da concentração deste mineral no suor dos ruminantes e aumentar a perda de sódio (Na) através da urina (BEEDE; COLLIER, 1986).

Segundo Randall, Burgreen e French (2010), os glicocorticóides são as moléculas responsáveis por regular a intensidade da resposta ao estresse, sendo o cortisol o hormônio primário responsável por restaurar a homeostase, sendo liberado após exposição a situações estressantes, 12 horas do início do calor e tende a voltar aos valores normais dentro de dois dias (CHRISTISON; JOHNSON, 1972). Apesar de ser essencial à manutenção da homeostase, o cortisol tem o efeito contrário ao da insulina, promove a quebra de carboidratos, lipídios e proteínas, para mobilizar as reservas energéticas e preservar a maior quantidade de calorias possível, diminuindo o metabolismo. O sistema imunitário também estará mais fraco devido à atenuação das células inflamatórias. Esse efeito aumenta os níveis de glicogênio no fígado e também os níveis de glicemia.

Morais et al. (2008), dizem que os hormônios que atuam no metabolismo do animal são influenciados quando o animal passa por estresse térmico, como os hormônios tireoideanos por exemplo, diminuindo a atividade do eixo hipotálamo-hipófise-tireóide, e outros hormônios como o do crescimento, a tiroxina (T4) e a triiodotironina (T3) (BIANCO; KIMURA, 1999), e como consequência disso a perda da produtividade. Essas alterações hormonais são mais intensas em animais não adaptados como os de raças taurinas não adaptadas.

A glândula tireóide é sensível ao estresse térmico, pelo fato de seus hormônios estarem ligados à termogênese, uma vez que aumentam a taxa metabólica, além de apresentarem ação que potencializa as catecolaminas, que atuam na regulação das glândulas sudoríparas durante o estresse pelo calor se

mantém elevada durante o estresse térmico agudo e crônico (TITTO et al., 2013). A diminuição da função tireoidiana em vacas durante longos períodos de exposição ao calor pode estar associada à necessidade de diminuir a taxa metabólica. Consequentemente têm-se mudanças em outras funções corporais, como a diminuição da ingesta de alimentos, peso corporal e na secreção de leite, principalmente naqueles animais de alta produção (MORAIS, 2008).

A média geral de T3 para bovinos é de 1,05 ng/mL. A literatura cita níveis médios de T4, que variam de 7,4 µg/dL, em vacas criadas no Triângulo Mineiro, a 3,39 µg/dL, em ambiente climatizado, com temperatura entre 18 e 28°C (MORAIS, 2008).

Outro eixo que também sofre alterações durante períodos de estresse térmico é eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal (HHG), isso devido à um aumento na atividade do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal no qual resulta em uma redução das funções reprodutivas (fenômeno que atribuiu à necessidade de preservação da função do córtex adrenal em detrimento da função gonadal, em casos de emergência).

O CRH, os peptídeos derivados da pró-opiomelanocortina e os corticóides adrenais desempenham uma importante função na modulação dos efeitos do estresse sobre a função reprodutiva. A influência destes hormônios sobre o eixo HHG se dá em três níveis:

- a) no hipotálamo através da inibição da secreção de GnRH;
- b) na glândula hipofisária, por interferência do GnRH na liberação de hormônio luteinizante (LH) e folículo estimulante (FSH);
- c) nas gônadas, por alteração do efeito estimulatório das gonadotropinas na secreção de esteroides sexuais (RIVIER; RIVEST, 1991).

2.6 Reprodução

Com a produção reduzida do GnRH pela ação dos corticóides, o estresse térmico reduz a eleição de um folículo dominante, o que pode ser encarado como uma redução na capacidade esteroidogênica das células da teca e granulosa e queda das concentrações sanguíneas de estradiol. Os níveis de progesterona podem aumentar ou diminuir dependendo da intensidade do estresse e do estado metabólico do animal. Estas alterações endócrinas reduzem a

atividade folicular e alteram o mecanismo ovulatório, promovendo uma diminuição na qualidade do oócito e do embrião (RENSIS; SCARAMUZZI, 2003).

O desenvolvimento folicular é afetado por atraso na seleção folicular e prolongamento da onda folicular, atuando de forma adversa na qualidade do oócito e da esteroidogênese folicular (RENSIS; SCARAMUZZI, 2003). Há uma dominância incompleta do folículo e um aumento do crescimento de folículos subordinados (WOLFENSON et al., 1995). A dominância incompleta pode resultar em ovulação de um folículo envelhecido; esses folículos contêm oócitos de competência reduzida (MIHM et al., 1999). Também há um aumento de ovulações múltiplas aumentando a incidência de gestações gemelares nos meses quentes, provavelmente isso ocorre devido à redução plasmática de inibina produzida por esses folículos comprometidos. As publicações disponíveis sobre o efeito do estresse térmico nas concentrações sanguíneas de FSH e inibina em bovinos sugere que a resposta do FSH é reduzida nas condições de estresse térmico e isso pode ser devido à diminuição da produção de inibina plasmática por folículos comprometidos (RENSIS; SCARAMUZZI, 2003).

As concentrações de LH circulantes são inconsistentes. Alguns estudos reportam redução nos níveis de LH, sugerindo que o folículo dominante se desenvolva num ambiente de baixa concentração de LH e isto, reduz a secreção de estradiol pelo folículo dominante, principalmente no período pró-estro (GWAZDAUSKAS et al., 1981), ocasionando má expressão de estro e redução da fertilidade. Outro ponto é que secreção de LH esta diretamente relacionada ao estágio de lactação, a produção de leite, ao balanço energético e estresse calórico. Uma das principais causas de anovulação em vacas de leite, especialmente na fase inicial do período pós-parto, é o prolongado BEN (MORELLI, 2009), somado ao alto metabolismo hepático de esteróides e a baixa quantidade de receptores de estradiol no hipotálamo atrapalhando o pico pré ovulatório de LH gerando uma “condição anovulatória com folículos grandes” (GÜMEN; WILTBANK, 2005).

O estresse térmico reduz o comprimento e a intensidade do estro, de 14 a 18 horas para 8 a 10 horas dificultando a observação de cio (CRUZ et al., 2011), além de aumentar a incidência de anestro (DAS et al., 2016), devido a concentração de estradiol no período pró estro estar diminuído nessas condições (GWAZDAUSKAS et al., 1981).

Segundo Edwards; Hansen (1997) e Bertipaglia (2007), oócitos bovinos maturados *in vitro* sob temperatura de 43°C por 45 ou 60 minutos resultaram em menor número de blastocistos e blastócitos expandidos. A resistência ao calor diminui entre o oócito e a fase embrionária de duas células, sendo este fato explicado pelas células do *cumulus* (que exercem proteção) serem perdidas na fecundação em diversas espécies, e, também a falta de produção das proteínas de choque térmico como *heat shock protein* (HSP) e Glutathione (EDWARDS; HANSEN, 1996 e VIANNA, 2002), nas quais são proteínas com as funções de proteger, estabilizar ou reparar células que sofrem injúrias estressantes (DE MAIO, 1999).

O ambiente uterino também é afetado, desfavorecendo a implantação do embrião (RENSIS; SCARAMUZZI, 2003) somado a sensibilidade do oócito, do espermatozóide e do embrião nos estágios iniciais do desenvolvimento resulta em uma taxa de prenhez vulnerável (CRUZ, 2011).

Cruz (2011) relata que quando a temperatura do útero no dia seguinte a inseminação encontra-se 0,5°C acima da média (38,3°C), a taxa de concepção cai 6,9%. Deste modo, uma temperatura uterina de 38,8°C está associada à queda na taxa de concepção. Thatcher (2010) adiciona que o maior consumo de ração para aumento na produção de leite em rebanhos modernos provavelmente causam efeito somatório na temperatura retal e/ou uterina.

A performance reprodutiva é afetada por ação direta no sistema reprodutivo e por ação indireta mediada por alterações no balanço energético.

O BEN provoca redução das concentrações plasmáticas de insulina, glicose e IGF-I, e aumento de GH e ácidos graxos não esterificados. Estes agem no eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, mediando os efeitos inibitórios do BEN na fertilidade pós-parto. Tanto o IGF-I quanto a glicose são estimulatórias ao crescimento folicular e a implantação. A glicose é a fonte de energia primária para os ovários. A disponibilidade de glicose está diretamente envolvida com a modulação da secreção de LH e a hipoglicemia severa inibe a secreção pulsátil de LH, impedindo a ovulação (RENSIS; SCARAMUZZI, 2003). O consumo de matéria seca é reduzido, prolongando o BEN do período pós-parto e aumentando o intervalo entre partos, principalmente em vacas leiteiras de alta produção. Estudos sugerem o uso de gonadotropinas para induzir o desenvolvimento folicular e a

ovulação, visando reduzir a severidade da infertilidade pós-parto induzida por estresse calórico em vacas de leite (RENSIS; SCARAMUZZI, 2003).

Katayama et al., 2004 encontraram efeito do estresse térmico sobre a fertilidade de receptoras bovinas em programas de transferência de embriões, observando variação significativa para o tempo de permanência no curral e a diferença entre a temperatura vaginal e a da pele ($P < 0,05$), entre as fêmeas prenhez e não prenhez.

Os efeitos do estresse térmico agem sobre os folículos das vacas, que tendem a produzir oócitos de menor capacidade de fertilização, e caso haja a fertilização, os embriões passam a ter desenvolvimento anormal (HANSEN, 2007 e CRUZ, 2011). A função do oócito pode ser inibida. Ao contrário de outras células, o oócito é transcricionalmente inativo após atingir cerca de 110 μm (HYTTEL et al., 1997) e não sofre aumento da síntese da proteína do choque térmico 70 em resposta ao choque térmico (EDWARDS; HANSEN, 1997). Temperatura elevada poderia concebivelmente ter efeitos deletérios no crescimento do oócito, síntese proteica, ou formação de transcrições necessárias para desenvolvimento embrionário.

Em concordância Lucy (2001) e Vianna (2002) relataram que os oócitos presentes no ovário sob estresse térmico são afetados por longos períodos após a injúria, 40 a 50 dias segundo Roth et al. (2001) e Wolfenson et al. (2002). Os folículos são danificados pelo estresse, mas continuam crescendo, vindo a ovular oócitos subférteis durante vários ciclos após a diminuição do estresse calórico.

Para avaliar qual seria o tempo de exposição ao estresse térmico que influenciaria negativamente no embrião Hansen (2001) submeteram oócitos coletados de ovários de matadouros a fertilização in vitro sob temperaturas de 38,5, 40 e 41°C e verificaram que as taxas de fertilização e o desenvolvimento embrionário ao estágio de blastocisto foram menores a 41°C por 9 ou 12 horas.

O desenvolvimento embrionário de novilhas superovuladas mantidas sob condições hipertérmicas, nos dias 1, 2, 3, 5 e 7 do período de 7 dias que se inicia 30 horas depois do cio, apresenta elevada incidência de embriões degenerados ou retardados, sendo que a resistência aumenta no terceiro dia (PUTNEY et al., 1988 e BERTIPAGLIA, 2007). O estresse térmico causa a redução no peso do corpo lúteo e na produção de progesterona e aumenta a incidência de morte embrionária.

A mortalidade embrionária em vacas hipertérmicas (acima de 39°C, para raças europeias) tem como causa alterações na síntese de proteínas do embrião, dano oxidativo às células, redução da produção de interferon-tau para sinalizar o reconhecimento da gravidez e expressão de genes relacionados ao estresse associado à apoptose (DAS, 2016). Além disso, a atividade secretora do endométrio uterino é alterada em resposta ao estresse térmico e contribui para menor fertilidade (BERTIPAGLIA, 2007). Para Das (2016) em resposta ao estresse térmico, ocorre aumento da secreção endometrial de prostaglandinas F-2 α e a secreção pelo embrião da prostaglandina E2, sugerindo que a infertilidade se deve a alterações nos sinais requeridos para a manutenção do corpo lúteo durante a gestação. A produção de proteínas sintetizadas e secretadas é reduzida em 71,7% no embrião sob estresse térmico (39 a 43°C), em relação àquele sob condições termoneutras, impedindo-o de produzir o sinal bioquímico em quantidade suficiente para prevenir a regressão do corpo lúteo que é o responsável por manter a gestação (PUTNEY et al., 1988 e BERTIPAGLIA, 2007).

O uso da inseminação artificial elimina expressivamente o efeito do estresse térmico na fertilidade do touro sobre o desempenho reprodutivo do rebanho em épocas quentes do ano. Entretanto, é possível que o estresse térmico tenha um efeito potencial sobre o sêmen ejaculado nos órgãos reprodutivos de fêmeas hipertérmicas, podendo afetar a sua função. Outro fator consequente da hipertermia uterina é a alteração na produção de hormônios da placenta, durante o máximo crescimento placentário. Mudanças no perfil hormonal e na capacidade funcional da placenta e o crescimento intrauterino retardado foram associados à redução do peso da placenta. A relação entre placenta e feto implica que o crescimento da placenta deve preceder o crescimento fetal, de modo que deficiências da placenta interferirão no subsequente desenvolvimento fetal (HANSEN et al., 2001 e BERTIPAGLIA, 2007).

2.7 Desenvolvimento fetal e recém-nascidos

As consequências mais comuns do estresse térmico sobre o desenvolvimento fetal são o comprometimento do crescimento, indução de disfunção placentária e menor peso ao nascer. O peso seco da placenta e o peso ao

nascimento de bezerros foram menores (cerca de 6 kg) no verão, que no inverno (THATCHER 1980; COLLIER et al., 1982 e BERTIPAGLIA, 2007).

O estresse térmico durante a gestação reduz o crescimento fetal. Os efeitos sobre o crescimento são maiores quando ocorrem durante na metade da gestação do que ao final da gestação (WALLACE et al., 2005). Pelo fato do estresse térmico redistribuir o sangue para a periferia, há uma redução da perfusão do leito vascular placentário, porque a angiogênese é mais extensa na primeira metade (ALEXANDER et al., 1987) e a capacidade de transporte de glicose através da placenta também é reduzida pelo estresse térmico materno (THUREEN et al., 1992). No entanto, a perfusão reduzida para a placenta não é a única causa de pesos fetais reduzidos porque o fluxo sanguíneo placentário por grama de feto era semelhante entre as ovelhas de estresse térmico e de controle no estudo de Wallace et al. (2005). Talvez seja mais importante o aumento da resistência vascular na placenta (GALAN et al., 2005) causada por alterações na angiogênese, refletidas por padrões aberrantes de expressão de genes como o fator de crescimento endotelial vascular e seus receptores e o fator de crescimento placentário (REGNAULT et al., 2002) e a redução da expressão de genes GLUT8 na placenta cotiledonariana (LIMESAND et al., 2004).

Efeitos semelhantes do estresse térmico materno sobre a função placentária e o desenvolvimento fetal ocorrem na vaca (COLLIER et al., 1982).

A hipertermia materna também pode aumentar a incidência de teratologias (GRAHAM et al., 1998). Mesmo na ausência de tais defeitos de desenvolvimento grosseiros, é possível que o estresse fetal causado pela hipertermia resulte em alterações na função fisiológica na idade adulta. A idéia de que os eventos na vida fetal afetam a fisiologia durante a vida adulta (BARKER, 2007) é agora bem aceita, embora haja pouca informação sobre o caso específico de estresse térmico materno.

Bezerras expostas ao estresse térmico durante o final da gestação (período seco; em útero) tem o comprometimento da saúde, do crescimento, e do desempenho após o nascimento (FABRIS, 2019), sendo o principal responsável a falha da transferência de imunidade passiva, níveis mais baixos de anticorpos no colostro (MEDEIROS; VIEIRA, 1997).

Nardone et al., 1997 relata que primíparas quando comparadas ambiente frio (THI de 65) com quente (THI de 82 de 09:00 a 20:00 h, THI de 76 de 21:00 a 08:00 h) nas últimas 3 semanas de gestação e nas primeiras 36 h após o parto, demonstraram menores concentrações de imunoglobulinas no colostro além de queda de imunoglobulina G em 22,3% para aquelas em situação de estresse térmico. As nulíparas estressadas pelo calor apresentaram uma taxa mais lenta de declínio de suas próprias concentrações plasmáticas de imunoglobulina durante as duas últimas semanas de gravidez, sugerindo que a transferência de imunoglobulinas maternas para o colostro foi prejudicada pelo estresse térmico.

A imunidade pode ser comprometida em recém-nascidos durante o tempo quente, e os bezerros nascidos em inverno apresentaram níveis séricos de imunoglobulinas mais altos do que os nascidos no verão (DONOVAN, 1986).

As condições quentes também podem comprometer a capacidade do bezerro de absorver imunoglobulinas. No entanto, pesquisas nas regiões do sul dos Estados Unidos e do Caribe indicam que as fêmeas holandesas criadas em latitudes inferiores a 34 ° N pesavam 6 a 10% menos ao nascer do que aquelas nas latitudes mais setentrionais, mesmo quando paridas pelos mesmos touros (BILBY, 2009) que relata a redução do peso do bezerro ao nascer, além de abortos e antecipação do parto (devido a síntese de corticoides).

2.8 Produção e qualidade de leite

A produção reduzida de leite resultante do estresse térmico neutraliza o tremendo progresso genético alcançado para aumentar a produção leiteira. O progresso genético na produção de leite está intimamente relacionado ao aumento da ingestão de alimentos no qual resulta em aumento de calor metabólico. O alto incremento de calor metabólico requer mecanismos termorregulatórios eficazes para manter a temperatura do corpo em zona termoneutra e em homeostase fisiológica. As vacas podem sucumbir à hipertermia se não conseguirem manter a termoneutralidade. (KADZERE, et al., 2002). West, 2003 cita que um dos desafios associados ao gerenciamento de rebanhos de alta produção em um ambiente quente é que a seleção para aumentar o desempenho geralmente entra em conflito com a manutenção da homeotermia.

Primeiramente deve-se levar em consideração que a ingestão de nutrientes por vacas de alta produção está intimamente relacionada à quantidade de leite produzido. O processo de metabolização de nutrientes gera calor, no qual em um clima quente, esse calor deve ser dissipado para que a neutralidade térmica, um pré-requisito para a função fisiológica normal, seja mantida. Essa interação complexa de efeitos físicos e ambientais influencia as funções fisiológicas da vaca e afeta não apenas a produção de leite, mas também a eficiência e a lucratividade das fazendas leiteiras.

Entre as primeiras alterações fisiológicas a serem demonstradas por vacas em lactação está no comportamento da ruminação, pois ao aumentar a temperatura ambiental há alterações de mecanismos fisiológicos básicos do rúmen que afeta negativamente os ruminantes com maior risco de distúrbios metabólicos e problemas de saúde (NARDONE ET AL., 2010; SORIAN; PANELLA; CALAMARI, 2013).

Nonaka et al. (2008) relata que animais com estresse térmico têm produção de acetato reduzida, enquanto propionato e butirato aumenta em função de alterações ruminais. Como resposta, o animal consome menos volumosos, altera a população microbiana do rúmen e o pH torna-se ácido (5,82 a 6,03) (HALL, 2009), diminuindo a motilidade ruminal e ruminação (NARDONE ET AL., 2010; SORIAN; PANELLA; CALAMARI, 2013). Posteriormente, há a diminuição da produção de saliva, resultando em variação nos padrões de digestão e diminuição do consumo de matéria seca (NARDONE ET AL., 2010; SORIAN; PANELLA; CALAMARI, 2013). A hipertermia crônica também causa inapetência aguda ou prolongada que agrava ainda mais o aumento da oferta de ácido carbônico no rúmen e diminui o potencial Hidrogeniônico (pH) ruminal resultando em acidose ruminal clínica ou subclínica. Isso resulta em alterações na saúde rumino intestinal, comprometendo a barreira intestinal (LAMBERT et al., 2002; DOKLADNY et al., 2006; PEARCE et al., 2013; SANZ-FERNANDEZ et al., 2014). Durante o estresse térmico, o fluxo sanguíneo é desviado das vísceras para a periferia, na tentativa de dissipar o calor, levando à hipóxia intestinal (HALL et al., 1999). Os enterócitos são particularmente sensíveis à hipóxia e à restrição de nutrientes (ROLLWAGEN et al., 2006), resultando em depleção de ATP e aumento do estresse oxidativo e nitrosativo (HALL et al., 2001). Isso contribui para uma disfunção de junção celulares e mudanças morfológicas

grosseiras que finalmente, reduz a função da barreira intestinal (LAMBERT et al., 2002; PEARCE et al., 2013). Como resultado, o estresse térmico aumenta a passagem do conteúdo luminal para o sangue portal e sistêmico (HALL et al., 2001; PEARCE et al., 2013). A endotoxina, também chamada de lipopolissacarídeo (LPS), é uma glicolípídeo incorporado na membrana externa das bactérias Gram-negativas, abundantes e prolífico no conteúdo luminal e é um potente estimulador imune (BERCZI; BERTOK; BEREZNAI, 1966; GIRI et al., 1990; TOUGH; SUN; SPRENT, 1997). Por outro lado, a passagem em larga escala de LPS do rúmen para a circulação sanguínea, compromete a saúde da vaca e, em seguida, prejudica a capacidade da glândula mamária de eliminar os patógenos, aumentando assim susceptibilidade à mastite (HORST, 2017).

Segundo Marchezan (2013) outro problema é a diminuição da capacidade de defesa da glândula mamária, isso ocorre em conjunto com o menor fluxo sanguíneo mamário (WEST, 2003), deixando-a susceptível a infecções causadas por bactérias presentes no ambiente. Em resposta, ocorre um recrutamento de neutrófilos para a região na tentativa de combater a infecção, liberando para o leite secretado esses neutrófilos e enzimas proteolíticas e lipolíticas, alterando a composição do leite.

O estágio da lactação é um fator importante para a produção durante o estresse térmico. Vacas que foram estressadas por calor no meio da lactação são mais sensíveis quando comparadas aquelas de início ou final de lactação, 35% x 14% respectivamente (BASIRICO, 2009; BERNABUCCI, 2010). Pinarelli (2003) também observou um decréscimo de 17% na produção de leite de vacas de 15 kg de leite/dia e de 22% em vacas de 40 kg de leite dia.

A produção de leite também sofre alterações, a biossíntese do leite depende de que as glândulas mamárias recebam um abastecimento contínuo de diversos metabólitos e hormônios do sangue, sendo que o rendimento lácteo de todos os mamíferos apresenta variações estacionais. A produção diminui quando há umidade elevada e estima-se que a produção de leite diminua 1 kg por cada grau (°C) de aumento da temperatura retal (PINARELLI, 2003). No estudo realizado por Campos et al. (2008) foi observado uma diminuição da produção de leite quando os animais foram submetidos à temperatura de 32°C e a umidade relativa (UR) variando de 20% para 45%, essa diferença de 25% na umidade inibe o resfriamento

evaporativo em bovinos, resultando na elevação da temperatura retal, causando diminuição no consumo de alimento e, conseqüentemente, perdas na produção de leite.

Em adição a queda da ingestão de matéria seca e diminuição do fluxo sanguíneo na glândula mamária também é importante o efeito sobre os mecanismos fisiológicos hormonais relacionados com a lactação, incluindo alterações recíprocas nos hormônios anabólicos e catabólicos circulantes (BERNABUCCI et al., 2010; BAUMGARD; RHOADS, 2012). A literatura cita que a explicação para o efeito do estresse calórico na lactação reside principalmente, no fato de as reações por ele provocadas alterarem todo o complexo endócrino responsável pela lactação. Tanto o início da secreção de leite quanto sua manutenção, e até mesmo o desenvolvimento da glândula mamária, são governados pelo sinergismo de um complexo de hormônios da adeno-hipófise e de outros órgãos estimulados por aqueles hormônios. Das substâncias adeno-hipofisárias destacam-se a prolactina, o hormônio somatotrófico (STH), ACTH, o hormônio tireotrófico (TSH), e o FSH, sendo os três últimos ativos principalmente como estimulantes das glândulas adrenais, tireóide e ovários respectivamente (MEDEIROS; VIEIRA, 1997).

Yousef, 1985 relata que a diminuição nas secreções dos hormônios GH, T4 e T3, com conseqüente declínio na produção de leite, sobretudo nos estágios iniciais da lactação, possibilitam o equilíbrio de certas funções orgânicas relacionadas à termorregulação, porém, podem ocorrer prejuízos aos processos de síntese e secreção do leite. A explicação para o efeito do estresse sobre a lactação está primeiramente no fato de as reações por ele provocadas alterarem todo este complexo endócrino responsável pela lactogênese (EWY, 1987).

Com o baixo nível sanguíneo de T4, no qual interfere na regulação da prolactina e ocitocina, estudos realizados com vacas tolerantes e intolerantes ao calor, distribuídas em diferentes combinações de temperatura e umidade demonstraram que, a 18 °C, ambos os grupos de animais produziam aproximadamente a mesma quantidade de leite. No entanto, a 35 °C e com uma umidade relativa de 25%, o grupo intolerante mostrou uma diminuição na ingestão de alimento e na produção de leite, enquanto não foi observada uma variação considerável nos animais tolerantes. No que concerne à composição do leite, ela pode ser alterada pelo estresse calórico, com redução nos teores de gordura,

proteína e cálcio (TITTO, 1998), lactose, ácido cítrico e potássio (CEBALLOS et al., 2009). Os valores de sólidos totais do leite sofrem uma variação sazonal anual, aumentando durante o período de frio e diminuindo na época de calor e chuvas (PONSANO et al., 1999). De acordo com Collier (1985), os sólidos não-gordurosos também são menores durante os meses quentes, devido principalmente à variação no conteúdo proteico do leite. Na maioria dos casos, a proteína do leite é negativamente afetada pelo estresse calórico, com decréscimo nos teores de caseína, os íons cálcio, fósforo e magnésio geralmente diminuem, enquanto os níveis de cloro aumentam. Os teores de gordura do leite diminuem quando as vacas são expostas a estresse calórico classificado como severo, os ácidos graxos de cadeia longa aumentam e os de cadeia curta diminuem (BERNABUCCI; CALAMARI, 1998), mas que não tem efeito sobre o teor de lactose no leite (DAS, 2016).

Vale ressaltar que autores concluíram que uma parte dos efeitos negativos do estresse térmico sobre a produção de leite pode ser explicada pela diminuição da ingestão de nutrientes e da captação de nutrientes pelas vísceras portais da vaca. O fluxo sanguíneo transferido para os tecidos periféricos para fins de resfriamento pode alterar o metabolismo dos nutrientes ocasionando redução na absorção dos mesmos e menor disponibilidade desses à glândula mamária (MCGUIRE et al., 1989) e contribuir para uma menor produção de leite durante período de estresse térmico (WEST, 2003). Adicionalmente, as vacas holandesas utilizam mecanismos como redução no tempo de alimentação e ruminação, e aumento no tempo de ócio, provavelmente para diminuir a produção de calor metabólico excedente, pois o aumento do tempo de permanência em pé pode auxiliar na dissipação do calor, como tentativa dos animais em manter a homeotermia (PIRES et al., 2002). Complementando a ideia, Lough et al. (1990), identificaram a redução de 14% de plasma circulante na região portal do fígado de animais sobre efeito do estresse térmico quando comparados com animais em zona de conforto térmico, concluindo que parte da diminuição da produção pode ser explicada pela diminuição, circulação e captação de nutrientes pelo fígado. Segundo resultados encontrados por Schwartz et al. (2009), a queda na produção de leite na primeira e segunda semana após a exposição ao estresse térmico variam de 18 a 33%, assim como a redução na ingestão de matéria seca variou de 17 e 34%.

A somatotropina bovina recombinante (rbST), amplamente utilizada para aumentar a produção de leite, tem provado uma temperatura do leite superior quando comparado ao controle em um clima quente e úmido (WEST et al., 1991a, WEST et al., 1991b). As vacas administradas com rbST exibiram uma produção de calor significativamente maior nos ambientes termoneutro e quente (MANALU et al., 1991).

2.9 Alterações hemogasométricas e eletrolíticas

Nos climas quentes, a evaporação é o principal processo de eliminação do excesso do calor corporal. Ela é prejudicada pela umidade do ar elevada e favorecida pelos ventos. A evaporação processa-se principalmente na superfície do corpo, mas ocorre também no seu interior, na intimidade do aparelho respiratório. O ar inspirado, em contato com a umidade dos alvéolos pulmonares e das paredes dos condutos respiratórios, acarreta a sua evaporação, pois o ar expelido é quase saturado de vapor d' água, o que contribui para a perda de calor. Para aumentar essa evaporação, quando os demais aspectos do aparelho termorregulador não são suficientes para evitar a elevação da temperatura corporal, o animal acelera o ritmo respiratório. A aceleração do ritmo respiratório, ou hiperventilação pulmonar acarreta vários efeitos indesejáveis, o primeiro deles é o aumento acentuado da perda de CO_2 , resultando em diminuição do pCO_2 , reduzindo a concentração sanguínea de ácido carbônico (H_2CO_3) e perturbando o equilíbrio crítico de ácido carbônico em bicarbonato (HCO_3^-) necessário para manter o pH sanguíneo, resultando em alcalose respiratória. Concentrações reduzidas de bicarbonato no sangue comprometem a capacidade de tamponamento associada ao sistema de bicarbonato, o que pode ser crítico durante o verão, quando os produtores normalmente alimentam seus rebanhos com rações de grãos. Além disso, o gado perde quantidades significativas de K pelo suor e as perdas aumentam com a taxa de sudorese (JENKINSON; MABON, 1973).

A compensação pela alcalose respiratória envolve aumento da excreção urinária de bicarbonato e a, levando a um declínio na concentração do mesmo no sangue, e diminuição da excreção de hidrogênio (H^+). Essa correção excessiva (excreção urinária de bicarbonato) resulta em acidose metabólica (BENJAMIN, 1981). A acidose metabólica é caracterizada por uma elevação no pH, isso pode ser

devido ao acúmulo de ácido láctico. O excesso de H^+ extracelular invade o espaço intracelular deslocando o K para fora da célula, no qual previne o aumento excessivo do H^+ extracelular, essa troca pode causar hipercalemia. Quando não há lesão renal, os túbulos aumentam a reabsorção de bicarbonato e a excreção de H^+ sob a forma de amônia. Ou seja, o início se dá pela alcalose respiratória e posteriormente se instala uma acidose metabólica (GONZÁLEZ; SILVA, 2006).

Outro mecanismo para o controle do estresse térmico é o método evaporativo pela sudorese, sendo a água, Na, K e cloro constituintes importantes do suor (KADZERE, et al. 2002). A concentração de K e Na diminui, enquanto que o Cl^- aumenta (BELAY; TEETER, 1993), à medida que a temperatura aumenta (BORGES, 1999). A excreção de K é influenciada por fatores hormonais (aldosterona, hormônio antidiurético e deoxicorticosterona), equilíbrio ácido-base e balanço de cátions.

Fósforo e cálcio também são perdidos no processo de sudorese (MEDEIROS; VIEIRA, 1997) e a reposição com suplemento mineral para controlar o equilíbrio ácido-base deve ser considerado em animais sob diferentes níveis de estresse térmico (DAS et al., 2016).

Visando a correta mineralização animal sob condições de estresse térmico vale ressaltar que a diferença cátio-ânion na dieta (DCAD) exige um equilíbrio positivo, o que pode ser preocupante para aquelas vacas que recebem dieta aniônica. (MILLER, 2018).

2.10 Estresse oxidativo

Acreditava-se que vacas de alta produção de leite são predispostas a danos oxidativos (DAS et al, 2016).

O estresse oxidativo resulta em aumento das espécies reativas de oxigênio (EROs) em diferentes células e tecidos de animais sob estresse térmico que têm impactos negativos na fisiologia e metabolismo corporal. No entanto, o corpo tem antioxidantes na forma enzimática (superóxidodismutase, glutatona (GSH) peroxidase e catalase), não enzimática (albumina, L-cisteína, homocisteína, grupos melatonina e proteína sulfidril), e antioxidantes não enzimáticos de baixo peso molecular (ácido ascórbico, GSH, ácido úrico, α -tocoferol, β -caroteno, piruvato e retinol), que aumenta conforme o estresse para fornecer proteção contra efeitos de

EROs. De forma mais específica embriões recém-concebidos são afetados negativamente por estresse térmico devido ao aumento nas EROs produzidas no oviduto e pelo embrião, juntamente com uma diminuição na síntese de glutathione peroxidase embrionária (OZAWA et al., 2002).

As proteínas de choque térmico (*heat stress protein* – Hsp, do inglês) têm um papel importante na recuperação de células do estresse e na citoproteção como bem como proteger as células dos insultos subsequentes, as mesmas são induzidas pelo estresse. As principais famílias de Hsps são Hsp100, Hsp90, Hsp70, Hsp60, Hsp40 e os pequenos Hsps (os chamados Hsps de tamanhos inferiores a 30 kDa).

A expressão gênica sob alterações de estresse térmico inclui:

- a) Ativação do fator de transcrição por choque térmico 1 (HSF1);
- b) aumento da expressão dos genes Hsp e expressão e síntese diminuídas de outras proteínas;
- c) aumento da oxidação de glicose e aminoácidos e metabolismo reduzido de ácidos graxos;
- d) ativação do sistema endócrino a resposta ao estresse;
- e) ativação do sistema imunológico via secreção extracelular de Hsp.

Ao persistir o estresse, essas alterações na expressão gênica levam a um estado fisiológico alterado referido como "aclimatação", um processo amplamente controlado pelo sistema endócrino, relata Collier; Rhoads e Baumgard (2008).

2.11 Sistema Imune

O sistema imunológico é a principal defesa do corpo para proteger e lidar com as questões ambientais estressoras. Indicadores primários de resposta imune incluem glóbulos brancos (leucócitos), glóbulos vermelhos (hemácias), hemoglobina (Hb), volume celular compactado, concentração de glicose e proteína no sangue, estes ficam alterados com o estresse térmico (DAS et al, 2016).

Liberação de cortisol plasmático aumenta em animais estressados, causa regulação negativa ou supressão da expressão de L-selectina na superfície dos neutrófilos (BURTON; RONALD, 2003).

Aumentar o cortisol circulante também causa aumento dos níveis celulares de proteínas de choque térmico que funcionam como um sinalizador de

perigo para o sistema imunológico, no qual estimula o aumento de neutrófilos e macrófagos para combater os patógenos (do AMARAL et al, 2011).

Outro fator que ativa o sistema imune é quando a proteína de ligação ao LPS (LBP) se liga inicialmente ao LPS e junto com CD14 e o TLR4 fornece LPS para remoção e desintoxicação, portanto o LBP é frequentemente usado como biomarcador para infiltração de LPS (CECILIANI et al., 2012). Infundir LPS na glândula mamária, resulta em aumento da insulina circulante (aproximadamente 2 vezes) em vacas em lactação (WALDRON et al., 2006). Além disso, em infusão intravenosa de LPS em bezerros e porcos em crescimento demonstrou aumento acima de 10 vezes da insulina circulante (RHOADS et al., 2009; STOAKES et al., 2015a; KVIDERA et al., 2016). O aumento da insulina ocorre antes do aumento da inflamação (BHAT et al., 2014) sugerindo que o LPS estimula secreção de insulina, diretamente ou via GLP-1 (KAHLES et al., 2014). A possibilidade de que o LPS aumenta a secreção de insulina provavelmente explica a hiperinsulinemia que foi relatado em estudos de modelos pecuários estressados pelo calor por Baumgard; Rhoads (2013). Sendo que o próprio autor relata dificuldade em explicar tal situação, já que a ingestão de alimentos foi severamente deprimida nos experimentos.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O objetivo desse trabalho foi:

- a) avaliar a taxa de concepção entre as diferentes biotecnologias da reprodução (IA / IATF) empregadas;
- b) avaliar a interferência de dias em lactação (DEL) nas taxas de concepção;
- b) avaliar a interferência da produção de leite (litros) nas taxas de concepção;
- c) avaliar diferentes classes térmicas e suas associações com produção de leite na taxa de concepção,
- d) avaliar qual(is) classe(s) térmica(s) e produção de leite resultam em interferência na taxa de concepção;

4 HIPÓTESE

Há uma associação entre produção de leite adicionado a classe térmica (temperatura ambiente e/ou THI) influenciando na taxa de concepção de bovinos de leite estabilizados.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Características ambientais

Os dados produtivos e reprodutivos foram coletados em propriedade do município de Valparaíso a noroeste do estado de São Paulo, localizado na região sudeste do Brasil, caracterizado com o bioma mata atlântica (IBGE, 2019) e, segundo classificação climática de Köppen-Geiger, a região está sob influência de clima Aw – tropical, com estação chuvosa no verão, de novembro a abril, e nítida estação seca no inverno, de maio a outubro (ROLIM et al., 2007).

O experimento, de caráter retrospectivo, compreendeu o período de 01 de janeiro de 2014 a 31 de maio de 2018, com média das temperaturas atmosférica de 24,64°C (3,0 a 41,5°C), as máximas com média de 31,2°C (15,1 – 41,5°C) e as mínimas com média de 19,02°C (3,0 – 30,9°C); índice de temperatura e umidade com média de 71,48 (53,5 - 80,34) e moda de 73,94; as precipitações média anuais foram de 1554,97 mm (1248,2 a 1972,09 mm) nos anos de 2014 a 2018 segundo INMET (Instituto Nacional da Meteorologia), localizada na Estação Meteorológica Automática de Valparaíso- SP nas coordenadas Latitude: 21° 16' S, Longitude: 50° 55' W, Altitude: 374m, próxima à área do experimento, dados ausentes foram imputados utilizando informações da estação meteorológica da CETESB localizada no campus da UNESP – Araçatuba/S.P.

O Índice de Temperatura e Umidade (THI) fornecido pelo INMET é estimado pela equação:

$$THI = Tbs + 0,36 \cdot Tpo + 41,2$$

Onde, Tbs é a temperatura de bulbo seco (°C) e Tpo é a temperatura do ponto de orvalho (°C) (BUFFINGTON et al., 1981).

5.2 Animais, instalações, e dieta

A propriedade dispunha de bovinos da raça Holandes Preto e Branco (*Bos taurus taurus*), criados em sistema estabulado (“*compost barn*” e “*freestall*”) com ventiladores que abrangiam toda a área dos barracões e aspersores na pista de trato. Os barracões dispunham-se na posição leste-oeste com laterais abertas. Os animais recebiam dieta balanceada, mistura total na ração, realizada por zootecnista sendo ofertadas duas vezes ao dia (manhã e final da tarde), para atender ou

exceder as necessidades nutricionais e o fornecimento de água era *ad libitum* sendo os reservatórios limpos diariamente. Havia separação em lotes conforme sua produção de leite e dias em lactação (DEL), a mensuração de leite era realizada mensalmente com o auxílio de medidores verticais de volume acoplados a linha de ordenha.

Foram utilizadas 250 fêmeas convertidos em 1238 observações, ou seja, uma observação é o histórico de um indivíduo na data em que houve inseminação artificial (IA) ou inseminação artificial por tempo fixo (IATF), caso esse indivíduo não tivesse sucesso na reprodução (prenhez negativa) esperava um retorno do ciclo estral ou quando diagnosticada como não prenhe um novo manejo reprodutivo era instituído (prostaglandina ou protocolo de IATF), dessa forma, as variáveis reprodução, produção e ambiente eram atualizadas gerando outra observação na nova data de IA / IATF.

Os animais foram categorizados conforme seu número de crias em: nulíparas (n = 195), fêmeas bovinas em idade reprodutiva (acima de 14 meses) sem nenhuma cria, primíparas (n = 174) composta pelas fêmeas que tiveram uma cria e multíparas (n = 94) composta por fêmeas que tiveram duas crias ou mais.

Quanto ao número de observações tivemos 297 para nulíparas, 473 para primíparas e 468 para multíparas.

5.3 Classificação e avaliação dos animais

Os animais foram categorizados conforme o número de partos, sendo ordenadas como zero (0) as nulíparas, 1 parto as primíparas e igual ou maior a 3 partos as multíparas, sendo primíparas e multíparas subdivididas por dias em lactação (DEL) por pico (1 a 100 DEL), meio (101 a 200 DEL), final (201 até dia da secagem) e, multíparas seca.

Cada animal teve seu histórico reprodutivo, produtivo e ambiente acompanhado durante todos os episódios de inseminação realizados até a data na qual a prenhez foi confirmada, retornando as avaliações no período pré-parto (21 dias que antecedem o parto), sendo avaliada a média das temperaturas máximas e THI desse período; o intervalo de gestação e a ausência ou presença de patologia pós parto.

5.3.1 Dados reprodutivos, sincronização de estro e tratamento hormonal

Nas multíparas as avaliações reprodutivas eram iniciadas após 30 dias do parto com auxílio de ultrassonografia e espéculo intravaginal veterinário sendo, cada vaca, ordenadas com ausência (0) ou presença de patologia pós-parto (metrite (1) segundo classificação de Sheldon 2006 ou cisto ovariano (2)), quando classificada com ausência (0) eram direcionadas ao protocolo de IATF (figura 1) que ocorria com 40 (+7) dias pós parto. Em caso de presença de patologias pós-parto (1 e/ou 2) os animais recebiam tratamento específico e eram reavaliados semanalmente até o momento de alta clínica, somente assim sendo direcionado ao protocolo de IATF.

Após a primeira inseminação os animais eram observadas diariamente e aquelas que retornassem ao estro de forma natural eram inseminadas 12 horas após a presença desse comportamento (regra manhã/tarde, tarde/manhã) e as que não apresentassem eram direcionadas ao exame de ultrassonografia após 30 dias da data da inseminação, sendo avaliadas e diagnosticadas como prenhez positiva, na presença de vesícula amniótica com embrião viável, ou negativa, estas por sua vez recebiam tratamento com prostaglandina (PgF) comercial (0,53 mg Cloprostenol sódico) por via intramuscular ou novo protocolo de IATF após terem seus ovários examinados com presença ou ausência de corpo lúteo.

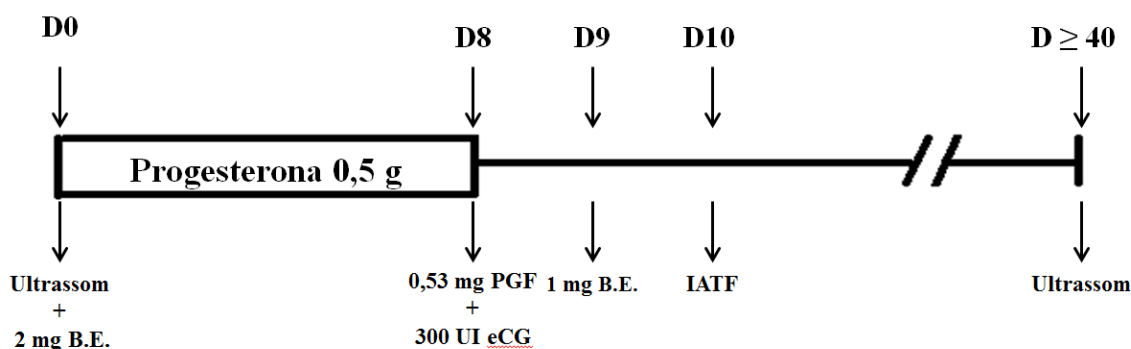
Para nulíparas com idade superior a 14 meses dava-se início ao trabalho reprodutivo com exame ginecológico e auxílio de ultrassom veterinário e aquelas com presença de corpo lúteo (indicando fêmeas com precocidade sexual) recebiam tratamento com PgF (0,53 mg Cloprostenol sódico, intramuscular) sendo inseminadas após 12 horas da observação de comportamento de estro.

Nas datas das inseminações foram observados: número de partos, data da inseminação, biotecnologia reprodutiva utilizada (IA ou IATF); para as vacas que tiveram como diagnóstico a prenhez positiva foi adicionado: data da prenhez, número de serviços para a prenhez e idade a primeira prenhez (no caso de nulíparas).

No dia de início do protocolo, período da manhã, as vacas foram avaliadas por ultrassom veterinário com transdutor linear retal de 5 MHz e receberam dispositivo intravaginal de progesterona contendo 0,5g e injeção

intramuscular (IM) contendo 2 mg de benzoato de estradiol (B.E.). No oitavo dia, houve a retirada dos dispositivos intravaginais e aplicações IM simultâneas de 0,53 mg de Cloprostenol sódico (PGF) e 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG, PMSG). Após 24 horas, foi aplicado 1mg de benzoato de estradiol e a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) foi realizada aproximadamente 56 horas após o momento da retirada com sêmen de diferentes touros distribuídos conforme acasalamento prescrito. O diagnóstico de gestação foi realizado em período igual ou maior a 30 dias da inseminação com ultrassonografia, sendo consideradas prenhas aquelas com presença de um embrião exibindo batimentos cardíacos e rodeados por líquido corio-alantóide no lúmen uterino (Figura 1).

Figura 1 – Diagrama do protocolo de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) adotado (B.E. – Benzoato de Estradiol; PGF - Prostaglandina F2 α ; eCG – Gonadotrofina Coriônica Equina).



D0: dia de início de protocolo

D8: oitavo dia de protocolo

D9: nono dia de protocolo

D10: décimo dia de protocolo

D ≥ 40: 40 dias ou mais do início do protocolo

Fonte: Elaborado pelo autor (2021)

5.3.2 Dados de produção de leite, secagem de vacas e pré-parto.

A mensuração da produção de leite (em litros) era realizada mensalmente por técnico capacitado de associação de criadores, ou seja, de caráter oficial servindo como referência para o nível produtivo da vaca naquele mês.

A fase lactacional que a vaca se encontrava foi determinado através do número de dias em lactação (pico (1 a 100 DEL), meio (101 a 200 DEL), final (201 até dia da secagem)).

Animais em lactação receberam tratamento com rbST (sometribove zinco – 500 mg, suspensão para injeção), a cada 14 dias, iniciando aos 60 dias pós parto até 14 dias antes da data prevista da secagem.

As vacas eram secas com aproximadamente 213 dias de gestação ou mais cedo caso a produção fosse economicamente inviável, as nulíparas eram encaminhadas ao manejo pré parto junto às vacas com aproximadamente 252 dias de gestação no qual recebiam dieta acidogênica para minimizar risco de hipocalcemia no início da lactação.

5.3.3 Dados de ambiente

Com as informações fornecidas pelo Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), foi identificado a máxima temperatura diária e o THI diário de todo o período do experimento, esses dados foram utilizados para realizar a média aritmética dos 50 dias que antecedem a data da cobertura ou prenhez, devido a influencia das variáveis térmicas do ambiente no desenvolvimento do oócito nesse período segundo Roth et al. (2001) e Wolfenson et al. (2002).

As classes térmicas utilizadas foram: estações climáticas no hemisfério sul primavera/verão (23 de setembro a 21 de março) e outono/inverno (de 22 de março a 22 de setembro), referindo-se as estações quente (Q) e fria (F) respectivamente; temperatura máxima do dia (TMd) e média das temperaturas máximas (MTM) diárias no intervalo de 50 dias pré IA/IATF, expressas em graus Celsius (°C); THI diário (THId) e média de THI (MTHI) diário no intervalo de 50 dias pré IA/IATF.

Para THI e temperatura ambiente foram utilizados os seguintes intervalos, considerando o efeito esperado na vaca: termoneutro (THI < 68; até 21,9°C), limite (THI 68,1 – 71,9; 22,0 a 24,9°C), moderado (THI 72 – 79,9; 25,0 a 29,9°C), severo (THI 80 – 89,9; 30 a 33,9°C), e risco (THI ≥ 90; acima de 34°C) obedecendo a classificação de Armstrong (1994) e, De Rensis et al. (2015).

5.4 Modelos estatísticos

Os testes de associação (χ^2), testes t e ANOVA foram avaliadas utilizando o programa Graph Pad Prism (versão 6.0 para Windows, GraphPad Software, San Diego Califórnia EUA).

A taxa de concepção em função da biotecnologia reprodutiva empregada (IA/IATF), categoria animal, número de partos, dias em lactação, produção de leite (pela média ou quartil) e estações do ano foi analisada pelo teste χ^2 .

Para comparação entre médias de produção de leite ou dias em lactação aos pares inicialmente foi avaliada a normalidade (Kolmogorov e Smirnov) e a homocedasticidade (Teste de Bartlett) dos grupos, quando atendidos os requisitos foi utilizado o teste t não pareado, e nos casos de ausência de homocedasticidade ou distribuição normal foram utilizados testes t não pareados com correção com teste de Mann Whitney.

Utilizou-se a análise de variância (ANOVA) seguida pelo pós-teste de Tukey para comparar médias de produção de leite ou dias em lactação para comparação entre médias acima de dois grupos.

As análises estatísticas foram realizadas usando o Statistical Analysis System (SAS, Versão 9.4 para Windows SAS Institute Inc., Cary, NC).

A regressão logística (PROC LOGISTIC) foi realizado usando o Statistical Analysis System (SAS, Versão 9.4 para Windows SAS Institute Inc., Cary, NC) para modelar a probabilidade de prenhez de acordo com o TMd, MTM, THId e MTHI em classes de vacas (nulíparas, primíparas ou múltiparas) e produção de leite (média e quartis). As curvas de regressão logística foram criadas utilizando os coeficientes fornecidos pela análise interativa de dados do SAS e a fórmula $Y = \exp(\alpha \times X + \beta) / [1 + \exp(\alpha \times X + \beta)]$, onde Y = probabilidade de ocorrência; exp = exponencial; α = inclinação da equação logística; β = intercepto da equação logística; e X = variável analisada.

Diferenças significativas foram declaradas quando $P \leq 0,05$, enquanto tendências foram consideradas quando $0,10 > P > 0,05$.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A apresentação dos resultados e discussão foi separada em tópicos: (1) o ambiente no qual o experimento foi realizado, (2) o perfil produtivo dos animais (produção de leite e dias em lactação), (3) os resultados reprodutivos e (4) a associação / interação entre os tópicos.

6.1 Ambiente

As condições climáticas em que o experimento foi desenvolvido foram caracterizadas na maior parte do período por temperaturas máximas diárias e THI diário, acima do limite de tolerância máxima fisiológica descrita pela literatura para os animais *Bos taurus taurus* (BERMAN et al. 1985; YOUSEF, 1985).

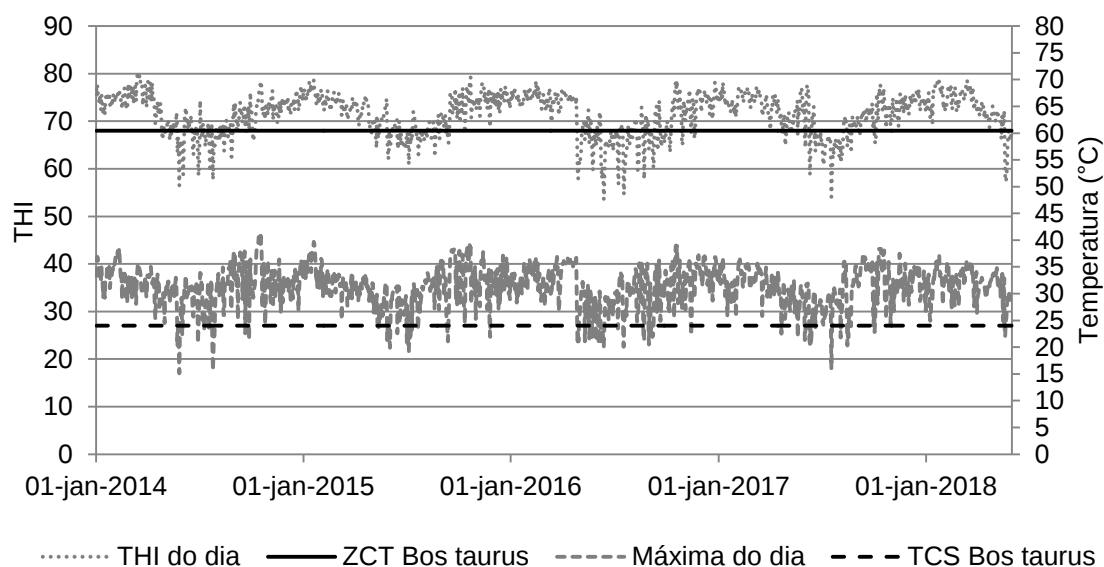
Em 94,7% (1527/1612) dos dias a temperatura máxima diária estava acima da temperatura crítica superior (24°C), e em 77,5% (1250/1612) dos dias o THI diário estava acima do limite superior da zona de conforto térmico (THI 68) não apenas durante os meses de verão, mas também durante os meses de inverno (gráfico 1). Nos meses de verão o estresse térmico contínuo é comum tanto em período diurno como noturno chegando a alcançar escalas de severo e risco.

Na região geográfica onde o experimento foi conduzido, as estações climáticas, verão e inverno são bem definidos, a primeira caracterizada por altas temperaturas e maior volume de chuvas e a segunda com temperaturas inferiores a primeira e pouco volume de chuva, segundo a classificação de Köppen's, o que influencia diretamente no resultado do THI.

As vacas holandesas naturalmente adaptadas ao clima temperado quando expostas a temperatura acima de 25°C naturalmente iniciam um processo de equilíbrio térmico corporal (BERMAN et al. 1985). Geralmente essas vacas apresentam um alto potencial genético para maior produção de leite, repercutindo na maior ingestão de matéria seca aumentando a produção de calor pela alta taxa metabólica (COWLEY et al., 2015).

Essas vacas são mais afetadas pelo estresse calórico devido ao efeito somatório da termo sensibilidade e da alta produtividade (elevado calor exógeno e maior produção de calor endógeno).

Gráfico 1 – Distribuição da temperatura máxima diária e THI diário durante o experimento delimitado pela temperatura crítica superior (TCS, 25°C; Berman et al. (1985)) e limite superior da zona de conforto térmico (ZCT, > 68; De Rensis et al.(2015), respectivamente para *Bos taurus taurus*.

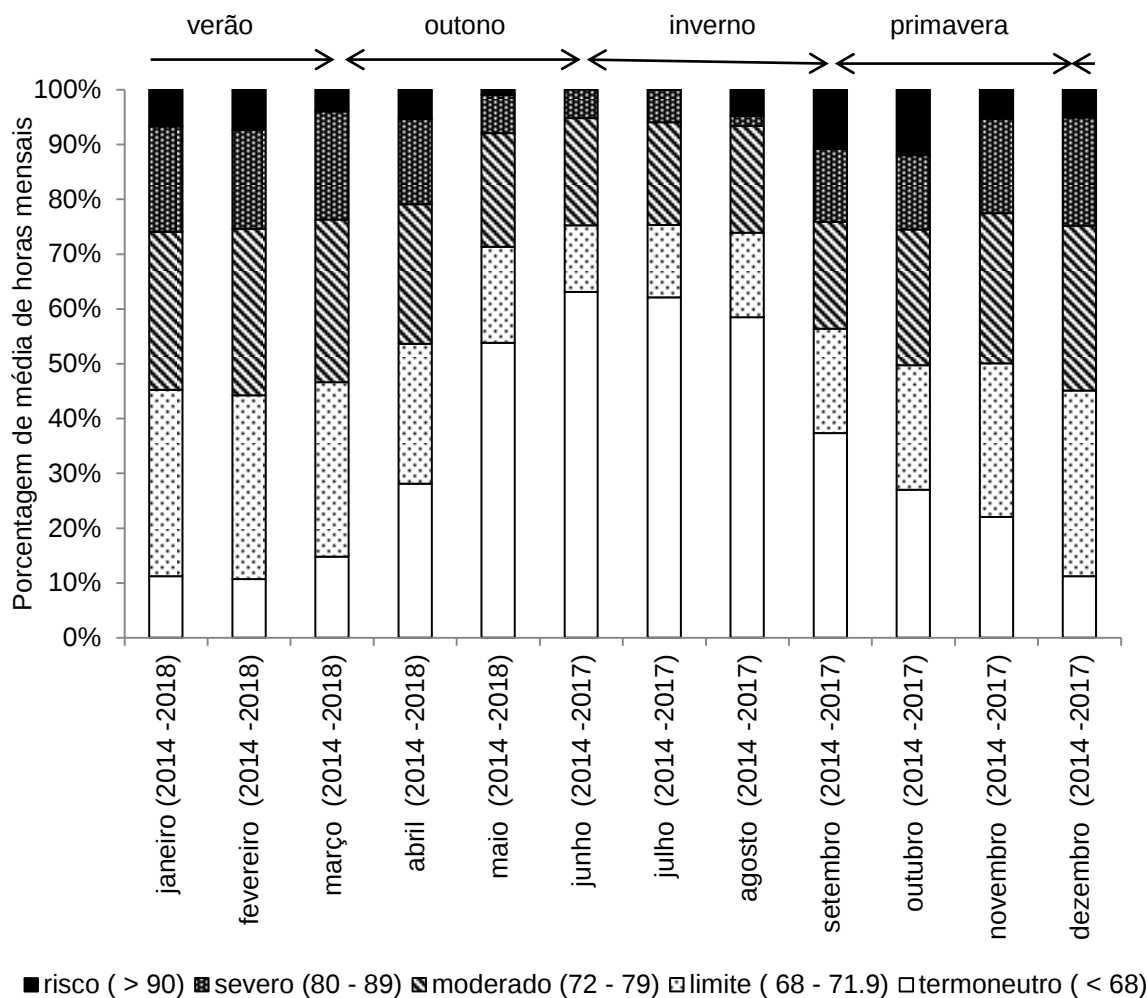


Fonte: Elaborado pelo autor (2021)

Vale ressaltar que bovinos entram em estresse térmico quando não são capazes de dissipar o excesso de calor (produzido e/ou adquirido). Para alcançar a eutermia ou normotermia, os bovinos utilizam processos fisiológicos de perda de calor por evaporação (aumento da sudorese e frequência respiratória), que ficam evidentes em períodos ou ambientes de alta temperatura ou alta temperatura combinada com elevada umidade relativa.

No período do experimento (janeiro 2014 a maio 2018), foi analisada a porcentagem que cada intervalo de THI (termoneutro, limite, moderado, severo e risco) representou por mês. O número de horas para as respectivas classes de THI foi somado mensalmente, em seguida a média aritmética para os respectivos meses foi calculada e por fim a porcentagem que cada intervalo de THI representou por mês. Observa-se que as condições de THI termoneutras tornam-se expressivas ao final das estações outono (53,8%) seguindo durante o inverno e, ao final deste há o aparecimento das condições severas e risco (agosto (6,6%) e setembro (24,1%)) que persistem durante as próximas estações (gráfico 2).

Gráfico 2 – Escalas de THI (termoneutro, limite, moderado, severo e risco), para *Bos taurus taurus*, em porcentagem da média de horas mensais nos meses dos anos de 2014 (jan/14) a 2018 (mai/18).



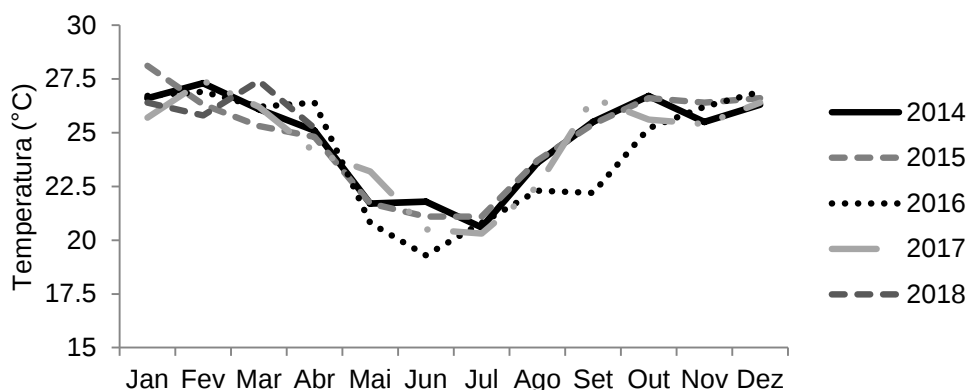
Fonte: Elaborado pelo autor (2021), dados INMET (Valparíso-SP)

Nos meses do outono observa-se que 37,5 % (138/368) dos dias apresentaram THI acima de 72, provocando estresse moderado, severo e risco para vacas de leite (gráfico 2).

Esta é uma justificativa para as taxas de concepção numericamente inferiores no outono quando comparadas com as da primavera (30,7% x 34,6%, gráfico 9). Também houve um atraso no retorno da fertilidade provavelmente em consequência das altas temperaturas e THI no verão, que comprometeram o desenvolvimento folicular nos 40 a 50 dias anteriores ao outono (ROTH et al., 2001; WOLFENSON et al., 2002).

A variação média das temperaturas mensais coletadas hora a hora se comporta de forma esperada (ciclo anual) entre meses equivalentes dos diferentes anos em que os dados foram coletados (gráfico 3).

Gráfico 3 - Médias das temperaturas mensais durante os anos de 2014 a 2018, no município de Valparaíso / SP.



Fonte: Elaborado pelo autor (2021), dados INMET (Valparaíso-SP)

Finalizando aos resultados das variáveis ambientais seguimos com resultados dos animais considerando a produção de leite e os dias em lactação.

6.2 Produção de leite e dias em lactação (DEL)

A produção de leite média foi de $27,2 \pm 0,3$ litros e a mediana foi de 27,0 litros (variando de 5,4 a 56,4 litros). Tanto as vacas de segunda cria ($28,6 \pm 0,5$ litros) quanto as vacas acima de três crias ($30,3 \pm 0,8$ litros) apresentaram produção leiteira superior às vacas de primeira cria ($25,2 \pm 0,3$ litros, $P < 0,0001$, tabela 1).

Houve diferença na produção de leite em função dos dias em lactação (0-100; 101-200 e acima de 201 DEL), os animais acima de 201 DEL apresentam produção inferior ($P < 0,001$) quando comparados aos demais intervalos considerando animais com o mesmo número de crias (tabela 1). Acredita-se que a produção de leite homogênea até 200 DEL seja consequência da utilização de rbST que provoca aumento de produção (3-40%) e persistência da lactação (RODRIGUES, 2008).

No intervalo de 1 a 100 DEL animais de primeira cria tiveram produção inferior aos animais de segunda cria ($P < 0,0001$), estes produziram menos leite que

os animais com três crias ou mais ($P=0,0376$). Observa-se que no intervalo de 101 a 200 DEL, a produção de leite dos animais de segunda cria não diferiu da produção dos animais de primeira e dos animais acima de três crias. A produção de leite nos animais de primeira e segunda cria foi menor que a produção nos animais igual ou maior três crias ($P<0,05$). No período final de lactação (> 201 DEL) animais de segunda cria tiveram produção superior às vacas de primeira cria ($P=0,0091$) e vacas igual ou maior a três crias não houve diferença entre as médias de produção de leite para vacas de primeira cria ($P=0,6646$) e segunda cria ($P=0,1447$). Os animais com mais de três crias tiveram uma produção maior que os animais de segunda cria nos intervalos de 1 a 100 DEL o que não foi observado nas fases de 101 DEL até o final da lactação ($P=0,0315$), apresentado na tabela 1.

A diferente produção de leite entre as categorias e dias em lactação é um fator adicional ao estresse térmico. Deve ser considerada por aumentar a produção de calor metabólico, nos primeiros 100 dias (DEL) consequência da maior ingestão de matéria seca (PEREIRA, 1986). As primíparas, por outro lado, além de produzirem menos leite quando comparadas às demais categorias devido a maior parte da energia ingerida ser desviada ao crescimento e desenvolvimento corporal (CARVALHO et al., 2001) e glândula mamaria com menor número de alvéolos (ROSA et al., 2019) ainda não completaram seu desenvolvimento físico e possuem uma menor massa corporal em relação à superfície corpórea, o que favorece a troca de calor com ambiente e as torna mais termo tolerantes (BERNABUCCI, 2014).

Tanto a produção de leite quanto a categoria animal não devem ser consideradas isoladamente, pois os processos metabólicos para manutenção, desenvolvimento corpóreo, lactogênese e produção de leite geram calor além do próprio volume de leite produzido que pode aumentar os limites da sensibilidade do animal ao calor. Segundo Bernabucci (2014) animais com produção entre 35 e 45 L/dia tem uma menor sensibilidade à temperatura ambiente de 5°C .

Como a produção leiteira dos animais de segunda cria não diferiu da produção dos animais de terceira cria, ambos foram agrupados e nominados múltiparas diferente dos animais de primeira cria nominados primíparas.

Tabela 1: Produção de leite (média $\pm$ EPM) considerando o número de crias e os intervalos de dias em lactação.

Variáveis/Categorias	Dias em lactação				P
	Geral	1 a 100	101 a 200	≥ 201	
1 cria	25,18 ^b	25,68 ^{A/c}	26,83 ^{A/b}	21,84 ^{B/b}	< 0,0001
(427)	$\pm 0,28$	$\pm 0,37$	$\pm 0,54$	$\pm 0,58$	
2 crias	28,55 ^a	30,76 ^{A/b}	29,27 ^{A/ab}	24,63 ^{B/a}	< 0,0001
(256)	$\pm 0,49$	$\pm 0,66$	$\pm 0,89$	$\pm 0,93$	
≥ 3 crias	30,26 ^a	33,26 ^{A/a}	31,59 ^{A/a}	22,35 ^{B/a/b}	< 0,0001
(170)	$\pm 0,76$	$\pm 1,05$	$\pm 1,28$	$\pm 1,19$	
P	< 0,0001	< 0,0001	0,0004	0,0315	

Os valores de P são dos testes comparativos de médias (Test – t de student e ANOVA) para mostrar qualquer diferença com o tratamento. $P < 0,05$ sugere diferença entre as variáveis às quais os participantes foram atribuídos e uma tendência para valores de P entre 0,05 e 0,1.

O valor de P ao final da linha indica o resultado comparativo entre valores pertencentes a mesma linha. Diferenças são indicadas por letras maiúsculas diferentes.

O valor de P ao final da coluna indica o resultado comparativo entre valores pertencentes a mesma coluna. Diferenças são indicadas por letras minúsculas diferentes.

Fonte: Elaborado pelo autor (2021)

Os animais submetidos à IATF produziam mais leite que os submetidos à IA ($P=0,0302$). A média da produção de leite (litros) no intervalo de 1 a 200 DEL foi semelhante entre IA e IATF nas primíparas e multíparas em seus respectivos intervalos, mas após os 201 DEL os animais submetidos à IATF produziam mais leite, isso foi observado tanto nas primíparas ($P= 0,0489$) quanto nas multíparas ($P= 0,0005$, tabela 2).

Pelo fato de todas as multíparas terem o primeiro desafio à reprodução com protocolo de IATF 30 dias após o parto, essas vacas foram inseminadas na primeira fase da lactação (0-100 DEL), período que o animal apresenta maior produção de leite, alta taxa metabólica e elevado “*clearence*” hepático de hormônios esteroides. Por esses motivos os animais submetidos à IATF (tabela 2) apresentaram maior ($P= 0,03$) produção de leite ($27,8 \pm 0,4L$ vs. $26,6 \pm 0,4L$).

Tabela 2: Produção de leite (litros, média $\pm$ EPM) de vacas primíparas e vacas múltíparas comparadas entre os DEL equivalentes nos tratamentos de IA e IATF.

	IA				IATF			
	Geral	Dias em lactação			Dias em lactação			P
		1 a 100	101 a 200	≥ 201	1 a 100	101 a 200	≥ 201	
Primípara (427)	25,18 ^b $\pm 0,28$	25,82 $\pm 0,58$	27,27 $\pm 0,69$	20,94 ^B $\pm 0,78$	25,59 $\pm 0,47$	26,10 $\pm 0,85$	23,33 ^A $\pm 0,83$	0,0489
Múltipara (426)	29,23 ^a $\pm 0,43$	31,83 $\pm 0,83$	30,48 $\pm 1,01$	21,89 ^B $\pm 0,86$	31,87 $\pm 0,85$	29,56 $\pm 1,1$	27,19 ^A $\pm 1,2$	0,0005
P	0,0001	26,62 ^B $\pm 0,38$			27,77 ^A $\pm 0,37$			0,0302

Os valores de P são dos testes comparativos de médias (Test – t de student e ANOVA) para mostrar qualquer diferença com o tratamento. $P < 0,05$ sugere diferença entre as variáveis às quais os participantes foram atribuídos e uma tendência para valores de P entre 0,05 e 0,1.

O valor de P ao final da linha indica o resultado comparativo entre valores pertencentes a mesma linha. Diferenças são indicadas por letras maiúsculas diferentes.

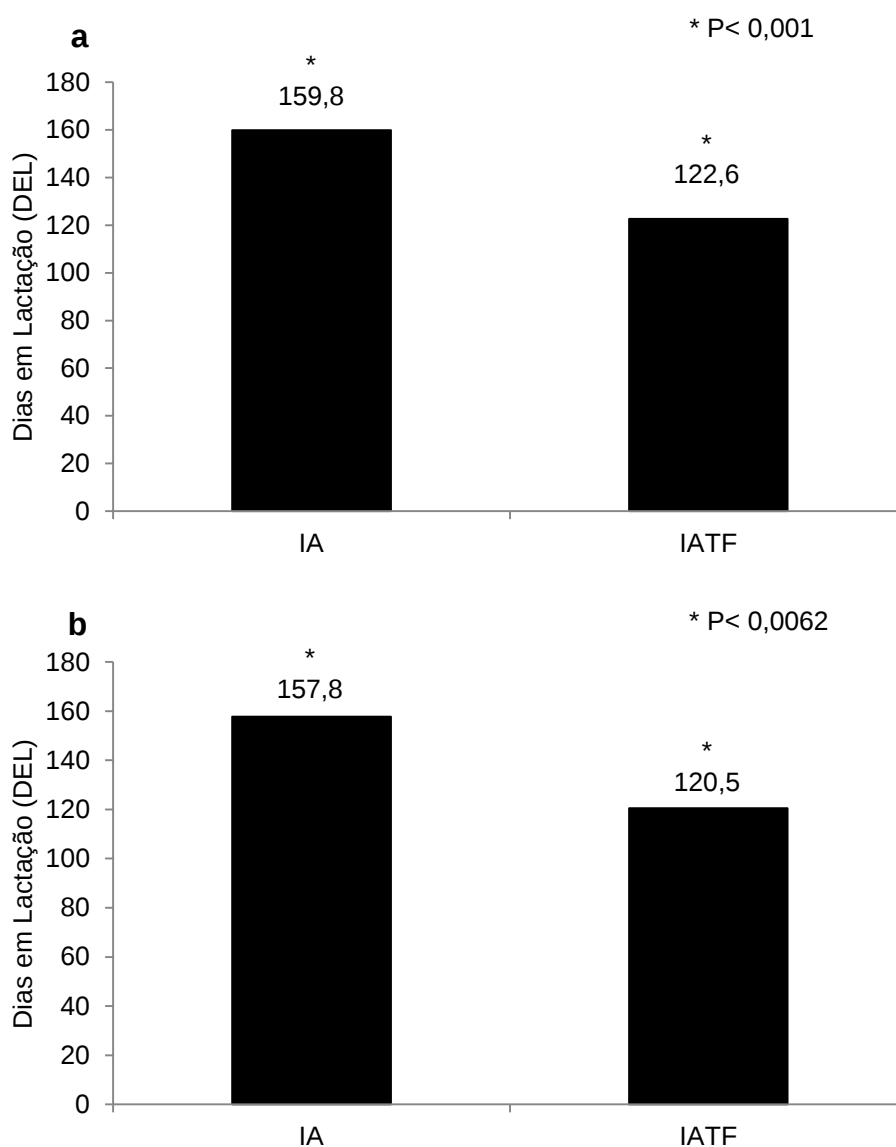
O valor de P ao final da coluna indica o resultado comparativo entre valores pertencentes a mesma coluna. Diferenças são indicadas por letras minúsculas diferentes.

Fonte: Elaborado pelo autor (2021)

As vacas que receberam IA ($159,8 \pm 5,38$) estavam em DEL maior ($P < 0,001$) quando comparadas com as vacas que receberam IATF ($122,6 \pm 4,53$, gráfico 4a). Considerando o DEL em que as vacas engravidaram, o grupo que recebeu IATF ficou prenhe mais cedo ($P < 0,0062$), aos $120,5 \pm 9,283$ DEL comparado com as vacas que receberam IA aos $157,8 \pm 9,758$ DEL (gráfico 4b).

Da mesma forma que vacas submetidos à biotecnologia IATF tiveram uma maior produção de leite, ao analisar os DEL, as mesmas tiveram e menor número de dias em lactação ($122,6 \pm 4,5$ vs. $159,8 \pm 5,4$) em comparação as vacas que foram inseminados por IA após observação de estro, o que também contribuiu para uma menor média de DEL nas múltíparas diagnosticadas como prenhez ($120,5 \pm 9,3$ vs. $157,8 \pm 9,8$) demonstrado nos gráfico 4a e 4b, pois todas as múltíparas iniciavam a atividade reprodutiva com protocolo de IATF na fase inicial (1 a 100 DEL).

**Gráfico 4 – Dias em lactação (DEL médio) de multíparas submetidas a IA e IATF (a).
Dias em lactação (DEL médio) de multíparas prenhez submetidas a IA e IATF (b).**



Fonte: Elaborado pelo autor (2021)

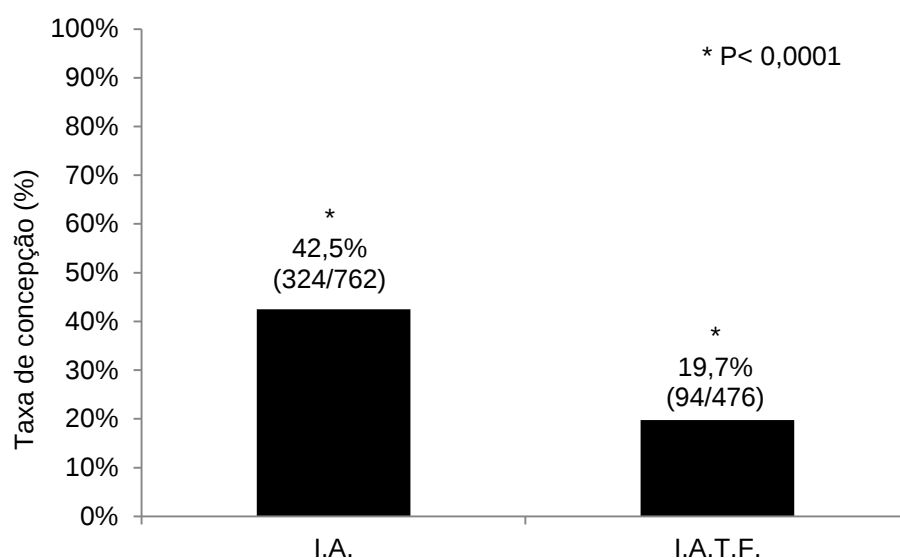
O próximo passo foi analisar as respostas da reprodução e em seguida compará-los com os dados produtivos apresentados anteriormente (DEL e produção de leite).

6.3 Eficiência reprodutiva

A taxa de concepção média observada com 30 dias após IA ou IATF, em todas as categorias (nulíparas, primíparas, multíparas e secas) foi de 33,8% (418/1238), sendo maior ($P < 0,00001$) nas vacas submetidas à inseminação artificial

(IA) 42,5% (324/762), quando comparadas com as vacas inseminadas após IATF 19,7% (94/476, gráfico 5).

Gráfico 5 – Taxa de concepção (aos 30 dias) após as vacas serem submetidas à IA (n=762) ou em vacas inseminadas após IATF (n=476).

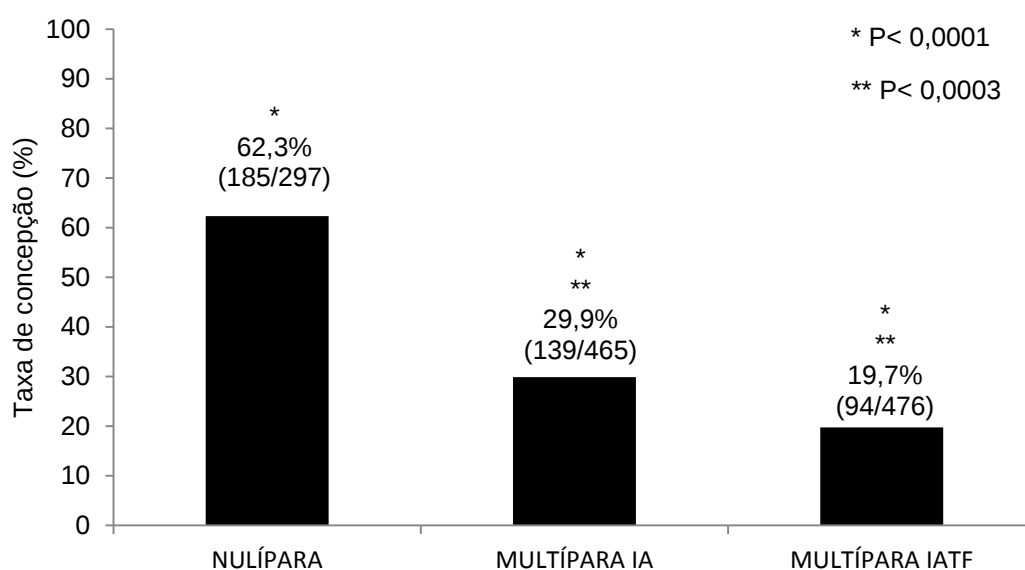


Fonte: Elaborado pelo autor (2021)

O protocolo de IATF utilizado durante o experimento é considerado nos dias de hoje como “básico”. Não foram realizados protocolos de pré-sincronização, que tem a função de renovar a população folicular “limpando” o ovário de folículos e oócitos danificados (NEGRON-PEREZ, 2019). A ausência do uso de GnRH tanto no início, a fim de resultar na formação de um corpo lúteo acessório e maiores concentrações de P4 durante o desenvolvimento folicular (TSCHOPP, 2022), quanto no momento da inseminação para incrementar a indução de ovulação (De RENSIS et al., 2015; DIRANDEH, 2014; DIRANDEH et al., 2015, PEREIRA et al., 2013), além de melhorar as concentrações circulantes de progesterona e sobrevivência embrionária em gado leiteiro estressado pelo calor (ULLAH et al., 1996). E a ausência de uma segunda injeção de prostaglandina no sétimo dia do protocolo a fim de garantir queda na concentração de P4 no período de retirada do implante que resulta em aumento nos índices reprodutivos de até 4,6 unidades percentuais, segundo Borchardt et al., 2018. Acredita-se que esses foram os pontos que resultaram em menor eficiência entre animais que receberam tratamento de IATF em comparação com aqueles que foram inseminados de forma convencional (IA).

Ao associar taxa de concepção aos 30 dias entre nulíparas e multíparas com as biotecnologias empregadas (IA / IATF) observou-se que as nulíparas tiveram taxa de concepção maior (62,3%, $P < 0,0001$) que as multíparas (24,8%), e dentro do grupo das multíparas as vacas que receberam IA tiveram taxa de concepção maior (29,9%, $P < 0,0003$) quando comparadas as vacas que receberam IATF (19,7%, gráfico 6).

Gráfico 6 – Taxa de concepção aos 30 dias nos grupos nulíparas, multíparas inseminadas convencional (IA) e multíparas inseminadas em tempo fixo (IATF).



Fonte: Elaborado pelo autor (2021)

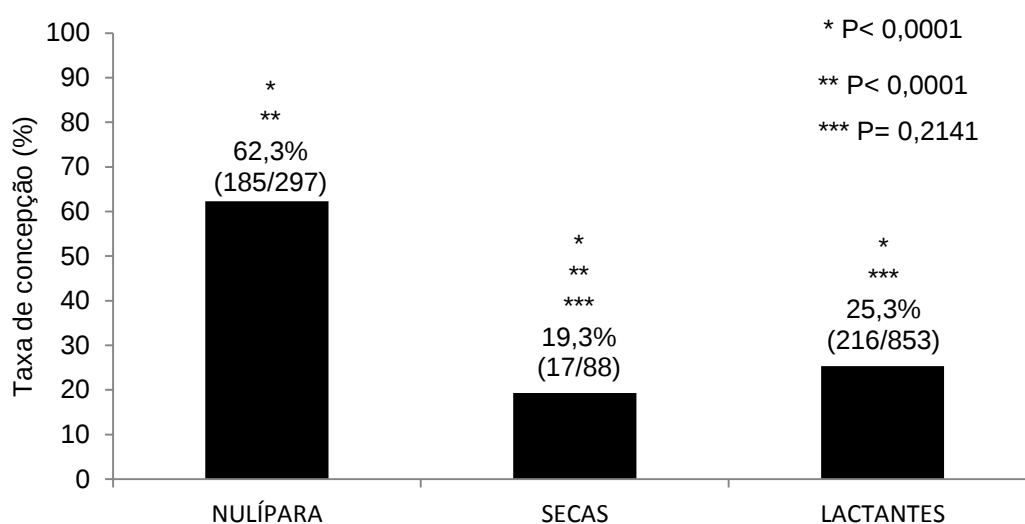
A taxa de concepção foi influenciada pelas biotecnologias (gráfico 5) utilizadas (IA ou IATF) e pelas categorias (gráfico 6) dos animais. Taxa de concepção semelhante (63,1%) foi relatada em novilhas leiteiras inseminadas de 1992 a 2002 em Israel (WOLFENSON, 2004). O melhor desempenho reprodutivo das nulíparas em relação às multíparas pode ser consequência da duração da dominância folicular pré-ovulatória, que tende a ser menor nas nulíparas (1,2 dias) do que nas vacas; das maiores concentrações de LH durante o pico pré-ovulatório das nulíparas comparado às multíparas. Já foi observado que as concentrações de estradiol no estro e as concentrações plasmáticas de progesterona do dia 3 ao dia 16 do ciclo estral foram maiores em nulíparas do que em vacas (WOLFENSON et al., 2004).

Isso sugere que as vacas tendem a ovular folículos maiores e mais velhos, e com um ambiente uterino menos favorável para a implantação do embrião após a ovulação (incluindo menor concentração de progesterona (MANN; LAMMING, 1999) e interferon-tau (MANN, 1999)) diminuindo as chances de concepção.

Outros fatores podem influenciar a maior fertilidade das nulíparas quando comparadas às múltiparas: a ausência de produção de leite; menor produção de calor metabólico; maior relação superfície/massa corpórea, aumentando a eficiência da troca de calor; a menor depuração de hormônios esteróides, resultando em níveis plasmáticos de estradiol pré-ovulatórios elevados e afetando os pulsos basais de LH (GILAD et al, 1993).

Ao agrupar em vacas lactantes ou não (nulíparas e secas) observou-se um maior sucesso à prenhez nas nulíparas (62,3%) em relação às lactantes e secas ($P < 0,0001$) o que também foi observado quando nulíparas foram associadas às não lactantes ($P < 0,0001$), o que não ocorreu entre as múltiparas lactantes e secas ($P = 0,2141$) (gráfico 7).

Gráfico 7 – Taxa de concepção aos 30 dias em vacas lactantes e não lactantes (nulíparas e secas).



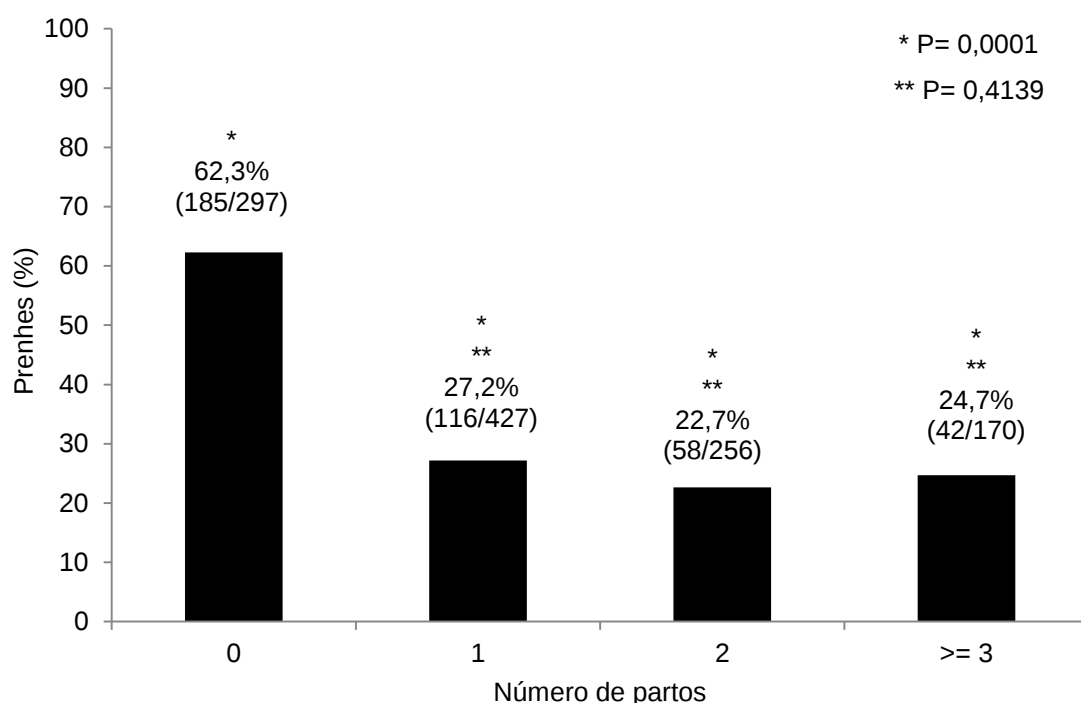
Fonte: Elaborado pelo autor (2021)

Acredita-se que a baixa taxa de concepção associada à categoria das vacas secas em relação às nulíparas seja consequência do alto DEL ($221,5 \pm$

16,71), sugerindo que os animais apresentavam alguma patologia não catalogada em nosso banco de dados (casco, mastite, doenças metabólicas entre outros) e ou sejam repetidoras de cio, com um desempenho reprodutivo ruim (YUSUF et al., 2010).

Pelo fato da categoria múltipara não lactantes (secas) ser constituída de um pequeno número de observações ($n = 88$) e estar associada ($P < 0,0001$) à menores taxas de concepção (19,3%) quando comparadas às nulíparas, ficou estabelecido a exclusão dessa categoria para as futuras análises, por ser interpretado como observações de indivíduos com algum distúrbio não registrado (mastites, cascos, etc), podendo interferir nos resultados futuros, ou seja, para esse experimento foi estabelecido a análise de animais em lactação independente do número de partos (nulípara, primípara e múltipara) e nulíparas.

Gráfico 8 - Taxa de concepção 30 dias após IA ou IATF em vacas leiteiras considerando o número de partos.



Fonte: Elaborado pelo autor (2021)

As nulíparas apresentaram maiores ($P = 0,0001$) taxa de concepção (62,3%), que as primíparas e múltiparas, independente da biotécnica reprodutiva

empregada (IA ou IATF), o mesmo resultado não foi observado quando as primíparas e multíparas (igual ou maior a 2 partos) foram comparadas entre si ($P=0,4139$, gráfico 8). Sugerindo que nessa observação a produção de leite causa um efeito negativo na taxa de concepção quando comparado a categoria não lactante (nulíparas). Isso nos indica que o número de crias de vacas lactantes, não esta diretamente relacionada à taxa de concepção, já que estas estão em produção de leite e sob o mesmo ambiente.

6.4 Associações de taxa de concepção e dias em lactação e produção de leite

A variação na taxa de concepção de vacas leiteiras submetidas às biotécnicas reprodutivas de IA ou IATF e posteriormente agrupada pelos intervalos de DEL nas categorias primípara e multípara está apresentada na tabela 3.

Em geral a taxa de concepção foi superior nas vacas submetidas à IA quando comparadas as vacas inseminadas após protocolo de IATF (30,6% (421) vs. 20,1% (432); $P<0,0004$), o mesmo ocorreu quando as categorias primíparas (33,0% (209) vs. 21,6% (218); $P=0,0078$) e multíparas (28,3% (212) vs. 18,7% (214); $P=0,0193$) foram analisadas em separado.

A taxa de concepção foi maior nas primíparas que foram inseminadas após apresentação de cio (IA) nos intervalos de 0 – 100 DEL (35,4% (82) vs. 21,1% (128); $P=0,0225$) e 101 e 200 DEL (37,1% (70) vs. 20,4% (54); $P=0,0430$).

Para as categorias primípara e multípara não houve associação entre taxas de concepção quando analisadas dentro da mesma biotecnologia empregada IA ($P= 0,2943$) e IATF ($P=0,4574$).

A análise da taxa de concepção nas escalas de dias em lactação não demonstrou associações dentro da mesma biotécnica reprodutiva empregada, ao contrario do que era esperado, pois acreditava se que o perfil metabólico correspondente à ingestão de matéria seca e produção de leite em cada intervalo resultaria em diferente metabolização dos hormônios reprodutivos devido às demandas influenciando a retomada da atividade ovariana e taxas de concepção. Em pesquisa que avaliou a taxa de concepção em sete intervalos de DEL para vacas inseminadas após observação de cio uma única vez, obteve-se resultados semelhantes (YUSUF et al., 2011).

Tabela 3 - Taxa de concepção (%) e (total de observações) de vacas primíparas e multíparas em diferentes dias em lactação (DEL) inseminadas por IA ou IATF.

		Primípara				Multípara				
		Dias em lactação				Dias em lactação				P
	Geral	0 - 100	101 - 200	≥ 201	Categoria	0 - 100	101 - 200	≥ 201	Categoria	Prim. x Mult.
IA	30.6	35.4	37.1	21.1	33.0	27.2	31.7	26.5	28.3	0.2943
	(421)	(82)	(70)	(57)	(209)	(81)	(63)	(68)	(212)	
IATF	20.1	21.1	20.4	25.0	21.6	18.3	21.2	15.9	18,7	0.4574
	(432)	(128)	(54)	(36)	(218)	(104)	(66)	(44)	(214)	
P	0,0004	0,0225	0,043	0,6574	0,0078	0,1486	0,1746	0,1899	0,0193	

Os valores de P são do teste do qui-quadrado para mostrar qualquer contingência com o tratamento. $P < 0,05$ sugere uma associação entre as variáveis às quais os participantes do tratamento foram atribuídos e uma tendência para valores de P entre 0,05 e 0,1.

O valor P abaixo de cada coluna indica o resultado da contingência entre as técnicas reprodutivas.

O valor P ao final de cada linha indica o resultado da contingência entre categorias.

Fonte: Elaborado pelo autor (2021)

Embora significância não foi observada em teste de associação da taxa de concepção com as categorias, observou-se que as primíparas submetidas à IA em até 200 DEL tiveram resultados numericamente superiores às multíparas que pode ser consequência da melhor capacidade termorregulatória, já que as primíparas produziram menos leite do que as multíparas e tem uma menor massa em relação a área corporal associando a menor produção de calor com a maior dissipação de calor (BERNABUCCI et al., 2014).

Na tabela 4 é apresentada a taxa de concepção para os animais que receberam as técnicas reprodutivas de IA ou IATF e agrupadas de acordo com a produção de leite em $\leq 27,1$ L e $\geq 27,2$ L nas categorias primípara ou multípara.

A taxa de concepção foi maior ($P=0,0004$) nas vacas que foram inseminadas após apresentarem cio (30,6%) quando comparadas com as vacas que receberam protocolo de IATF (20,1%).

Observou-se associação da taxa de concepção entre IA e IATF para primípara ($P=0,0118$) e multípara ($P=0,0235$) com produção de leite acima da média e, ao associar as diferentes produções de leite com as técnicas reprodutivas empregadas foi encontrada associação na categoria primípara ($P=0,0262$) e uma tendência para multíparas ($P=0,0950$) conforme demonstrado na tabela 4.

Tabela 4 - Taxa de concepção e (total de observações) de primíparas e multíparas separadas pela média da produção de leite, submetidas a IA e IATF.

	Geral	Primípara		Multípara		P
		≤ 27,1 L	≥ 27,2 L	≤ 27,1 L	≥ 27,2 L	Prim. x Mult.
IA	30,6 (421)	29,6 (135)	39,2 (74)	25,7 (101)	30,6 (111)	0,3406
IATF	20,1 (432)	22,2 (144)	20,3 (74)	19,1 (68)	18,5 (146)	0,8538
P	0,0004	0,1576	0,0118	0,3162	0,0235	
		0,0262		0,095		

Os valores de P são do teste do qui-quadrado para mostrar qualquer contingência com o tratamento. $P < 0,05$ sugere uma associação entre as variáveis às quais os participantes do tratamento foram atribuídos e uma tendência para valores de P entre 0,05 e 0,1.

O valor P abaixo de cada coluna indica o resultado da contingência entre as técnicas reprodutivas.

O valor P ao final de cada linha indica o resultado da contingência entre categorias.

Fonte: Elaborado pelo autor (2021)

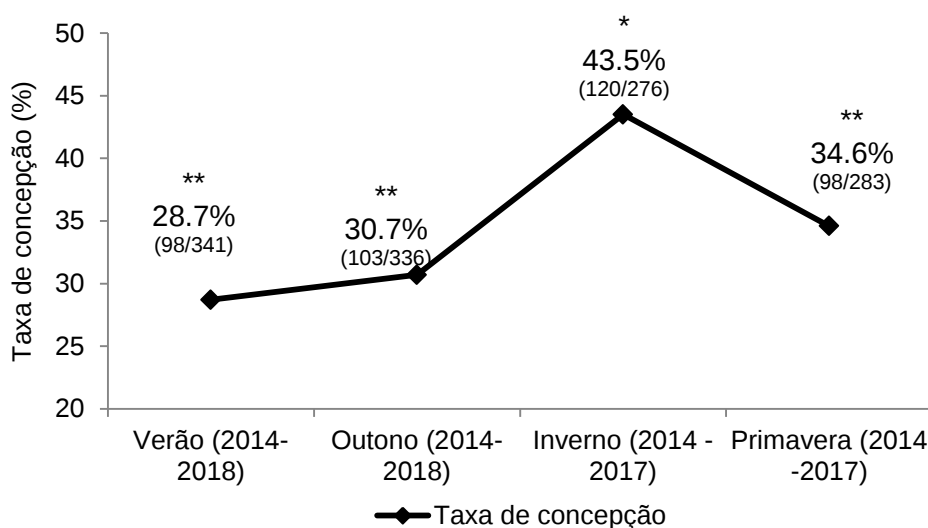
As melhores taxas de concepção de vacas submetidas à IA com produção de leite acima da média pode ser explicado pela diferença de DEL médio (163.2 [$\leq 27.1L$] vs. 116.6 [$\geq 27.2L$]; $P < 0,0001$) sendo sugestivo que vacas em início de lactação sofram menos com os efeitos do estresse térmico em comparação com vacas de lactação média e tardia (PERERA et al., 1986). Os melhores índices reprodutivos nos períodos de menor DEL coincidem com maior produção de leite como observado por Nebel (1993) em vacas inseminadas após observação de estro, portanto, a lactação pode modificar a resposta ao estresse térmico (WILSON, 1998). Deve-se levar em consideração que a primeira inseminação ocorreu 40 dias após o parto, período em que as vacas se encontravam fora do nadir de BEN (que ocorre na primeira e segunda semana de lactação). Existe uma correlação positiva entre produção de leite e os dias até a primeira ovulação (40 dias) quando a maioria das vacas já ovularam segundo Butler e Smith (1989). Ainda o protocolo de IATF, pode ter funcionado de forma análoga à um programa pré sincronização que tem a função de “limpar” o ovário de folículos e oócitos danificados (NEGRON-PEREZ, 2019).

Por não existir associação entre primíparas e multíparas para IA e IATF, $P = 0,2943$ e $P = 0,4574$ (tabela 3), $P = 0,3406$ e $P = 0,8538$ (tabela 4) foi decidido agrupar o conjunto de dados dessas duas categorias com a finalidade de termos um banco de dados mais robusto para análise estatística.

6.5 Associações de taxa de concepção com classes térmicas

Nas estações do ano que compreendem o período do experimento foi observado que a estação inverno está associada à melhores taxas de concepção quando comparados às demais estações do ano (inverno 43.5% [120/276] vs. verão 28.7% [98/341]; $P=0.0001$); inverno vs. outono (30.7% [103/336]; $P=0.001$) e inverno vs. primavera (34.6% [98/283]; $P=0.032$), para o rebanho geral como, demonstrado no gráfico 9.

Gráfico 9 – Taxa de concepção nas estações do ano no período de 2014 a 2017.



Sinais diferentes (*e**) indicam associação pelo teste qui-quadrado para mostrar qualquer contingência.

$P < 0,05$ sugere uma associação entre as variáveis às quais os participantes do tratamento foram atribuídos e uma tendência para valores de P entre 0,05 e 0,1.

Verão vs. outono: $P=0.58$

Verão vs. primavera: $P=0.11$

Outono vs. primavera: $P=0.29$

Inverno vs. verão: $P<0.0001$

Inverno vs. outono: $P<0.001$

Inverno vs. primavera: $P=0,03$

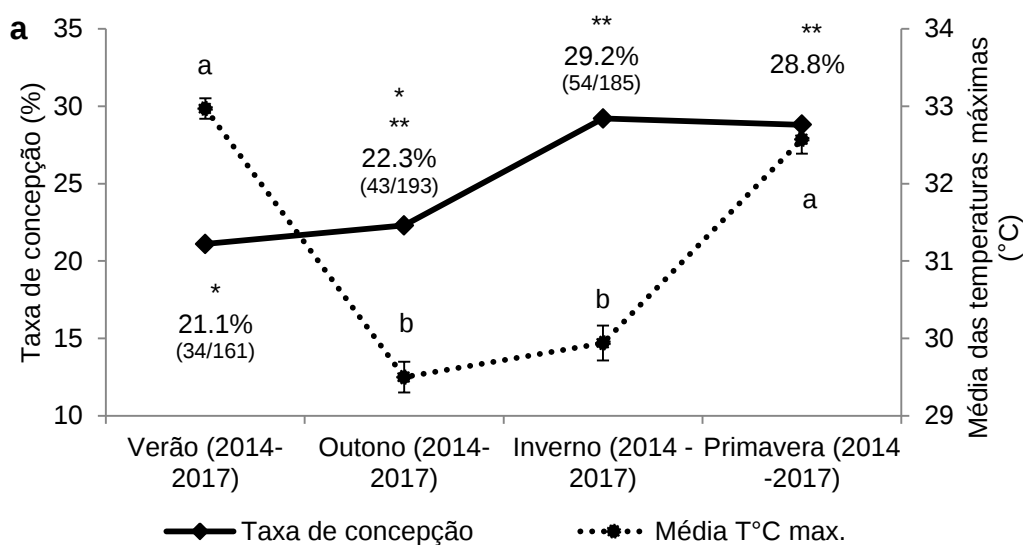
Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

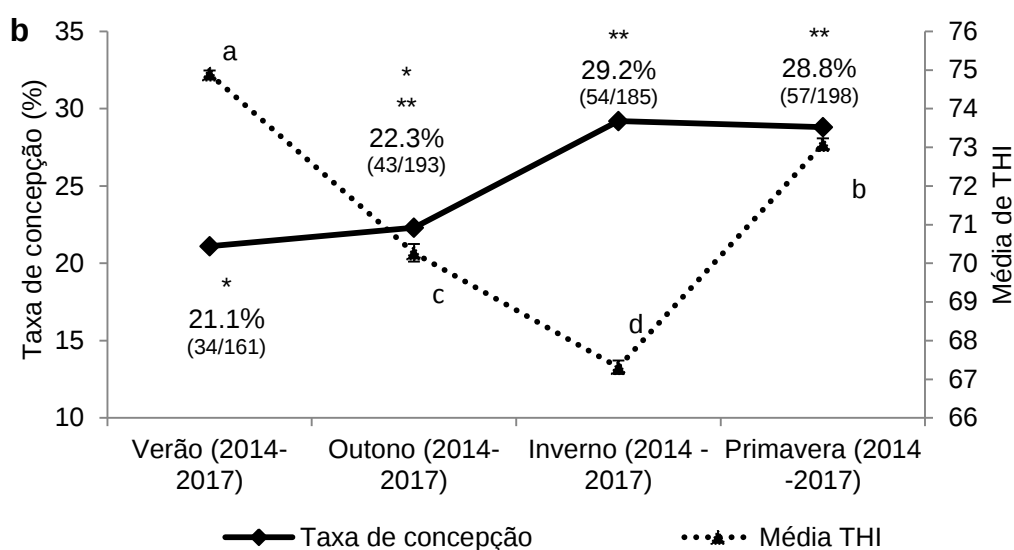
A taxa de concepção foi 33.9% menor no verão (28.7% [98/341]) em relação ao inverno (43.5% [120/276]) estes resultados estão de acordo com De Rensis e Sacaramuzzi (2003). Acredita-se que no verão os animais encontraram-se em um estresse térmico contínuo, afetando o desenvolvimento folicular e a qualidade dos oócitos, mesmo alocados em barracões com ventiladores e

aspersores, situação semelhante foi relatado por Flamenbaum e Galon (2010). Vale ressaltar que os efeitos adversos do estresse térmico prolongado no verão (gráficos 1 e 2) não interrompe por completo atividade reprodutiva do bovino, encontrando no rebanho animais que mantém alta produção de leite e fertilidade, considerados fenotipicamente termotolerantes caracterizados por uma reação reduzida a altas temperaturas que se manifesta por marcadores de estresse mais baixos, como concentração de cortisol e HSP70, em comparação com companheiros de rebanho termossensíveis, além disso, em vacas fenotipicamente termotolerantes, a magnitude do pico de LH pré-ovulatório induzido por GnRH é significativamente maior do que em vacas termossensíveis (NANAS et. al. 2020).

A variação da média das temperaturas máximas (°C) diárias e THI dia nas estações climáticas são apresentadas nos gráficos 10-a e 10-b, respectivamente, em ambos há tendência da taxa de concepção do verão (21.1% [34/161]) ser inferior à do inverno (29.2% [54/185]; $P=0.0855$) e primavera (28.8% [57/198]; $P=0.0966$), para vacas em lactação.

Gráfico 10 – Temperaturas máximas diárias e taxa de concepção nas estações do ano no período de 2014 a 2017 (média e erro padrão da média) de vacas em lactação (a). THI diário e taxa de concepção nas estações do ano no período de 2014 a 2017 (média e erro padrão da média) de vacas em lactação(b).





Sinais diferentes (*e**) indicam associação/ tendência pelo teste qui-quadrado para mostrar qualquer contingência.

$P < 0,05$ sugere uma associação entre as variáveis às quais os participantes do tratamento foram atribuídos e uma tendência para valores de P entre 0,05 e 0,1.

Verão vs. outono: $P=0,7919$

Verão vs. inverno: $P=0,0855$

Verão vs. primavera: $P=0,0966$

Outono vs. inverno: $P=0,1242$

Outono vs. primavera: $P=0,1403$

Inverno vs. primavera: $P=0,9311$

Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

Embora a estação outono apresente média de temperaturas e THI inferiores aos meses mais quentes (primavera e verão) a fertilidade continua baixa (outono 22.3% [43/193] vs. verão 21.1% [34/161]; $P= 0,79$) esse fenômeno é conhecido como “síndrome da baixa fertilidade do verão” (WOLFENSON et al., 1997) sendo causado pelos efeitos tardios (40 a 50 dias) do estresse térmico nos ovários considerando que o desenvolvimento folicular demora cerca de 50 dias até a ovulação (ROTH et al., 1997).

Foi observado (NANAS, 2021) que vacas de leite possuem maior concentração de progesterona no inverno quando comparadas ao verão ($8,7 \pm 5,4$ ng/mL, e $6,8 \pm 3,0$ ng/mL). No presente experimento a taxa de concepção foi menor que 50% no inverno (29.2% [54/185]) mesmo com a média de THI dentro da ZCT para raça holandesa, reforçando a percepção de que as baixas taxas de concepção não são consequência somente do estresse térmico, mas sim resultado de associação outros fatores como produção de leite, que afetam o eixo reprodutivo (gráfico 10a e 10b).

6.6 Associações de taxa de concepção e produção de leite e classes térmicas

Ao analisar a associação das técnicas reprodutivas, com a produção de leite (acima ou abaixo da média) nas classes térmicas observou-se que as vacas que receberam IATF tiveram pouca interferência das classes térmicas na taxa de concepção, já nas nulíparas as maiores taxas de concepção ocorreram no limiar térmico inferior (estações outono/inverno; ambiente com temperatura < 30°C e THI < 72, quando avaliado em dia e em médias), descrito na tabela 5.

Para as vacas que receberam IA, as melhores taxas de concepção foram identificadas nas características climáticas/ambientais mais próximas da TCS/ZCT. Já os animais com produção de leite acima da média (27,2 L) nas seguintes classes térmicas: MTM (P=0,008), TMd (P<0,0001) e THId (P=0,0234) e, nas vacas que produziam leite abaixo da média (27,1 L): MTHI (P=0,0229) e TMd (P=0,0199) houve associação nas classes térmicas (tabela 5).

Houve tendência de melhores taxas de concepção para animais com produção acima da média e que receberam IA nas estações climáticas outono/inverno (P = 0,0728) e para MTM < 30°C (P=0,0551).

Tabela 5 – Taxa de concepção e (total de observações) de animais submetidos à IA (nulípara, primípara + múltipara) e IATF (primípara + múltipara) separados pela média de produção de leite (L) em diferentes classes térmicas.

(continua)

Classes térmicas	Variáveis	IA	IA		IATF		P	
		Nulípara	Prim.+mult.		Prim.+mult.		≤27,1L x ≥27,2L	
			≤27,1L	≥27,2L	≤27,1L	≥27,2L	IA	IATF
Estações climáticas	Outono/inverno	67,7 ⁽¹⁵⁵⁾	26,9 (108)	38,3 (107)	21,1 (95)	17,9 (117)	0,0728	0,5693
	Primavera/verão	56,3 ⁽¹⁴²⁾	28,9 (128)	28,2 (78)	21,4 (117)	20,4 (103)	0,914	0,8586
P		0,0428	0,7261	0,1518	0,9555	0,7316		

Tabela 5 – Taxa de concepção e (total de observações) de animais submetidos à IA (nulípara, primípara + multípara) e IATF (primípara + multípara) separados pela média de produção de leite (L) em diferentes classes térmicas.

(conclusão)								
Classes térmicas	Variáveis	IA	IA		IATF		P	
		Nulípara	Primípara + multipara produção de leite				≤27,1L x ≥27,2L	
			≤27,1L	≥27,2L	≤27,1L	≥27,2L	IA	IATF
MTM ¹	Moderado (25 – 29,9°C)	73,5 (83)	28,8 (59)	44,9 (78)	20,8 (48)	15,1 (73)	0,0551	0,4127
	Severo + risco (≥30°C)	57,9 (214)	26,6 (177)	26,2 (107)	21,3 (164)	21,1 (147)	0,9431	0,9565
	P	0,0131	0,7353	0,008	0,9396	0,2847		
MTHI ²	Neutro + limite (<72)	70,3 (155)	37,1 (167)	33,3 (30)	23,4 (77)	21,3 (108)	0,6913	0,7370
	Moderado (≥72)	53,5 (142)	25,2 (147)	23,7 (77)	20 (135)	17 (112)	0,7671	0,5418
	P	0,0028	0,0229	0,2926	0,5631	0,4138		
TMd ³	Neutro + limite + moderado (< 30°C)	79,8 (84)	41,3 (46)	56,9 (51)	27,4 (62)	17,4 (86)	0,1259	0,1457
	Severo + risco (≥30°C)	55,4 (213)	24,2 (190)	25,4 (134)	18,7 (150)	20,1 (134)	0,8111	0,7523
	P	< 0,0001	0,0199	< 0,0001	0,1563	0,6181		
THId ⁴	Neutro + limite (<72)	69,8 (139)	30 (90)	41,2 (102)	23 (74)	20,4 (98)	0,1073	0,6853
	Moderado (≥72)	55,7 (158)	25,3 (146)	25,3 (83)	20,3 (138)	18 (122)	0,9945	0,6449
	P	0,0124	0,4344	0,0234	0,6488	0,6559		

Os valores de P são do teste do qui-quadrado para mostrar qualquer contingência com o tratamento. P< 0,05 sugere uma associação entre as variáveis às quais os participantes do tratamento foram atribuídos e uma tendência para valores de P entre 0,05 e 0,1.

O valor P abaixo de cada coluna indica o resultado da contingência entre as variáveis térmicas.

O valor P ao final de cada linha indica o resultado da contingência entre média de produção de leite (abaixo e acima)

1 MTM: média da máximas temperaturas diárias

2 MTHI: média de THI

3 TMd: Temperatura máxima do dia

4 THId: Índice de temperatura-umidade do dia

Fonte: Elaborado pelo autor (2021)

Na tabela 5, pode-se observar associações e tendências da taxa de concepção em diferentes classes térmicas em vacas inseminadas após observação de cio natural (IA) e na tabela 6 foram separadas em quartis de produção de leite.

Na tabela 6 é apresentada a taxa de concepção nos diferentes quartis de produção de leite nos animais que receberam IA e foi encontrada associação de taxa de concepção com as variáveis térmicas em vacas com produção acima de 21,3L para TMD < 30°C (P=0,0025) no segundo quartil. No terceiro quartil (26,3 a 31,6 L) as maiores taxas de concepção foram associadas às menores variáveis de cada classe térmica para MTM (P=0,0035), TMD (P=0,0028), MTHI (P=0,0025) e THId (P=0,0407). E para vacas produzindo acima de 31,7 L houve associação na TMD < 30°C (P=0,0004).

Uma tendência de maior taxa de concepção nas menores variáveis das seguintes classes térmicas foi encontrada no terceiro quartil para estação climática outono/inverno (P=0,0943) e no último quartil para MTM < 30°C (P=0,0843) e THId < 72 (P=0,0738).

Ao analisar associações interquartis os animais com produção de leite inferior a 21,2 litros tiveram uma menor taxa de concepção para TMD < 30°C.

Tabela 6 - Taxa de concepção (%) e (total de observações) de animais submetidos à IA separados por quartis de produção de leite (L) em diferentes classes térmicas.

(continua)

Classes térmicas	Variáveis	IA		IA			
		Nulípara	Primípara + múltipara				
			produção de leite				
			≤ 21,2L	21,3 a 26,2L	26,3 a 31,6L	>31,7L	P
Estações climáticas	Outono/inverno	67,7 (155)	27,8 (54)	24,4 (41)	36,4 (55)	38,5 (65)	0,3615
	Primavera/verão	56,3 (142)	26,9 (52)	34,4 (64)	21,6 (51)	30,8 (39)	0,4864
	P	0,0428	0,9214	0,2782	0,0943	0,4276	
MTM ¹	Moderado (25 – 29,9°C)	73,5 (83)	28,6 (28)	21,7 (23)	47,2 (36)	44 (50)	0,1269
	Severo + risco (≥30°C)	57,9 (214)	26,9 (78)	32,9 (82)	20 (70)	27,8 (54)	0,3606
	P	0,0131	0,8667	0,303	0,0035	0,0843	
MTHI ²	Neutro + limite (<72)	70,3 (155)	28,9 (38)	28,9 (38)	41,4 (58)	41,3 (63)	0,3790
	Moderado (≥72)	53,5 (142)	26,5 (68)	31,3 (67)	14,6 (48)	26,8 (41)	0,2315
	P	0,0028	0,7838	0,7977	0,0025	0,1328	

Tabela 6 - Taxa de concepção (%) e (total de observações) de animais submetidos à IA separados por quartis de produção de leite (L) em diferentes classes térmicas.

(conclusão)

Classes térmicas	Variáveis	IA	IA				
		Nulípara	Primípara + múltipara (produção de leite)				
			≤ 21,2L	21,3 a 26,2L	26,3 a 31,6L	>31,7L	P
TMd ³	Neutro + limite + moderado (< 30°C)	79,8 (84)	26,1 (23)	62,5 (16)	51,9 (27)	61,3 (31)	0,0488
	Severo + risco (≥30°C)	55,4 (213)	27,7 (83)	24,7 (89)	21,5 (79)	24,7 (73)	0,8412
	P	< 0,0001	0,8771	0,0025	0,0028	0,0004	
THId ⁴	Neutro + limite (<72)	69,8 (139)	27,9 (43)	30,6 (36)	38,5 (52)	42,6 (61)	0,3939
	Moderado (≥72)	55,7 (158)	27 (63)	30,4 (69)	20,4 (54)	25,6 (43)	0,7550
	P	0,0124	0,9167	0,9898	0,0407	0,0738	

Os valores de P são do teste do qui-quadrado para mostrar qualquer contingência com o tratamento. P< 0,05 sugere uma associação entre as variáveis às quais os participantes do tratamento foram atribuídos e uma tendência para valores de P entre 0,05 e 0,1.

O valor P abaixo de cada coluna indica o resultado da contingência entre as variáveis térmicas.

O valor P ao final de cada linha indica o resultado da contingência entre os quartis de produção de leite

1 MTM: média da máximas temperaturas diárias

2 MTHI: média de THI

3 TMd: Temperatura máxima do dia

4 THId: Índice de temperatura-umidade do dia

Fonte: Elaborado pelo autor (2021)

A taxa de concepção de vacas em lactação submetidas a IA após observação de estro (tabela 5 e 6) tiveram melhor resultado quando a classe térmica apresentava limiar inferior (< 30°C e < 72 THI), que pode ser resultado direto do efeito do estresse térmico no desenvolvimento folicular (RENSIS; SCARAMUZZI, 2003); o aumento da temperatura uterina estar associado à produção de proteínas de choque térmico pelo endométrio e redução da produção de interferon-tau pelo concepto (De RENSIS et al., 2015); ocorre aumento de produção de prostaglandina pelo endométrio resultando em luteólise prematura (MALAYER et al., 1990); ocorre redução a adesão do embrião (EALY et al., 1993); repercutindo em maiores chances de perdas embrionárias em períodos quentes chegando a 3,7 vezes mais do que nas estações frias (LÓPEZ-GATIUS et al., 2004), queda no desenvolvimento de

blastocisto de 45 a 75% após choque térmico para vacas holandesas (EBERHARDT et al., 2009).

Com a finalidade de aumentar o tamanho de observações, foram adicionadas informações de produção de leite das vacas que receberam IATF aos da tabela anterior, conforme demonstrado na tabela 7, a fim de deixar os dados mais robustos.

Foi observado associação de taxa de concepção com limite térmico inferior nas variáveis TMd <30°C (P=0,0004) nos animais com produção superior a 21,8 L (segundo quartil) e, no último quartil MTHI (P=0,0164) e THId < 72 (P=0,0192).

Tendência para melhores taxas de concepção foi encontrado para vacas com produção ≥ 32.1 L em TMd (P=0,0606) inferior a 30°C.

Tabela 7 – Taxa de concepção (%) e (total de observações) de nulíparas submetidas à IA e, primípara + múltipara submetidas a IA + IATF separados por quartis de produção de leite (L) em diferentes classes térmicas. (continua)

Classes térmicas	Variáveis	IA	IA + IATF				
		Nulípara	Primípara + Múltipara				
			≤ 21.8L	21.9 a 27L	27.1 a 32L	≥ 32.1L	p
Estações climáticas	Outono/inverno	67,7 (155)	24.5 (110)	25.9 (135)	25 (92)	22.5 (89)	0.9499
	Primavera/verão	56,3 (142)	26 (104)	22.2 (99)	25.7 (105)	29.4 (119)	0.6918
	P	0,0428	0.8116	0.5143	0.9085	0.2615	
MTM ¹	Moderado (25 – 29,9°C)	73,5 (83)	25.5 (51)	25 (56)	29.9 (167)	31 (84)	0.8327
	Severo + risco (≥30°C)	57,9 (214)	25.2 (163)	24.2 (178)	23.1 (130)	23.4 (124)	0.9465
	P	0,0131	0.9615	0.8980	0.3007	0.2248	
MTHI ²	Neutro + limite (<72)	70,3 (155)	27.8 (72)	26.6 (94)	29.7 (101)	33 (115)	0.7585
	Moderado (≥72)	53,5 (142)	23,9 (142)	21.4 (140)	20.8 (96)	18.3 (93)	0.7769
	P	0,0028	0.5418	0.3608	0.1528	0.0164	
TMd ³	Neutro + limite + moderado (< 30°C)	79,8 (84)	25.9 (54)	42.6 (54)	29.7 (64)	34.2 (73)	0.2799
	Severo + risco (≥30°C)	55,4 (213)	25 (160)	18.9 (180)	23.3 (133)	22.2 (135)	0.5801
	P	< 0.0001	0.8923	0.0004	0.3353	0.0606	

Tabela 7 – Taxa de concepção (%) e (total de observações) de nulíparas submetidas à IA e, primípara + múltipara submetidas a IA + IATF separados por quartis de produção de leite (L) em diferentes classes térmicas.

(conclusão)

Classes térmicas	Variáveis	IA	IA + IATF				
		Nulípara	Primípara + Multípara				
			≤ 21.8L	21.9 a 27L	27.1 a 32L	≥ 32.1L	p
THId ⁴	Neutro + limite (<72)	69,8 (139)	26.3 (76)	27.3 (88)	28,3 (92)	33.3 (108)	0.7063
	Moderado (≥72)	55,7 (158)	24.6 (138)	22.6 (146)	22.9 (105)	19 (100)	0.7836
	P	0,0124	0.7868	0.4202	0.3846	0.0192	

Os valores de P são do teste do qui-quadrado para mostrar qualquer contingência com o tratamento. $P < 0,05$ sugere uma associação entre as variáveis às quais os participantes do tratamento foram atribuídos e uma tendência para valores de P entre 0,05 e 0,1.

O valor P abaixo de cada coluna indica o resultado da contingência entre as variáveis térmicas.

O valor P ao final de cada linha indica o resultado da contingência entre os quartis de produção de leite

1 MTM: média da máximas temperaturas diárias;

2 MTHI: média de THI;

3 TMd: Temperatura máxima do dia;

4 THId: Índice de temperatura-umidade do dia.

Fonte: Elaborado pelo autor (2021)

O conjunto de informações apresentadas nas tabelas 5, 6 e 7 indicam que as melhores taxas de concepção estão associadas à menor carga térmica nas diferentes classes analisadas e que para estações do ano não houve interferência na taxa de concepção independente da produção de leite e biotecnologia reprodutiva empregada (IA ou IATF).

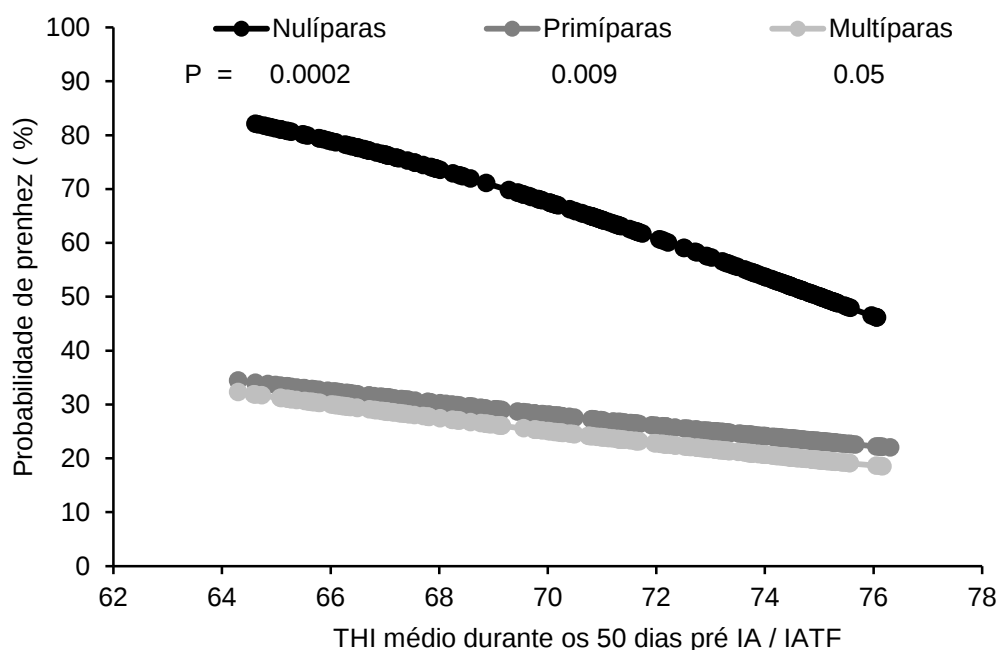
As taxas de concepção demonstradas nas tabelas 6 e 7 sugerem que vacas com produção de leite pertencente ao terceiro e quarto quartil são mais sensíveis aos fatores ambientais do que as vacas com produção leiteira inferior (primeiro e segundo quartil). A zona de termo neutralidade deve ser ajustada para temperaturas mais baixas à medida que a produção de leite, a ingestão de ração e a produção de calor metabólico aumentam (WALSH et al., 2011) ou aumentar a termotolerância (HANSEN, 2019). A taxa de concepção nas vacas submetidas à IATF foram inferiores ao esperado independente do DEL (tabela 3) ou da produção de leite pela média (tabelas 4 e 5) sugerindo que esse resultado esteja relacionado à biotécnica (protocolo de IATF) utilizado. Todas as vacas foram inseminadas independente da demonstração de estro, sabe-se que a expressão e a intensidade

de estro estão associadas a taxa de concepção (CERRI, 2018). Também não houve interferência de variáveis térmicas na taxa de concepção, resultados compatíveis aos apresentados por Silva (2014) em primíparas, multíparas de baixa ou alta produção submetidas à IATF.

Durante este experimento as inseminações foram realizadas somente com sêmen de touros da raça holandesa, a influencia da raça do touro deve ser levada em consideração. Os touros da raça Holandesa apresentam menores taxas de concepção, maiores perdas gestacionais nas vacas em lactação quando comparados aos touros da raça Gir, sugerindo maior tolerância ao calor na fase embrionária (PEGORER et al., 2007).

A seguir foi realizada a análise de regressão logística, a fim de avaliar o efeito das variáveis térmicas na probabilidade de prenhez em diferentes categorias (gráficos 11, 12, 13 e 14). Na sequencia (gráficos 15 e 16) foram inseridas informações de produção de leite (mediana e quartil).

Gráfico 11 – Probabilidade prenhez em relação ao THI médio de 50 dias que antecedem a data de IA / IATF de nulíparas (n = 297), primíparas (n = 473) e multíparas (n = 439).



Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

O gráfico 11 apresenta a influência negativa do aumento de MTHI na probabilidade de prenhez para as nulíparas ($P=0,0002$) e múltíparas ($P=0,05$) e uma tendência nas primíparas ($P=0,09$).

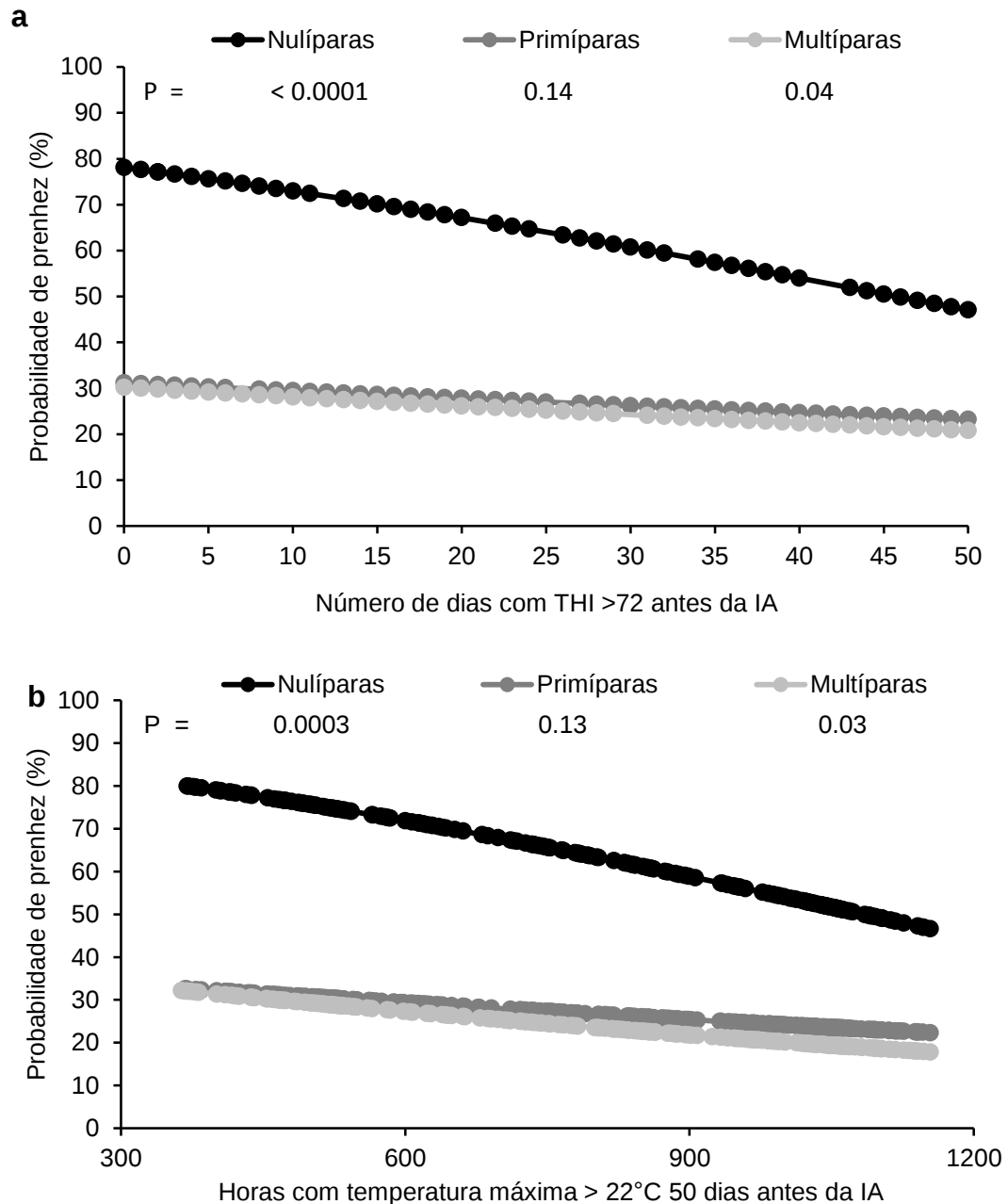
A queda na probabilidade de prenhes para nulíparas foi de 43.4% (de 82.1% para 46.5%), para primíparas foi de 35.8% (de 34.4% para 22.1%) e para múltíparas 42.4% (de 32.3% para 18.6%) no intervalo de MTHI 64.3 a 76.1.

Foi avaliado o efeito do número de dias (zero a 50 dias) de exposição ao estresse térmico ($THI \geq 72$) no período que antecede o evento reprodutivo IA/IATF (gráfico 12a) e foi observado que houve uma influencia negativa em nulíparas ($P < 0,0001$) e múltíparas ($P=0,04$); sendo as nulíparas com queda na probabilidade da taxa de concepção de 39.7% (de 78.1% para 47.1%), primíparas com queda de 25.6% (de 31.2% para 23.2%) e múltíparas com decréscimo de 31.1% (de 30.2% para 20.8%).

Resultado semelhante foi encontrado quando se analisou o número de horas com temperatura ambiente acima de 22°C (limite) no mesmo período, as nulíparas ($P=0,0003$) e múltíparas ($P=0,03$) apresentaram associação negativa com a probabilidade de prenhez (gráfico 12b). A queda na probabilidade de prenhez foi de 41% nas nulíparas (de 80% para 47.2%), 31.3% nas primíparas (de 32.6% para 22.4%) e 44.1% nas múltíparas (de 32.2% para 18%).

O tempo para o desenvolvimento folicular até o estagio antral (8,56 mm) é de aproximadamente 50 dias (LUSSIER et al, 1987 e ROTH et al., 2001), o efeito do estresse térmico nesse período em dias ou horas esta demonstrado nos gráficos 11, 12a e 12b. O efeito direto e negativo da temperatura na fertilidade pode ser explicado pelo dano causado nos folículos durante o estresse térmico resultando oócitos menos férteis ou corpos lúteos subfuncionais (HOWELL, 1994). Vacas mantidas em condições termoneutras tiveram concentrações séricas de estradiol maiores do que vacas mantidas em estresse térmico (WILSON, 1998) devido a Hsp 70 ser inibitória a esteroidogênese (KHANNA, 1995). Como reação comportamental os bovinos diminuem a ingestão de matéria seca durante o calor o que contribuem alterando os padrões de secreção de LH ou reduzindo as concentrações de IGF-I no sangue (LUCY et al., 1992).

Gráfico 12 – Probabilidade de prenhez (%) em relação ao número de dias com THI igual ou superior a 72 nos 50 dias que antecederam a IA / IATF para nulíparas (n = 296), primíparas (n = 471) e multíparas (n = 434) (a). Probabilidade de prenhez (%) em relação ao número de horas com temperatura ambiente igual ou superior a 22°C nos 50 dias que antecederam a IA / IATF para nulíparas (n = 297), primíparas (n = 473) e multíparas (n = 439) (b).



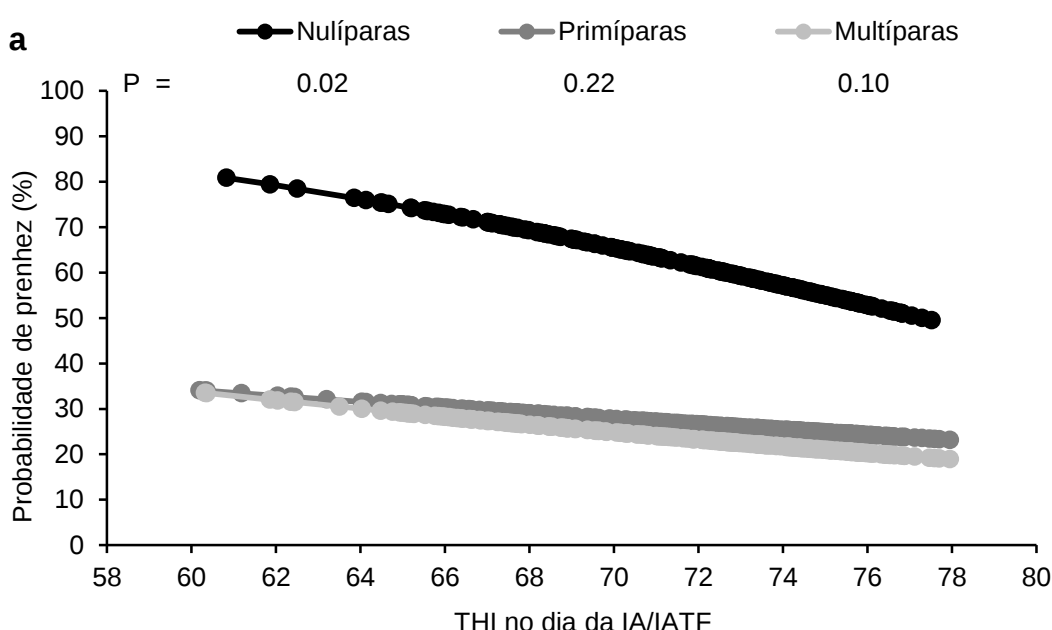
Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

As seguintes avaliações referem-se a regressões logísticas da probabilidade de prenhez em relação à temperatura máxima e THI no dia do evento reprodutivo (IA / IATF).

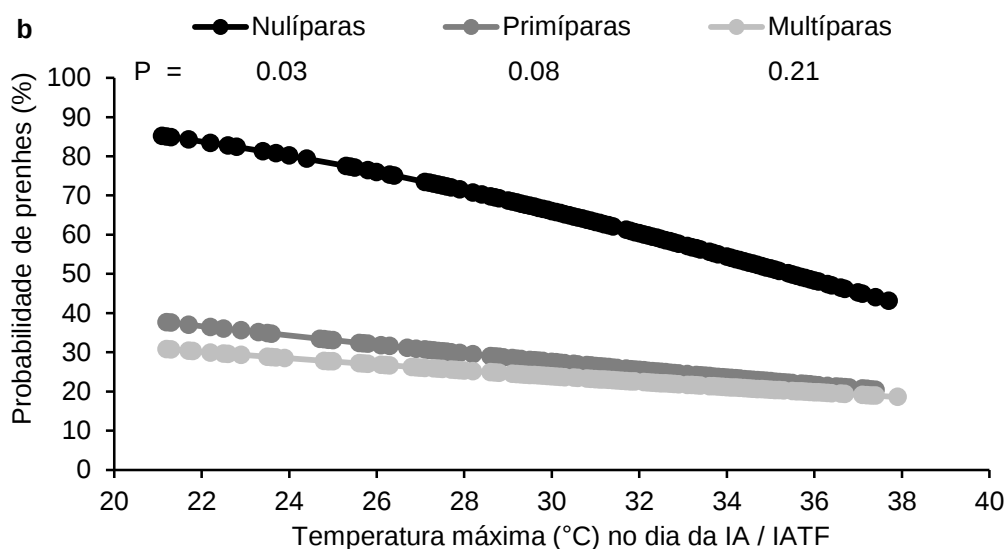
No dia do evento IA/IATF houve influência negativa do THI na probabilidade de prenhez para nulíparas ($P=0,02$) e uma tendência para multíparas ($P=0,10$, gráfico 13a) com queda de 38.1% em nulíparas (de 8.8% para 50%), 31.7% em primíparas (de 34.1% para 23.3%) e 43% nas multíparas (de 33.5% para 19.1%) no intervalo de THId de 60.2 a 78.

Houve influência negativa da temperatura máxima do dia da inseminação na probabilidade de prenhez em nulíparas ($P=0,03$) e uma tendência em primíparas ($P=0,08$, gráfico 13b). Para nulíparas houve uma queda de 49.4% (de 85.2% para 43.1%), 45.7% em primíparas (de 37.7% para 20.5%) e 39.5% nas multíparas (de 30.8% para 18.6%) no intervalo de TMD de 21.1°C a 37.9°C.

Gráfico 13 – Probabilidade de prenhez (em porcentagem) em relação ao (a) THI de nulíparas (n = 288); primíparas (n = 460) e multíparas (n = 426) no dia e do evento IA / IATF (a). Temperatura ambiente máxima de nulíparas (n = 288); primíparas (n = 461) e multíparas (n = 433) no dia e do evento IA / IATF (b).



Fonte: Elaborado pelo autor (2022)



Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

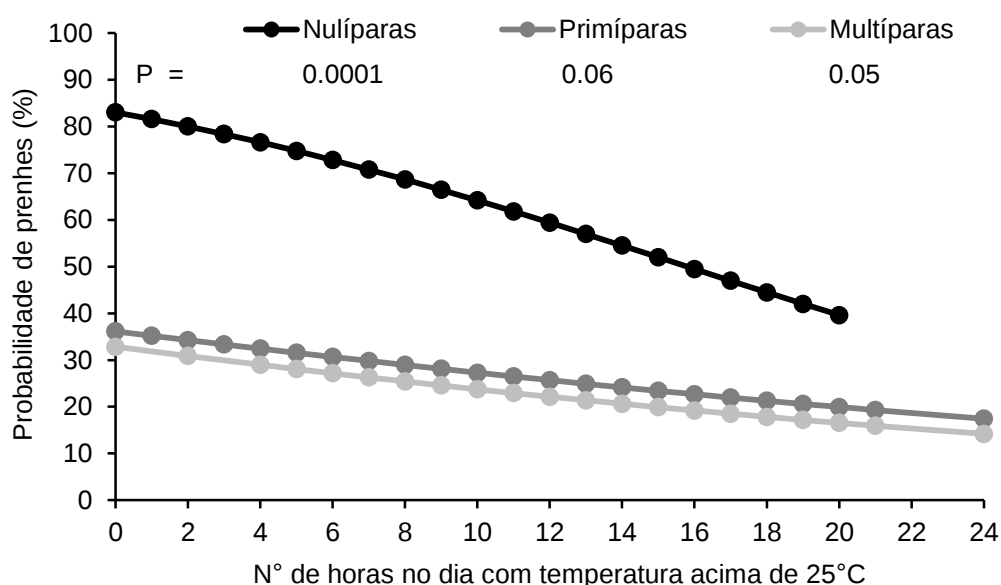
Foi observado o número de horas com temperatura ambiente acima de 25°C, nas 24 horas que antecederam a inseminação, diminuiu a probabilidade de prenhez nas nulíparas ($P=0,001$) e multíparas ($P=0,05$) e apresentou tendência de diminuição para primíparas ($P=0,06$, gráfico 14). A queda na probabilidade de prenhez foi de 52.3% (de 83% para 39.6%) em nulíparas, já para primíparas a queda foi de 51.8% (de 36.1% para 17.4%) e nas multíparas a diminuição foi de 56.8% (de 32.8% para 14.2%).

O estresse térmico também causa efeitos negativos no dia do evento reprodutivo (gráficos 13a, 13b e 14) tanto no comportamento, na diminuição de sinais externos de estro, como no tamanho do folículo. Para cada ponto de incremento de THI o diâmetro folicular reduz 0,1 mm (SCHULLER, 2017). O estresse térmico agudo *in vivo* aumentou a androstenediona no fluido folicular e diminuiu a concentração do estradiol. A produção de androstenediona basal é estimulada por forscolina pelas células da teca que é susceptível a estresses térmicos crônicos (verão), de curto prazo (inverno) e retardados (outono) (WOLFENSON, 1997).

A taxa de concepção em nulíparas leiteiras é consistentemente melhor do que vacas em lactação (tabelas 5, 6 e 7). Na literatura poucos fatores no rebanho ou animal foram identificados que afetem a fertilidade em nulíparas, a maior parte das taxas de concepção em novilhas é atribuível ao inseminador e ao touro (DONOVAN, 2003). Muitos dos estudos mostram que o estresse térmico ambiental não deve ter um impacto negativo significativo na concepção em novilhas

Holandesas (STEVENSON et.al. 2000). Os resultados de nossos estudos vêm na contramão do encontrado na literatura identificando que nulíparas apresentam uma associação de maior taxa de concepção nas condições ambientais mais favoráveis à raça e um declínio constante pela intensidade do aumento da temperatura ambiente e THI em dias (gráficos 12a, 13a e 13b) e horas (gráfico 12b e 14).

Gráfico 14 – Probabilidade de prenhez (em porcentagem) em relação ao número de horas com temperatura ambiente acima de 25°C no dia da IA / IATF de nulíparas (n = 297); primíparas (n = 473) e múltiparas (n = 439).



Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

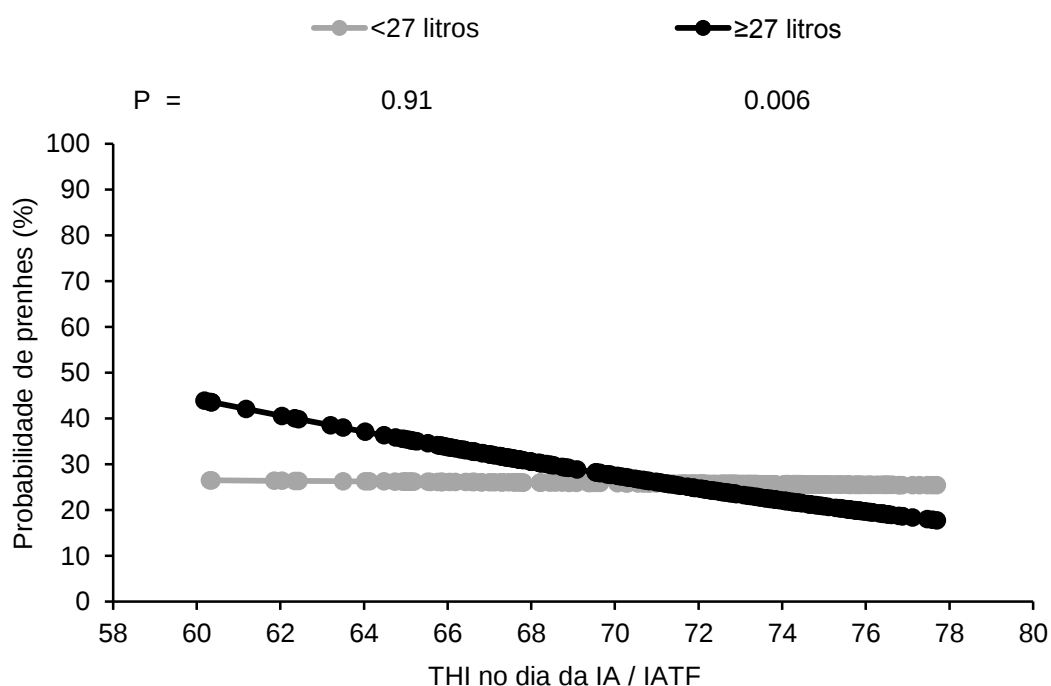
Pryce (2004) encontrou resultado semelhante quando comparou taxas de concepção de vacas leiteiras nulíparas e múltiparas (64 a 71% vs. 39 a 45%) e segundo ele não são animais energeticamente diferentes, mas a carga metabólica das novilhas não é tão grande como em vacas em lactação. Além disso, o estado fisiológico é muito diferente entre essas duas categorias (Royal et al. 2000) por um lado, animais de 15 meses que atingiram recentemente a puberdade com menor interferência no eixo hipotálamo-hipofisário, por outro lado, animais pós-parto em recuperação da estrutura uterina e estabelecimento da ciclicidade ovariana, seguido de uma vida lútea normal, BEN.

Animais com produção de leite acima da mediana (≥ 27 litros) sofreram influencia negativa do THI na probabilidade de prenhez ($P = 0,006$) no dia do evento

reprodutivo conforme apresentado no gráfico 15. Vacas com produção inferior a 27 litros de leite por dia tiveram uma queda na probabilidade de prenhes de 1.4% (de 25.8% para 25.4%), e vacas com produção igual ou maior a 27 litros de leite por dia tiveram uma queda na probabilidade de prenhez de 285 (de 24.7% para 17.8%) no intervalo de THId de 72 a 77.7.

Nos gráficos 15 e 16 o aumento da carga de calor reduziu significativamente a probabilidade de gravidez em multíparas em lactação, sendo a probabilidade de prenhez teve uma diminuição contínua com o aumento do THId (60,2 a 77,7) para vacas em lactação.

Gráfico 15 – Probabilidade de prenhez em relação ao THI no dia da IA / IATF nos animais como produção de leite abaixo (< 27 l; n = 396) e acima ($\geq$ 27 l; n = 414) da mediana.



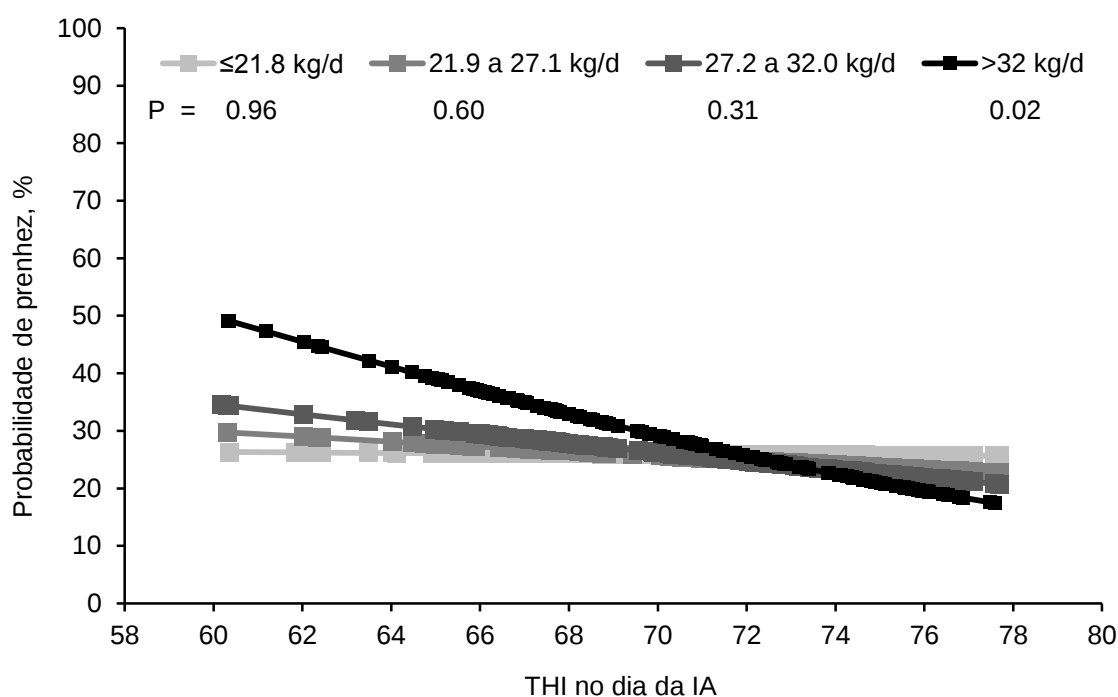
Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

No gráfico 16, vacas com produção de leite acima de 32 litros diários (quarto quartil) tiveram influencia negativa do THI do dia da inseminação, acima de 72, na probabilidade de prenhez (P= 0,02).

Observou-se que vacas com produção de leite superior a 21,9 L são menos propensas a engravidar em um ambiente de THI_d >72 e a probabilidade de prenhez diminui à medida que a produção de leite aumenta.

A queda na probabilidade de prenhez foi de 8,7% para vacas produzindo de 21,9 a 27,1L, 16,5% para 27,2 a 32,0L e 31,7% para vacas produzindo acima de 32L na faixa de THI_d 72 a 77,7. Esses resultados mostraram que o THI_d 72 é o limiar mais provável para a influência do estresse térmico nas taxas de concepção em vacas em lactação nestas condições de criação.

Gráfico 16 - Probabilidade de prenhez em relação ao THI no dia da IA / IATF nas vacas separadas por quartis de produção de leite (≤ 21.8 Kg/d, n = 205; 21.9 a 27.1 Kg/d, n = 218; 27.2 a 32 Kg/d, n = 194; > 32 Kg/d, n = 193).



Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

Pesquisadores relatam uma queda na taxa de concepção com THI_d maior que 70 nos Estados Unidos (RAVAGNOLO, 2002); 75 na Espanha (GARCIA-ISPIERTO, 2007) e 73 na Austrália (MORTON, 2007), sugere-se que essas diferenças ocorram devido a particularidades geográficas e características de produção do rebanho.

Morton (2007) relatou que os efeitos da exposição no dia do serviço podem ser devidos, em parte, a uma chance reduzida de fertilização se o transporte do esperma para o oviduto for prejudicado pela carga de calor no dia do serviço.

De acordo com Wiltbank (2006) a maior produção de leite devido à maior ingestão de matéria seca resultou em aumento do fluxo sanguíneo hepático, quando comparado a vacas não lactantes (2,3x maior), metabolizando mais hormônios esteróides (estrogênios e progesterona) consequentemente diminuindo as concentrações circulatórias desses hormônios, afetando negativamente a reprodução. A redução da atividade folicular com a alteração do mecanismo ovulatório promovendo a diminuição da qualidade oocitária e embrionária causada pelo estresse térmico (RENSIS; SCARAMUZZI, 2003) formam uma combinação perfeita que compromete a eficiência reprodutiva.

Esses resultados seguem a mesma direção descrita por Pursley (1997) e Lopez-Gatius (2003) relatando que a fertilidade é uma característica complexa e agregam outros fatores que contribuem para o seu resultado (BEN, concentrações sanguíneas, vitaminas, fertilidade do touro, cio, precisão de detecção, técnica de inseminação, etc.).

Nossos achados indicam que esse sistema de barracões e resfriamento não zeraram os efeitos do estresse térmico sobre os animais e variação do THI fornecida pelas estações meteorológicas pode ser usada como uma referência na avaliação do estresse térmico em vacas leiteiras. Tendo em conta que as condições climáticas no interior do galpão são dependentes de diferentes fatores (por exemplo, taxa de lotação, processos de limpeza) que podem levar a flutuações de curto prazo afetando também as correlações.

7 CONCLUSÕES

Nas condições climáticas do ambiente tropical, as nulíparas apresentaram melhores taxas de concepção quando comparadas as primíparas e multíparas, mesmo com $THId > 72$, acreditamos ser resultado da ausência da produção de leite apesar de serem termossensíveis. Por outro lado, vacas primíparas e multíparas em lactação mostraram-se termossensíveis diminuindo a taxa de concepção e probabilidade de prenhez à medida que a produção de leite e $THId$ aumentam para vacas da raça Holandesa criadas em sistema estabulado.

REFERÊNCIAS

- ALEXANDER, G. et al. Effects of acute and prolonged exposure to heat on regional blood flows in pregnant sheep. **J Dev Physiol**, Oxford, v. 9, n. 1, p.1-15, Feb. 1987.
- ALEXANDER, S.; IRVINE, C.H.G. Stress in racing horse: coping vs no coping. **J. Equine Vet Sci**. Wildomar, v.9, n.3, p.77-81,1998.
- ARMSTRONG, D. V. Heat stress interaction with shade and cooling. **J Dairy Sci**, Lancaster, v. 77, n. 7, p. 2044-2050, July 1994.
- BACCARI JR., F. Métodos e técnicas de avaliação da adaptabilidade dos animais às condições tropicais. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE BIOCLIMATOLOGIA ANIMAL NOS TRÓPICOS: PEQUENOS E GRANDES RUMINANTES, 1., 1986, Fortaleza. **Anais...** Brasília: EMBRAPA-DIE, 1990. p. 9-17.
- BACCARI JR, F. **Manejo ambiental da vaca leiteira em climas quentes**. Londrina: UEL, 2001. 142 p.
- BAÊTA, F. C.; SOUZA, C. F. **Ambiência em edificações rurais: conforto animal**. Viçosa: UFV, 1997. 246 p.
- BAILEY, T.; SHEETS, J.; McCLARY, D.; SMITH, S.; BRIDGES, A. **Redução do calor**. 2108. 54 p.
- BARBOSA, A.A; VIEIRA, L.V.; FREITAS, K.C; SILVEIRA, R. Efeito do estresse calórico no desempenho e bem estar das vacas. In: BARBOSA, A.A; VIEIRA, L.V.; FREITAS, K.C; SILVEIRA, R. **Estresse térmico em vacas leiteiras**. Ponta Grossa: Antena, 2021. p. 10 – 12.
- BARKER, D. J. The origins of the developmental origins theory. **J Intern Med**. Oxford, v. 261, n. 5, p. 412 - 417, May 2007.

BASIRICO, L., et al. Gene expression and protein secretion of apolipoprotein B100 (ApoB100) in transition dairy cows under hot or thermoneutral environments. **Ital. J. Anim. Sci.**, v. 8, n. 2, p. 592-594, 2009.

BAUMGARD, L. H.; RHOADS, R. P. Ruminant Nutrition Symposium: ruminant production and metabolic responses to heat stress. **J Anim Sci**, Champaign, v. 90, n.6, p.1855 - 1865. June 2012.

BAUMGARD, L.; RHOADS, R. Effects of heat stress on postabsorptive metabolism and energetics. **Annu Rev Anim Biosci**, Palo Alto, v. 1, p. 311 - 337. Jan. 2013.

BEEDE, D. K.; COLLIER, R. J. Potential nutritional strategies for intensively managed cattle during thermal stress. **J Anim Sci**. Champaign, v. 62, n. 2, p. 543–554, Feb. 1986.

BELAY, T.; TEETER, R. G. Broiler water balance and thermobalance during thermoneutral and high ambient temperature exposure. **Poult Sci**, Champaign, v. 72, n.1, p. 116 - 124, Jan. 1993.

BENJAMIN, M. M. Fluid and electrolytes. In: BENJAMIN, M. M. **Outline of Veterinary Clinical Pathology**. 2 ed. Iowa State University Press : Ames, 1981. p. 162 – 178.

BERCZI, I.; BERTOK, L.; BEREZNAI, T. Comparative studies on the toxicity of Escherichia coli lipopolysaccharide endotoxin in various animal species. **Can J Microbiol**, Monthly, v. 12, n.5, p. 1070 – 1071, Oct. 1966.

BERMAN, A. et al. Upper critical temperatures and forced ventilation effects for high-yielding dairy cows in a tropical climate. **J Dairy Sci**, Lancaster, v.68, n.6, p.1488 – 1495, June 1985.

BERNABUCCI, U. et al. Metabolic and hormonal acclimation to heat stress in domesticated ruminants. **Animal**, Cambridge, v. 4, n. 7, p. 1167 – 1183, July 2010.

BERNABUCCI, U. et al. The effects of heat stress in Italian Holstein dairy cattle. **J. Dairy Sci.**, Lancaster, v. 97, n. 1, p. 471-486, Jan. 2014.

BERNABUCCI, U; CALAMARI, L. Effects of heat stress on bovine milk yield and composition. **Zootec Nutri Anim**, Bologna, v. 24, n.6, p. 247-257, 1998.

BERTIPAGLIA, E. C. A. **Efeitos das características do pelame e da taxa de sudação sobre parâmetros reprodutivos em vacas da raça Braford**. 2007. 163f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária – Produção Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Câmpus de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Jaboticabal , 2007.

BHAT, U. G. et al. Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide upregulates insulin secretion from pancreatic β cell line MIN6. **J Periodontol**, Chicago, v. 85, n. 11, p. 1629 – 1636, Nov. 2014.

BIANCA, W. Reviews of the progress of dairy science Sect. A. Physiology. Cattle in a hot environment. **J Dairy Research**. London, v. 32, n.3, p. 291-345. Oct. 1965.

BIANCO, A. C.; KIMURA, E. T. **Fisiologia da glândula tireoide**. In: AIRES, M.M. Fisiologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999, p. 812-828.

BILBY, T. R. et al. Estratégias farmacológicas, nutricionais e de manejo para aumentar a fertilidade de vacas leiteiras sob estresse térmico. In: Novos enfoques na produção e reprodução de bovinos, 13., 2009, Uberlândia. **Anais eletrônicos...** Botucatu: CONAPEC Jr, 2009. Disponível em: http://www.ideagri.com.br/siteideagridados/Conapec/PALESTRAS/Novos_Enfoques_2009_Leite.zip. Acesso em 24 dez. 2021.

BLACKSHAW, J. K.; BLACKSHAW, A. W. Heat stress in cattle and the effect of shade on production and behavior: a review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**. Collingwood, v.34, n. 2, p.285-295, Jan. 1994.

BORCHARDT, S. et al. Effect of adding a second prostaglandin F₂ α injection during the Ovsynch protocol on luteal regression and fertility in

lactating dairy cows: A meta-analysis. **J Dairy Sci.**, Lancaster, v. 101, n. 9, p. 8566–8571, Sept. 2018.

BORGES, S. A. Suplementação de Cloreto de Potássio para Frangos de Corte Submetidos a Estresse Calórico. **Rev. bras. Zootec.**, Viçosa, v.28, n.2, p.313-319, Abr. 1999.

BROWN-BRANDL, T.M. et al. Analyses of thermoregulatory responses of feeder cattle exposed to simulated heat waves. **International Journal of Biometeorology**, v.49, p.285-296, 2005.

BUFFINGTON, D.E.et al. Black globe humidity index (BGHI) as a comfort equation for dairy cows. **Trans. ASAE**, St. Joseph, v. 24, n. 3, p. 711-714, 1981.

BURTON, J.L.; RONALD, J.E. Immunity and mastitis: Some new ideas for an old disease. **Vet Clin North Am Food Anim Pract.**, Philadelphia, v. 19, n.1, p. 1-45, Mar. 2003.

BUTLER, W. R.; SMITH, R. D. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. **J. Dairy Sci.**, Lancaster, v. 72, n. 3, p. 767, Mar 1989.

CAMPOS, R. et al Parâmetros hematológicos e níveis de cortisol plasmático em vacas leiteiras de alta produção no Sul do Brasil. **Braz J Vet Res Anim Sci**, São Paulo, v. 45, n. 5, p. 354 – 361, mar. 2008.

CARVALHO, G.; FREITAS, A. F.; VALENTE, J. et al. Fatores de ajustamento da produção de leite, de gordura e de proteína para idade em bovinos mestiços europeu-zebu. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 53, n. 6, p. 714-719, 2001

CATTELAM, J.; do Vale, M. M. Estresse térmico em bovinos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**. Lisboa, v. 108, n. 587 – 588, p. 96 – 102, 2013.

CEBALLOS, L. S. Composition of goat and cow milk produced under similar conditions and analyzed by identical methodology. **J Food Compost Anal**, San Diego, v. 22, n. 4, p. 322 – 329, June 2009.

CECILIANI, F. et al. Acute phase proteins in ruminants. **J Proteomics**, Amsterdam, v. 75, n. 14, p. 4207 – 4231, July 2012.

CERRI, R.L.A., et al. Heat Stress, Reproduction and Considerations on Thermotolerance. In: NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, 22., 2018, Uberlândia. **Anais eletrônicos...** Uberlândia: Conapec, 2018. Disponível em: <<http://www.conapecjr.com.br/index.php>>. Acesso em: 13 de jul. 2021.

CHRISTISON, G. I.; JOHNSON, H. D. Cortisol turnover in heat-stressed cows. **J Anim Sci**. Champaign, v.35, n.5, p.1005-1010, Nov. 1972.

COLLIER, R. J. et al. Effects of heat stress during pregnancy on maternal hormone concentrations, calf birth weight and postpartum milk yield of Holstein cows. **J Anim Sci**, Champaign, v. 54, n. 2, p. 309-319, Feb. 1982.

COLLIER, R. J. et al. Invited Review: Genes Involved in the Bovine Heat Stress Response. **J. Dairy Sci.**, Lancaster, v. 91, n. 2, p. 445-454. Feb. 2008.

COLLIER, R. J. et al. Quantifying Heat Stress and Its Impact on Metabolism and Performance. In: FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 23., 2012, Florida, **Anais...** Florida: University of Florida, 2012. p. 74-83.

COLLIER, R. J. Nutritional, metabolic, and environmental aspects of lactation. In: LARSON, B. L.; ANDERSON, R. R. **Lactation**. 1.ed. Iowa State University Press: Ames, 1985. p. 80 - 128.

COLLIER, R. J.; GEBREMEDHIN, K. G. Thermal Biology of domestic animals. **Annu Rev Anim Biosci**, Palo Alto, v. 3, p. 513 – 532, Feb. 2015.

COLLIER, R. J.; HALL, L. W.; ORTIZ, X. Estratégias para Minimizar o Estresse Térmico. In: NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, 18., 2014, Uberlândia. **Anais eletrônicos...** Uberlândia: Conapec, 63 2014. Disponível em: <<http://www.conapecjr.com.br/index.php>>. Acesso em: 13 de out. 2014.

COPPOCK, C. E. et al. Lactating dairy cow responses to dietary sodium chloride, and bicarbonate during hot weather. **J Dairy Sci**, Lancaster, v. 65, n. 4, p. 566 – 576, Apr. 1982.

COWLEY, S. et al. Why health visiting? Examining the potential public health benefits from health visiting practice within a universal service: a narrative review of the literature. **Int. J. Nurs. Stud.**, Oxford, v. 52, n. 1, p. 465–480. Jan. 2015.

CRUZ, L. V. et al. Efeitos do estresse térmico na produção leiteira: revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Garça - ISSN: 1679-7353, Garça, Ano IX, número 16, periódicos semestrais, jan. 2011. Disponível em: <http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/3Kbw8tpmlaJpspv_2013-6-26-10-55-41.pdf>. Acesso em: 23 de dez. 2021.

CURTIS, S. E. Environmental management in animal agriculture. **Livest Prod Sci**. Amsterdam, v.11, n. 2, p. 250, Apr. 1984.

DAS, R. et al. Impact of heat stress on health and performance of dairy animals: A review. **Vet World**, Rajkot. v. 9, n. 3, p. 260-268, Mar. 2016.

DE MAIO, A. Heat shock proteins: facts, thoughts, and dreams. **Shock**, Augusta, v. 11, n. 1, p. 1-12, Jan. 1999.

DE RENSIS, F.; GARCIA-ISPIERTO, I.; LÓPEZ-GATIUS, F. Seasonal heat stress: Clinical implications and hormone treatments for the fertility of dairy cows. **Theriogenology**, Los Altos, v. 84, n. 5, p. 659-666, Sept. 2015.

DIRANDEH, E. Starting Ovsynch protocol on day 6 of first postpartum estrous cycle increased fertility in dairy cows by affecting ovarian response during heat stress. **Anim. Reprod. Sci.**, Amsterdam, v. 149, n. 3-4, p. 135–140, Oct. 2014.

DIRANDEH, E.; ROODBARI, A. R.; COLAZO, M. G. Double Ovsynch, compared with presynch with or without GnRH, improves fertility in heat-stressed lactating dairy cows. **Theriogenology**, Los Altos, v. 83, n.3, p. 438–443, Feb. 2015.

DO AMARAL, B.C. et al. Heat stress abatement during the dry period influences metabolic gene expression and improves immune status in the transition period of dairy cows. **J Dairy Sci**, Lancaster, v. 94, n. 1, p. 86-96, Jan. 2011.

DOKLADNY, K.; MOSELEY, P. L.; MA, T. Y. Physiologically relevant increase in temperature causes an increase in intestinal epithelial tight junction permeability. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, Bethesda, v. 290, n. 2, p. G204 – 212, Feb. 2006.

DONOVAN, G. H. et al. Factors influencing passive transfer in dairy calves. **J Dairy Sci**, Lancaster, v. 69, n. 3, p. 754 – 759. Mar. 1986.

DONOVAN, G.A.; BENNETT, F.L.; SPRINGER, F.S. Factors associated with first service conception in artificially inseminated nulliparous Holstein heifers **Theriogenology**, Los Altos, v. 60, n. 1, p. 67-75, June 2003.

DUPREEZ, J. H. Parameters for the determination and evaluation of heat stress in dairy cattle in South Africa. **Onderstepoort J Vet Res**. Pretoria, v.67, n.4, p. 263-271, Dec. 2000.

EALY, A. D.; DROST, M.; HANSEN, P. J. Developmental changes in embryonic resistance to adverse effects of maternal heat stress in cows. **J. Dairy Sci.**, Lancaster, v. 76, n. 10 p. 2899-2905, Oct. 1993.

EBERHARDT, B. G. et al. 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. **Anim. Reprod. Sci.**, Amsterdam, v. 114, n 1-3, p.54–61, Aug. 2009.

EDWARDS, J. L.; HANSEN, P. J. Elevated temperature increases heat shock protein 70 synthesis in bovine two-cell embryos and compromises function of maturing oocytes. **Biol Reprod.**, New York, v. 55, n. 2, p. 340-346, Aug. 1996.

EDWARDS, J. L.; HANSEN, P. J. Differential responses of bovine oocytes and preimplantation embryos to heat shock. **Mol Reprod Dev.** New York. v. 46, n. 2, p. 138-145, Feb. 1997.

EWY, H.Z. The role of thyroid in lactation. **Egypt J Vet Sci**, Cairo, v. 34, n. 2, p. 115 - 123, 1987.

FABRIS, F. F. et al. Effect of heat stress during early, late, and entire dry period on dairy cattle **J Dairy Sci**, Lancaster, v. 102, n. 6, p. 5647 - 5656, June 2019.

FERREIRA, L.C.B. **Respostas fisiológicas e comportamentais de bovinos submetidos a diferentes ofertas de sombra**. 2010. 89 f. Tese (Mestrado em Agroecossistemas). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

FEITOSA, F. L. F. **Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico**. 3. ed. São Paulo: Ed Roca, 2014. 627 f.

FILHO, K. E.; EDUARDO, S. C.; VALÉRIA, P. B. E. **Boas Práticas na Produção de Bovinos de Corte**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte. 2002. 25 p. (Embrapa Gado de corte. Comunicado técnico, 129).

FINCH, V. A. Body temperature in beef cattle: its control and relevance to production in the tropics. **J Anim Sci**, Champaign, v. 62, n. 2, p. 531–542, Feb. 1986.

FLAMENBAUM, I.; GALON, N. Management of heat stress to improve fertility in dairy cows in Israel. **J. Reprod. Dev.**, Tokyo, v. 56, n.1–6. p. 36-41, Jan. 2010.

GALAN, H. L. et al. Fetal hypertension and abnormal Doppler velocimetry in an ovine model of intrauterine growth restriction. **Am J Obstet Gynecology**, St. Luis, v. 192, n.1, p. 272-279, Jan. 2005.

GARCIA-ISPIERTO, I. et al. Climate factors affecting conception rate of high producing dairy cows in northeastern Spain. **Theriogenology**, Los Altos, v. 67, n. 8, p. 1379-1385, May 2007.

GILAD, E. et al. Effect of heat stress on tonic and GnRH-induced gonadotrophin secretion in relation to concentration of estradiol in plasma of cyclic cows. **J. Reprod. Fertil.** V. 99, n. 2, p. 315-321, Nov. 1993.

GIRI, S. N. et al. Effects of endotoxin infusion on circulating levels of eicosanoids, progesterone, cortisol, glucose and lactic acid, and abortion in pregnant cows. **Vet Microbiol, Amsterdam**, v. 21, n. 3, p. 211 – 231, Jan. 1990.

GONZÁLEZ, F. H. D; SILVA. S. C. Introdução a Bioquímica Clínica veterinária. 3 ed. Porto Alegre: UFRGS, 2006.

GRAHAM JR., J. M.; EDWARDS, M. J.; EDWARDS, M.J. Teratogen update: Gestational effects of maternal hyperthermia due to febrile illnesses and resultant patterns of defects in humans. **Teratology**, New York, v. 58, n. 5. p. 209 - 221, Nov. 1998.

GÜMEN, A., WILTBANK, M.C., 2005. Length of progesterone exposure needed to resolve large follicle anovular condition in dairy cows. **Theriogenology**, Los Altos. v. 63, n. 1, p. 202-218, Jan. 2005.

GWAZDAUSKAS, F. C. et al. Hormonal patterns during heat stress following PFG₂ than salt induced luteal regression in heifers. **Theriogenology**, Los Altos. v. 16, n. 3 p. 271-285, Sep. 1981.

HALL, D. M. et al. Mechanisms of circulatory and intestinal barrier dysfunction during whole body hyperthermia. **Am. J. Physiol. Heart Circ Physiol**, Bethesda, v. 280, n.2, p. H509-521, Feb. 2001.

HALL, D. M. et al. Splanchnic tissues undergo hypoxic stress during whole body hyperthermia. **Am. J. Physiol.**, Washington, v. 276, n. 5, p. G1195-1203, May 1999.

HALL, M. B. Heat stress alters ruminal fermentation and digesta characteristics, and behavior in lactating dairy cattle. In: International Symposium on Ruminant Physiology, 11., 2009, Netherlands. **Anais...** Wageningen : Wageningen Academic Publication. p. 204.

HANSEN, P. J. Reproductive physiology of the heat-stressed dairy cow: Implications for fertility and assisted reproduction. **Anim. Reprod.** Belo Horiznte, v. 16, n. 3, p.497–507, Oct. 2019.

HANSEN, P.J. et al. Adverse impact of heat stress on embryo production: causes and strategies for mitigation. **Theriogenology**, Los altos, v. 55, n. 1, p.91-103, Jan. 2001.

HANSEN, P.J. To be or not to be--determinants of embryonic survival following heat shock. **Theriogenology**, Los Altos, v. 68, Supl.1, p.S40-S48, Sept. 2007.

HEMSWORTH P. H, BARNETT JL, BEVERIDGE L, MATTHEWS LR. The welfare of extensively managed dairy cattle: a review. **Appl Anim Behav Sci**, Amsterdam, v.42, n.3, p.161-182, Feb. 1995.

HORST, E. A. Nutritional requirement of the immune function in livestock: Its role during heat stress and ketosis. In: Animal Nutrition Conference of Canada, 3. 2017, Quebec City. **Anais...** Ottawa : Animal Nutrition Association of Canada (ANAC), 2017. p. 12 - 23.

HOWELL, J. L.; FUQUAY, J. W; SMITH, A. E. Corpus luteum growth and function in lactating Holstein cows during spring and summer. **J. Dairy Sci**. Lancaster, v. 77, n. 3, p.735–739, Mar. 1994.

HYTTEL, P. et al. Oocyte growth, capacitation and final maturation in cattle. **Theriogenology**, Los Altos, v. 47, n. 1, p.23-32, Jan. 1997.

INGRAHAM, R. H.; STANLEY, R. W., WAGNER, W. C. Seasonal effects of tropical climate on shaded and nonshaded cows as measured by rectal temperature, adrenal cortex hormones, thyroid hormone, and milk production. **Am J Vet Res**. Chicago, v. 40, n. 12, p. 1792–1797, Dec. 1979.

ISHIWATA, T., et al. The role of preoptic area and anterior hypothalamus and median raphe nucleus on thermoregulatory system in freely moving rats. **Neurosci let**, Amsterdam, v. 306, n. 1 – 2, p. 126-128. June 2001.

JENKINSON, D. M.; MABON, R. M. The effects of temperature and humidity on skin surface pH and the ionic composition of skin secretions in Ayrshire cattle. **Br Vet J**, London, v. 129, n. 3, p. 282 – 295, May – June 1973.

JOHNSON, H. D. Bioclimates and livestock. **Bioclimatology and the Adaptation of Livestock (World Animal Science)**. 5 ed. New York: Elsevier, 1987. 279 p.

JOHNSON, H. D. et al. **Temperature-humidity effects including influence of acclimation in feed and water consumption of Holstein cattle**. 846. ed. Missouri: Agricultural Experiment Station, 1963. 43 p.

JOHNSON, H. D., Bioclimate effects on growth, reproduction and milk production. In: Johnson, H.D. (Ed.), **Bioclimatology and the Adaptation of Livestock**. Elsevier, Amsterdam, p. 35–57 1987.

KADEZERE, C. T. et al. Heat stress in lactating dairy cows: a review. **Livest Prod Sci**. Amsterdam, v.77, p. 59-91, 2002.

KAHLES, F. et al. GLP-1 secretion is increased by inflammatory stimuli in an IL-6-dependent manner, leading to hyperinsulinemia and blood glucose lowering. **Diabetes**, New York, v. 63, n. 10, p. 3221-3229, Oct. 2014.

KATAYAMA, K. A. et al. Manejo de receptoras bovinas em programa de transferência de embriões e taxa de gestação - resultados preliminares. In: Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia , 41., 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: EMBRAPA Gado de Corte. 2004.

KEY, N.; SNEERINGER, S.; MARQUARDT, D. Climate change, heat stress, and US dairy production. **U.S. Departament of Agriculture, Economic Research Service**. v.175. Sept 2014.

KHANNA, A.; ATEN, R. F.; BEHRMAN, H. R. Heat shock protein-70 induction mediates luteal regression in the rat. **Mol. Endocrinol**. Baltimore. v. 9, n. 11, p.1431–1440, Nov. 1995.

KIBLER, H. H.; BRODY, S. **Environmental physiology with special reference to domestic animals**. X. Influence of temperature, 5°F to 95°F, on evaporative cooling from the respiratory and exterior surfaces in Jersey and Holstein cows. 461. ed. Missouri: Agricultural Experiment Station, 1950. 19 p.

KVIDERA, S. K. et al. Technical note: A procedure to estimate glucose requirements of an activated immune system in steers. **J Anim Sci.**, Champaign, v. 94, n. 11, p. 4591 – 4599, Nov. 2016.

LAMBERT, G. P. et al. Selected contribution: Hyperthermia-induced intestinal permeability and the role of oxidative and nitrosative stress. **J Appl Physiol**, Bethesda, v. 92, n. 4, p. 1750 – 1761, Apr. 2002.

LEGATES, J. E. et al. Body temperature and respiratory rate of lactating dairy cattle under field and chamber conditions. **J Dairy Sci**, Lancaster, v.74, n.8, p.2491-2500, Aug. 1991.

LEME, T. M. S. P. et al. Comportamento de vacas mestiças holandês x zebu, em pastagem de *Brachiaria decumbens* em sistema silvipastoril. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v.29, n.3, p.668- 675, maio/jun. 2005.

LIMESAND, S. W.; REGNAULT T. R.; HAY W. W. JR. Characterization of glucose transporter 8 (GLUT8) in the ovine placenta of normal and growth restricted fetuses. **Placenta**, London, v. 25, n. 1, p. 70-77, Jan. 2004.

LISTA, F. N.; CHIQUIERI J.; NERY V. L. H. Criação de bovinos nos trópicos. **A Lavoura**, Rio de Janeiro, v. 108, n. 654, p. 16-17, set. 2005.

LOPEZ, H.; CARAVIELLO, D. Z. et al. Relationship Between Level of Milk Production and Multiple Ovulations in Lactating Dairy Cows. **J. Dairy Sci.**, Lancaster, v. 88, n. 8, p. 2783-2793, Aug. 2005.

LOPEZ, H.; SATTER, L.D.; WILTBANK, M.C. Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows. **Anim. Reprod. Sci.**, Amsterdam, v. 81, n. 3-4, p.209-223, Apr. 2004.

LOPEZ-GATIUS F. Is fertility declining in dairy cattle? A retrospective study in northeastern Spain. **Theriogenology**, Los Altos, v. 60, n. 1, p. 89-99, Jun. 2003.

LOUGH, D. E. et al. Effects of feed intake and thermal stress on mammary blood flow and other physiological measurements in lactating dairy cows. **J Dairy Sci**, Lancaster, v. 73, n. 2, p. 325-332, Feb. 1990.

LUCY, M. C. et al. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. **J. Anim. Sci.** Champaign. v. 70, n. 11, p. 3615–3626, Nov. 1992.

LUCY, M. C. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? **J Dairy Sci**, Lancaster, v. 84, n. 6, p. 1277-1293, June 2001.

LUSSIER, J. G; MATTON P.; DUFOUR J.J. Growth rates of follicles in the ovary of the cow. **J. Reprod. Fertil.**, Cambridge, v. 81, n. 2, p. 301–307, Nov. 1987.

MAIA, A.S.C.; SILVA, R.G.; LOUREIRO, C.M.B. Sensible and latent heat loss from the body surface of Holstein cows in a tropical environment. **International Journal of Biometeorology**, Leiden, v.50, n.1, p.17-22, Apr. 2005.

MALAFIA, P. et al. Distúrbios comportamentais em ruminantes não associados a doenças: origem, significado e importância, **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 9, p. 781-790, set. 2011.

MALAYER, J. R. et al. Regulation of heat shockinduced alterations in the release of prostaglandins by the uterine endometrium of cows. **Theriogenology**, Los Altos, v. 34, n. 2, p. 219–230, Aug. 1990.

MANALU, W. et al. Assessment of thermal status of somatotropin-injected lactating Holstein cows maintained under controlled-laboratory thermoneutral, hot and cold environments. **J Nutr**, Springfield, v. 121, n. 12, p. 2006 – 2019, Dec. 1991.

MANN, G. E.; LAMMING. G. E. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. **Reprod Domest Anim**. Berlin, v.34, n. 3-4, p.269–274, Oct.1999.

MARCHEZAN, W. M. **Estresse térmico em bovinos leiteiros**. 2013. 41 f. Monografia de especialização – Centro de ciências rurais, universidade federal de Santa Maria, 2013.

MCDOWELL, R. E. **Bases biológicas de la producción animal em zonas tropicales**. 1. ed. Zaragoza: Acribia. 1974. 692 p.

MCGUIRE, M. A. et al. Effects of thermal stress and level of feed intake on portal plasma flow and net fluxes of metabolites in lactating Holstein cows. **J Anim Sci**, Champaign, v. 67, n. 4, p. 1050 – 1060, Apr 1989.

MEDEIROS, L. F. D.; VIEIRA, D. H. Bioclimatologia Animal. RIO DE JANEIRO (RJ). Ministério da educação e cultura. Universidade federal rural do rio de Janeiro Instituto de zootecnia departamento de produção animal, p 1 -126, 1997. Disponível em <https://wp.ufpel.edu.br/bioclimatologiaanimal/files/2011/03/Apostila-de-Bioclimatologia-Animal.pdf>. Acesso em 03 out. 2022.

MEYER, U.; STAHL, W.; FLACHOWSKY, G. Invertigations on the water intake of growing bulls. **Livest Prod Sci**. Amsterdan, v.103, n. 1, p.186-191, Aug. 2006.

MIHM, M. et al. Effect of dominant follicle persistence on follicular fluid oestradiol and inhibin and on oocyte maturation in heifers. **J Reprod Fertil**. Cambridge, v.116, n.2, p.293-304, July 1999.

MILLER, B. Tools to help reduce the effects of heat stress in dairy cows. **American dairymen**. mai. 2018. Disponível em: <<https://www.americandairymen.com/articles/tools-help-reduce-effects-heat-stress-dairy-cows>>.

MORAIS, D. A. et al. Variação anual dos hormônios tireoideanos e características termorreguladoras de vacas leiteiras em ambiente quente. **Rev. Bras. zootec**. Viçosa, v. 37, n. 3, p. 538-545, mar. 2008.

MORELLI, P. **Estresse térmico na reprodução de vacas leiteiras**. 2009. 21 f. Trabalho de conclusão de curso - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade estadual paulista, Botucatu, 2009.

MORTON, J. M. Effects of environmental heat on conception rates in lactating dairy cows: critical periods of exposure. **J Dairy Sci.**, Lancaster. v. 90, n.5, p. 2271–2278, May 2007.

MULLER, P. B. **Bioclimatologia aplicada aos animais domésticos**. 2. ed. Porto Alegre: Sulina, 1982. 158 p.

NÃÃS, I. A. **Princípios de conforto térmico na produção animal**. São Paulo: Ícone, 1989. 183 p.

NANAS, I. et al. Early embryo losses, progesterone and pregnancy associated glycoproteins levels during summer heat stress in dairy cows. **J. Therm. Biol.**, Oxford, v. 98, p. 102951, May 2021.

NANAS, I. et al., A study on stress response and fertility parameters in phenotypically thermotolerant and thermosensitive dairy cows during summer heat stress. **Reprod. Domest. Anim.**, Berlin, v. 55, n.12, p.1774-1783, Dec. 2020.

NARDONE, A. et al. Composition of colostrum from dairy heifers exposed to high air temperatures during late pregnancy and the early postpartum period. **J. Dairy Sci.** Lancaster, v. 80, n. 5, p. 838 – 844, May 1997.

NARDONE, A. et al. Effect of climate changes on animal production and sustainability of livestock systems. **Livest. Sci.**, Amsterdam, v. 130, n. 1-3, p. 57 – 69, May 2010.

NEBEL, R.L.; MCGILLIARD, M.L. Interactions of High Milk Yield and Reproductive Performance in Dairy Cows. **J. Dairy Sci.**, Lancaster, v. 76, n. 10, p. 3257 – 3268, Oct. 1993.

NEGRÓN-PÉREZ, V. M.; FAUSNACHT, D. W.; RHOADS, M. L. *Invited review: Management strategies capable of improving the reproductive performance of heat-stressed dairy cattle. J. Dairy Sci.*, Lancaster, v. 102, n. 12, p. 10695-10710, Dec 2019.

NEIVA, J. N. M. et al. Efeito do Estresse Climático sobre os Parâmetros Produtivos e Fisiológicos de Ovinos Santa Inês Mantidos em Confinamento na Região Litorânea do Nordeste do Brasil. **Rev. bras. zootec.**, Viçosa, v.33, n.3, p.668-678, 2004.

NONAKA, I. et al. Effects of high environmental temperatures on physiological and nutritional status of prepubertal Holstein heifers. **Livest Sci**, Amsterdam, v. 113, n. 1, p. 14 – 23, Jan. 2008.

OZAWA, M.; HIRABAYASHI, M.; KANAI, Y. Developmental competence and oxidative state of mouse zygotes heat-stressed maternally or in vitro. **Reproduction**, Cambridge, v. 124, n. 5, p. 683-689, Nov. 2002.

PARANHOS DA COSTA, M. J. R. Ambiência na produção de bovinos de corte a pasto. **Anais de Etologia**, Jaboticabal: Faculdades de ciências agrária e veterinárias / UNESP, 2000. p.26-42.

PATAPOUTIAN, A.; et al. ThermoTRP channels and beyond: mechanisms of temperature sensation. **Nat Rev Neurosci**, London, v. 4, p. 529-539, July 2003.

PEARCE, S. C. et al. Heat stress and reduced plane of nutrition decreases intestinal integrity and function in pigs. **J Anim Sci**, Champaign, v. 91, n. 11, p. 5183 – 5193, Nov. 2013.

PEGORER, M. F. et al. Influence of sire and sire breed (Gyr versus Holstein) on establishment of pregnancy and embryonic loss in lactating Holstein cows during summer heat stress. **Theriogenology**, Los Altos, v. 67, n. 4, p. 692–697, Mar. 2007.

PEREIRA, J. C. C. **Fundamentos de bioclimatologia aplicados à produção animal**. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2005. 195 p. (Embrapa suínos e aves. Comunicado técnico, 52).

PEREIRA, M. H., et al. Timed artificial insemination programs during the summer in lactating dairy cows: Comparison of the 5-d Cosynch protocol with an estrogen /progesterone - based protocol. **J. Dairy Sci.**, Lancaster, v. 96, n. 11, p. 6904–6914. Sept. 2013.

PERERA, K. S. et al. Effect of season and stage of lactation on performance of Holstein. **J. Dairy Sci.**, Lancaster, v. 69, n.1, p.228–236, Jan. 1986.

PINARELLI, C. The effect of heat stress on milk yield. **Latte**, Milan, v.28, p. 36-38, 2003.

PINTO, S. et al. Critical THI thresholds based on the physiological parameters of lactating dairy cows. **J. Therm. Biol.**, Oxford, v.88, Feb. 2020.

PIRES, M. F. A. **Manejo nutricional para evitar o estresse calórico**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite. 2006. 4 p. (Embrapa Gado de Leite. Comunicado técnico, 52).

PIRES, M. F. A. Reflexos do estresse térmico no comportamento de vacas em lactação. In: Simpósio Brasileiro de Ambiência na Produção de Leite, 1. 1998, Piracicaba. Anais... Piracicaba: FEALQ. p. 68-102.

PIRES, M. F. A.; CAMPOS, A. T. **Conforto animal para maior produção de leite**. Viçosa: CPT, 2008, 254 p.

PIRES, M. F. A.; VERNEQUE, R. S.; VILELA, D. Ambiente e comportamento animal na produção do leite. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.22, n.211, p.11-21, jul – ago. 2001.

PIRES, M. F. et al. Taxa de gestação em fêmeas da raça Holandesa confinadas em free stall, no verão e inverno. **Arq Bras Med Vet Zootec**, Belo Horizonte, v. 54, n.1, p. 57 – 63, fev. 2002.

PONSANO, E. H. G. et al Variação sazonal e correlação entre propriedades do leite utilizadas na avaliação de qualidade. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, n. 64, p. 35-39. set. 1999.

PRYCE J. E.; ROYAL, M. D.; GARNSWORTHY, P. C.; Mao I. L. Fertility in the high-producing dairy cows. **Livest Prod Sci.**, Amsterdam, v. 86, n. 1-3, p. 125–135, Mar. 2004.

PURSLEY J.R., et al. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. **J.Dairy Sci.**, Lanacster, v. 80, n.2, p.295–300, Feb. 1997.

PUTNEY, D. J. et al. Heat stress-induced alterations in the synthesis and secretion of proteins and prostaglandins by cultured bovine conceptuses and uterine endometrium. **Biol Reprod**. New York, v. 39, n. 3, p. 717-728, Oct. 1988.

RANDALL, D.; BURGREN, W.; FRENCH, K. **Animal physiology: mechanisms and adaptations**. 4.ed. New York: H. W. Freeman and Company, 1997. 727p.

RAVAGNOLO, O.; MISZTAL, I. Studies on genetics of heat tolerance in dairy cattle with reduced weather information via cluster analysis. **J Dairy Sci.**, Lancaster, v. 85, n.6, p. 1586-1589, Jun. 2002.

REGNAULT, T. R. et al. Placental Expression of VEGF, PlGF and their Receptors in a Model of Placental Insufficiency—Intrauterine Growth Restriction (PI-IUGR). **Placenta**, London, v. 23, n. 2-3, p.132-144, Feb.-Mar. 2002.

RENSIS, R.; SCARAMUZZI, R. J.Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow-a review. **Theriogenology**, Los Altos, v. 60, p. 1139-1151, Oct. 2003.

RHOADS, M. et al. Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating holstein cows: i. production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. **J Dairy Sci**, Lancaster, v. 92, n. 5, p.1986 – 1997, May 2009.

RIVIER, C.; RIVEST, S. Effects of Stress on the Activity of the Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis: Peripheral and Central Mechanisms. **Biol Reprod**, New York, v. 45, p. 523-532, Oct. 1991.

RODRIGUES, R. O. **The role of the mammary gland during heat stress**. 2019. 127 f. Tese (Doutorado) – Columbia Division of Animal Science, University of Missouri, 2019.

ROLIM, G. S. et al. Classificação climática de köppen e de thornthwaite e sua aplicabilidade na determinação de zonas agroclimáticas para o estado de São Paulo. **Agrometeorologia**, Campinas, v.66, n.4, p.711-720, 2007.

ROLLWAGEN, F. M. et al. IL- 6 protects enterocytes from hypoxia-induced apoptosis by induction of bcl-2 mRNA and reduction of fas mRNA. **Biochem Biophys Res Commun**, New York, v. 347, n. 4, p. 1094 – 1098, Sept. 2006.

ROSA, P. P. et al. Eficiência produtiva de Vacas leiteiras primíparas e múltiparas- uma revisão. **Revista Científica Rural**, v. 21, n. 1413–8263, p. 406–420, 2019.

ROTH, Z. et al. Delayed effect of heat stress on steroid production in medium-sized and preovulatory bovine follicles. **Reproduction**, Cambridge, v. 121, n. 5, p. 745–751, May 2001.

ROTH, Z., R. MEIDAN, A. SHAHAM-ALBALANCY, D. WOLFENSON. 1997. Immediate and delayed effects of heat stress on follicular development and function in lactating cows. Ann. Meeting, Am. Soc. Anim. Sci. Nashville. Abstract 367.

ROYAL, M. D. et al. Declining fertility in dairy cattle: changes in traditional and endocrine parameters of fertility. **Animal Science**, v.70, p.487–501, 2000.

SANGSRITAVONG, S.; COMBS, D. K. et al. High Feed Intake Increases Liver Blood Flow and Metabolism of Progesterone and E2-17 β in Dairy Cattle. **J. Dairy Sci.**, Lancaster, v. 85, n. 11, p. 2831-2842, Nov. 2002.

SANZ FERNANDEZ, M. V. et al. Effects of supplemental zinc amino acid complex on gut integrity in heat-stressed growing pigs. **Animal**, Cambridge, v. 8, n. 1, p. 43 – 50, Jan. 2014.

SCHÜLLER, L.K.; MICHAELIS, I.; HEUWIESER, W. Impact of heat stress on estrus expression and follicle size in estrus under field conditions in dairy cows. **Theriogenology**, Los Altos v. 102, p. 48-53, Oct. 2017.

SHEARER, J. K.; BEEDE, D. K. Thermoregulation and physiological responses of dairy cattle in hot weather. **Agri-Practice**, Gainesville, v.11, n.4, p.5 – 17, 1990.

SHEHAB-EL-DEEN, M. A. et al. Biochemical changes in the follicular fluid of the dominant follicle of high producing dairy cows exposed to heat stress early post-partum. **Animal Reproduction Science**, v.117, n.3-4, p.189-200, 2010.

SHWARTZ, G. M. L. et al. Effects of a supplemental yeast culture on heat-stressed lactating Holstein cows. **J Dairy Sci**, Lancaster. v. 92, n. 3, p. 935-942, Mar. 2009.

SILANIKOVE, N. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. **Livest Prod Sci.** Amsterdam, v.67, n. 1-2, p.1-18, Dec. 2000.

SILVA, N.C., et al. Taxa de concepção de vacas leiteiras submetidas à inseminação artificial em tempo fixo em diferentes épocas do ano. **Biosci. J.**, Uberlandia, v. 30, n. 4, p. 1177-1182, July/Aug. 2014.

SILVA, R. G. **Introdução a bioclimatologia animal**. 1 ed. São Paulo: Nobel, 2000. 286 p.

SORIANI, N.; PANELLA, G.; CALAMARI, L. Rumination time during the summer season and its relationships with metabolic conditions and milk production. **J Dairy Sci**, Lancaster, v. 96, n.8, p. 5082 – 5094, Aug. 2013.

SOUZA, B. B.; BATISTA, N. L. Os efeitos do estresse térmico sobre a fisiologia animal. **Agropecuária Científica no Semiárido**, Paraíba, v. 8, n. 3, p. 6-10, jul – set. 2012.

STARLING, J. M. C.; SILVA, R. G.; MUÑOZ, M. C. Análise de algumas variáveis fisiológicas para avaliação do grau de adaptação de ovinos submetidos ao estresse por calor. **Rev. bras. Zootec.**, Viçosa, v.31, n.5, p. 2070-2077, set. 2002.

STEVENSON, J.S. et al. Reproductive outcomes for dairy heifers treated with combinations of prostaglandin $F_{2\alpha}$, norgestomet, and gonadotropin-releasing hormone. **J. Dairy Sci.**, Lancaster, v. 83, n. 9, p. 2008-15, Sept. 2000.

STOAKES, S. K. et al. Estimating glucose requirements of an activated immune system in growing pigs. **J Anim Sci**, Champaign, v. 93, n. 11, p. 5020 – 5029, Nov. 2017.

STÖBER, M. Identificação, anamnese, regras básicas da técnica de exame clínico geral. In: DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H. D.; STÖBER, M. **Exame clínico dos bovinos**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1993. P. 44-80.

ST-PIERRE, N. R. et al. Economic losses from heat stress by US livestock industries. **J Dairy Sci**, Lancaster v.86, p. E52–E77, June 2003.

THATCHER, W. W. et al. Bovine conceptus — maternal interactions during the pre - and postpartum periods. **J Dairy Sci**, Lancaster, v. 63, n. 9, p.1530, Sept. 1980.

THATCHER, W. W. Manejo de estresse calórico e estratégias para melhorar o desempenho lactacional e reprodutivos em vacas de leite. In: XIV CURSO NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, 14., 2010. Uberlândia. **Anais...** Botucatu : CONAPEC Jr., 2010. p. 2-25.

THOM, E.C. The discomfort index. **Weatherwise**. v. 12, n. 2, p.57. Apr.1959.

THUREEN, P. J. et al. Placental glucose transport in heat-induced fetal growth retardation. **Am J Physiol**, Washington, v. 263, n. 3 pt 2, p. R578-R585, Sept. 1992.

TITTO, C. G. et al. Effects of an evaporative cooling system on plasma cortisol, IGF-I, and milk production in dairy cows in a tropical environment. **Int J Biometeorology**, New York, v. 57, n. 2, p. 299-306, Mar. 2013.

TITTO, E.A.L. Clima: Influência na produção de leite. In: Simpósio Brasileiro de Ambiência na Produção de Leite, 1, 1998, Piracicaba. **Anais...**Piracicaba: FEALQ, 1998. p.10-23.

TOUGH, D. F.; SUN, S.; SPRENT. J. T cell stimulation in vivo by lipopolysaccharide (LPS). **J Exp Med**, New York, v. 185, n. 12, p. 2089 – 2094, June 1997.

TRATCHER, W. W. Milking performance and reproductive efficiency of dairy cows in an environmentally controlled structure. **J Dairy Sci**, Lancaster, v.57, n. 3, p.304-307, Mar. 1974.

TSCHOPP, J. C. et al. Effect of the addition of GnRH and a second prostaglandin F2 α treatment on pregnancy per artificial insemination in lactating dairy cows submitted to an estradiol/progesterone-based timed-AI protocol. **Theriogenology**, Los Altos, v. 188, p. 63-70, Aug. 2022.

ULLAH, G., J. et al. Effect of gonadotropin-releasing hormone at estrus on subsequent luteal function and fertility in lactating Holsteins during heat stress. **J. Dairy Sci**. Lancaster.v. 79, n.11, p.1950–1953, Nov. 1996.

URIBE-VELASQUEZ, L. F. et al. Efeito do estresse térmico nas concentrações plasmáticas de progesterona (P4) e estradiol 17- β (E2) e temperatura retal em cabras da raça Pardo Alpina. **Rev. bras. Zootec.**, Viçosa, v.30, n.2, p.388-393, abr. 2001.

URIBE-VELASQUEZ, L. F.; OBA, E.; BRASIL, L. H. A. Concentrações plasmáticas de cortisol, hormônios tireoidianos, metabólitos lipídicos e temperatura de cabras Pardo-Alpinas submetidas ao estresse térmico. **Rev. bras. Zootec.**, Viçosa, v.27, n.6, p.1123-1130, jul.1998.

VAN BORELL, E. Neuroendocrine integration of stress and significance of stress for the performance of farm animals. **Appl Anim Behav Sci**, Amsterdam, v.44, n. 2, p.219-227, Sept. 1995.

VIANNA, F. P. **Influência do Estresse Térmico na Atividade Reprodutiva de Fêmeas Bovinas**. 2002. 17f. Monografia (Seminários I) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Botucatu, 2002.

WAGNER, A. E.; MUIR, W. W.; HINCHCLIFF, K. W. Cardiovascular effects of xilazine and detomidine in horses. **Am J Vet Res**, Chicago, v. 52, n. 5, p. 651-657, May 1991.

WALDRON, M. R. et al. Acute experimental mastitis is not causal toward the development of energy-related metabolic disorders in early postpartum dairy cows. **J Dairy Sci**, Lancaster, v. 89, n. 2, p. 596 – 610, Feb. 2006.

WALLACE, J.M. et al. Investigating the causes of low birth weight in contrasting ovine paradigms. **J Physiol**, London, v. 565, n. 1, p. 19-26, May 2005.

WALSH, S. W. et al. A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.123, n.3-4, p.127-138, Feb. 2011.

WASHBURN, S. P. et al. Trends in reproductive performance in southeastern Holstein and Jersey DHI herds. **Journal of Dairy Science**, v.85, n.1, p.244-251, 2002.

WEISSMAN, C. The metabolic response to stress: an overview and update. **Anesthesiology**. Philadelphia, v.73, n. 2, p. 308-327, Aug. 1990.

WEST, J. W. Effects of Heat-Stress on Production in Dairy Cattle. **J Dairy Sci**, Lancaster, v. 86, n.6, p.2131–2144, June 2003.

WEST, J. W.; B. G. MULLINIX; SANDIFER, T. G. Effects of bovine somatotropin on physiologic responses of lactating Holstein and Jersey cows during hot, humid weather. **J Dairy Sci**, Lancaster, v. 74, n. 3, p. 840–851, Mar. 1991.

WEST, J. W.; MULLINIX, B. G.; SANDIFER, T. G. Changing dietary electrolyte balance for dairy cows in cool and hot environments. **J Dairy Sci**, Lancaster, v. 74, n. 5, p. 1662 – 1674, May 1991.

WILSON, S. J. et al. Effects of Controlled Heat Stress on Ovarian Function of Dairy Cattle. 1. Lactating Cows. **J Dairy Sci**, Lancaster, v. 81, n. 8, p. 2124-2131, Aug. 1998.

WILTBank, M. C. et al. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. **Theriogenology**, Los Altos, v. 65, n. 1, p. 17-29, Jan. 2006.

WOLFENSON, D. et al. Seasonal and acute heat stress effects on steroid production by dominant follicles in cows. **Anim. Reprod. Sci.**, Amsterdam, v. 47, n. 1-2, p.9-19, May 1997.

WOLFENSON, D. et al. Seasonal differences in progesterone production by luteinized bovine thecal and granulosa cells. **Domest. Anim. Endocrinol.**, Auburn, v. 22, n. 2, p.81-90, Apr. 2002.

WOLFENSON, D. et al. The effect of heat stress on follicular development during the estrous cycle dairy cattle. **Biol Reprod.**, New York, v. 52, n. 5, p.1106-1113. May 1995.

WOLFENSON, D. et al. Follicular dynamics and concentrations of steroids and gonadotropins in lactating cows and nulliparous heifers. **Theriogenology**. Los Altos, v. 62, n. 6, p. 1042–1055, Sept. 2004.

YOUSEF, M. K. **STRESS PHYSIOLOGY IN LIVESTOCK**. 1. ed. Boca Raton: CRC, 1985. 272 p.

YUSUF, M. et al. Days in milk at first AI in dairy cows; its effects on subsequent reproductive performance and some factors influencing it. **J Reprov Dev**. Tokyo, v. 57, n. 5, p. 643 – 649, Oct. 2011.

YUSUF, M. et al. Reproductive performance of repeat breeders in dairy herds. **Theriogenology**. Los Altos, v. 73, n. 9, p. 1220–1229, June 2010.