

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**IMPACTO DO ESTRESSE AMBIENTAL NA REPRODUÇÃO DE BOVINOS DE
CORTE**

Autora: Carolina Gabriela Becker Berlitz

Porto Alegre

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**IMPACTO DO ESTRESSE AMBIENTAL NA REPRODUÇÃO DE BOVINOS DE
CORTE**

Autora: Carolina Gabriela Becker Berlitz

**Trabalho apresentado à Faculdade de
Veterinária como requisito parcial para a
obtenção da graduação em Medicina
Veterinária**

Orientador: Júlio Otávio Jardim Barcellos

PORTO ALEGRE

2019/1

APÊNDICE B

Carolina Gabriela Becker Berlitz

IMPACTO DO ESTRESSE AMBIENTAL NA REPRODUÇÃO DE BOVINOS DE CORTE

Aprovado em: ____ JUL 2019

APROVADO POR:

Presidente da Comissão

Prof. Dr.

Membro da Comissão

Prof. Dr.

Membro da Comissão

RESUMO

A criação de bovinos de corte no Brasil é realizada, principalmente, sob sistema extensivo, com exposição dos animais a condições climáticas nem sempre na zona de conforto. De acordo com um conjunto de fatores ambientais, como a temperatura, umidade relativa e radiação solar, e fatores genéticos, raça, adaptação, processos moleculares, é instalada uma condição de estresse ambiental no organismo nas épocas mais quentes e úmidas do ano. Este processo tem diminuído a rentabilidade do setor de cria em função do gasto de energia para manter a temperatura corporal e uma diminuição dos índices reprodutivos. A busca pela sombra, redução de consumo, perda de peso e aumento nos níveis plasmáticos de cortisol sinalizam uma situação conflitante com o bem-estar animal. Nas últimas décadas, tem sido avaliado os efeitos no sistema reprodutivo diretamente ligados com o estresse ou choque térmico, evidenciando uma série de falhas na formação de gametas femininos e masculinos, manutenção da prenhez e crescimento do feto. Desta forma, se faz necessário conhecer a realidade do ambiente em que os rebanhos estão expostos, capacitar e encontrar meios para mensurar estes efeitos e as consequências no sistema produtivo. Assim será possível o planejamento da criação a médio prazo, como ajuste na estação de monta, e longo prazo, introdução de raças mais adaptadas.

Palavras-chave: bovinocultura de corte, adaptação climática, estresse térmico, bem-estar, reprodução

ABSTRACT

Beef cattle production in Brazil is mainly performed under extensive conditions, with the animal exposure to climatic conditions not always in the comfort zone. According to a set of environmental factors, such as temperature, relative humidity and solar radiation, and genetic factors, race, adaptation, molecular processes, an environmental stress condition is installed in the body in the hottest and humid periods of the year. This process has reduced the profitability of the breeding sector as a function of energy expenditure to maintain body temperature and a decrease in reproductive rates. The search for shade, reduced consumption, weight loss, and increased plasma cortisol levels signal a situation conflicting with animal welfare. In the last decades, the effects on the reproductive system directly associated with stress or thermal shock have been evaluated, evidencing a series of failures in the formation of female and male gametes, maintenance of pregnancy and fetal growth. In this way, it is necessary to know the reality of the environment in which the herds are exposed, to train and to find means to measure these effects and the consequences in the productive system. Thus, it will be possible to plan the production in the medium term, as an adjustment in the breeding season, and in the long term, introduction of breeds more adapted.

Keywords: beef cattle, climate adaptation, heat stress, animal welfare, reproduction

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Ciclo Reprodutivo Hormonal da Vaca.....	21
Figura 2: Mecanismos de Termorregulação e Zonas Térmicas em Mamíferos.....	35
Figura 3: Alterações Fisiológicas do Aumento de Temperatura no Bovino.....	37
Figura 4: Classificação do Estresse Térmico conforme o ITU.....	40
Figura 5: Entradas e saídas do sistema de interferência dado-dependente difuso.....	43
Figura 6: Associação do Sistema de Dados Independentes e Difuso.....	44
Figura 7: Produção de HSP90 em relação a motilidade e integridade acrossomal.....	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Medidas de Eficiência Reprodutiva em Bovinos	144
Tabela 2: As “Cinco Liberdades”	31

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ha: hectare

kg: quilograma

IA: Inseminação Artificial

GnRH: Hormônio liberador de Gonadotrofinas

CL: Corpo Lúteo

FSH: Hormônio Folículo Estimulante

LH: Hormônio Luteinizante

P4: Progesterona

E2: Estradiol

h: horas

PGF2 α : Prostaglandina F2 α

COX2: Ciclooxigenase 2

PGE2: Prostaglandina E2

AMPC: Monofosfato cíclico de Adenosina

m: Metros

mL: Mililitro

°C: Graus Centígrados

ng: Nanograma

m/s: Metro por Segundo

W/m²: Watts por Metro quadrado

ITU: Índice de Temperatura e Umidade

BGHI: Índice de Umidade no Globo Negro

ETI: Índice de Temperatura Equivalente

RNA: Ácido Ribonucleico

EROs: Espécies Reativas de Oxigênio

DNA: Ácido desoxiribonucleico

IP-P: Intervalo entre Partos

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 SISTEMAS DE CRIA EM BOVINOS DE CORTE	14
3 ANATOFISIOLOGIA DO SISTEMA REPRODUTOR FEMININO	18
3.1 Anatomia Funcional da Fêmea.....	18
3.2 Ciclos Reprodutivos da Vaca.....	19
3.3 Oogênese e Maturação oocitária	22
3.4 Implantação e Gestação	23
4 ANATOFISIOLOGIA DO SISTEMA REPRODUTOR MASCULINO	25
4.1 Anatomia Funcional do Macho	25
4.2 Fisiologia Reprodutiva do Touro	26
4.3 Espermatogênese e Maturação Espermática	28
4.4 Qualidade do Sêmen.....	29
5 BEM –ESTAR ANIMAL	31
6 ESTRESSE TÉRMICO	33
6.1 Alterações Fisiológicas do Estresse	35
6.2 Quantificação e Avaliação do Estresse Ambiental	38
6.2.1 Temperatura Retal	39
6.2.2 Taxa de Respiração.....	39
6.2.3 Índice de Temperatura e Umidade (ITU)	39
6.2.4 Índice de Umidade no Globo Negro (BGHI)	41
6.2.5 Índice de temperatura equivalente (ETI)	41
6.2.6 Índice de carga calórica	41
6.3 Métodos de Avaliação e Formação de Índices	42
7 ADAPTAÇÃO.....	45

7.1 Adaptação Morfológica	45
7.2 Adaptação Racial	46
7.3 Adaptações Moleculares e Genéticas	46
7.3.1 Proteínas de Choque térmico	47
7.3.2 Resposta de Proteínas não-Dobradas.....	48
7.3.3 Estresse Oxidativo	48
8 EFEITOS DO ESTRESSE AMBIENTAL NO SISTEMA DE CRIA	50
9 EFEITOS DO ESTRESSE AMBIENTAL EM FÊMEAS	53
9.1 Sistema Reprodutivo	53
9.2 Variação Hormonal	53
9.3 Células da Granulosa	53
9.4 Desenvolvimento Oocitário.....	54
9.5 Desenvolvimento Embrionário.....	55
9.6 Endométrio.....	57
9.7 Função Placentária e Crescimento Fetal.....	58
10 EFEITOS DO ESTRESSE AMBIENTAL EM MACHOS	61
10.1 Dinâmica Vascular	61
10.2 Variação Hormonal	61
10.3 Qualidade Espermática.....	61
10.4 Atividade Enzimática	62
10.5 Proteínas de Choque Térmico	63
11 CONSIDERAÇÕES FINAIS	65
REFERÊNCIAS	657

1 INTRODUÇÃO

O sistema de cria é o início do processo de produção da carne bovina e assim alterações nos valores produtivos influenciam na cadeia como um todo (MENEGASSI, *et al.*, 2013). Tendo em vista que o Brasil é atualmente o maior exportador de carne no mundo, o impacto no mercado de carnes com uma menor criação de bezerras é significativo. Os fatores normalmente associados com a limitação da produtividade são o baixo número de vacas por área, particularmente no sul do Brasil, baixa eficiência reprodutiva dos ventres e deficiente crescimento das novilhas. Desta forma, a intensificação da cria foca em aumentar a produtividade por área e viabilizar o sistema, incluindo insumos e genética de qualidade.

O aumento de temperaturas e a frequência de condições estressantes têm sido evidenciado em várias regiões do mundo (IPCC, 2017), incluindo o Brasil, tanto as áreas tropicais como temperadas, aonde se observa a concentração dos rebanhos de bovinos de corte. Os mamíferos em geral são animais homeotérmicos, ou seja, mantêm a sua temperatura corporal pelo balanço entre o calor metabólico produzido e o calor dissipado ao ambiente (HANSEN, 2004). No caso de estresse há uma falha nos sistemas de dissipação ou aumento do gradiente de calor corporal, sendo diferentes os níveis de tolerância entre raças e indivíduos. A zona de conforto térmico pode variar conforme a espécie, produtividade e morfologia animal, por exemplo o *Bos taurus* (Angus e Hereford) lida melhor dentro da amplitude de 15 a 25°C, enquanto o *Bos indicus* (Nelore) mantém eficiência em temperaturas maiores (Livestock Heat Stress, 2015).

As alterações fisiológicas em resposta ao estresse em mamíferos incluem modificação dos padrões de respiração, aumento dos batimentos cardíacos, aumento da sudorese, redução da perda de água via urina e conteúdo fecal e mudanças comportamentais (BERIHULAY, *et al.*, 2019). Foi observado uma redução do bem-estar animal nestas situações pela frustração, perda de peso e ativação de sistemas neuronais na resposta de “Luta ou Fuga” (MEGAHED, *et al.*, 2008).

Aumento nas taxas de retorno ao cio e de perda embrionária culminam em uma menor taxa de prenhez não apenas pela perda de condição corporal, mas também prejudicando a habilidade esteroidogênica, dinâmica e crescimento folicular, função das células da granulosa, maturação de oócito, fertilização e desenvolvimento embrionário e função endometrial (RAVAGNOLO; MISZTAL, 2002b; PAULA-LOPES; HANSEN, 2002b). Nos machos, foi observado queda na qualidade espermática com maior número de defeitos espermáticos e redução na motilidade. No entanto, a capacidade de um animal se adaptar a essa condição incide em uma série de

processos moleculares que atuam na controle e redução dos problemas celulares causados pelo estresse, como disfunção de proteínas, desestruturação de microfilamentos e sinalização de apoptose (DE LIMA, *et al.*, 2013). Por isso, o estudo da adaptação, tolerância e diferença racial tem sido valorizado, para se entender os processo que levam a reduzir as consequências do estresse ambiental.

Em função da extensão do impacto gerado nos sistemas pecuários e do potencial de risco de estresse ambiental pelo nível de produção, genética e geolocalização das maiores produções, é fundamental entender as implicações do estresse térmico no organismo e meios de prevenção baseados em medições da ameaça e estimativa de danos.

2 SISTEMAS DE CRIA EM BOVINOS DE CORTE

Um sistema é o conjunto dos componentes de produção ligados para alcançar um objetivo. Desta forma, o sistema de cria tem o alvo de produzir terneiros desmamados de qualidade e certificar os processos produtivos de uma maneira econômica e rentável (MENEGASSI, *et al.*, 2013). Ações tomadas em qualquer etapa de criação têm efeitos e reações em todo o sistema, como a diminuição da idade ao primeiro parto influencia na estruturação e eficiência geral da propriedade. O sistema de cria pode ser visto como um sistema próprio isolado ou pode fazer parte de um sistema de recria (cria-recria) ou ciclo completo (cria-recria-engorda).

De acordo com Menegassi (2013), os fatores que limitam a produtividade dos sistemas de cria incluem o baixo número de vacas por área, particularmente no sul do Brasil, baixa eficiência reprodutiva dos ventres e deficiente crescimento das novilhas. A intensificação da cria foca em aumentar a produtividade por área e viabilizar a produção, incluindo insumos e genética de qualidade.

A gestão deste sistema de produção é realizada com a mensuração dos indicadores produtivos e econômicos. Os indicadores produtivos incluem índices reprodutivos, peso a desmama, produtividade/hectare (ha) e taxa de mortalidade (MENEGASSI, *et al.*, 2013). A gestão econômica deve ser realizada avaliando as receitas e despesas da propriedade, estes indicadores incluem a receita/ha, custo/ha, margem bruta/ha, custo por quilo (kg) produzido e custo por terneiro desmamado. A eficiência reprodutiva em rebanhos de corte pode ser avaliada por índices como os exemplificados na tabela 1:

Tabela 1: Medidas de Eficiência Reprodutiva em Bovinos

Parâmetro	Definição
Primeiro parto	Idade (meses)
Período de Serviço	Dias entre parto e concepção
Taxa de concepção na 1ª IA (%)	$\frac{N^{\circ} \text{ fêmeas prenhes na } 1^{\text{a}} \text{ IA}}{N^{\circ} \text{ fêmeas cobertas na } 1^{\text{a}} \text{ IA}} \times 100$
Intervalo entre partos (dias)	$\frac{\text{Dias entre partos sucessivos}}{\text{Total de fêmeas}}$
IA por concepção	$\frac{N^{\circ} \text{ de IAs}}{\text{Total de concepções}}$

Taxa de prenhez (%)	$\frac{N^{\circ} \text{ fêmeas prenhes}}{\text{Total de fêmeas no rebanho}} \times 100$
Taxa de parição (%)	$\frac{N^{\circ} \text{ de filhotes nascidos}}{\text{Total de fêmeas no rebanho}} \times 100$
Produção líquida de bezerros (%)	$\frac{\text{Total de bezerros desmamados}}{\text{Total de fêmeas no rebanho}} \times 100$

Siglas: IA: inseminação artificial. Fonte: Adaptada de JAINUDEEN e HAFEZ, 2004a.

Um dos parâmetros de avaliação da habilidade reprodutiva em bovinos é a taxa de retorno ao cio aos 45 e 90d após inseminação. O não retorno ao cio é considerado como concepção de sucesso, prenhez (ANSARI-MAHYARI, *et al.*, 2019). Este parâmetro avalia também a fertilidade de touros ou eficiência dos inseminadores, mas deve-se atentar da diferença entre este e a taxa de concepção. Pois devido a falhas na detecção do cio, anestro ou mortalidade embrionária precoce, a taxa de não-retorno ou de retorno pode superestimar a taxa de concepção de 10 a 15% (JAINUDEEN; HAFEZ, 2004a).

O intervalo entre partos é considerado ótimo com resultado de 12 meses, no entanto este valor é difícil de atingir, por isso, pode ser utilizado para avaliação da fertilidade do rebanho a produção líquida de bezerros (% de desmamados por ano). Em bovinos do corte com o sistema de monta natural este valor é ótimo de 70 a 75% (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

Técnicas também utilizadas são o desmame precoce, desmame interrompido, uso de estação de monta, seleção de reprodutores (touros férteis e vacas com condições corporais e cíclicas), sincronização de cios e cruzamentos (MENEGASSI, 2013).

Há um questionamento sobre a estação de acasalamento e parição, devendo ser analisada com uma nova estrutura forrageira com a integração lavoura pecuária e em função das mudanças climáticas e prolongamento dos dias com altas temperaturas. Segundo Menegassi, *et al.*, (2013). Estas alterações têm a finalidade de aproveitar a disponibilidade de forragem no final de inverno e evitar as altas temperaturas do verão.

Para melhor desempenho da propriedade, a inseminação ou cobertura no cedo (início da estação reprodutiva) garante um parto precoce e desmame de bezerros mais velhos e mais pesados, retornando em lucro para os produtores. E para aumentar a produção de bezerros a longo prazo é identificado como importante que as novilhas alcancem a puberdade mais cedo possível, sendo comum utilizar suplementos nutricionais e genéticas precoces.

Diversos hormônios têm sido utilizados para elevar a incidência do cio e ovulação logo após o puerpério, cerca de dois meses após a parição, como o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) (JAINUDEEN; HAFEZ, 2004a). A inseminação artificial a tempo fixo é outra técnica que pode aumentar a fertilidade pela independência da detecção de cio e concentração do trabalho de campo, além da seleção de sêmen de qualidade no corpo do útero (CL).

Vários parâmetros de eficiência e produtividade nos sistemas de cria são influenciados pelas características ambientais e sanitárias do rebanho, sendo estas a nutrição dos animais, ausência de doenças, densidade animal adequada e conforto térmico (). Uma das únicas características que o produtor não poderá alterar diretamente é o ambiente, como as temperaturas, pluviosidade, umidade e força do vento. No entanto poderá tomar medidas preventivas para diminuir este impacto nos animais. Além disso, é importante ressaltar que condições quentes, com maior radiação solar e chuvas fora do período normal podem afetar indiretamente o animal pela menor disponibilidade de forragem e má nutrição (ALLOUCHE, *et al.*, 2018).

Já foi reportado que o estresse ambiental, ou térmico, é um fator de risco para a sobrevivência de animais no sistema de cria – vacas maduras e neonatos (ST-PIERRE; COBANOV; SCHNITKEY, 2003). Também tendo redução nas taxas produtivas devido ao menor apetite e consumo de matéria seca, redução da expressão e duração do comportamento de estro e piora da qualidade dos oócitos e embriões (BROWN-BRANDL *et al.*, 2005). Como consequência destas alterações se tem uma propriedade com maiores períodos entre partições, menor produção de terneiros ao ano e pior qualidade dos terneiros (menos % desmamados e mais leves) (ALLOUCHE, *et al.*, 2018).

O sistema de cria de bovinos de corte é de característica extensiva na maioria das regiões do país, principalmente quando comparado a criação de gado de leite, suínos e aves (MISZTAL, 2017). Portanto, não possui a capacidade de mascarar efeitos climáticos com instalações modernas e controles ambientais, importantes nos sistemas intensivos pela produção de alto calor interno e rápido metabolismo. Desta forma, os animais estão mais susceptíveis às alterações climáticas fora da sua zona de conforto. A eficiência alimentar e resistência ao ambiente também está relacionada com a quantidade de calor produzido internamente, gado de corte é menos eficiente, em torno de 13.3 a 40 kg alimento/ kg produção, enquanto gado de leite e aves de postura estão com 4.5 e porcos com 9.3. Se torna, então, necessária a resiliência do animal para sobrevivência, como é presente na criação de gado de corte e ovelhas (MISZTAL, 2017).

A maior parte do rebanho bovino brasileira se encontra em região tropical, com temperaturas médias acima da zona de termoneutralidade, permanecendo longos períodos sobre estresse calórico (FIALHO, *et al.*, 2018, PIRES; CAMPOS, 2008). Com o gado produzido a campo, estes animais estão mais expostos ao ambiente, tendo efeitos diretos da variação de temperatura corporal e indiretos como a redução da qualidade nutricional devido a disponibilidade de forragens, ambos afetando o bem-estar animal e o desempenho do potencial genético dos animais (FEDEGAN, 2013). Além disso, cerca de 90% dos bezerros do mundo nascem de monta natural, apresentando a importância das vacas e touros a campo, com apresentação de comportamentos reprodutivos e possibilidade de fecundação adaptadas a condições estressantes (MENEGASSI; BARCELLOS, 2015).

Adaptações no sistema de criação, para poder prevenir o desgaste dos animais pelo estresse ambiental, incluem a utilização de raças mais adaptadas ou cruzas, entre *Bos indicus* e *Bos taurus* geralmente, como o Brangus e Braford (HERING, 2014).

O sistema de cria tem a grande importância de estar no início da produção de carne bovina e melhorias resultando em maior eficiência e produtividade auxiliarão toda a cadeia produtiva tanto com o bem-estar animal quanto com o melhor desempenho da sua capacidade produtiva genética.

3 ANATOFISIOLOGIA DO SISTEMA REPRODUTOR FEMININO

3.1 Anatomia Funcional da Fêmea

O sistema reprodutor feminino é composto pelos ovários, ovidutos, útero, cérvix, vagina e genitália externa (HAFEZ; HAFEZ, 2004a). O ovário desempenha tanto funções exócrinas (óvulos) quanto endócrinas (estradiol). Este é composto por córtex (onde estão presentes folículos e/ou CL em diferentes estados) e medula (constituído por um tecido fibroelástico, nervos e sistemas vasculares), envolto por um epitélio superficial germinativo. A vascularização do órgão é alterada durante o período pré-ovulatório, com aumento do fluxo, no caso dos bovinos, no período luteínico. O CL, resultado de um processo hipertrófico e de luteinização das células da granulosa após ovulação, pode estar presente em diferentes estágios no ovário: em desenvolvimento, maduro e em regressão.

O oviduto é composto por fímbrias com abertura em formato de funil na região abdominal próxima ao ovário. A anatomia segue com o infundíbulo e a ampola e o istmo, porção estreita próxima em ligação com o útero (HAFEZ; HAFEZ, 2004a). A mucosa do oviduto é formada por pregas, se projetando em direção ao istmo, preenchendo quase totalmente o lúmen. As células ciliadas são mais abundantes na região de captação do óvulo, sob influências hormonais, e as células com capacidade secretora, importantes na capacitação, hiperativação do espermatozoide e fecundação, estão presentes na região estimada de interação entre óvulo e espermatozoide.

O útero é, na vaca e ovelha, bipartido, com separação dos dois cornos por um septo proeminente no corpo uterino (HAFEZ; HAFEZ, 2004a). O endométrio uterino apresenta diversas carúnculas, responsáveis pela nutrição da placenta e feto. Há uma dinâmica no epitélio uterino, com células glandulares se tornando espiraladas com o aumento de progesterona que regridem acompanhando a regressão luteínica. A camada muscular, miométrio, sofre contrações musculares durante o cio, com redução durante a fase luteínica, e auxilia no transporte dos espermatozoides do ponto de ejaculação.

A cérvix se projeta caudalmente na vagina, é constituído por tecido conjuntivo e pequenas quantidades de tecido muscular liso e detém uma parede espessa e lúmen restrito. Nos bovinos tem formato transversal ou espiralado com geralmente 4 anéis. Através do muco presente é facilitado o transporte dos espermatozoides e se tem uma seleção espermática, impedindo células defeituosas (HAFEZ; HAFEZ, 2004a).

A vagina consiste, da camada externa para interna, de uma serosa, camada muscular e superfície epitelial. A camada muscular não é bem desenvolvida em comparação ao miométrio. O epitélio não sofre alteração durante o ciclo estral, portanto o esfregaço vaginal não é parâmetro para avaliar a fase do ciclo, como em outros mamíferos (JAINUDEEN; HAFEZ, 2004a). No entanto, se tem variação nas secreções presentes de acordo com a variação hormonal. A genitália externa é constituída pelo vestíbulo (junção com a vagina marcada pelo orifício uretral), lábios maiores, lábios menores, clitóris e glândulas vestibulares.

3.2 Ciclos Reprodutivos da Vaca

Os ciclos reprodutivos se iniciam quando o animal atinge a fase de puberdade, mas o desenvolvimento das células germinativas femininas ocorre no período embrionário e fetal (HAFEZ; HAFEZ, 2004c). A puberdade é quando a fêmea se torna capaz de liberar o oócito e manifestar comportamento sexual. O início deste período é dado fisiologicamente pelo ajuste da atividade gonadotrófica e habilidade do ovário em assumir a esteroidogênese e gametogênese, ao redor dos 11 a 15 meses em bovinos de corte (JAINUDEEN; HAFEZ, 2004a). Especificamente os bovinos, a primeira ovulação não é sinônimo de maturidade sexual, geralmente ocorrem ciclos curtos sem ovulação até que o sistema reprodutivo esteja completamente funcional. No entanto, existe influências físicas, raciais e nutricionais que podem antecipar a puberdade (JAINUDEEN; HAFEZ, 2004a). Este assunto tem sido estudado para reduzir a idade ao primeiro parto e aumentar a vida útil animal com a intensificação dos sistemas de produção e suplementação nutricional.

A seleção dos bovinos foi direcionada para facilitar a ovulação e concepção ao longo do ano, sem estacionalidade. No entanto, em bovinos de corte pode ser observado certas alterações conforme o fotoperíodo, estando sob influência também da disponibilidade de pastagens e clima adequado em regiões temperadas e subtropicais (JAINUDEEN; HAFEZ, 2004a).

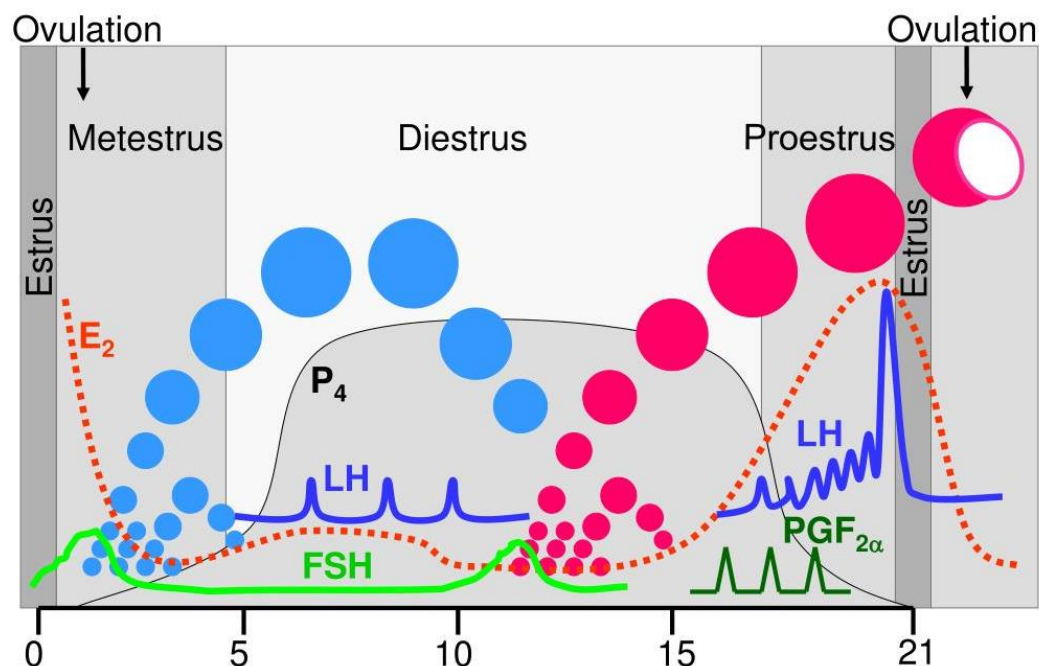
Os ciclos reprodutivos são controlados por hormônios hipotalâmicos, gonadotrofinas e esteroides secretados pelo ovário (HAFEZ; JAINUDEEN; ROSNINA, 2004) O hipotálamo está na região do terceiro ventrículo no cérebro e faz parte do sistema hipotálamo-hipofisário, sendo conectado à parte anterior da hipófise por conexões vasculares e à parte posterior por conexões neurais. Durante o ciclo, o hipotálamo secreta o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), fator inibidor de prolactina e o hormônio liberador de corticotrofinas. A hipófise anterior detém cinco tipos diferentes de células que secretam seis hormônios diferentes: hormônio do crescimento, hormônio adrenocorticotrófico, prolactina, hormônio tiro-estimulante e os

gonadotróficos: hormônio folículo estimulante (FSH) e luteinizante (LH). Através do estímulo, no ovário, as células da teca interna do folículo ovulatório produzem estrógenos e, após a ovulação, as células da granulosa e teca são substituídas pelo CL, que, por sua vez, produz progesterona (P4). Todos estes hormônios presentes no ciclo reprodutivo estão envolvidos em uma retroalimentação endócrina essencial para o balanço de constituintes e formação de um ciclo estral.

O eixo hipotálamo-hipófise-gonadal feminino inicia com a produção de GnRH em pulsos, que promove a liberação do LH e FSH (HAFEZ; JAINUDEEN; ROSNINA, 2004). O FSH tem função principal de estimular o crescimento e maturação do folículo ovariano e, com a presença de níveis tônicos ou basais de LH, também estimula a produção de estrógenos no ovário. O pico pré-ovulatório de LH é responsável pela ruptura da parede folicular, a ovulação. Os hormônios gonadais esteroides são o estradiol (E2) e P4 e proteico é a relaxina. O E2 é um estrógeno primário com função de induzir comportamento de cio na vaca (juntamente com pequenas quantidades de progesterona); participa do desenvolvimento das características sexuais secundárias femininas; estimula o crescimento e desenvolvimento das glândulas mamárias; e exerce efeitos de retroalimentação negativa no hipotálamo para controlar a produção de FSH e LH (HAFEZ; HAFEZ, 2004c). Já a P4 prepara o endométrio para a implantação e manutenção da prenhez; atua sinergicamente com os estrógenos na indução do comportamento de cio; também auxilia no desenvolvimento do tecido mamário; inibe a mortalidade uterina; e inibe o cio e pico pré-ovulatório do LH quando em níveis elevados (prenhez). A relaxina é secretada primariamente pelo corpo lúteo durante a prenhez, inibindo as contrações uterinas, mas também estimula a dilatação da cérvis e vagina durante o parto.

Os bovinos são animais poliétricos, com ciclo estral de 20 a 21d, compreendendo os períodos de proestro, estro, metaestro e diestro, com alterações hormonais apresentadas na Figura 1.

Figura 1 Ciclo Reprodutivo Hormonal da Vaca



Fonte: Stevenson, 2014.

O estro é considerado o dia 0 de cada ciclo. Nesta etapa o folículo dominante atinge o crescimento máximo e ocorre a ovulação. Os bovinos são os únicos que ovulam 10 a 12 horas (h) após o término do cio, já no metaestro, ou seja, em média 30h após o início do cio (JAINUDEEN; HAFEZ, 2004a). A maioria dos sinais de estro pode ser detectada com a observação cuidadosa dos animais pelo menos duas vezes ao dia. Durante o cio a fêmea costuma ter aumento da sua atividade motora, demonstrando inquietação, pode se ter aumento na vocalização e na presença do macho pode cheirar o períneo e região escrotal (ROELOFS, *et al.*, 2005). Também é observado cheirar e descansar o queixo em outras vacas. Em 90% dos estros analisados por Roelofs, *et al.*, (2005) foi detectado comportamento de monta em outras vacas e o animal se deixou montar em apenas 56%. O comportamento também pode alterar a sua frequência conforme a quantidade de vacas em estro durante o mesmo período ou com a categoria animal. Neste mesmo estudo, foi identificado maiores frequências em primíparas comparando-as a multíparas. A presença de uma secreção mucosa clara, tônus uterino e edemaciação da vulva também podem ser utilizados como indicativo de cio (HAFEZ; HAFEZ, 2004c).

Após a ovulação há a formação do CL, resultando na secreção de P₄, dando início a fase luteínica do ciclo (HAFEZ; HAFEZ, 2004c). O dia 2 ao dia 4 do ciclo é determinado como metaestro. Nesta etapa os níveis de P₄ aumentam e os de LH reduzem. Não é difícil de se observar um sangramento junto com o muco vaginal em vacas mais jovens ou novilhas.

Atingindo o máximo do tamanho e função do CL, do dia 5 ao 17, se tem o diestro com altos níveis de P4 na circulação sanguínea.

A regressão do CL ocorre com a ação do hormônio prostaglandina F2 α (PGF2 α), luteolítico, controlada pela fosfolipase A2 e ciclooxygenase 2 (COX2), liberando ácido araquidônico no plasma (FITZ, *et al.*, 1982; SAKAI, *et al.*, 2018). A COX2 converte a prostaglandina H2 em PGF2 α e prostaglandina E2 (PGE2). A PGE2 é um fator luteotrófico, induzindo secreção de progesterona pelo corpo lúteo aumentando o Monofosfato cíclico de Adenosina (AMPc) intracelular (FITZ, *et al.*, 1982). No entanto, a PGF2 α reduz o fluxo sanguíneo no CL e reduz a síntese de AMPc, inibindo produção esteroideogênica (WOLFENSON, *et al.*, 1993). Uma teoria é que estes resultados poderiam ser amplificados com a redução do número de receptores para LH. O tecido endometrial também tem participação na regulação do ciclo estral com a secreção de PGF2 α e PGE2 pelas células epiteliais e estromais, respectivamente (FORTIER; GUILBAULT; GRASSO, 1988). A ocitocina também aparenta aumentar a secreção de PGF2 α induzindo a luteólise.

Durante o período em que a P4 está em níveis altos, ocorre as ondas foliculares, conforme a secreção do FSH com cerca de 3 por ciclo (JAINUDEEN; HAFEZ, 2004a). Em cada onda, os folículos estimulados, passam pelas fases de recrutamento, seleção e dominância e regredindo conforme suprimidos pelos folículos maiores ou pela ação das alterações na P4 e LH. O folículo ovariano consiste do oócito circundado por células da granulosa e da teca, que promovem a sinalização e produção de hormônios para o desenvolvimento do oócito (HAFEZ; JAINUDEEN; ROSNINA; 2004). A proliferação e diferenciação das células da granulosa é crucial para o crescimento do folículo, desenvolvimento da célula germinativa, ovulação e luteinização (RAVAGNOLO; MISZTAL, 2002a).

Com o final do diestro e início do proestro (dia 17 a 20) há a regressão do CL e queda da concentração de P4 (YOUNGQUIST, 2007). O folículo dominante da terceira onda atingirá tamanho maduro, folículo de Graaf, secretando crescentes quantidade de E2, podendo dar início ao comportamento de cio. Um novo pico de LH destruirá o folículo com a ovulação e expulsão do oócito, dando início a um novo CL.

3.3 Oogênese e Maturação oocitária

As células germinativas primordiais têm origem extragonadal, do saco vitelino mesentérico (HAFEZ; HAFEZ, 2004c). Durante o desenvolvimento fetal, as oogônias passam por multiplicações mitóticas e a primeira divisão meiótica, sendo interrompido na prófase. Uma

atresia significativa ocorre ao nascimento e puberdade, restando centenas de oócitos (HAFEZ; HAFEZ, 2004a). No nascimento uma camada de células foliculares circunda os oócitos primários para formar os folículos primordiais. O desenvolvimento destes folículos culminará em uma ovulação ou regressão no período da puberdade (HAFEZ; HAFEZ, 2004e). O crescimento e maturação folicular resulta de várias transformações subcelulares e moleculares, primeiramente o oócito e células da granulosa e da teca, com estímulos hormonais e intrafoliculares. O FSH estimula a mitose nas células da granulosa e a formação do fluido folicular em conjunto com o início da formação do antro folicular (HAFEZ; HAFEZ, 2004d). Nesta etapa, o crescimento oocitário está quase completo e a atividade das células internas, do *cumulus*, cooperam estabelecendo um contato íntimo com a membrana celular. Na formação da membrana externa (zona pelúcida) os processos nas células do *cumulus* são fortalecidos.

Com o recrutamento e seleção de folículos antrais há a maior produção de E2 e, junto com o FSH, é induzido a sensibilidade das células da granulosa ao LH, promovendo aumento no número de receptores (HAFEZ; HAFEZ, 2004e). Durante a ovulação, o folículo dominante sofre o afinamento e ruptura da parede folicular externa com a liberação do complexo *cumulus*-oócito com o fluido folicular, sob influência do pico de LH (HAFEZ; HAFEZ, 2004d). A meiose, a partir da metáfise II, reinicia cerca de 3h após o pico de gonadotrofinas, porém a maturação do óvulo apenas será completa durante a fertilização, tornando-o em um zigoto.

Em seguida o zigoto sofre várias divisões mitóticas, clivagens, sem aumento de massa celular (HAFEZ; HAFEZ, 2004d). Quando se tem uma divisão vertical, através do eixo principal do ovo, surge um sulco da clivagem e as células filhas resultantes são chamadas de blastômeros. Com a formação de 9 a 16 blastômeros a unidade é chamada de mórula. Conforme se segue com a modificação do número de células e da arquitetura celular (a formação do blastocelo e divisão das células em internas e externas), se tem a classificação de embrião (HAFEZ; HAFEZ, 2004d). E, em medida, que o embrião se desenvolve é movimentado através do oviduto para dentro do útero.

3.4 Implantação e Gestação

A saída do blastocisto da zona pelúcida proporciona o primeiro contato celular entre o conceito e o epitélio uterino materno. Ocorre o crescimento e alongamento do embrião e a justaposição e adesão das células epiteliais uterinas com o trofoblasto embrionário (GEISERT; MALAYER, 2004). O processo de aderência em ruminantes envolve as áreas carunculares e intercarunculares. Primeiramente, há uma adesão transitória com a formação de papilas

(vilosidades em forma de dedos) com as glândulas uterinas. O reconhecimento materno se dá posteriormente pela produção de proteínas que inibem a produção de $\text{PGF2}\alpha$ pelo endométrio, importante na manutenção do CL e dos altos níveis de P4 (GEISERT; MALAYER, 2004). É destacado a importância da manutenção do CL em bovinos pela pouca participação da placenta da secreção de P4. Na vaca o reconhecimento ocorre entre o 16° e 19°d, com liberação de interferon tau bovino pelo concepto e pelo inibidor de síntese de prostaglandinas pelo endométrio (GEISERT; MALAYER, 2004; BROWN-BRADL; JONES; WOLDT, 2005). Em ovelhas, a liberação do interferon tau suprime a expressão de receptores de estrógenos, diminuindo a produção de ocitocina luteínica. Isso reduz a conversão de ácido araquidônico em prostaglandinas consequentemente reduzindo a liberação pulsátil de $\text{PGF2}\alpha$ e mantendo o CL. É sugerido que um processo semelhante ocorra em vacas, mas ainda precisa ser elucidado (SAKAI, *et al.*, 2018).

Com o reconhecimento da prenhez, a gestação segue até 278d, em média, com uma placenta cotiledonária e barreira materno-fetal epiteliocorial (JAINUDEEN; HAFEZ, 2004b). A placenta é a única passagem de nutrientes do organismo para o feto. Os cotilédones fundem-se com as carúnculas formando os placentomas, cerca de 70 a 120 em bovinos, que crescem durante a gestação. De acordo com Jainudeen e Hafez, 2004b, e Limesand, *et al.*, (2018), as funções da placenta são o transporte de gases, oxigênio e dióxido de carbono, nutrientes em função da sua permeabilidade, como: açúcares, aminoácidos, vitaminas e minerais e ácidos graxos. A glicose, alguns aminoácidos, eletrólitos e vitaminas necessitam de transportadores especiais no trofoblasto para o transporte em condições adequadas

4 ANATOFISIOLOGIA DO SISTEMA REPRODUTOR MASCULINO

4.1 Anatomia Funcional do Macho

As gônadas masculinas (testículos) situam-se fora do abdome, no escroto, aonde a formação do espermatozoide se inicia (HAFEZ, 2004). As células saem do testículo pelos ductos eferentes em direção ao epidídimo, continuando pelos ductos deferentes. Glândulas acessórias eliminam suas secreções no ducto deferente ou porção pélvica da uretra. Esta é rodeada pelo tecido vascular cavernoso e, com músculos agrupados ao redor da saída pélvica, contribue para a formação da raiz do pênis. A parte livre ou ápice do pênis é coberta pelo tegumento modificado, o prepúcio.

A origem dos testículos é abdominal e, no período fetal, é produzido neste o andrógeno fetal e substância inibidora Mülleriana, com função de diferenciação e desenvolvimento do sistema reprodutor masculino (HAFEZ; JAINUDEEN; ROSNINA, 2004). A gônada migra caudalmente, atravessando a parede abdominal pelo anel inguinal profundo e superficial, para se localizar no escroto. Falhas neste processo levam ao criptorquidismo prejudicando a função endócrina e desejo sexual pela falha no controle de temperatura ideal para os testículos e epidídimos (HAFEZ, 2004)

O escroto protege os testículos através das camadas de pele, túnica dartos, fásia espermática externa e túnica vaginal (parietal e visceral). Também têm auxílio do musculo cremaster que desempenha um papel muito importante na manutenção da temperatura ideal para o desenvolvimento das células espermáticas (HAFEZ, 2004). O escroto detém receptores na pele escrotal para que as medidas necessárias sejam tomadas caso aumento de temperatura interna, como o aumento da sudorese, alteração na espessura e área de superfície da camada dartos e ajuste na distância do corpo (MENEGASSI; BARCELLOS, 2015). Em condições de calor os músculos do funículo espermático e da túnica albugínea relaxam e afastam os testículos da parede abdominal. O plexo pampiniforme, convoluções das veias testiculares, estão em contato íntimo com as artérias, em mecanismo contracorrente para esfriar o sangue arterial em direção ao testículo para manutenção de temperatura adequada (BRITO, *et al.* 2004).

Os testículos no touro têm localização caudal ao pênis, posicionamento horizontal, com a cabeça do epidídimo proximal e cauda do epidídimo distal. O seu tamanho pode variar de acordo com a maturidade sexual, raça ou indivíduo, sendo correlacionado com o potencial reprodutivo (MENEGASSI; BARCELLOS, 2015). O testículo é organizado por células espermatogênicas ao redor dos túbulos seminíferos, estas se dividem e se diferenciam para a

produção de espermatozoides e posterior eliminação no lúmen (HAFEZ, 2004). Estas células diferenciadas seguem através do ducto eferente para o epidídimo.

O epidídimo é constituído de três componentes: cabeça, corpo e cauda (HAFEZ, 2004). A cabeça do epidídimo é composta por um número variável de ductos eferentes que se unem ao ducto do epidídimo. Este ducto é enovelado, compreendendo cerca de 36 metros (m) no touro, e é marcado por uma progressiva diminuição na altura do epitélio e estereocílios e aumento do lúmen. O corpo é de difícil identificação no exame andrológico e tem função de levar os espermatozoides da cabeça para a cauda (MENEGASSI; BARCELLOS, 2015). A cauda do epidídimo é o principal órgão de armazenamento de espermatozoides, conservando a capacidade de fertilização durante várias semanas devido à baixa temperatura e ação do hormônio sexual masculino. Os espermatozoides seguem pelo ducto deferente que, por sua vez, dispõe de pregas longitudinais, e é composto por células não-ciliadas com baixa atividade secretória. Nesta etapa ocorre a absorção do fluido e espermiófagia.

As glândulas acessórias nos bovinos são a vesícula seminal, próstata e glândulas bulbouretrais (HAFEZ, 2004). As vesículas seminais se posicionam lateralmente às porções terminais do ducto deferente e são lobuladas e compactas. O ducto das vesículas seminais e o ducto deferente podem se unir em um ducto ejaculatório comum, que se abre na uretra. A próstata tem um corpo pequeno no touro e as glândulas bulbouretrais são quase ocultadas pelo músculo bulboesponjoso (HAFEZ, 2004). As duas últimas glândulas eliminam suas secreções na uretra, se unindo ao fluido com suspensão de espermatozoides e secreções da ampola do ducto deferente. A função das glândulas acessórias é fornecer veículo líquido para o transporte dos espermatozoides e nutrição pela frutose e ácido cítrico, proveniente das vesículas seminais.

O pênis é composto por três corpos cavernosos ao redor da uretra peniana e pelo corpo esponjoso. É presente o músculo retrator do pênis, que controla o comprimento efetivo do pênis e a flexura sigmoide (HAFEZ, 2004). O prepúcio é controlado pelo músculo cranial do prepúcio e pode estar presente um músculo caudal. Com a estimulação sexual há uma dilatação das artérias que suprem os corpos cavernosos causando enrijecimento junto ao músculo isquiocavernoso. Esta pressão gera um aumento de comprimento e pouca alteração na dilatação do pênis e, quando se tem a protusão, o prepúcio é invertido.

4.2 Fisiologia Reprodutiva do Touro

O macho bovino é influenciado pelos mesmos hormônios citados anteriormente na fisiologia reprodutiva da fêmea, proveniente do eixo hipotálamo-hipofisário-gonadal com liberação de

gonadotrofinas e outros (HAFEZ; JAINUDEEN; ROSNINA, 2004). O FSH atua nas células germinais, nos túbulos seminíferos e é responsável pela espermatogênese até o estágio de espermatócitos secundários. Os andrógenos provenientes dos testículos atuam nas fases finais da espermatogênese. O LH induz a produção de andrógenos pelas células de Leydig, intersticiais. Os hormônios esteroides produzidos tanto pelo ovário quanto pelo testículo têm proveniência do colesterol que através de transformações estruturais se transforma em pregnenolona, progesterona, testosterona e estradiol, estando em concentrações diferentes de acordo com o sexo do animal. Nos machos, os hormônios andrógenos são mais presentes, como a testosterona, sendo a forma biologicamente ativa a diidrotestosterona. As funções principais deste hormônio é estimular os estágios finais da espermatogênese e prolongar a vida útil do esperma epididimário; promover crescimento, desenvolvimento e atividade secretora das glândulas sexuais acessórias; e manutenção das características sexuais secundárias e do comportamento sexual do macho (HAFEZ, 2004).

Em geral, o FSH e a testosterona mantêm a função gametogênica e o LH controla a secreção de andrógenos pelas células de Leydig (HAFEZ; JAINUDEEN; ROSNINA, 2004). No entanto, ao contrário da fêmea, não se tem um sistema de retroalimentação positiva. Desta forma, após a castração se mantém a concentração e frequência de pulsos de LH e FSH. A secreção de testosterona é regulada por alças curtas e longas, sendo que a longa envolve o FSH, inibina e interação do LH com testosterona, e a curta envolve os epitélios intersticial e seminífero com fatores de crescimento e hormônios.

A competência funcional de cada porção do trato reprodutivo pode se desenvolver em tempos diferentes, por exemplo, o touro pode ter a capacidade de ereção do pênis, mas sem o aparecimento de espermatozoides no ejaculado por meses (HAFEZ, 2004). A puberdade é dita como o período em que o sistema como um todo esteja funcional, no entanto os componentes continuam se desenvolvendo para atingir a maturidade. No touro, a idade para que ele seja considerado sexualmente maduro é em torno de 300 dias (d) em *Bos taurus* e de 575 a 625d para *Bos indicus* (Nelore) (MENEGASSI; BARCELLOS, 2015).

O final do período pré-pubere e o início da espermatogênese é marcado pelo desenvolvimento dos gonócitos a espermatogônias A definitivas (HAFEZ; JAINUDEEN; ROSNINA, 2004). Pouco antes deste período, as células de Sertoli formam uma barreira do organismo para proteção das células germinativas. A partir da puberdade é observado um aumento na motilidade progressiva dos espermatozoides, uma concentração da proteína seminal

e aumento da porcentagem de espermatozoides com morfologia normal de cabeça, cauda e acrossomo (HAFEZ, 2004).

A puberdade no macho também pode ser identificada quando este contém espermatozoides suficientes no ejaculado para emprenhar uma fêmea ou em torno de 50 milhões de espermatozoides com 10% de motilidade (MENEGASSI, *et al.*, 2017). No entanto, a capacidade de produção diária de espermatozoides é variável, sendo correspondente ao tamanho testicular, sendo estimado pelo comprimento e largura ou circunferência escrotal (JAINUDEEN; HAFEZ, 2004a). Neste período, há um aumento na frequência de pulsos do LH, estimulando às células de Leydig a secretarem T para a diferenciação das células de Sertoli e início da espermatogênese.

4.3 Espermatogênese e Maturação Espermática

A espermatogênese é o processo de produção de gametas masculinos se iniciando na fase fetal e continuando durante a vida ativa do macho (MENEGASSI; BARCELLOS, 2015). É um processo cíclico com duração de 13.5d no epitélio seminífero e, para se completar a espermatogênese, são necessários 4.5 ciclos, ou 61d (JAINUDEEN; HAFEZ, 2004a). Desta forma, uma lesão no testículo ou febre/estresse calórico pode interferir na produção espermática levando no mínimo 2 meses para retornar à qualidade espermática a normal.

Durante o período fetal, as células germinativas primordiais migram do saco vitelino do embrião para as gônadas, aonde irão se dividir para formar os gonócitos. Logo antes da puberdade estas células se transformam em espermatogônias A e se dividem progressivamente nos quatro tipos celulares de espermatogônias (A1, A2, A3 e A4) (MENEGASSI; BARCELLOS, 2015). A partir da espermatogônia B são originados os espermatócitos primários, iniciando a divisão meiótica. Os espermatócitos primários estão localizadas no interior da camada irregular de espermatogônias e células de Sertoli e detém núcleos maiores e mais claros que as células precursoras (HAFEZ, 2004). Devido a curta duração do segundo estágio da meiose, os espermatócitos secundários normalmente não são visualizados em cortes histológicos. As espermátides, resultado da meiose, estão mais internas que os espermatócitos primários, podendo deter várias camadas em espessura e culminam no lúmen dos túbulos com os espermatozoides (HAFEZ, 2004). A transição de espermátide até espermatozoide é chamado de espermiogênese, marcado por modificações morfológicas e nucleares, como a condensação da cromatina, formação da cauda espermática e desenvolvimento da cauda acrossomal. Estas alterações são separadas em quatro fases: fase de Golgi, da capa, acrossomal e de maturação

(MENEGASSI; BARCELLOS, 2015). A primeira fase é marcada pela formação de grânulos pró-acrossomais e estágios primários do desenvolvimento da cauda no polo oposto ao dos grânulos. Na fase de capa os grânulos acrossomais são difundidos até que dois terços da porção anterior de cada núcleo da espermatíde seja recoberto com um envoltório fino. A fase acrossomal apresenta modificações de núcleo, acrossomo e cauda em desenvolvimento, favorecidas pela rotação da célula em que o acrossomo fica em direção ao túbulo seminífero e a cauda para o lúmen. A fase de maturação envolve o alongamento das espermatídes e maior condensação dos grânulos de cromatina até formarem um fino material homogêneo. Após estas fases as células germinativas são liberadas no lúmen dos túbulos seminíferos.

As modificações funcionais que ocorrem no trânsito dos espermatozoides pelo epidídimo envolvem a maturação destes, como o desenvolvimento da capacidade de motilidade espermática com aumento da flexibilidade e alteração nos padrões de movimento dos flagelos (JUNIOR, *et al.*, 2018). Também durante a passagem pelo epidídimo há modificações na cromatina, com maior compactação, e é observado a migração da gota citoplasmática do colo para o *annulus*. A presença de gota em quantidade significativa no ejaculado é um sinal de imaturidade celular. Desta forma, no final do trajeto epididimário, os espermatozoides detêm a capacidade de fertilização.

4.4 Qualidade do Sêmen

A avaliação de qualidade espermática faz parte do exame andrológico de touros, compreendendo também a saúde do animal, alterações anatômicas e libido, considerando a capacidade de cópula e de fecundação. É importante esta avaliação prévia para garantir bons resultados após época de monta ou detectar características importantes para a seleção genética e possibilidade de congelamento do sêmen para inseminação artificial (IA) (MENEGASSI; BARCELLOS, 2015)

O sêmen do touro deve ser uniforme, ter aparência opaca, sem grumos ou contaminantes, normalmente varia de 4 a 10 mililitro (mL) por ejaculado (BARTH, 2000). Geralmente os padrões mínimos incluem 500 milhões de espermatozoides/mL, mais de 50% móveis com movimentos retilíneos e progressivos e mais de 80% com morfologia normal. A concentração normal espermática no touro varia de 2×10^8 espermatozoides/mL em touros jovens para $1,8 \times 10^9$ em adultos. A concentração espermática pode sofrer alterações de acordo com a estação do ano e frequência de ejaculação, por exemplo após os 7 anos de idade a produção começa a declinar (JAINUDEEN; HAFEZ, 2004a).

As anormalidades morfológicas têm grande importância de avaliação pois apresentam grande correlação com a fertilidade dos rebanhos (JAINUDEEN; HAFEZ, 2004a). Condições de estresse térmico aumentam drasticamente a incidência de espermatozoides deformados podendo manter um macho estéril por até 6 semanas em casos severos. A fertilidade do touro começa a diminuir quando os defeitos excedem 20%. Os defeitos são classificados em primários (cabeça e acrossomo), secundários (gota citoplasmática na peça intermediária) ou terciários (cauda).

Vários testes têm sido implementados na avaliação mais minuciosa da qualidade espermática como análise em microscopia eletrônica, eosina/nigrosina e atividade enzimática (CHENG, *et al.*, 2016).

5 BEM –ESTAR ANIMAL

O termo “bem-estar” é utilizado pela sociedade e mídia tanto com sentido científico quanto ético-moral. Por esta razão se tornou um assunto bem controverso e alvo de discussões relacionadas ao significado de uma vida ótima para os animais e quais os seus direitos. De acordo com a Organização Internacional de Epizootias (OIE), também conhecida como “Organização Mundial da Saúde Animal”, o conceito de bem-estar inclui a saúde, conforto, nutrição, segurança e expressão do comportamento natural (OIE, 2010). Em 1993, o “Conselho de Bem-Estar em Animais de Produção” (FAWC, 1993) identificou três elementos principais a serem levados em conta: o funcionamento biológico normal, o seu estado emocional e a habilidade de expressar certos comportamentos. Para apresentar de maneira mais prática, e se tornando útil na avaliação dos sítios de criação, durante o transporte ou até no abatedouro, as “Cinco Liberdades” foram estabelecidas, tabela 2, e serviram como base de muitas leis de proteção aos animais.

Tabela 2: As “Cinco Liberdades”

Liberdades	Implicação
Livre de fome, sede e má nutrição	Disponibilidade de água potável e dieta apropriada
Livre de desconforto físico e térmico	Acesso ao abrigo dos elementos climáticos e área de descanso confortável
Livre de dor, ferimentos ou doenças	Prevenção adequada e/ou rápido diagnóstico e tratamento
Livre de medo ou estresse	Garantia de condições necessárias para prevenir sofrimento mental
Liberdade para expressar comportamento normal	Garantia de espaço suficiente, instalações apropriadas e companhia de outros iguais

Adaptada de (MANTECA; MAINAU; TEMPLE, 2012)

Em razão da característica genérica e da sobreposição de algumas das liberdades foram sendo desenvolvidas outras técnicas e abordagens (BOISSY, *et al.*, 2007). A maioria dos

estudos científicos nesta área têm objetivo de avaliar as alterações fisiológicas em determinada situação, como o cortisol, taxa respiratória e batimentos cardíacos (KADZERE, *et al.*, 2002). No entanto, este aspecto limita a interpretação de bem-estar a saúde e funcionamento biológico do animal e falha em considerar a sua condição mental (como angústia ou dor) (BOISSY, *et al.*, 2007). Em uma situação em que o ambiente é o estressor, a falta de habilidade para controlar o meio (sem água para evitar desidratação ou ausência de sombra para abrigo) gera sentimento do tipo frustração. A subjetividade e dificuldade na quantificação psicológica dos animais é um grande desafio, especialmente em bovinos. Algumas opções utilizadas são testes motivacionais, de preferências ou de julgamento (CHARLTON, *et al.*, 2013; VON KEYSERLINGK, *et al.*, 2017), mas são mais desenvolvidos em suínos.

Um conceito mais atual trata do estado animal ideal como alostasia, ou seja, a habilidade de lidar com o estresse (MCEWEN; WINGFIELD, 2003). Este conceito argumenta que as “Cinco Liberdades” é uma situação utópica e que a maioria dos animais naturalmente experiencia algum destes estressores. De qualquer maneira, no meio científico, o bem-estar é o atual estado do animal, podendo estar entre o bom e o ruim em vários estágios (BACKUS; McGLONE; GUAY, 2014). No entanto, Curtis (2007) concluiu que o estado do indivíduo estaria nas taxas de produção e performance reprodutiva relativo ao seu potencial, sendo bom quando atinge o seu ponto ótimo.

Uma linha que vem agradando a população é a da relação de bem-estar com os aspectos naturais originários de criação, tendo um papel muito importante no mercado e na diferenciação de produto final (BACKUS; McGLONE; GUAY, 2014). Nesta ideia, o componente natural espelha o ambiente de evolução dos animais, sendo para bovinos uma produção extensiva, a base de campo nativo e desmame natural dos terneiros. Esta é uma realidade parecida com sistemas de cria de bovinos de corte no Brasil, no entanto há uma evolução/intensificação para que a produção seja eficiente, tendo mais terneiros, com menor utilização dos recursos naturais possíveis e foco na sustentabilidade (MENEGASSI, *et al.*, 2013). Medidas possíveis estão na diminuição da idade de primeiro parto, aumento de taxas de prenhez, menor número de vacas vazias no campo e nutrição de qualidade, podendo envolver outros cultivares ou silagem e feno. Mas, da mesma forma, o estresse ambiental atua na redução da produção, na habilidade de lidar com outros desafios e na frustração animal, sendo muito importante a sua mitigação e prevenção.

6 ESTRESSE TÉRMICO

Desde o início do século 20 foi observado um aumento de 0.7 graus centígrados (°C) na superfície terrestre, com mais ondas de calor do que de frio, se tornando uma das maiores preocupações na produção animal (IPCC, 2019). Na produção de bovinos de corte no Brasil, uma grande parcela do plantel está localizada em regiões tropicais e subtropicais, sendo estas quentes e úmidas durante boa parte do ano, com potencial de influenciar negativamente nos resultados produtivos. O estresse ambiental interfere no organismo não apenas com a variação nos mecanismos de termorregulação, mas também com a queda de taxas reprodutivas, diminuição do crescimento e produção de carne, e uma piora na reposta imune (YASHA, *et al.*, 2017). Estas condições acabam retirando a efetividade do sistema de produção e diminuindo os lucros. Foi estimado uma perda econômica devido ao estresse térmico de 500 a 897 milhões de dólares em 2003, com potencial de perdas maiores ainda hoje em dia (LEMERLE; GODDARD, 1986).

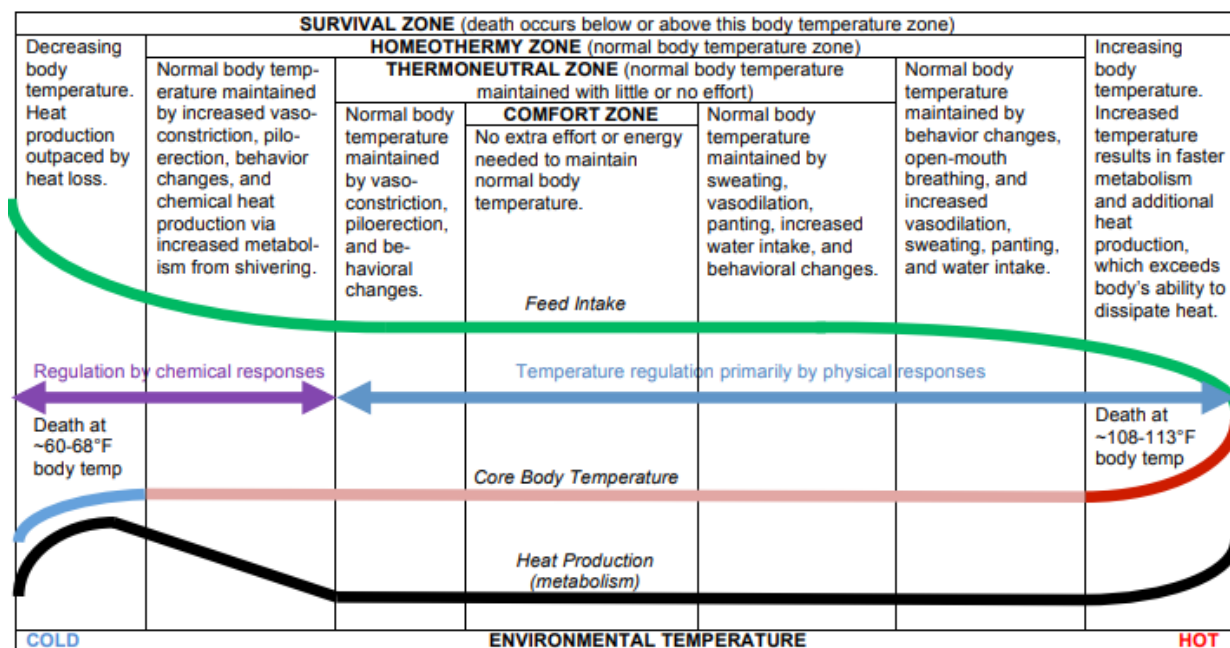
O estresse é uma resposta biológica associada a eventos internos ou externos que podem alterar a homeostase animal, sendo considerada como uma ameaça ou estímulo. Este pode ser classificado de acordo com a duração (agudo, crônico ou intermitente) e com o tipo de resposta (psicológico ou fisiológico) (BACKUS; McGLONE; GUAY, 2014). As consequências serão diferentes de acordo com a idade, saúde, genética e experiências anteriores. Na literatura é indicado que as respostas biológicas se apresentam em quatro vias: através do sistema nervoso autônomo, neuroendócrino, imune e comportamental (MOBERG, 2000). Porém, estes estímulos não são sempre ruins. Os animais, incluindo humanos, detém mecanismos de adaptação para as condições estressantes, se tornando um papel fundamental na evolução. No entanto, no caso de estresses severos, quando não há o retorno a homeostase, se tem consequências negativas do estímulo e possível morte. Com a incapacidade de suprimir o estresse o bem-estar animal fica comprometido, tendo impacto na psicologia, fisiologia e comportamento animal (BACKUS; McGLONE; GUAY, 2014).

Os mamíferos em geral são animais homeotérmicos, ou seja, mantêm a sua temperatura corporal pelo balanço entre o calor metabólico produzido e o calor dissipado ao ambiente (HANSEN, 2004). Sob temperaturas elevadas as células termorreceptoras periféricas são estimuladas a enviarem ao hipotálamo a mensagem de perda ou ganho de calor, influenciando assim na resposta (HAFES, 2004). No caso de estresse há uma falha nos sistemas de dissipação ou aumento do gradiente de calor corporal, sendo diferentes os níveis de tolerância entre raças e indivíduos. A estratégia de termorregulação dos bovinos é manter um fluxo de calor de dentro

do organismo para fora, em quatro rotas básicas: condução, convecção, radiação e evaporação (KUMAR, *et al.*, 2019). Com o auxílio de mecanismos fisiológicos adaptados para reduzir a carga calórica interna o bem-estar do animal é mantido e assim as suas capacidades produtivas (BERIHULAY, *et al.*, 2019).

A zona de conforto térmico é a amplitude de temperatura ambiental que exige o menor esforço para regular a sua temperatura corporal, tendo gasto de energia mínimo para manutenção, com maior eficiência produtiva e reprodutiva (Livestock Heat Stress, 2015). Esta zona tem muita variação de acordo com os fatores ambientais, aclimação, pelagem, nível de produção e raças sendo indicado a faixa de 15 a 25°C para *Bos taurus* e 16 a 27°C em *Bos indicus*. Com o gasto de manutenção estabelecido em nível mínimo, o animal pode desviar parte da energia para processos produtivos, porém isso não ocorre caso seja necessário um ajuste de temperatura interna (BERIHULAY, *et al.*, 2019). Quando a temperatura normal é mantida com pouco esforço é considerada a zona termoneutra, reduzindo o calor com alguns mecanismos fisiológicos como a sudorese, vasodilatação, ofegação, aumento do consumo de água e busca por sombra (Livestock Heat Stress, 2015). A zona homeotérmica está relacionada com a possibilidade manutenção da temperatura corporal, com esforço, através de alterações comportamentais, respiração com boca aberta, vasodilatação, sudorese intensa, ofegação mais aparente e aumento no consumo hídrico. No entanto, quando a temperatura ambiental aumenta a nível de elevar a temperatura corporal, o animal se encontra na zona de sobrevivência, em que há a morte do animal se a temperatura continuar a aumentar. Nesta última situação o aumento de temperatura corporal gera um aumento de metabolismo que, por sua vez, eleva ainda mais o calor interno, sendo superior à capacidade de dissipação do organismo (Livestock Heat Stress, 2015). Na figura 2 está representada a relação entre as zonas e alterações nos mecanismos de termorregulação.

Figura 2: Mecanismos de Termorregulação e Zonas Térmicas em Mamíferos



Fonte: Baseada em Livestock Heat Stress, 2015

6.1 Alterações Fisiológicas do Estresse

Conforme as temperaturas aumentam acima da zona de conforto térmico, sendo estabelecido uma condição de estresse ambiental, é percebido uma queda na taxa de perda de calor sensível acionando mecanismos de resfriamento. As alterações fisiológicas em resposta ao estresse em mamíferos incluem modificação dos padrões de respiração, aumento dos batimentos cardíacos, aumento da sudorese, redução da perda de água via urina e conteúdo fecal (concentração) e mudanças comportamentais (KUMAR, *et al.*, 2019).

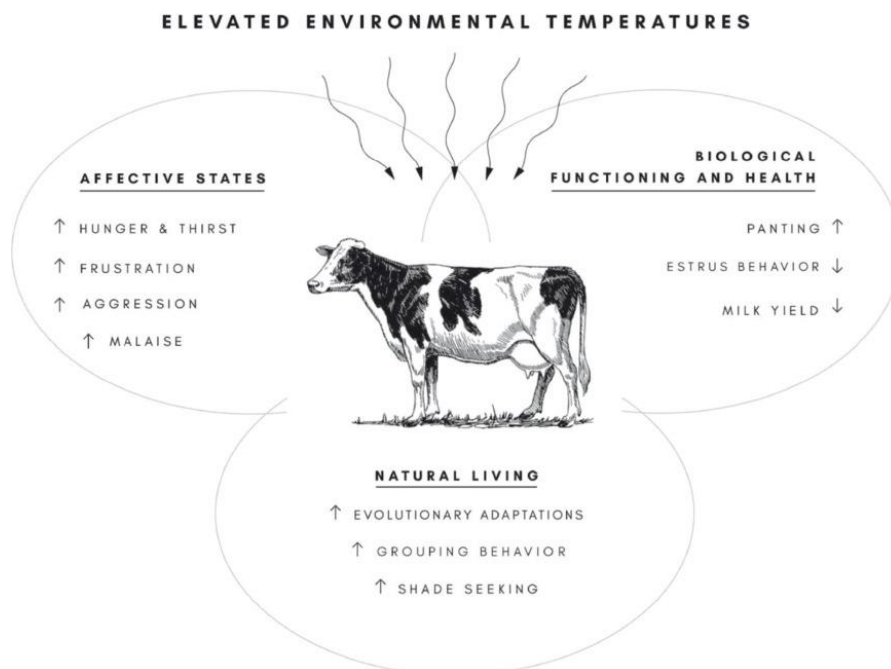
O primeiro fator a ser alterado no mecanismo de termorregulação é a taxa de respiração (BERIHULAY, *et al.*, 2019). É possível observar em condições estressantes, normalmente durante o verão, a ofegação dos animais como tentativa de dissipar o calor, sendo um método indicativo de estresse e que pode ser avaliado mesmo à distância dos animais (BENAVIDES, *et al.*, 2016) Foi constatado em alguns estudos que, de acordo com as condições ambientais, os animais poderiam ter aumento na frequência de respiração, mas sem alteração na temperatura retal (KUMAR, *et al.*, 2019).

Foi relacionado também a redução nos níveis plasmáticos de triiodotiroxina e tiroxina. Em Magdub, Johnson e Bleyea (1982), o primeiro hormônio atingiu níveis de 2.72 ± 0.8 nanogramas (ng)/mL no inverno e diminuiu para 1.92 ± 0.2 ng/mL no verão, enquanto a tiroxina partiu de 35.39 ± 1.07 ng/mL no inverno para 32.25 ± 1.1 ng/mL no verão. Outros sinais de

estresse calórico incluem uma maior salivação, alteração nas funções endócrinas, redução do metabolismo em geral e adaptações comportamentais, como a suspensão de pastejo, aumento no consumo de água, interrupção da atividade física (BENAVIDES, *et al.*, 2016).

Condições ambientais fora da zona de conforto podem limitar certas funções fisiológicas com a redução do apetite (MITLÖHNER, *et al.*, 2001; BROWN-BRANDL *et al.*, 2005), diminuição do crescimento (ANSARI-MAHYARI, *et al.*, 2019; SULLIVAN, *et al.*, 2011) e fertilidade (ROMAN-PONCE; THATCHER; WILCOX, 1981; PUTNEY, *et al.*, 1988). Algumas das alterações fisiológicas na vaca estão exemplificadas na Figura 3. Estas alterações se dão em função da energia de manutenção estar aumentada pelo gasto calórico direcionado para o controle da temperatura (MACKO *et al.*, 2016) e pela tendência em redução do calor interno, influenciando diretamente no consumo alimentar. No estudo de Sanchez, *et al.*, (2013), o consumo não chegou a variar entre as raças, mas diminuiu nos grupos submetidos ao estresse ($14.8\text{kg} \pm 0.4$) quando comparado aos animais em zona de conforto térmico ($18.4\text{kg} \pm 0.4$). De acordo com Oliveira, *et al.*, (2014), os bovinos poderiam diminuir em até 11% do tempo de pastejo quando expostos a altas radiações solares. Alterações no consumo de água, queda de pelos e busca por sombra também podem ocorrer nestas situações (NEJAD; SUNG, 2017). Os ruminantes, que em condições normais se apresentam ativos durante o dia e descansam a noite, invertem os horários de pastejo para melhorar seu bem-estar (BERIHULAY, *et al.*, 2019). Diferenças entre raças são observadas no comportamento de busca por sombra, em que (DIKMEN, *et al.*, 2018) encontrou menor procura no período mais quente do dia, das 12h às 16h, pelos animais 75% e puro de genética Brahman, quando comparado a cruzas com maior percentual de Angus.

Figura 3: Alterações Fisiológicas do Aumento de Temperatura no Bovino



Fonte: VON KEYSERLINGK, *et al.*, 2017.

Em situações de estresse térmico é ativado o eixo hipotálamo-hipofisário-adrenal, com liberação de cortisol, e o eixo simpato-medular adrenal, que aumenta as concentrações de adrenalina (MINTON, *et al.*, 1994). Foi encontrado em um estudo por Minton, *et al.*, (1994), aumento considerável nas concentrações de cortisol no verão (6.54 ± 0.7 ng/mL) comparado ao inverno (4.03 ± 1.1 ng/mL). Em detrimento da supressão das funções hipotalâmicas é possível que se tenha uma redução das gonadotrofinas, gerando falhas na ovulação e redução nas taxas de prenhez (MEGAHED, *et al.*, 2008).

Prejuízo a reprodução nos períodos de altas temperaturas relacionam a redistribuição de sangue para a periferia (pele e mucosa nasal) (LIMESAND, *et al.*, 2018) às custas do útero gravídico, restringindo o crescimento fetal (REYNOLDS, *et al.*, 1985). Além disso, em diversos estudos foi relatado alterações no desenvolvimento folicular (MACEDO, *et al.*, 2014), diminuição da expressão do comportamento de estro, comprometimento da competência oocitária (GENDELMAN, *et al.*, 2010) e atraso ou inibição do desenvolvimento embrionário (FERREIRA, *et al.*, 2011). Nos machos foi observado modificações na fisiologia dos testículos, saco escrotal e glândulas acessórias com impacto negativo na qualidade espermática (CHENG, *et al.*, 2016). No entanto, estes efeitos são dependentes de raça, devido às variações genéticas, características corporais e condição do ambiente.

Efeitos na resposta imune também foram relacionados com condições de estresse (SANCHEZ, *et al.*, 2013). Devido a exigência de energia para a produção de proteínas de fase

aguda e imunoglobulinas, junto com demanda energética para manutenção de temperatura, um desafio imune sob condições de estresse ambiental é mais difícil de ser combatido por animais ou raças sensíveis (CARROLL, *et al.*, 1992). Em um estudo (SANCHEZ, *et al.*, 2013), animais Angus e Romosinuano (raça taurina adaptada ao calor) sob desafio com lipopolissacarídeos bacterianos, obtiveram temperaturas retais diferentes, mais altas no Angus (39.33°C) comparado ao Romosinuano (38.72°C). Animais da raça Angus também tiveram menores concentrações de glicose e ácidos graxos livres não-esterificados. Estes resultados corroboram com a hipótese que raças mais tolerantes administram a partição dos nutrientes de melhor forma, dando condições de defesa mais eficiente, mantendo o consumo e reduzindo os efeitos no crescimento e performance produtiva.

É importante ressaltar que existe uma complexidade nos mecanismos de termorregulação em relação a variação individual e racial (BERIHULAY, *et al.*, 2019). Alterações de pelagens ou até mesmo das concentrações de sódio, potássio e cloro, nível de hidratação e de balanço energético poderiam modificar a habilidade de lidar com condições ambientais estressantes (KADZERE, *et al.*, 2002). Visto isso e o potencial de alteração no organismo animal, seria ideal que os produtores possam se prevenir a ondas de calor ou épocas mais estressantes com o planejamento racial do rebanho ou mesmo na definição de dias para a inseminação, transporte ou atividades com gasto de energia. Por isso, a interpretação dos dados climáticos e conhecimento das alterações possíveis no seu rebanho é de extrema importância para manter o bem-estar dos animais e a viabilidade econômica da propriedade.

6.2 Quantificação e Avaliação do Estresse Ambiental

Uma combinação de fatores pode influenciar nas condições ambientais para que se tornem estressantes, como alta temperatura, umidade relativa, radiação solar, e baixa velocidade do vento e precipitação (KUMAR, *et al.*, 2019). Geralmente as perdas de calor sensível são dirigidas pelo gradiente de temperatura e velocidade do vento, enquanto perdas evaporativas são controladas pela pressão de vapor e umidade (MAIA; DA SILVA; BATTISTON LOUREIRO, 2005). Normalmente é utilizado nas fórmulas de condição ambiental os parâmetros: temperatura de bulbo seco (°C), temperatura da ponta de orvalho (°C), velocidade do vento (metros/segundo (m/s)) e radiação solar (watts/metro² (W/m²)) (4).

O estresse para gado de corte se inicia com temperaturas ambiente acima de 25°C, o que significaria temperatura corporal acima de 39.39°C, juntamente com umidade relativa acima de 60% e velocidades de vento menores que 1.5m/s (SUÁREZ, *et al.*, 2012). No entanto, como

uma série de fatores relacionados podem se apresentar e se relacionar de formas diferentes foram propostos alguns índices para tal avaliação.

6.2.1 Temperatura Retal

A temperatura retal é um ótimo índice para se avaliar a temperatura corporal, mesmo que haja uma variação considerável entre as diferentes partes do corpo durante o dia (BERIHULAY, *et al.*, 2019). Um aumento de 1°C ou menos neste parâmetro é suficiente para reduzir a produtividade da maioria das espécies produtivas (MCDOWELL; HOOVEN; CAMOENS, 1976). No entanto, é uma medição inviável em larga escala, sendo limitada pelos custos de coleção e registro (ANSARI-MAHYARI, *et al.*, 2019). Técnicas como a utilização de raio infravermelho estão surgindo para avaliar a temperatura em diferentes locais do animal de forma mais prática (MENEGASSI, *et al.*, 2017)

6.2.2 Taxa de Respiração

A primeira alteração nos mecanismos de termorregulação fisiológica incluem o aumento na taxa de respiração para aumentar as perdas evaporativas via trato respiratório (KUMAR, *et al.*, 2019). Pode ser verificado aumento quando perto do Índice de Temperatura e Umidade (ITU) de 73, enquanto as temperaturas retais apenas sofrem alterações quando o ITU já está em 80 (LEMERLE; GODDARD, 1986). Desta forma, pode-se inferir que os mecanismos homeostáticos tiveram sucesso em prevenir aumento de temperatura corporal até o ITU de 80.

Por ser uma avaliação de fácil mensuração, sem necessidade de restrição animal, viável ao produtor e sem necessidade de treinamento específico prévio é um índice básico e fácil de avaliação de animais em possíveis condições de estresse.

6.2.3 Índice de Temperatura e Umidade (ITU)

Um dos índices mais utilizados para se avaliar estresse na produção animal é o ITU. Inicialmente chamado de “Índice de Desconforto”, desenvolvido por Thom (1959), era utilizado para avaliar desconforto térmico em seres humanos. Em 2003, Hahn, Mader e Eigenberg ajustaram a fórmula para que pudesse ser utilizada na avaliação de animais de produção. A equação sugerida foi:

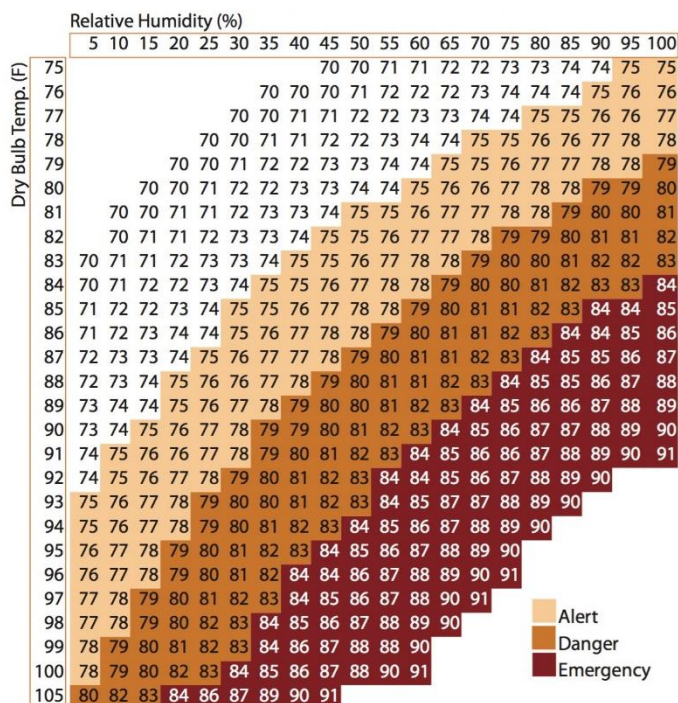
$$UTI = t_{db} + 0.36t_{dp} + 41.2$$

Onde “ t_{db} ” é a temperatura de bulbo seco (°C) e “ t_{dp} ” é temperatura da ponta de orvalho.

Este índice foi dividido em categorias e classificado conforme potencial de estresse (LCI, 1970). Até 74 a condição seria normal, até 79 o estado seria de alerta, até 84 é considerado

perigo e acima deste se tem a condição de emergência. Na figura 4 está apresentado um gráfico com as possibilidades de ITU conforme os parâmetros de temperatura e umidade:

Figura 4: Classificação do Estresse Térmico conforme o ITU



Fonte: STAHAN, S. 2019

Mesmo que este índice não inclua fatores como a velocidade do vento e a radiação, é extensivamente utilizado na produção animal ainda hoje. Isso se deve a facilidade de calcular os componentes da fórmula e representação de forma coerente das condições ambientais quando a radiação solar é baixa e velocidade do vento também, ou seja, mais similares às condições de confinamento (LI, *et al.*, 2009). Assim, este índice sem alterações não é completamente adequado para avaliar bovinos a campo.

Posteriormente, foram feitas tentativas para reavaliar os limites do ITU na produção e reprodução animal (CARABANO, *et al.*, 2017). Muitos estudos chegaram à conclusão que a partir do ITU de 72 se tem perdas produtivas devido as estresse (ANSARI-MAHYARI, *et al.*, 2019; RAVAGNOLO; MISZTAL, 2000; SEIXAS *et al.*, 2017; SUÁREZ, *et al.*, 2012). McDowell, Hooven e Camoens (1976) classificaram que os animais expostos ao ITU até 70 estariam em situação de conforto, até 78 seria estressante e acima as condições seriam de extremo estresse. Já Seixas *et al.* (2017) definiu que até 72 não teria estresse, até 78 seria estresse leve, até 88 o estresse seria moderado, até 98 estaria instalado um estresse severo e acima deste a maioria dos animais viria a óbito.

Mader, Davis e Brown-Brandl (2006) fizeram um ajuste na fórmula do ITU para incluir a radiação solar e a velocidade do vento. Essa alteração foi baseada em uma regressão linear entre o índice de ofegação (0 a 4) e condições ambientais. A equação de ajuste (ITU_{aj}) está apresentada abaixo:

$$ITU_{aj} = 4.51 + ITU - 1.992u + 0.0068S$$

Sendo que “ u ” é a velocidade do vento (m/s) e “ S ” é a radiação solar (W/m^2).

6.2.4 Índice de Umidade no Globo Negro (BGHI)

Em 1981, Buffington e colaboradores avaliaram as condições ambientais via um globo de cobre escuro, de 15 a 33cm de diâmetro, com um sensor de temperatura dentro. Foi sugerido este método para substituir a temperatura de bulbo seco. Esta medição integra tanto os efeitos da temperatura do ar, da radiação solar quanto dos efeitos do vento. A equação sugerida está abaixo:

$$BGHI = t_{bg} + 0.36t_{dp} + 41.2$$

Sendo que BGHI é “*Black Globe Humidity Index*” ou “Índice de Umidade no Globo Negro”, “ t_{bg} ” é a temperatura no globo negro e “ t_{dp} ” é a temperatura da ponta de orvalho.

6.2.5 Índice de Temperatura Equivalente (ETI)

O ETI foi desenvolvido em 1987 por Baeta, Meador e Shanklin, para avaliar prioritamente a zona termoneutra de vacas em lactação. Foi um dos primeiros índices a incluir a velocidade do vento e é bem utilizado hoje em dia. A fórmula se encontra abaixo:

$$ETI = 27.88 - 0.456t_{db} + 0.0010754t_{db}^2 - 0.4905RH + 0.00088RH^2 + 1.15u \\ - 0.12644u^2 + 0.019876t_{db}RH - 0.046313t_{db}u$$

Onde “ t_{db} ” é a temperatura de bulbo seco ($^{\circ}C$), “ RH ” é umidade relativa (%), “ u ” é velocidade do vento (m/s).

6.2.6 Índice de carga calórica

Em 2008, Gaughan e colaboradores desenvolveram o Índice de Carga Calórica baseado no escore de ofegação. Este considera simultaneamente a umidade relativa, temperatura do globo negro e velocidade do vento. Foi proposto inicialmente para bovinos de corte, sendo indicado que a medida do índice até 92 não se tem estresse, até 100 é estado de alerta, até 114 é estado de perigo e acima deste é considerado como estado de emergência (GAUGHAN, *et al.*, 2008). A equação para este índice está apresentada abaixo:

$$ICC = (8.62 + (0.38HR) + (1.55T_c) - (0.5Vv) + (exp^{-2.4Vv}))$$

Onde “HR” é umidade relativa, “Vv” é velocidade do vento e “Tc” é a temperatura corporal obtida pela fórmula em seguida, em condições que T > 25°C.

$$T_c = (36.27 + (0.12T))$$

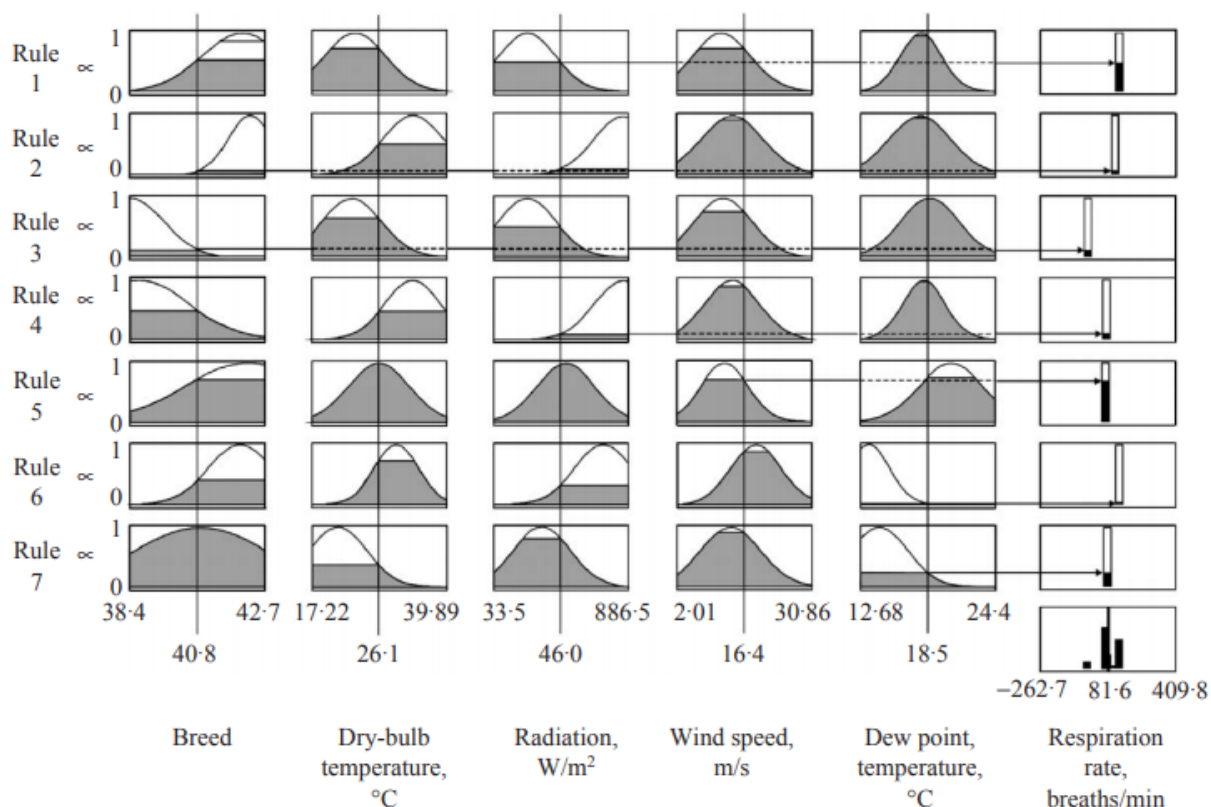
6.3 Métodos de Avaliação e Formação de Índices

Para a formulação de um novo índice modelos de regressão e técnicas computacionais são utilizadas para prever parâmetros biológicos.

Métodos de regressão linear são modelos mais fáceis e práticos para se instalar em uma planilha de Excel e utilizar. No estudo de Brown-Bradl, Jones e Woldt (2005) se chegou ao total de 62% das variações do parâmetro da taxa de respiração providas pela equação. Esta incluiu a avaliação de raça e quatro medidas ambientais (temperatura do bulbo seco, temperatura da ponta de orvalho, velocidade do vento e radiação solar).

O sistema de interferência dado-dependente difuso é descrito por este estudo pela comparação de predição e observação das taxas de respiração. É um modelo com regras mapeando as entradas (variáveis ambientais e raça) e as saídas. Os resultados são avaliados em forma de gráfico com as variáveis no eixo x e a associação (0 a 1) no eixo Y. O gráfico final é a contribuição das sete regras para o final das saídas. Este modelo pode contar com 66% das variações observadas. Os gráficos realizados por Brown-Brandl, Jones e Woldt (2005) estão apresentadas na Figura 4.

Figura 5: Entradas e saídas do sistema de interferência dado-dependente difuso

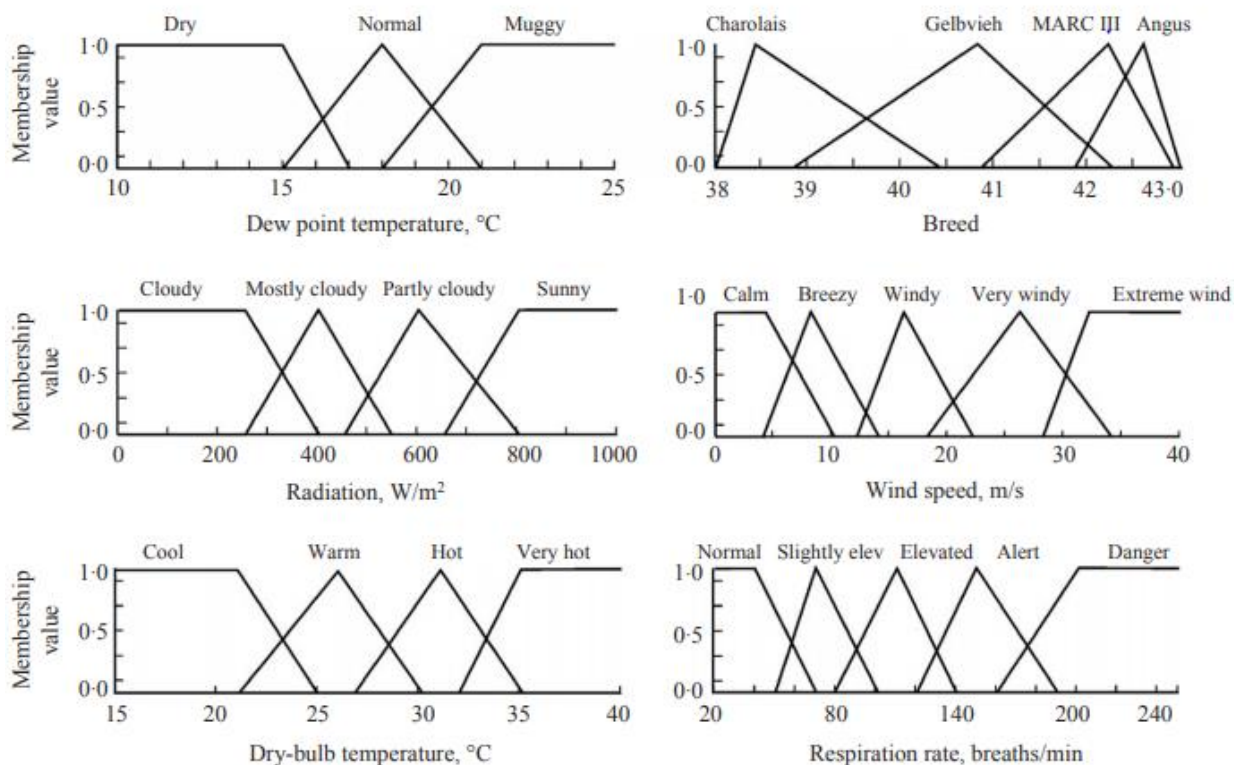


Fonte: BROWN-BRADL; JONES; WOLDT, 2005

O sistema de interferência de dados livres difusos necessita de avaliação humana pois os níveis são dispostos em expressões linguísticas, como nublado e ensolarado. Um cluster dos dados deve ser realizado para diminuir base de dados. Este estudo levou de 1400 para 20 regras assim realizando uma avaliação mais palpável. Por exemplo, na tabela de dados é selecionado a raça Charolês, e as condições climáticas são frio, nublado, seco e ventoso, assim chegando no resultado que a taxa de respiração será normal. Este teste contou com 27% das variações totais apenas. Os gráficos de associação estão apresentados a Figura 6:

Figura 6: Associação do sistema de dados independentes e difuso

Figura 6: Associação do Sistema de Dados Independentes e Difuso



Fonte: BROWN-BRADL; JONES; WOLDT, 2005

Também é utilizado o modelo de redes neurais, com as cinco entradas, como as avaliações acima, e uma saída, a taxa de respiração. Este tipo de análise pode muito bem ser adicionada em um microchip e rodar um programa de análise com as variáveis importantes (BROWN-BRADL; JONES; WOLDT, 2005). Este modelo contou com 68% da variação associada com a taxa de respiração. A partir dos resultados todos testes poderiam ser utilizados, com exceção do dados difusos livres pelas respostas incongruentes com alguns parâmetros (BROWN-BRADL; JONES; WOLDT, 2005).

Com os modelos de regressão linear e quadrática e de redes neurais foi possível prever valores similares da taxa de respiração com a realidade. Todos, menos o sistema de dados independentes difuso, chegaram as mesmas conclusões perante as raças. Os animais de coloração mais escura obtiveram taxas de respiração mais altas, sendo o Angus, com pelagem preta, seguido pelo MARC III, vermelho escuro, Gelbvieh, bronzeado, e Charolês, branco ou *off-white* (BROWN-BRADL; JONES; WOLDT, 2005).

7 ADAPTAÇÃO

A adaptação é considerada como um nível de tolerância a sobrevivência e reprodução dos animais mesmo em condições adversas (BENAVIDES, *et al.*, 2016). Os ruminantes desenvolveram técnicas e foram se adaptando a condições extremas através de modificações comportamentais em curto espaço de tempo, como foi citado no item “Alterações Fisiológicas do Estresse”, e com alterações morfológicas, fisiológicas e genéticas a longo prazo (BERIHULAY, *et al.*, 2019).

7.1 Adaptação Morfológica

Adaptações da morfologia animal incluem mudanças físicas que ocorrem ao longo de muitas gerações com o objetivo de aumentar a capacidade de desenvolvimento e sobrevivência de cada espécie. Exemplos destes são alterações de pelagem e coloração da pele, tamanho e conformação animal e deposição de gordura (BERIHULAY, *et al.*, 2019).

A pelagem e cor de pele são traços importantes do ponto de vista biológico, econômico e social, envolvendo apreciação do produtor, cultura e produtos comerciais, como o couro. No entanto, a determinação do tipo de pelo e coloração teve um papel destacado na adaptação dos animais em relação ao clima e condições fora da zona de conforto (DE RENSIS; SCARAMUZZI, 2003). Animais com maior pigmentação estão mais susceptíveis ao estresse térmico, indicando uma seleção por animais mais claros para melhorar o bem-estar animal e eficiência produtiva (DARAMOLA; ADELOYE, 2009). Em função da determinação da carga calórica absorvida e dissipada, animais que se desenvolveram em ambientes tropicais diferem dos de região temperada ou subtropical tendo uma coloração mais clara, menor densidade de pelos e, portanto, melhor ajuste de temperatura interna. Alguns autores associaram alterações de temperatura retal, taxa de respiração, pulso cardíaco, sódio e potássio plasmático comparando diferentes cores de pelagem em um ambiente estressante (BERIHULAY, *et al.*, 2019).

Tamanho e conformação são características dominantes que influenciam nos mecanismos de termorregulação auxiliando no ajuste de perda de água e ganhos de calor em condições de estresse (CAIN, 2006). Foi observado que animais maiores detêm taxas metabólicas mais baixas quando comparados a animais menores. Isso pode estar relacionado com a taxa de ganho de calor, sendo esta influenciada pela forma do corpo e apêndices. Animais com apêndices (membros) maiores e mais finos reduzem o ganho de calor, têm menor produção interna de calor e aumentam a perda deste por convecção.

7.2 Adaptação Racial

A raça é um dos fatores que afeta a produção em diferentes âmbitos, como a reprodução, adaptabilidade, zona de conforto e resposta imune, e tem evoluído para determinados ambientes conforme a localização, aptidão e seleção humana (GREGORY;CUNDIFF;KOCH, 1992; PAULA-LOPES, *et al.*, 2013). Os *Bos indicus* são bovinos mais resistentes ao aumento de temperatura e umidade do que a maioria das raças dos *Bos taurus* (HAMMOND, *et al.*, 1996,1998), provavelmente devido a capacidades diferentes de termorregulação corporal (LEMERLE; GODDARD, 1986; GAUGHAN, *et al.*, 1999). Por isso, o *Bos indicus*, animais zebuínos como a raça Brahman, e algumas raças de *Bos taurus* adaptados, como o Senepol e Romosinuano, são indicados para a atuação na região tropical, podendo aumentar a produtividade quando comparado às raças europeias, como Angus e Hereford (BARROS, *et al.*, 2006; HAMMOND, *et al.*, 1996).

As alterações no clima não envolvem apenas condições de temperaturas extremas, mas também flutuações de tempo mais frequentes, diferença na disponibilidade de água e baixa qualidade dos alimentos (MISZTAL, 2017). Animais mais robustos e resilientes lidam com estas situações mantendo a sua produtividade mais próxima do normal. A rusticidade foi definida por Rauw e Gomez-Raya, (2015), como a habilidade de manter funcionamento na presença de desafios internos e externos sem mudanças drásticas no organismo. No entanto, este fator pode vir com o preço de uma produtividade menor.

A seleção genética apenas para produtividade tem afastado os animais da flexibilidade de adaptação e rusticidade, observado por quedas de fertilidade e produção quando enfrentam situações fora do normal, como estresse pelas condições ambientais (MISZTAL, 2017). A utilização de cruzas com raças mais adaptadas tem apresentado resultados positivos pela menor queda de produção em ondas de calor, mas comparado a precocidade e conformação de carcaça diminuem ganhos nos sistemas (MCDOWELL; WILK; TALBOTT, 1996). Existe ainda uma necessidade de estabelecer as proporções de cruza entre as raças adaptadas e com boa produção e reprodução para deter mais ganhos mantendo as características desejadas pelo mercado (DIKMEN, *et al.*, 2018).

7.3 Adaptações Moleculares e Genéticas

Populações animais que se desenvolveram em regiões quentes e áridas muitas vezes possuem genes que conferem resistência ao estresse térmico, como o caso da adaptação do *Bos indicus* e a sua habilidade superior na regulação térmica corporal (HANSEN, 2004). Se têm

evidências que as diferenças entre o *Bos taurus* e o *Bos indicus* pode se estender a nível molecular (PAULA-LOPES, *et al.*, 2003).

A adaptação genética se refere a traços herdáveis de características que favorecem a sobrevivência em certas populações (ABDUL, *et al.*, 2015). Desta forma, cada indivíduo, família, raça ou espécie que se adaptou com sucesso a certo habitat detêm traços únicos (YASHA, *et al.*, 2017). A variação genética em populações é crucial para a sua sobrevivência em um ambiente sempre mutável. A adaptação em ambientes estressantes é resultado da mudança complexa genética relacionada a genes de termotolerância (BERIHULAY, *et al.*, 2019). Os mamíferos em geral lidam com estressores ambientais de diferentes formas: proteínas de resposta ao choque de calor (“*Heat Shock Proteins*” - HSP), resposta de proteínas não-dobradas (“*Unfolded Protein Response*” - UPR) e estresse oxidativo (ALEMU, *et al.*, 2018; MINOWADA; WELCH, 1995).

7.3.1 Proteínas de Choque térmico (HSP)

As HSP são induzidas por mudanças de temperatura, assim como o estresse oxidativo, e detêm a capacidade de proteger proteínas celulares a mudanças de conformação em condições subótimas (LINDQUIST; CRAIG, 1988; MINOWAFA; WELCH, 1995). As células podem utilizar as HSP e chaperonas moleculares para facilitar a síntese, dobramento, organização e transporte de proteínas desnaturadas pelo estresse térmico (ALEMU, *et al.*, 2017). Também foi apresentado o seu papel de proteção contra a apoptose (CHENG, *et al.*, 2016). Alterações genéticas e diferenças raciais incluem genes associados com adaptabilidade a tolerância ao calor, incluindo a expressão destas HSP (BERIHULAY, *et al.*, 2019).

A HSP 70 (70 kilodaltons) é uma das maiores proteínas deste grupo protegendo a célula com o auxílio às proteínas danificadas e estabilizando o RNA (ácido ribonucleico) ribossomal (DUNCAN; HERSHEY, 1991). Esta proteína também previne a apoptose de células saudáveis com liberação do citocromo C e ativação do iniciador da CASPASE-3. O uso de anticorpo contra a forma induzida de HSP70 em embriões de duas células, expostos a 41°C, reduziu as formas de blastocisto, indicando a sensibilidade do embrião e a necessidade da HSP70 em casos de choque térmico (AL-KATANANI; PAULA-LOPES; HANSEN, 2002). A adição de anti-HSP70 no meio de cultivo de embriões, nos dias 3 ao 9, aumentou o número de apoptose diminuindo o número de blastocistos com o aumento de temperatura (MATWEE, *et al.*, 2001).

O aumento das HSP também foi correlacionado com aumento de temperatura nos testículos e epidídimo, sugerindo fator protetivo após estresse (CHENG, *et al.*, 2016). Já a HSP60 foi

vinculada com a proteção durante os primeiros estágios da espermatogênese e maturação do espermatozoide (ASQUITH, *et al.*, 2005).

No entanto, a HSP90 se apresentou como a mais sensível e com correlação positiva com defeitos espermáticos, como problemas de cauda no espermatozoide, provavelmente devido ao seu papel na sinalização e ação dos microtúbulos afetando a forma da célula (SANGSTER; QUEITSCH; LINDQUIST, 2003). Esta chaperona é essencial no dobramento e construção de proteínas, com papel vital no ciclo celular, incluindo a meiose e citocinética, muito importante também na sobrevivência e maturação do oócito (BOSE, *et al.*, 1996; MCCLEALLAN, *et al.*, 2007).

É sugerido que, devido a capacidade de estabilizar e redobrar as proteínas danificadas pelo calor, os animais *Bos indicus* tenham maior expressão das HSP e melhor adaptação e resistência final (HARTL; MARTIN, 1992).

7.3.2 Resposta de Proteínas não-Dobradas

O estresse térmico pode também alterar homeostase no retículo endoplasmático, acumulando e produzindo proteínas danificadas. Assim é ativado o sistema UPR incluindo ativação de marcadores e reguladores de função, chaperonas GRP78 e GRP94, com propriedades anti-apoptóticas (WANG, *et al.*, 2009). Estas chaperonas GRP78 foram encontradas em maior quantidade em folículos atrésicos do que saudáveis, demonstrando participação nos processos de danos celulares (LIN, *et al.*, 2012).

7.3.3 Estresse Oxidativo

A mitocôndria é uma organela que tem um papel importante devido a sua responsabilidade no metabolismo energético das células (ALEMU, *et al.*, 2018) e no envolvimento na produção de espécies reativas de oxigênio. As espécies reativas de oxigênio (EROs) são compostos químicos resultantes da redução ou ativação do oxigênio molecular. Estes componentes são extremamente reativos podendo danificar estruturas celulares, desde lipídeos de membrana até o DNA (ácido desoxirribonucleico). Em condições adversas, como de calor excessivo, ou por um choque térmico, podem gerar apoptose em diversas células, como nas células da granulosa, tendo impacto na maturação do oócito e desenvolvimento do embrião (ALEMU, *et al.*, 2018). Foi encontrado um aumento na produção de EROs nas primeiras 24h de incubação de células sob calor em excesso, porém reduzindo-se até as 48h em um estudo realizado por Alemu e colaboradores (2018). Provavelmente este fenômeno está ligado a ação dos mecanismos de controle oxidativo, se tornando tolerante a esse estressor nesta magnitude. As respostas

adaptativas destas células a um estresse oxidativo envolvem ativação de genes antioxidantes para que atinja a homeostase.

8 EFEITOS DO ESTRESSE AMBIENTAL NO SISTEMA DE CRIA

O bovino é um animal adaptável, mas a função reprodutiva é uma atividade com alta demanda nutricional, sendo influenciada pelas condições ambientais junto com a capacidade do indivíduo (HANSEN, 2007). Alterações reprodutivas encontradas em situações estressantes incluem a diminuição da atividade de estro, aumento no número de vacas em anestro, queda nas taxas de prenhez e aumento da perda embrionária (DE RENSIS; SCARAMUZZI, 2003; KADOKAWA; SAKATANI; HANSEN, 2012; DE RENSIS; GARCIA-ISPIERTO; LÓPEZ-GATIUS, 2015). Foi encontrado em diversos estudos que as taxas de prenhez reduzem em novilhas e vacas submetidas a altas temperaturas (KAJAYSRI; WATTANANORASATE, 2018). Essa característica foi relacionada com a estimulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e a liberação de altas concentrações de cortisol na corrente sanguínea. Através da supressão das funções hipotalâmicas, há uma redução na liberação do GnRH causando falhas na ovulação e diminuição de prenhez (MEGAHED, *et al.*, 2008). A redução na concepção também pode ser devido à redução da viabilidade do oócito e fertilidade do espermatozoide dentro do trato reprodutivo em fêmeas com hipertermia (HANSEN, *et al.*, 2001), pois o aumento da temperatura intrauterina em cerca de 0.5°C no dia da inseminação poderia reduzir até 12.8% da taxa de prenhez (HANSEN, 2007).

Com o aumento do calor há uma imprecisão na detecção do estro, conseqüentemente um aumento no número de dias vazios e queda nas taxas de prenhez (CARVALHO, *et al.*, 2008). A atividade de monta aumenta conforme a temperatura sobe de -15°C a 25°C, no entanto, diminui a sua frequência acima de 30°C (HANSEN, 2007). A detecção do estro se torna mais difícil pela redução no tempo de apresentação do comportamento característico. Em vacas Guernsey, de aptidão leiteira europeia, as 17h de comportamento de estro nas novilhas, a uma temperatura ambiente de 18.2°C, foram reduzidas para 12.5h a 33.5°C. (PLASSE; WARNICK; KOGER; 1970). Já a atividade de vacas Brahman, *Bos indicus*, ou seja, com um comportamento reduzido natural, não sofreu do inverno (6.8h) para o verão (5.5h) na Florida. No entanto, foi percebido uma taxa de ovulação maior no inverno (59.7%) comparado ao verão (40.3%). A redução do comportamento observado também pode estar relacionada com a redução da atividade locomotora devido ao cansaço, busca por sombra e redução do gasto de energia em condições estressantes.

O estresse térmico aumenta a temperatura corporal e intrauterina, podendo reduzir a sobrevivência dos espermatozoides e reduzir viabilidade do embrião (ANSARI-MAHYARI, *et al.*, 2019; DE RENSIS; GARCIA-ISPIERTO; LÓPEZ-GATIUS, 2015). Desta forma, se cria

uma depressão estacional reduzindo as taxas de concepção em meses quentes e regiões que sofrem com altas temperaturas (HANSEN, 2007). Em um estudo realizado por Hansen (2007) o nível de concepção caiu 17.6% quando as vacas foram submetidas ao estresse. Em Garcia-Ispierto e colaboradores (2007), foi evidenciado que com o aumento de ITU acima de 75 há quedas de 10 a 20% nas taxas de prenhez. Essa sensibilidade ao calor poderia aumentar da primeira parição para as próximas, causando perdas reprodutivas nos sistemas de cria e aumento nas taxas de descarte (AGUILAR; MISZTAL; TSURUTA, 2009).

Vários estudos indicam a importância do estresse e aumento de ITU no dia da inseminação ou cobertura, comparando com os dias anteriores e posteriores (RAVAGNOLO; MISZTAL, 2002a). Quando novilhas Hereford foram expostas a condições de 32.2°C e 65% de umidade relativa, 12h após o estro e durante três dias seguintes, a taxa de prenhez foi nula enquanto que o controle atingiu 48% (BIGGERS, *et al.*, 1987). O estresse no dia da inseminação também reduziu viabilidade e desenvolvimento embrionário após lavagem do útero e recuperação dos embriões no dia 8 (DE LIMA, *et al.*, 2013). No entanto, não houve esta mesma redução quando o estresse foi realizado no dia 3, 5 ou 7 após a IA.

Ansari-Mahyari, *et al.*, (2019) demonstrou que o estresse térmico no dia da IA poderia elevar a taxa de retorno aos 45 dias e aos 90 dias em 0.007 e 0.009 por unidade de ITU acima de 70 e a taxa de concepção diminuiria 0.008 acima deste nível. Neste caso, houve grande contribuição dos fatores ambientais para o retorno ao cio devido a fatores como manejo e alimentação. A tolerância ao calor e taxa de concepção foram correlacionados negativamente e moderadamente (-0.18), sugerindo que a seleção genética para melhorar concepção poderia reduzir a tolerância ao calor em vacas reprodutoras (ANSARI-MAHYARI, *et al.*, 2019).

Há uma complexa relação de fatores climáticos e físicos influenciando as funções fisiológicas de vacas reprodutoras, potencialmente diminuindo a eficiência e lucro nos sistemas de produção. No estudo de Allouche, *et al.*, (2018), a importação de indivíduos da raça Montbeliard, de duplo propósito, da França para a Argélia se tornou um desafio pela alteração climática entre os países. Quando comparados animais já aclimatizados por um ano e animais recentemente trazidos para a região pode-se observar o efeito do estresse durante o verão no segundo grupo. O intervalo entre partos (IP-P) do segundo grupo foi de 145.22d, tendo maior frequência de animais com intervalo >110d (80.6%) comparado as aclimatizadas (40.6%). O verão atingiu neste período temperaturas de 45°C e ITU de 101 enquanto o outono se manteve na faixa de 74 a 92. O estresse no verão induziu um aumento de IP-P (139 ± 54 d), comparado ao outono (112 ± 77 d), e aumento na frequência de animais com IP-P >110 d (72.7% no verão

e 41.7% no outono). O estresse térmico e hipertermia pode aumentar o IP-P e intervalo entre parto e concepção pela relação destes com a piora na qualidade nutricional, capacidade reprodutiva e cio silencioso mais frequente no verão (ROELOFS, *et al.*, 2005).

Além das perdas de concepção e embrionárias, a exposição materna ao estresse durante a gestação foi associada com redução do peso ao nascer, maior mortalidade antes do desmame, menores taxas de sobrevivência e redução nas características desejáveis (MONTEIRO, *et al.*, 2016). Também foi identificado que terneiros de vacas que sofreram estresse térmico durante a prenhez exibem efeitos imediatos e prolongados na imunidade passiva, crescimento, padrões de atividade e termotolerância (AHMED, *et al.*, 2017).

Atualmente, se têm evidências que as diferenças na resistência térmica dos animais *Bos indicus* e raças adaptadas podem influenciar na capacidade reprodutiva e maior fertilidade, pois os oócitos, embriões, linfócitos, endométrio e células do oviduto podem carregar fatores de tolerância ao ambiente também (PAULA-LOPES, *et al.*, 2018; BARROS, *et al.*, 2006; TURNER, 1982).

9 EFEITOS DO ESTRESSE AMBIENTAL EM FÊMEAS

9.1 Sistema Reprodutivo

Tanto o oócito, o embrião quanto o trato reprodutivo como um todo podem ser afetados e resultar em uma queda na taxa de prenhez, concepção por IA ou fertilidade em geral (ALEMU, *et al.*, 2018). O estresse térmico prejudica habilidade esteroidogênica, dinâmica e crescimento folicular, função das células da granulosa, maturação de oócito, fertilização e desenvolvimento embrionário pré-implantação e função endometrial (WOLFENSON, *et al.* 1993; WILSON, *et al.*, 1998; LI, *et al.*, 2006; FERREIRA, *et al.*, 2011; WOLFENSON, *et al.*, 1995; ROMAN-PONCE, 1978; PAULA-LOPES, *et al.*, 2008; PAULA-LOPES; HANSEN, 2002b). Normalmente a queda da fertilidade é uma questão multifatorial, no entanto nas subdivisões seguintes é focado o papel das mudanças ambientais e consequências no sistema reprodutivo. Para facilitar a compreensão, é utilizado o termo estresse térmico em estudos *in vivo* refletindo o grau de hipertermia no animal. O termo choque térmico é utilizado em estudos *in vitro* que indicam efeitos das temperaturas fisiológicas (40 a 41.5°C) e não fisiológicas (maior que 41.5°C) no oócito e desenvolvimento embrionário (PAULA-LOPES, *et al.*, 2013).

9.2 Variação Hormonal

Estudos indicam que este estresse afeta a reprodução com uma queda no LH antes da ovulação, diminuindo os níveis de P4 secretados pelo CL, reduzindo desenvolvimento embrionário e aumentando o número de serviços por concepção (DE RENSIS; SCARAMUZZI, 2003). No entanto, se tem resultados conflitantes em relação a vida útil do corpo lúteo no calor. Wolfenson, *et al.*, (1993) concorda com o artigo anterior, sugerindo que o número reduzido de células luteínicas, ou baixo colesterol plasmático disponível, causou uma queda nas concentrações de P4. Porém, Wilson, *et al.*, 1998 relatou uma concentração de P4 maior durante o estresse, retardando a regressão do CL.

O estresse térmico foi correlacionado também com uma queda da resposta do GnRH, culminando em redução nas concentrações de E2 (SAKAI, *et al.*, 2018) e de andrógenos pelas células da teca, inibindo a proliferação folicular e induzindo apoptose nas células da granulosa (ROTH, *et al.*, 2001b).

9.3 Células da Granulosa

As células da granulosa são muito importantes para o processo de maturação do oócito e desenvolvimento do conceito e, conseqüentemente, na fertilidade dos sistemas de cria. E

durante eventos de estresse térmico, a homeostase nestas células é vital para a sobrevivência do embrião (ALEMU, *et al.*, 2018).

A severidade do estresse pode influenciar na regulação celular e expressão de HSP. Por exemplo, em Alemu *et al.*, (2018), ambas culturas com estresse por 24 ou 48h aumentaram a quantidade de HSP70 sem danos significativos em nível de RNA mensageiro. Ao mesmo tempo, a expressão do RNA da HSP90 e acumulação da proteína HSP90 estiveram presentes nos cultivos estressados por 24h e não nos de 48h. Foi reportado neste mesmo estudo que o estresse térmico induz estresse oxidativo com aumento de EROs, indução de apoptose e mudanças no ciclo celular nas células da granulosa. Esse aumento significativo seguiu o padrão das HSP, sendo encontrado nas primeiras 24h e redução até as 48h, provavelmente devido a ação dos mecanismos de controle oxidativo.

Outras proteínas podem estar relacionadas com a manutenção da homeostase, garantindo a sobrevivência das células, como HSP27, HSP60, HSP70 e HSP90 (HEADS; YELLON; LATCHMAN, 1995). Nesta situação, a ativação destas respostas nas primeiras 24h de exposição conseguiu normalizar os efeitos celulares aumentando a temperatura em 48h.

9.4 Desenvolvimento Oocitário

Como comentado anteriormente, folículos desenvolvidos sob estresse possuem deficiência na produção de E2 nas células da teca e granulosa, ocorrendo redução da concentração no fluido folicular (ROTH, *et al.*, 2001a). Assim, a secreção de gonadotrofinas é afetada com prejuízo da competência meiótica dos oócitos.

O oócito tem contribuição crucial na genética de resistência em um choque térmico do embrião, quando comparado ao espermatozoide. Como é visto em Block, Chase e Hansen, (2002), em que embriões produzidos por IA de oócitos Brahman com espermatozoides Angus se apresentaram mais tolerantes que oócitos de Holandesas com espermatozoides Angus, concordando com a importância do oócito no termotolerância embrionária.

Defeitos celulares no oócito devido ao aumento de temperatura podem ser detectados em diferentes compartimentos, como o citoplasma e núcleo (PAULA-LOPES, *et al.*, 2013). O estresse quebra o RNA estocado ainda na fase de vesícula germinal dificultando a transcrição em oócitos maduros (GENDELMAN, *et al.*, 20101). O choque térmico também aumenta a fragmentação do DNA, diminuindo a atividade mitocondrial e ativando posteriormente as vias de apoptose mitocondriais nas células maduras (PAULA-LOPES, *et al.*, 2013).

De acordo com Roth, *et al.*, (2015), oócitos coletados durante o verão exibiram reduzida habilidade de fecundação e menor desenvolvimento até o estágio de blastocisto. Se têm evidências que o estresse por calor nestas células reduz a progressão para estágio MII e a organização microtubular e de microfilamentos se tornam defeituosas devido a alterações no citoesqueleto. Também é observado uma redução da função mitocondrial levando a um aumento da morte de células e comprometimento da competência oocitária (PAULA-LOPES, *et al.*, 2013; ROTH; *et al.*, 2015).

A produção *in vitro* de embriões pode ser considerada uma alternativa para manejar os efeitos ambientais pois a maturação oocitária e desenvolvimento inicial dos embriões seriam realizados em ambientes controlados. Na aspiração de oócitos para esta técnica (“*Ovum Pick Up*”) realizado por Fialho, *et al.*, (2018) não foi evidenciado a interferência do ITU na viabilidade oocitária avaliado sete dias antes ou no dia do experimento. No entanto, foi reportado por este estudo que estresse crônico, 60 d antes da coleta, teve evidente queda na qualidade dos complexos *cumulus-oócitos*. Quando o ITU esteve acima de 75 nos 60 d antes da técnica, coleta de óvulos, e a viabilidade oocitária encontrada foi abaixo de 60%. Mesmo com estes resultados, os efeitos do estresse ainda não estão definidos sobre a foliculogênese e oogênese e o impacto na qualidade dos complexos *cumulus-oócitos*.

9.5 Desenvolvimento Embrionário

Existe uma fase crítica, entre a ovulação e o início da prenhez, em que a fêmea deveria estar em homeostase para diminuir efeitos do calor no desenvolvimento do embrião. Alterações e exigências derivadas do estresse térmico poderiam resultar em perda embrionária ou aumento na taxa de recuperação de embriões anormais, observado em fêmeas superovuladas por Lopez-Gatius (2012) e Putney, *et al.*, 1988. Embriões cultivados e estressados a 43°C reduziram a secreção de IFN- τ no dia 17, potencialmente reduzindo a sua viabilidade e manutenção do CL (HANSEN, 2007). Estas e outras consequências do estresse ambiental no início do período embrionário já foram apresentadas cientificamente e avaliadas economicamente (HANSEN, *et al.*, 2001; MACEDO, *et al.*, 2014).

O tamanho do concepto é um fator que é alterado em condições estressantes, como apresentado no estudo por Biggers *et al.* (1987). Neste, vacas multíparas Hereford ou Hereford-Angus foram mantidas em câmaras climáticas com 21°C e 35% de umidade relativa no controle e entre 33°C e 37°C com umidade de 27% a 38% no grupo estresse. O segundo grupo apresentou aumento da frequência respiratória e de temperatura retal, confirmando o estresse

térmico. Como resultado tanto a taxa de gestação, tamanho do corpo lúteo e do concepto foram reduzidos.

Alterações citoplasmáticas envolvidas no processo de choque térmico incluem rompimento dos microfilamentos gerando uma movimentação das organelas (DE LIMA, *et al.*, 2013). Em Rivera, *et al.*, (2004), o aumento de temperatura para 41 a 43°C por 6h em embriões de duas células causou uma migração das organelas para o centro do blastômero, edemaciação das mitocôndrias, aumento do conteúdo eletrodense e precipitação da cromatina.

Mudanças no estado redox do embrião também foi reportado em diversos artigos indicando que o aumento de temperatura e/ou choque térmico induziu a morte celular pré-implantação (MATSUZUKA, *et al.*, 2005). EROs prejudicam embriões na fase de pré-implantação em função da peroxidação lipídica, fragmentação de DNA, alteração na expressão de genes e no metabolismo, resultando em morte celular (KITAGAWA, *et al.*, 2004; AMIN, *et al.*, 2014). Em embriões bovinos, o choque de 41°C por 6h nos dias 0, 2, 4 e 6 após a fecundação *in vitro* aumentou a quantidade de EROs e diminuiu o desenvolvimento nos dias 0 e 2 (SAKATANI; KOBAYASHI; TAKAHASHI, 2004). No entanto, há uma discussão entre as tensões de oxigênio no cultivo associado ao choque térmico. Sakatani, *et al.*, (2012) encontrou que a redução da tensão de oxigênio por 12 e 24h resultaram em diminuição do desenvolvimento. No entanto, De Castro e Paula e Hansen, (2008) apresentaram efeitos negativos quando embriões de 5d, duas células, foram expostos ao ar diretamente e não em condições de 5% de oxigênio (considerado baixa tensão). Com este impulso, há uma ativação do sinalizador fator eritroide nuclear tipo 2, aumentando a redução química dos EROs pela ativação de genes antioxidantes como a catalase, heme-oxigenase 1, peroxiredoxina, superóxido dismutase e tioredoxina (AMIN, *et al.*, 2014), muito importantes para a sobrevivência e competência dos embriões sofrendo estresse oxidativo.

A fragmentação de DNA, característico de apoptose celular, em embriões submetidos a choque térmico é regulada no desenvolvimento pré-implantação (DE LIMA, *et al.*, 2013). Por exemplo, em Paula-Lopes e Hansen, (2002a) a exposição de embriões bovinos com mais de 16 células, no dia 5 após a fecundação *in vitro*, a temperaturas de 41°C aumentou blastômeros danificados e a atividade das enzimas caspases. Mas, o mesmo não ocorreu em embriões de duas a quatro células. A apoptose neste estágio inicial é bloqueada pois há uma ausência de despolarização da membrana mitocondrial e inacessibilidade da cromatina pela sua maior condensação (BRAD; HENDRICKS; HANSEN, 2007). No entanto, no caso de um choque térmico a apoptose de células danificadas é um processo benéfico para o embrião, sendo

considerado um mecanismo adaptativo, removendo blastômeros danificados e permitindo a sobrevivência do mesmo (PAULA-LOPES; HANSEN, 2002a).

Outros estudos também obtiveram resultados semelhantes indicando que os efeitos de temperaturas altas afetariam mais o início do desenvolvimento. Em Rivera e Hansen, (2001), o embrião de duas células submetido a um choque térmico de 41°C por 9 ou 12h, reduziu a taxa de blastocisto em relação ao grupo controle submetido a uma temperatura de 38.5°C. O mesmo ocorreu com embriões de oito células, com exposição de 6h (SAKATANI, *et al.*, 2008). Em Sakatani, *et al.*, (2012), a exposição a 40°C por 24h diminuiu o desenvolvimento de blastocisto também em zigotos (8 a 32h pós IA), mas não em mórulas (116 a 140h pós inseminação). Portanto, é sugerido que com o avanço embriológico este se torne mais resistente devido ao aumento do número de células e com a possibilidade de redução de uma fração destas sem muitos danos, possibilitando desenvolvimento posterior.

A resistência térmica dos embriões mais desenvolvidos também poderia estar relacionada com mecanismos de termoproteção, como a produção de HSP. Como comentado anteriormente, as HSP auxiliam proteínas danificadas pelo choque térmico e estabilizam o RNA ribossomal (DUNCAN; HERSHEY, 1991). Desta forma, foi identificado um fator protetivo em embriões jovens com a síntese de HSP e fatores negativos no bloqueio desta resposta com anticorpos ou substâncias evitando expressão (MATWEE, *et al.*, 2001; AL-KATANANI; PAULA-LOPES; HANSEN, 2002; EDWARDS; HANSEN, 1996).

9.6 Endométrio

O endométrio tem função de secretar prostaglandinas envolvidas no processo de implantação, partição, luteólise e reconhecimento da prenhez (SAKAI, *et al.*, 2018). Junto da fosfolipase A2, COX2 e ácido araquidônico é produzido a PGE2 e PGF2 α . Este processo sofre alteração na sua regulação conforme as condições impostas, podendo uma delas ser o estresse ambiental.

Com condições aversivas, fora da zona de conforto dos bovinos, há uma tendência de aumentar as HSP no tecido endometrial, como no restante do sistema reprodutor. Em Sakai, *et al.*, (2018), a expressão de RNA mensageiro de HSP70 foi maior no verão do que no inverno. Neste mesmo estudo, os cultivos a 39.5 e 40.5°C tiveram maior expressão de RNA mensageiro e aumento na concentração das HSP70 e HSP90, quando comparado a cultivos em 38.5°C. Em Min, *et al.*, (2015), o estresse calórico aumentou tanto a HSP70 quanto a HSP90 no soro bovino, mas a produção de HSP90 caiu após 8 semanas, enquanto a HSP70 se manteve alta. Isso indica

que ambas estão envolvidas com o estresse no endométrio e que a HSP70 poderia ser mais sensível e apropriada como marcador de estresse. Porém, foi reportado que a HSP90 regula a fosforilação da fosfolipase A2, resultando em aumento do ácido araquidônico, e aumento da atividade de prostaglandinas cíclicas (TUCKER, *et al.*, 2008).

Em estudo realizado por Putney *et al.*, (1988), a exposição dos tecidos endometriais ao calor (43°C por 18h) causou um aumento na produção de PGF2 α e também em Sakai, *et al.*, (2018) tanto a produção de PGE2 quanto de PGF2 α foi maior em cultivos a 40.5°C comparado a 38.5°C. Desta forma, é apresentado que as células endometriais, especialmente as estromais, aumentam a expressão de genes de enzimas envolvidas na síntese das prostaglandinas, principalmente em condições com aumento de temperatura por longos períodos.

O aumento das concentrações de prostaglandina no tecido endometrial pode estar ligado a um ciclo estral mais curto, seguido por uma regressão precoce do CL (PUTNEY, *et al.*, 1988). Desta forma, o estresse pode desregular a função endometrial com a produção de HSP70 e HSP90 e fazer com que o este tecido se torne menos responsivo a P4, reduzindo o fluxo sanguíneo e a entrega de hormônios e nutrientes.

9.7 Função Placentária e Crescimento Fetal

Abortos devido ao estresse ambiental são raros, no entanto a função da placenta é comprometida e pode afetar a gestação e saúde do terneiro após o nascimento (HANSEN, 2007). Além das perdas embrionárias, a exposição materna a condições estressantes foi associada com a redução do peso ao nascer, maior mortalidade antes do desmame e redução nas características desejáveis (MONTEIRO, *et al.*, 2016).

Estas taxas podem estar relacionadas com adaptações do desenvolvimento com a privação de nutrientes e oxigênios decorridos da insuficiência placentária induzida pela hipertermia (LIMESAND, *et al.*, 2018). O menor crescimento fetal pode estar associado também com a menor ativação metabólica, maior razão entre superfície materna e massa fetal e na menor extração de nutrientes maternos (WEEKS; COLE, 2002). A restrição de crescimento e adaptação placentária pode incidir em complicações metabólicas futuras afetando a performance quando adulto (LIMESAND, *et al.*, 2018).

Foi observado que as anomalias de crescimento, como o aumento da circunferência abdominal, se iniciam na metade da gestação, logo antes do pico de crescimento fetal e no ápice do desenvolvimento placentário (GALAN, *et al.*, 19995). Em Macko *et al.*, (2016), foi realizada uma avaliação em ovelhas, constatando que tanto o peso da placenta quanto do feto foram

menores (56 e 49%, respectivamente) aos 130d comparado aos 110d, com parição aos 149d. Este resultado concorda com Galan, *et al.*, (1999) em que a restrição costuma ocorrer nos últimos estágios da gestação.

A capacidade placentária de transferência de nutrientes e oxigênio deveria aumentar durante a gestação, com expansão da área de superfície e estreitamento da barreira, aumentando a permeabilidade a substratos metabólicos (LIMESAND, *et al.*, 2018). No entanto, durante o estresse térmico a capacidade de transporte diminui. As causas associadas a este fenômeno estão na redução da massa e função da placenta, organização vascular e angiogênese, levando ao declínio de glicose (de 21 a 33% menor) e oxigênio (de 25 a 46% menor) (LIMESAND, *et al.*, 2013; VATNICK, *et al.*, 1991; HAGEN, *et al.*, 2005).

Uma medida compensatória comumente encontrada é o aumento de fluxo sanguíneo uterino-umbilical, mas o efeito desta acaba sendo de redução da capacidade de difusão da placenta (LIMESAND, *et al.*, 2018). O fluxo normal do sangue uterino é o dobro do umbilical (WILKENING, *et al.*, 1982), portanto, o aumento neste último reduz a quantidade direcionada para vasos uterinos, exigindo maior auxílio e aumento no retorno de nutrientes para a placenta (REGNAULT, *et al.*, 2003).

A insuficiência placentária induzida pela hipertermia pode levar a subnutrição e crescimento assimétrico do feto, pelo direcionando nutrientes para o cérebro e coração (LIMESAND, *et al.*, 2018). A avaliação do consumo de nutrientes pelo quociente de oxigênio resultou em valores de glicose, lactato e aminoácidos levemente mais baixos que os valores de oxigênio umbilical, de acordo com Regnault, *et al.*, (2013). Isso indica que a absorção de nutrientes é praticamente suficiente apenas para a sobrevivência sem quantidade extra para o crescimento e desenvolvimento dos órgãos e tecidos musculares. Junto com o déficit de nutrientes e gases, foi observado um aumento nos níveis de norepinefrina e epinefrina, podendo ser indício de estresse fetal (MACKO, *et al.*, 2016).

Devido à redução de glicose e de insulina no plasma encontrado por Limesand, *et al.*, (2018), foi sugerido pelo mesmo autor um aumento da glicólise nos tecidos periféricos, para suprir as necessidades dos órgãos. Aparentemente se teria uma maior sensibilidade a insulina e uma gliconeogênese maior no fígado, com alteração das enzimas do Ciclo de Krebs no músculo esquelético. Os aminoácidos aparecem como substrato fazendo com que a síntese de proteína e crescimento são deixados de lado.

As adaptações dentro do útero podem ter impactos negativos no crescimento pós-natal, especificamente devido a uma resistência à insulina e menor massa muscular (LIMESAND, *et al.*, 2018). O baixo peso ao nascer e reduzida massa muscular pode gerar limitações metabólicas que reduzam a performance quando adulto, principalmente nas raças de bovinos de corte, com redução de hormônios anabólicos e aumento dos catabólicos.

10 EFEITOS DO ESTRESSE AMBIENTAL EM MACHOS

O sucesso reprodutivo dos touros é um dos fatores mais importantes na viabilidade e lucro dos sistemas de cria (MENEGASSI, *et al.*, 2016), sendo recomendado uma avaliação andrológica antes da estação de monta para avaliar as condições dos animais, fertilidade e capacidade de cópula de acordo com o manual de andrologia produzido por Barth, (2000). O estresse térmico na época de acasalamento na região sul, entre novembro e março, é muito comum e tem se apresentado como um fator negativo na qualidade espermática de touros pelas desordens ocasionadas nos testículos, saco escrotal e glândulas acessórias. Estes efeitos são dependentes de raça, devido as variações genéticas, características corporais e capacidade de adaptação (MENEGASSI; BARCELLOS, 2015).

10.1 Dinâmica Vascular

O *Bos indicus* apresenta os testículos mais alongados quando comparados aos do *Bos taurus*, além de ter mais glândulas sudoríparas e maior comprimento da artéria testicular (BRITO *et al.*, 2003; BRITO, *et al.*, 2004). A menor velocidade de fluxo arterial do bovino Nelore foi reportada por Menegassi, *et al.*, (2017), utilizando a técnica de Doppler para avaliar a vascularização testicular e hemodinâmica, com objetivo de se compreender a adaptabilidade a regiões mais quentes. Com este resultado, está raça teria possibilidade de maior dissipação de calor, demandando menor fluxo sanguíneo no sistema contracorrente do plexo pampiniforme, reduzindo a temperatura dos testículos e conservando melhor a espermatogênese.

10.2 Variação Hormonal

As alterações hormonais não são tão importantes em machos, no entanto, touros transferidos de ambientes com temperatura média de 21°C para condições de 34°C reduziram as concentrações de testosterona (HANSEN, 2007).

10.3 Qualidade Espermática

Estudos avaliando o choque térmico e a fertilidade de machos observaram redução da capacidade reprodutiva pelo efeito negativo nos testículos e produção de espermatozoides (RINEHART; YOCUM; DENLINGER, 2000). Alteração das condições ambientais por 12h já podem alterar a funcionalidade da espermatogênese. A célula mais sensível neste processo é o espermatócito primário, mas períodos de estresse crônico pode alterar a divisão das espermátides em maior quantidade (HANSEN, 2007). Alterações negativas na produção

espermática incluem queda nas concentrações no ejaculado, redução da motilidade, e aumento na quantidade de defeitos. Sêmen com estes problemas, dependendo da sua extensão, não são indicados para congelamento e utilização na técnica de IA e poderão resultar em menores taxas de concepção e prenhez no rebanho (MENEGASSI; BARCELLOS, 2015).

A temperatura testicular costuma variar de 2 a 6°C a menos que a temperatura corporal (MENEGASSI, *et al.*, 2017). Com o aumento do estresse térmico, a temperatura escrotal aumenta, podendo ocasionar defeitos seminais após duas semanas do evento (HANSEN, 2007). A produção total da espermatogênese tem duração de 61d, aproximadamente, então os efeitos poderão persistir por 7 a 8 semanas, comprometendo a atuação na época de monta, sobrecarregando os outros touros e aumentando o custo da propriedade.

A insolação na região escrotal, causada por uma cobertura de plástico e tecido de algodão, por 72h, causou prejuízo na qualidade espermática com diminuição da motilidade e aumento nos defeitos totais e maiores (MENEGASSI, *et al.*, 2017). Os animais do grupo controle foram mantidos em sistema extensivo com ITU ambiente de 65 em média. Na segunda semana de experimento, a motilidade observada foi de $22.5\% \pm 6.5$, nos animais estressados e $78.3\% \pm 6$, nos controles. Os defeitos espermáticos maiores e totais encontrados foram de $66.7\% \pm 7.6$ e $84.7\% \pm 3.6$, respectivamente, nos que sofreram insolação, e de $14.3\% \pm 2.1$ e $25.9\% \pm 4.7$, respectivamente, no controle. Entre as anomalias observadas em maior quantidade estão defeitos de cauda fortemente dobrada, espermatozoides não desenvolvidos, cabeças soltas anormais, defeito de peça intermediária com gotas proximais e cabeça em formato piriforme.

Na região tropical do Brasil, os meses mais críticos encontrados foram janeiro e fevereiro, alcançando valores de ITU de 89.5 e 89.7 e de ETI de 28.46 a 29.02, respectivamente (MENEGASSI, *et al.*, 2016). Neste estudo, os defeitos espermáticos foram dependentes da raça avaliada, Nelore e Braford, porém nenhuma seria eliminada no exame andrológico de acordo com Barth, (2000). Os defeitos maiores e totais encontrados foram $7.90\% \pm 0.96$ e $12.70\% \pm 1.09$, no Nelore, e 11.80 ± 1.03 e 17.30 ± 1.23 , no Braford, apresentando uma tendência numérica de maior adaptação do *Bos indicus* puro quando comparado a cruza *Bos indicus/ Bos taurus*.

10.4 Atividade Enzimática

A qualidade espermática também tem sido avaliada através de indicadores enzimáticos para estabelecer a habilidade de fertilização do espermatozoide, alguns destes são: enzimas acrossomais, fosfatases, hialuronidasas e lactato desidrogenase (HOWES;JONES, 2002;

HAUGHAN, *et al.*, 2005). No estudo de Cheng, *et al.*, (2016), a exposição ao estresse térmico diminuiu significativamente a qualidade espermática, refletindo na redução da taxa de integridade acrossomal, motilidade e aumento da taxa de espermatozoides anormais. Juntamente, foi verificado uma redução das enzimas acrossomais, lactato desidrogenase e hialuronidases e aumento das fosfatases de acordo com o aumento de temperatura. Isso se sucedeu devido ao desbalanço eletrolítico dos testículos e pela resposta de secreção da próstata na condição de estresse ambiental. Na avaliação racial, entre touros Simental, Limousin e Yanbian, a última raça foi a menos afetada e, conseqüentemente, mais resistente ao estresse, provavelmente devido a sua origem no nordeste da China e adaptação a condições extremas, tanto quentes como frias (CHENG, *et al.*, 2016).

Foi descrito menor atividade de enzimas antioxidantes e maior produção de EROs em um estudo realizado por Nichi, *et al.*, (2006). Comparando touros Simental e Nelore, na região tropical do Brasil, foi observado mudanças de morfologia, motilidade e vigor, apontando para melhor desempenho da raça Nelore nesta região. Foi encontrado maior atividade de glutathione peroxidase na raça Simental e uma correlação negativa da superóxido dismutase com defeitos primários ($r = -0.51$), sugerindo fator protetivo no sêmen. No entanto, a concentração de substâncias reativas ao ácido barbitúrico, marcador de peroxidação lipídica, significativamente mais alto no sêmen da raça Simental durante o verão foi correlacionada com maior produção de EROS e não com incapacidade antioxidante. Portanto, o Nelore, *Bos indicus*, pode ter maior resistência a oxidação lipídica em condições de estresse térmico, resultando em menor produção de EROs e menor quantidade de defeitos espermáticos durante o verão (NACHI, *et al.*, 2006).

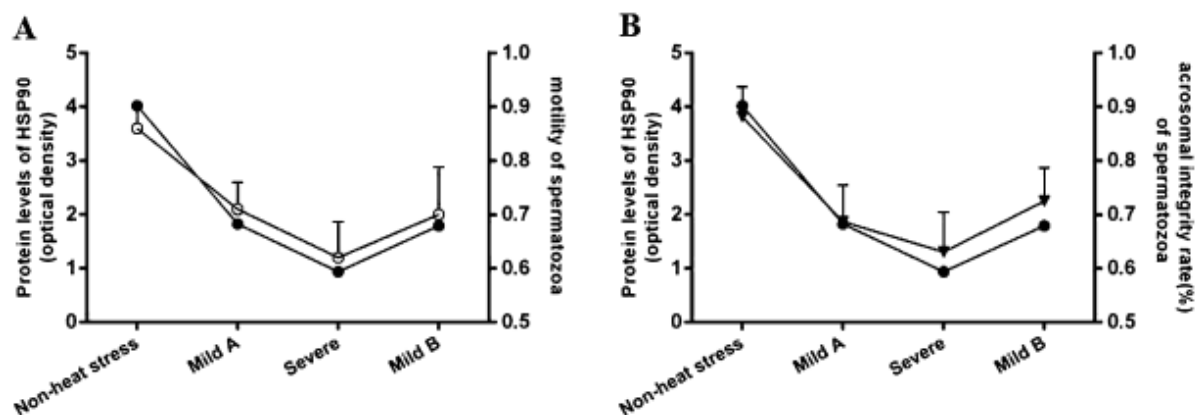
10.5 Proteínas de Choque Térmico

A aclimatação é o processo com redução ou manutenção da temperatura corporal com dissipação de calor possibilitando tolerância a temperaturas ambientais mais altas, e as HSPs estão envolvidas neste processo (MOSELEY, 1997). A resposta celular ao calor está relacionada com a quantidade de proteínas desnaturadas para que os mecanismos de proteção sejam ativados (HOOPER, *et al.*, 2017). Para a proteção do sistema reprodutor masculino e do ejaculado, estas proteínas estão envolvidas no processo de espermatogênese, fusão do óvulo com espermatozoide e na capacitação das células reprodutivas, estando ligadas diretamente com a capacidade reprodutiva do macho (CHENG, *et al.*, 2016).

Foi analisado em Cheng, *et al.*, (2016) correlações da produção de HSP90 com a qualidade espermática na condição de estresse térmico tendo como resultado correlações positivas para a

motilidade (0.869), integridade do acrossoma (0.681) e atividade de fosfatase (0.722) e correlação negativa com a taxa de anormalidades (-0.714). Na figura 7 pode ser observado a concentração da proteína HSP90 em relação com a motilidade espermática e integridade acrossomal em diferentes situações de estresse.

Figura 7: Produção de HSP90 em relação a motilidade e integridade acrossomal



Fonte: CHENG, *et al.*, 2016

A queda na produção de HSP90, com função ligada a organização e estrutura celular, pode estar relacionada com maiores taxas de defeitos espermáticos, principalmente problemas de cauda (SANGSTER; QUEITSCH; LINDQUIST, 2003). No entanto, a expressão de RNA mensageiro da HSP70 foi significativamente mais alta nos grupos de estresse.

No estudo de Hooper, *et al.*, (2017), a condição ambiental foi considerada dentro da zona de conforto térmico, mas com períodos de estresse durante a tarde. O ITU foi classificado em alerta e emergência e associados com variação na temperatura retal e padrão de ofegação. A nível celular, o controle e grupo estresse (40°C) não obtiveram variação na expressão e qualidade de RNA do gene HSP. No entanto, houve uma redução na expressão de HSP90, 70 e 60 quando a temperatura ambiental atingiu 42°C. Em Moseley (1997), a HSP70, especificamente teve sua expressão mais alta que as demais, e este fato está provavelmente relacionado com a sua sensibilidade ao calor, importância na estabilização de proteínas celulares, conformação, sobrevivência e integridade celular. Para Hooper, *et al.*, (2017), a HSP60 teve expressão mais alta entre as demais em função da sua associação com a maior atividade mitocondrial durante o estresse térmico.

11 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com a necessidade de se aumentar a produção de alimentos no mundo, e considerando o papel do Brasil na produção de carnes, é imprescindível que se tenham estudos avaliando as atuais taxas de produtividade e sugerindo melhorias para o sistema evoluir em produção e condição animal. O estresse ambiental é um fator preocupante pela maioria da produção de cria ser realizada em sistemas extensivos, susceptíveis as variações ambientais. Mesmo considerando os efeitos no organismo em geral, com queda de peso e baixa imunidade, os prejuízos no sistema reprodutor, tanto em fêmeas quanto nos machos, são significativamente importantes para a produção. Quedas na taxa de prenhez e produção de terneiros por hectare são índices multifatoriais, mas deve-se atentar as condições climáticas e tendências da região para que se possa realizar um bom planejamento e gestão.

Diversos índices foram desenvolvidos com o objetivo de melhor mensurar os efeitos no organismo em relação a cada parâmetro meteorológico. De maneira que seja possível identificar características em comum das diferentes regiões e comparar os resultados produtivos. Assim, tem sido sugerido a introdução de genética de animais adaptados em locais com maior desafio ambiental. Tanto raças de *Bos taurus* quanto de *Bos indicus* tem apresentado bons resultados em situações, a princípio, fora da zona de conforto. Com a adaptação, estes animais contêm diferentes mecanismos para dissipar mais calor e maneiras para lidar com o prejuízo do calor, chegando a nível molecular.

Cada vez mais a técnica de inseminação artificial tem sido implementada no rebanho brasileiro, possibilitando a fecundação com sêmen de qualidade, menores defeitos e comprovada capacidade de motilidade e vigor, pela coleta de material em condições ambientais adequadas. A utilização de hormônios para sincronizar osaios (IATF) também é uma técnica muito interessante em casos que a demonstração de cio seja afetada pela época ou local. Desta maneira é possível a previsão de animais para inseminar, um melhor planejamento da propriedade e menores efeitos do estresse de touros.

Com a introdução de lavouras de verão e alto rendimento da soja já é possível observar a antecipação da estação reprodutiva contribuindo com o menor impacto no dia da inseminação/monta e no período de maior sensibilidade ao embrião. Visto as dificuldades encontradas na maturação e viabilidade embrionária inicial sob estresse, têm sido realizados estudos para viabilizar a fecundação *in vitro* e eliminar fatores externos pelo controle nutricional e ambiental do oócito e embrião.

Com o alto potencial de influência sobre o organismo bovino, especialmente na sua reprodução, seria ideal que os produtores pudessem utilizar as interpretações dos índices de estresse ambiental para planejar o sistema de cria, alterando o manejo, genética e/ou cronograma, para manter a produtividade animal, viabilidade do sistema e bem-estar dos animais.

REFERÊNCIAS

- ABDUL, N. P. A. *et al.* Adaptation of Livestock to Environmental Challenges. **J Vet Sci Med Diagn**, v 4, p 1-7, 2015.
- AGUILAR, I.; MISZTAL, I.; TSURUTA, S. Genetic components of heat stress for dairy cattle with multiple lactations. **J Dairy Sci**, v 92, p 5702-5711, 2009. DOI: 10.3168/jds.2008-1928.
- AHMED, B. M.S. *et al.* Cows exposed to heat stress during fetal life exhibit improved thermal tolerance. **J Anim Sci**, v 95, p 3497-3503, 2017.
- ALEMU, T. W. *et al.* Oxidative and endoplasmic reticulum stress defence mechanisms of bovine granulosa cells exposed to heat stress. **Theriogenology**, v 110, p 130-140, 2018. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2017.12.042.
- AL-KATANANI, Y. M.; PAULA-LOPES, F. F.; HANSEN, P. J. Effect of season and exposure to heat stress oocyte competence in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 2, p. 390-396, 2002.
- ALLOUCHE, L. *et al.* Reproductive performance of Montbeliard cows reared under subtropical environment: effects of heat stress and acclimatization duration. **Livestock Research for Rural Development**, v 30, n 7, 2018.
- AMIN, A. *et al.* Bovine embryo survival under oxidative-stress conditions is associated with activity of the NRF2-mediated oxidative-stress-response pathway. **Mol Reprod Dev**, v 81, n 6, p 497-513, 2014.
- ANSARI-MAHYARI, S. *et al.* Investigating the genetic architecture of conception and non-return rates in Holstein cattle under heat stress conditions. **Tropical Animal Health and Production**, v 1, p 1-7, 2019. DOI: 10.1007/s11250-019-01875-5.
- ASQUITH, K. L. *et al.* Localization and significance of molecular chaperones, heatshock protein 1, and tumor rejection antigen gp96 in the male reproductive tract and during capacitation and acrosome reaction. **Biol Reprod**, v 72, p 328-337, 2005.
- BACKUS, B. L.; McGLONE, J. J.; GUAY, K. Animal Welfare: Stress, Global Issues, and Perspectives. **Encyclopedia of Agriculture and Food Systems**, v 1, p 387-402, 2014.
- BAETA, F. C.; MEADOR, N. F.; SHANKLIN, M; D. Equivalent temperature index at temperatures above the thermoneutral for lactating cows. *In*: ASAE Meeting, 1987.
- BARROS, C. M. *et al.* Importance of sperm genotype (indicus versus taurus) for fertility and embryonic development at elevated temperatures. **Theriogenology**, v 65, p 210-218, 2006.
- BARTH, A. D. **Bull breeding soundness evaluation manual**. 2 ed. Saskatoon: The Western Canadian Association of Bovine Practitioners, 2000, p 74.
- BENAVIDES, R.A.M. *et al.* Thermal environment characteristic for the bovine cattle ranching in the Valle del Cauca, Colombia. **Acta Agronómica**, v 65, n 4, p 406-412, 2016. DOI: 10.15446/acag.v65n4.49018.
- BERIHULAY, H. *et al.* Adaptation Mechanisms of Small Ruminants to Environmental Heat Stress. **Animals**, v 9, n 3, p 75, 2019. DOI: 10.3390/ani9030075.
- BIGGERS, B. G. *et al.* Effect of heat stress on early embryonic development in beef cow. **Journal of animal science**, v 64, n 5, p 1512-1518, 1987. DOI: 10.2527/jas1987.6451512x

- BLOCK, J.; CHASE, C. C. Jr.; HANSEN, P. J. Inheritance of resistance of bovine preimplantation embryos to heat shock: Relative importance of the maternal versus paternal contribution. **Mol. Reprod. Dev**, v 63, p 32-37, 2002.
- BOISSY, A. *et al.* Emotions and cognition: A new approach to animal welfare. **Anim Welf**, v 16, p 37-43, 2007.
- BOSE, S. *et al.* Chaperone function of Hsp90-associated proteins. **Science**, v 274, n 5293, p 1715-1717, 1996.
- BRAD, A. M.; HENDRICKS, K. E. M.; HANSEN, P. J. The block to apoptosis in bovine two-cell embryos involves inhibition of caspase-9 activation and caspase-mediated DNA damage. **Reproduction**, v. 134, n. 6, p 789-79, 2007.
- BRITO, L. F. *et al.* Effects of scrotal insulation on sperm production, semen quality, and testicular echotexture in *Bos indicus* and *Bos indicus* x *Bos taurus* bulls. **Anim Reprod Sci**, v 79, p 1-15, 2003.
- BRITO, L. F. *et al.* Testicular thermoregulation in *Bos indicus*, crossbred and *Bos taurus* bulls: relationship with scrotal, testicular vascular cone and testicular morphology, and effects on semen quality and sperm production. **Theriogenology**, v 61, p 511-528, 2004.
- BROWN-BRANDL, T. M. *et al.* Analyses of thermoregulatory responses of feeder cattle exposed to simulated heat waves. **Int J Biometeorol**, v 49, p 285-296, 2005. DOI: 10.1007/s00484-004-0250-2
- BROWN-BRANDL, T. M.; JONES, D. D.; WOLDT, W. E. Evaluating Modelling Techniques for Cattle Heat Stress Prediction. **Biosystems Engineering**, v 91, n 4, p 513-524, 2005.
- BUFFINGTON, D. E. *et al.* Black globe-humidity index (bghi) as comfort equation for dairy-cows. **Transactions of the ASAE**, v 24, n 3, p711-714, 1981.
- CAIN, J. W. *et al.* Mechanisms of Thermoregulation and Water Balance in Desert Ungulates. **Wildl Soc Bull**, v 34, p 570-581, 2006.
- CARABAÑO, M.J. *et al.* Breeding for resilience to heat stress effects in dairy ruminants: A comprehensive review. **Journal of Animal Science: Breeding and Genetics symposium**, v 95, n 4, p 1813-1826, 2017.
- CARAMBULA, S. F.; OLIVEIRA, L. J.; HANSEN, P. J. Repression of induced apoptosis in the 2-cell bovine embryo involves DNA methylation and histone deacetylation. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v 388, n 2, p 418-421, 2009.
- CARROLL, J. A. *et al.* Spiers Heat-tolerant versus heat-sensitive *Bos taurus* cattle: influence of air temperature and breed on the acute phase response to a provocative immune challenge. **J Anim Sci**, v 70, p 656-672, 1992.
- CARVALHO J. B. *et al.* Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. **Theriogenology**, v 69, n 2, p 167-175, 2008.
- CURTIS, S. Performance indicates animal state of being: A Cinderella Axiom? **Professional Animal Scientist**, v 23, p 573-583, 2007.
- CHARLTON, G. L. *et al.* The motivation of dairy cows for access to pasture **J Dairy Sci**, v 96, p 4387-4396, 2013.

CHENG, Y. *et al.* The effects of heat stress on bull sperm quality and related HSPs expression. **Animal Biology**, v 66, p 321-333, 2016. DOI: 10.1163/15707563-00002507.

DARAMOLA, J. O.; ADELOYE, A. A. Physiological Adaptation to the Humid Tropics with Special Reference to the West African Dwarf (WAD) Goat. **Trop Anim Health Prod**, v 41, p 1005-1016, 2009.

DE CASTRO E PAULA, L. A.; HANSEN, P. J. Modification of actions of heat shock on development and apoptosis of cultured preimplantation bovine embryos by oxygen concentration and dithiothreitol. **Molecular, Reproduction and Development**, v 75, n 8, p 1338-1350, 2008.

DE LIMA, R. S. *et al.* Cellular alterations induced by heat stress in bovine embryos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v 50, n 4, p 257-264, 2013. DOI: 10.11606/issn.2318-3659.v50i4p257-264.

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

DE RENSIS, F.; SCARAMUZZI, R. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow. **Theriogenology**, v 60, p 1139-1151, 2003.

DE RENSIS, F.; SCARAMUZZI, R. J. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow—a review. **Theriogenology**, v 60, n 6, p 1139-1151, 2003.

DIKMEN, S. *et al.* Determination of the optimum contribution of Brahman genetics in an Angus-Brahman multibreed herd for regulation of body temperature during hot weather. **Journal of Animal Science**, v 96, n 6, p 2175-2183, 2018. DOI: 10.1093/jas/sky133

DUNCAN, R. F.; HERSHEY, J. W. B. Protein synthesis and protein phosphorylation during heat stress, recovery, and adaptation. **Journal of Cell Biology**, v 109, n 1, p 1467-1481, 1991.

EDWARDS, J. L.; HANSEN, P. J. Differential responses of bovine oocytes and preimplantation embryos to heat shock. **Molecular Reproduction and Development**, v 46, n 2, p 138-145, 1997.

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. **Biology of Reproduction**, v 55, n 2, p 340-346, 1996.

FARM ANIMAL WELFARE COUNCIL (FAWC). Second report on priorities for research and development in farm animal welfare. **Ministry of Agriculture, Fisheries and Food**. Disponível em: www.fawc.org.uk/pdf/old/animal-welfare-priorities-report-may1993.pdf. Acesso em: 26 Jun. 2019.

FEDERACIÓN COLOMBIANA DE GANADEROS (FEDEGAN). Análisis del inventario ganadero Colombiano: Comportamiento y variables explicativas. **Fondo nacional del ganado**, 2013. Disponível em: www.fedegan.org.co/publicacion-presentaciones/analisis-del-inventario-ganadero-colombiano-comportamiento-y-variables. Acesso em: 23 Mai 2019.

FERREIRA, R. M. *et al.* The low fertility of repeat-breeder cows during summer heat stress is related to a low oocyte competence to develop into blastocysts. **J Dairy Sci**, v 94, n 5, p 2383-2392, 2011.

FIALHO, A. L. L. *et al.* Efeitos do estresse térmico calórico agudo e crônico sobre a qualidade oocitária de bovinos de raças adaptadas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v 70, n 1, p 64-72, 2018. DOI: 10.1590/1678-4162-9494.

FITZ, T. A. *et al.* Characterization of two steroidogenic cell types in the ovine corpus luteum. **Biol Reprod**, v 27, p 703-711, 1982.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Livestock Breeds of China. **FAO Animal Production and Health**, 1984.

FORTIER, M. A.; GUILBAULT, L. A.; GRASSO, F. Specific properties of epithelial and stromal cells from the endometrium of cows. **J Reprod fertile**, v 83, p 239-248, 1988.

GALAN, H. L. *et al.* Relationship of fetal growth to duration of heat stress in an ovine model of placental insufficiency. **Am J Obstet Gynecol**, v 180, p 1278-1282, 1999.

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

GAUGHAN, J. B. *et al.* A new heat load index for feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v 86, n 1, p 226-243, 2008.

GAUGHAN, J. B. *et al.* Heat tolerance of Boran and Tuli crossbred steers. **J Anim Sci**, v 77, p 2398-2405, 1999.

GEISERT, R. D.; MALAYER, J. R. Implantação. *In*: HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. (4 Ed.). **Reprodução Animal**. Barueri: Manole, 2004.

GENDELMAN, M. *et al.* Seasonal effects on gene expression, cleavage timing, and developmental competence of bovine preimplantation embryos. **Reproduction**, v 140, p 73-82, 2010.

GREGORY, K. E.; CUNDIFF, L. V.; KOCH, R. M. Breed effects and heterosis in advance generations of composite populations for reproduction and maternal traits of beef cattle. **J Anim Sci**, v 70, p 656-672, 1992.

HAFEZ, B; HAFEZ, E.S.E. Anatomia da reprodução Feminina. *In*: HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. (4 Ed.). **Reprodução Animal**. Barueri: Manole, 2004a.

HAFEZ, E. S. E. Anatomia da Reprodução Masculina. *In*: HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. (4 Ed.). **Reprodução Animal**. Barueri: Manole, 2004.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. Ciclos Reprodutivos. *In*: HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. (4 Ed.). **Reprodução Animal**. Barueri: Manole, 2004c.

HAFEZ, E. S. E.; JAINUDEEN, M. R.; ROSNINA, Y. Hormônios, Fatores de Crescimento e Reprodução. *In*: HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. (4 Ed.). **Reprodução Animal**. Barueri: Manole, 2004.

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. Fertilização e Clivagem. *In*: HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. (4 Ed.). **Reprodução Animal**. Barueri: Manole, 2004d.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. Foliculogênese, Maturação Ovocitária e Ovulação. *In*: HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. (4 Ed.). **Reprodução Animal**. Barueri: Manole, 2004e.

- HAGEN, A.S. *et al.* Placental expression of angiopoietin-1, angiopoietin-2 and tie-2 during placental development in an ovine model of placental insufficiency-fetal growth restriction. **Pediatr Res**, v 58, p 1228-1232, 2005.
- HAHN, G. L.; MADER, T. L.; EIGENBERG, R. A. Perspective on development of thermal indices for animal studies and management *In: LACETERA, N. et al.* In **Interactions Between Climate and Animal Production**. Wageningen: Wageningen Academic Publishers, 2003.
- HAMMOND, A. C. *et al.* Heat tolerance in Tuli-, Senepol-, and Brahman sired F1 Angus heifers in Florida. **J Anim Sci**, v 76, p 1568-1577, 1998.
- HAMMOND, A. C. *et al.* Heat tolerance in two tropically adapted *Bos taurus* breeds, Senepol and Romosinuano, compared with Brahman, Angus, and Hereford cattle in Florida. **J Anim Sci**, v 74, p 295-303, 1996.
- HANSEN, P. J. *et al.* Adverse impact of heat stress on embryo production: causes and strategies for mitigation. **Theriogenology**, v 55, p 91-103, 2001.
- HANSEN, P. J. Physiological and cellular adaptations of Zebu cattle to thermal stress. **Anim Reprod Sci**, v 82-83, p 349-360, 2004.
- HANSEN, P.J. Effects of environment on bovine reproduction. *In: YOUNGQUIST, R.S.* (2 Ed.). **Current Therapy in Large Animal**. Philadelphia: WB Saunders Company, 2007, p 431-441.
- HARTL, F.; MARTIN, G. R. Protein folding in the cell: The role of molecular chaperones HSP70 and HSP60. **Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct**, v 21, p 293-322, 1992.
- HAUGAN, T. *et al.* Seasonal effects of semen collection and artificial insemination on dairy cow conception. **Anim Reprod Sci**, v 90, p 57-71, 2005.
- HEADS, R. J.; YELLON, D. M.; LATCHMAN, D. S. Differential cytoprotection against heat stress or hypoxia following expression of specific stress protein genes in myogenic cells. **J Mol Cell Cardiol**, v 27, n 8, p 1669-1678, 1995.
- HERRING, A. D. **Beef cattle production systems**. ed. Wallingford: CABI, 2014.
- HOOPER, H. B. *et al.* Heat loss efficiency and HSPs gene expression of Nellore cows in tropical climate conditions. **International Journal of Biometeorology: Special Issue Jaboticabal**, v 1, 2017.
- HOWES, L.; JONES, R. Interactions between zona pellucida glycoproteins and sperm proacrosin/acrosin during fertilization. **J Reprod Immunol.**, v 53, p 181-192, 2002.
- INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE (IPCC). **Climate Change: Synthesis Report**. Set. 2017. Disponível em: https://www.ipcc.ch/pdf/assessment-report/ar5/syr/AR5_SYR_FINAL_SPM.pdf. Acesso em: 3 maio 2019.
- JAINUDEEN, M. R.; HAFEZ, E. S. E. Gestação, Fisiologia Pré-Natal e Parto. *In: HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B.* (4 Ed.). **Reprodução Animal**. Barueri: Manole, 2004b.
- JAINUDEEN, M. R.; HAFEZ, E. S. E. Bovinos e Bubalinos. *In: HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B.* (4 Ed.). **Reprodução Animal**. Barueri: Manole, 2004a.
- JUNIOR, F. A. B. *et al.* Effect of breed on testicular blood flow dynamics in bulls. **Theriogenology**, v 118, p 16-21, 2018. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2018.05.022.

- KADOKAWA, H.; SAKATANI, M.; HANSEN, P. Perspectives on improvement of reproduction in cattle during heat stress in a future Japan. **Anim Sci**, v 83, n 6, p 439-445, 2012.
- KADZERE, M. R. *et al.* Heat stress in lactating dairy cows: A review. **Livest Prod Sci**, v 77, p 59-91, 2002. DOI: 10.1016/s0301-6226(01)00330-x.
- KAJAYSRI, J.; WATTANANORASATE, A. Influence of heat stress on pregnancy rate of beef cattle heifers and cows using ovsynch plus CIDR followed by timed artificial insemination in Thailand. **Thai J Vet Med**, v 48, n 1, p 71-77, 2018.
- KITAGAWA, Y. *et al.* Effects of oxygen concentration and antioxidants on the in vitro developmental ability, production of reactive oxygen species (ROS), and DNA fragmentation in porcine embryos **Theriogenology**, v 62, n 7, p 1186-1197, 2004.
- KUMAR, B. *et al.* Evaluation of Environmental Heat Stress on Physical and Hormonal Parameters in Murrah Buffalo. **Journal of Animal Health and Production**, v 71, n 1, p 21-24, 2019. DOI: 10.17582/journal.jahp/2019/7.1.21.24.
- LEMERLE, C.; GODDARD, M. E. Assessment of heat stress in dairy cattle in Papua New Guinea. **Trop Anim Hlth Prod**, v 18, p 232-242, 1986. DOI: 10.1007/BF02359540.
- LI, J. *et al.* Effects of chronic heat stress on granulosa cell apoptosis and follicular atresia in mouse ovary. **J Anim Sci Biotechnol**, v 7, n 57, 2006.
- LI, S. *et al.* Evaluation of Thermal Stress Indices for Cattle. *In: ASABE Meeting, 2009, Reno. Resumos.* Nevada: ASABE Meeting, 2009, p 96.
- LIMESAND, S. W. *et al.* Increased insulin sensitivity and maintenance of glucose utilization rates in fetal sheep with placental insufficiency and intrauterine growth restriction. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v 293, p 1716-1725, 2007.
- LIMESAND, S.W. *et al.* Impact of thermal stress on placental function and fetal physiology. *In: 10TH INTERNATIONAL RUMINANT REPRODUCTION SYMPOSIUM, 2018, Foz de Iguaçu. Proceedings.* DOI: 10.21451/1984-3143-AR2018-0056.
- LIN, P. *et al.* Endoplasmic reticulum stress is involved in granulosa cell apoptosis during follicular atresia in goat ovaries. **Mol Reprod Dev**, v 79, n 6, p 423-432, 2012.
- LINDQUIST, S.; CRAIG, N.E. The heat shock protein. **Annu. Rev. Genet**, v 22, p 671-677, 1988.
- LIVESTOCK CONSERVATION INC (LCI). Patterns of transit losses. **Livestock conservation inc**, 1970.
- Livestock Heat Stress: Recognition, Response and Prevention. **Washington State University Fact Sheet**, v 157, p 1-10, 2015.
- LOPEZ-GATIUS, F. Factors of a noninfectious nature affecting fertility after artificial insemination in lactating dairy cows-a review. **Theriogenology**. v 77, n 6, p 1029-1041, 2012.
- MACEDO, G.G. *et al.* O estresse por calor diminui a fertilidade de fêmeas bovinas por afetar o desenvolvimento oocitário e o embrionário. **Rev Bras Reprod Anim**, v 38, p 80-85, 2014.
- MACKO, A. R. *et al.* Adrenal demedullation and oxygen supplementation independently increase glucose- stimulated insulin concentrations in fetal sheep with intrauterine growth restriction. **Endocrinology**, v 157, p 2104-2115, 2016.

- MACKO, A. R. *et al.* Elevated plasma norepinephrine inhibits insulin secretion, but adrenergic blockade reveals enhanced b-cell responsiveness in an ovine model of placental insufficiency at 0.7 of gestation. **J Dev Orig Health Dis**, v 4, p 402-410, 2013.
- MADER, T.L.; DAVIS, M.S.; BROWN-BRANDL, T. Environmental factors influencing heat stress in feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v 84, n 3, p 712-719, 2006.
- MAGDUB, A.; JOHNSON, H. D.; BELYEA, R.L. Effect of environmental heat and dietary fibers on thyroid physiology of lactating cows. **J Dairy Sci**, v 65, p 2323-2331, 1982. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(82)82504-6
- MAIA, A. S.; DA SILVA, R. G.; BATTISTON LOUREIRO, C. M. Sensible and latent heat loss from the body surface of Holstein cows in a tropical environment. **International Journal Biometeorology**, v 50, p 17-22, 2005.
- MALAYER, J. R.; HANSEN, P.J. Differences between Brahman and Holstein cows in heat-shock induced alterations of protein synthesis and secretion by oviducts and uterine endometrium. **J Anim Sci**, v 68, p 266-280, 1990.
- MANTECA, X.; MAINAU, E.; TEMPLE, D.; Whats is Animal Welfare? **The Farm Animal Welfare Fact Sheet 1**. 2012. Disponível em: https://www.fawec.org/media/com_lazy/pdf/pdf/fs_1-en.pdf. Acesso em: 26 Jun. 2019.
- MATSUZUKA, T. *et al.* Kanai Effects of heat stress on the redox status in the oviduct and early embryonic development in mice. **J Reprod Dev**, v 51, n 2, p 281-287, 2005.
- MATWEE, C. *et al.* The effects of antibodies to heat shock protein 70 in fertilization and embryo development. **Molecular Human Reproduction**, v 7, n 9, p 829-837, 2001.
- MCCLELLAN, A. J. *et al.* Diverse cellular functions of the Hsp90 molecular chaperone uncovered using systems approaches. **Cell**, v 131, n1, p 121-135, 2007.
- MCDOWELL, R. E.; HOOVEN, N. W.; CAMOENS, J.K. Effects of climate on performance of Holsteins in first lactation. **J Dairy Sci**, v 59, p 965-973, 1976. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(76)84305-6.
- MCDOWELL, R. E.; WILK, J. C.; TALBOTT, C. W. Economic viability of crosses of *Bos taurus* and *Bos indicus* for dairying in warm climates. **J. Dairy Sci**, v 79, p 1292-1303, 1996. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(96)76484-6.
- MCEWEN, B. W.; WINGFIELD, J. C. The concept of allostasis in biology and biomedicine. **Hormones and Behavior**, v 43, p 2-15, 2003.
- MEGAHED, G. A. *et al.* Influence of heat stress on the cortisol and oxidant-antioxidants balance during oestrous phase in buffalo-cows (*Bubalus bubalis*): thermo-protective role of antioxidant treatment. **Reprod Dom Anim**, v 43, n 6, p 672-677, 2008.
- MENEGASSI, S. R. O. *et al.* Effects of ambient air temperature, humidity and wind speed on seminal traits in Braford and Nellore bulls at Brazilian Pantanal. **International Journal of Biometeorology**, v 60, n 11, p 1787-1794, 2016. DOI: 10.1007/s00484-016-1167-2.
- MENEGASSI, S. R. O. *et al.* Infrared thermography as a noninvasive method to assess scrotal insulation on sperm production in beef bulls. **Andrologia**, v 50, p 1-8, 2017. DOI: 10.1111/and.12904.
- MENEGASSI, S. R. O. M. E BARCELLOS, J. O. J. **Aspectos Reprodutivos do Touro: Teoria e Prática**. Guaíba: Agrolivros, 2015.

- MENEGASSI, S. R. O. M. *et al.* **Manejo de sistemas de cria em pecuária de corte.** 1 ed. Guaíba: Agrolivros, 2013.
- MENEGASSI, S. R. O. M.; BARCELLOS, J. O. J. **Aspectos Reprodutivos do Touro: Teoria e Prática.** 1 ed. Guaíba: Agrolivros, 2015.
- MIN, L. *et al.* Effects of heat stress on serum insulin, adipokines, AMP-activated protein kinase, and heat shock signal molecules in dairy cows. **J Zhejiang Univ Sci B**, v 16, p 541-548, 2015.
- MINOWADA, G.; WELCH, W. J. Clinical implications of the stress response. **J Clin Invest**, v 95, p 3-12, 1995.
- MINTON, J. E. Function of the HPA axis and Sympathetic nervous system in models of acute stress in domestic farm animals. **J Anim Sci**, v 72, p 1891, 1994. DOI: 10.2527/1994.7271891x.
- MISZTAL, I. Resilience and lessons from studies in genetics of heat stress. **Breeding and Genetics Symposium: Journal of Animal Science**, v 95, n 4, p 1780-1787, 2017. DOI: 10.2527/jas.2016.0953
- MITLÖHNER, F. M. *et al.* Shade and water misting effects on behavior, physiology, performance, and carcass traits of heat-stressed feedlot cattle. **J Anim Sci**, v 79, p 2327-2335, 2001.
- MOBERG, G. P. Biological response to stress: Implications for animal welfare. *In*: MOBERG, G. P.; MENCH, J. A. (1 Ed.). **The Biology of Animal Stress Basic Principles and Implications for Animal Welfare.** New York: CABI Publishing, 2000, p 1-21.
- MONTEIRO, A. P. A. *et al.* In utero heat stress decreases calf survival and performance through the first lactation. **J Dairy Sci**, v 99, p 8443-8450, 2016.
- MOSELEY, P. L. Invited review: heat shock proteins and heat adaptation of the whole organism. **J Appl Physiol**, v 83, p 1413-1417, 1997.
- MROWKA, R.; PATZAK, A.; HERZEL, H. Is there a bias in proteome research. **Genome Res**, v 11, p 1971-1973, 2001.
- NEJAD, J. G.; SUNG, K. I. Behavioral and Physiological Changes during Heat Stress in Corriedale Ewes Exposed to Water Deprivation. **J Anim Sci Technol**, v 59, p 13, 2017.
- NICHI, M. *et al.* Seasonal variation in semen quality in *Bos indicus* and *Bos taurus* bulls raised under tropical conditions. **Theriogenology**, v 66, p 822-828, 2006. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2006.01.056.
- OLIVEIRA, S. *et al.* Short-wave solar radiation level willingly tolerated by lactating Holstein cows in an equatorial semi-arid environment. **Trop Anim Health Prod**, v 46, n 8, p 1413-1417, 2014. DOI: 10.1007/s11250-014-0657-7.
- PAULA-LOPES, F. F.; HANSEN, P. J. Apoptosis is an adaptive response in bovine preimplantation embryos that facilitates survival after heat shock. **Biochemical and Biophysical Research Communication**, v 295, n 1, p 37-42, 2002a.
- PAULA-LOPES, F. F. *et al.* Genetic divergence in cellular resistance to heat shock in cattle: Differences between breeds developed in temperate versus hot climates in responses of preimplantation embryos, reproductive tract tissues and lymphocytes to increased culture temperatures. **Reproduction**, v 125, p 285-294, 2003.

- PAULA-LOPES, F. F. *et al.* Heat shock-induced damage in bovine oocytes. **Reprod Fertil Dev**, v 43, p 208, 2008.
- PAULA-LOPES, F. F. *et al.* Influence of cattle genotype (*Bos indicus* vs. *Bos taurus*) on oocyte and preimplantation embryo resistance to increased temperature. **J Anim Sci**, v 91, p 1143-1153, 2013. DOI: 10.2527/jas2012-5802.
- PAULA-LOPES, F. F.; HANSEN, P. J. Heat shock-induced apoptosis in preimplantation bovine embryos is a developmentally regulated phenomenon. **Biol. Reprod**, v 66, p 1169-1177, 2002b.
- PIRES, M.F.A.; CAMPOS, A.T. **Conforto animal para maior produção de leite**. Viçosa: Centro de produções técnicas, 2008. 252 p.
- PLASSE, D.; WARNICK, A; C.; KOGER, M. Reproductive behaviour of *Bos indicus* females in a subtropical environment. IV. Length of estrous cycle, duration of estrus, time of ovulation, fertilization and embryo survival in grade Brahman heifers. **J Anim Sci**, v 30, p 63-72, 1970.
- 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**, v 39, p 717-728, 1988.
- RAUW, W. M.; GOMEZ-RAYA, L. Genotype by environment interaction and breeding for robustness in livestock. **Front Genet**, v 6, p 310, 2015. DOI: 10.3389/fgene.2015.00310
- RAVAGNOLO O. MISZTAL I. Genetic component of heat stress in dairy cattle, parameter estimation. **J Dairy Sci**, v 83, p 2126–2130, 2000. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(00)75095-8
- RAVAGNOLO, O.; MISZTAL, I. Effect of heat stress on non-return rate in Holsteins: Fixed-model analyses. **Journal of Dairy Science**, v 85, p 3101-3106, 2002a.
- RAVAGNOLO, O.; MISZTAL, I. Effect of heat stress on non-return rate in Holstein cows: Genetic analyses. **Journal of Dairy Science**, v 85, p 3092-3100, 2002b.
- REGNAULT, T. R. *et al.* Umbilical uptakes and transplacental concentration ratios of amino acids in severe fetal growth restriction. **Pediatr Res**, v 73, p 602-61, 2013.
- REGNAULT, T.R. *et al.* The relationship between transplacental O₂ diffusion and placental expression of PlGF, VEGF and their receptors in a placental insufficiency model of fetal growth restriction. **J Physiol**, v 550, p 641-656, 2003.
- REYNOLDS, L. P. *et al.* Effects of chronic environmental heat stress on blood flow and nutrient uptake of the gravid bovine uterus and foetus. **J Agric Sci**, v 104, p 289-297, 1985.
- RINEHART, J.P.; YOCUM, G.D.; DENLINGER, D.L. Thermotolerance and rapid cold hardening ameliorate the negative effects of brief exposures to high or low temperatures on fecundity in the flesh fly, *Sarcophaga crassipalpis*. **Physiol Entomol**, v 25, p 330-336, 2000.
- RIVERA, R. M. *et al.* Reorganization of microfilaments and microtubules by thermal stress in two-cell bovine embryos. **Biology of Reproduction**, v 70, n 6, p 1852-1862, 2004.
- RIVERA, R. M.; HANSEN, P. J. Development of cultured bovine embryos after exposure to high temperatures in the physiological range. **Reproduction**, v 121, n 1, p 107-115, 2001.
- ROELOFS, J. B. *et al.* Various behavioral signs of estrous and their relationship with time of ovulation in dairy cattle. **Theriogenology**, v 63, n 5, p 1366-1377, 2005. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2004.07.009.

- ROELOFS, J.B. *et al.* When is a cow in estrus? Clinical and practical aspects. **Theriogenology**, v 74, p 327-344 2010.
- ROMAN-PONCE, H. *et al.* Thermal stress effects on uterine blood flow in dairy cows. **J Anim Sci**, v 46, p 175-180, 1978.
- ROMAN-PONCE, H.; THATCHER, W. W.; WILCOX, C. J. Hormonal interrelationships and physiological responses of lactating dairy cows to a shade management system in a subtropical environment. **Theriogenology**, v 16, p 139-154, 1981.
- ROTH, Z. Cellular and molecular mechanisms of heat stress related to bovine ovarian function. **J Anim Sci**, v 93, p 2034-2044, 2015.
- ROTH, Z. *et al.* Delayed effect of heat stress on steroid production in medium-sized and preovulatory bovine follicles. **Reproduction**, v 121, n 5, p 745-751, 2001a.
- ROTH, Z. *et al.* Improvement of quality of oocytes collected in the autumn by enhanced removal of impaired follicles from previously heat-stressed cows. **Reproduction**, v 122, n 5, p 737-744, 2001b.
- SAKAI, S. *et al.* Heat stress affects prostaglandins synthesis in bovine endometrial cells. **Journal of Reproduction and Development**, v 64, n 4, p 311-317, 2018.
- SAKATANI, M. *et al.* Consequences of physiological heat shock beginning at the zygote stage on embryonic development and expression of stress response genes in cattle. **Journal of Dairy Science**, v 96, n 6, p 3080-3091, 2012.
- SAKATANI, M. *et al.* Heat shock-derived reactive oxygen species induce embryonic mortality in in vitro early stage bovine embryos. **Journal of Reproduction and Development**, v 54, n 6, p 496-501, 2008
- SAKATANI, M.; KOBAYASHI, S.; TAKAHASHI, M. Effects of heat shock on in vitro development and intracellular oxidative state of bovine preimplantation embryos. **Molecular Reproduction and Development**, v 67, n 1, p 77-82, 2004.
- SANCHEZ, N. C. B. *et al.* Heat-tolerant versus heat-sensitive *Bos taurus* cattle: influence of air temperature and breed on the metabolic response to a provocative immune challenge. **Domestic Animal Endocrinology**, v 45, n 4, p 180-186, 2013. DOI: 10.1016/j.domaniend.2013.08.005.
- SANGSTER, T.A.; QUEITSCH, C.; LINDQUIST, S. Hsp90 and chromatin: where is the link? **Cell Cycle**, v 2, p 166-168, 2003.
- SEIXAS, L. *et al.* Heat Tolerance in Brazilian Hair Sheep Asian- Australia. **J Anim Sci**, v 30, p 593-601, 2017.
- ST-PIERRE, N. R.; COBANOV, B.; SCHNITKEY, G. Economic losses from heat stress by US livestock industries. **Journal of Dairy Science**, v 86, p 52-77, 2003.
- STRAHAN, S. Goodbye winter, hello heat stress: Tips on keeping cattle comfortable. Disponível em: <https://www.crystalyx.com/blog/goodbye-winter-hello-heat-stress-tips-on-keeping-cattle-comfortable/>. Acesso em: 10 Jul 2019.
- SUÁREZ, E. *et al.* Efectos de las condiciones ambientales sobre el comportamiento ingestivo en bovinos de carne en un sistema intensivo en el Valle del Sinú. **Corpoica**, v 13, n 2, p 207-212, 2012.

- SULLIVAN, M. L. *et al.* Effect of shade area on performance and welfare of short-fed feedlot cattle. **J Anim Sci**, v 89, p 2911-2925, 2011. DOI: 10.2527/jas.2010-3152
- THOM, E.C. The Discomfort Index. **Weatherwise**, v 12, p 57–60, 1959.
- TUCKER, D. E. *et al.* Regulation of cytosolic phospholipase A2alpha by hsp90 and a p54 kinase in okadaic acid-stimulated macrophages. **J Leukoc Biol**, v 84, p 798-806, 2008.
- TURNER, H. G. Genetic variation of rectal temperature in cows and its relationship to fertility. **Anim Prod**, v 35, p 401-412, 1982.
- VATNICK, I. *et al.* Effect of heat stress on ovine placental growth in early pregnancy. **J Dev Physiol**, v 16, p 163-166, 1991.
- VON KEYSERLINGK, M. A. G. *et al.* Dairy cows value access to pasture as highly as fresh feed. **Sci Rep**, v 7, p 49-53, 2017. DOI: 10.1038/srep44953.
- VORONINA, L. A. *et al.* Ovarian granulosa cell survival and proliferation requires the gonad-selective TFIID subunit TAF4b. **Dev Biol**, v 303, n 2, p 715-726, 2007.
- WANG, M. *et al.* Role of the unfolded protein response regulator GRP78/BiP in development, cancer, and neurological disorders. **Antioxidants Redox Signal**, v 11, n 9, p 2307-2316, 2009.
- WEKKS, J. C.; COLE, T. J. Birth weight and environmental heat load: a between-population analysis. **Am J Phys Anthropol**, v 119, p 276-282, 2002.
- WILKENING, R.B *et al.* Placental transfer as a function of uterine blood flow. **Am J Physiol**, v 242, p 429-436, 1982.
- WILSON, S. J. *et al.* Effects of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle: 1. Lactating cows. **J Dairy Sci**, v 81, p 2124-2131, 1998.
- WOLFENSON, D. *et al.* Effect of heat stress on follicular development during the estrous cycle in lactating dairy cattle. **Biol Reprod**, v 52, p 1106-1113, 1995.
- WOLFENSON, D. *et al.* Secretion of PGF2alpha and oxytocin during hyperthermia in cyclic and pregnant heifers. **Theriogenology**, v 39, p 1129-1141, 1993.
- WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH (OIE). **Terrestrial Animal Health Code**. 2010. Disponível em: www.oie.int/en/international-standard-setting/terrestrial-code/access-online/. Acesso em: 10 Abr. 2019.
- YASHA, A. *et al.* Growth and Reproduction Hormones of Ruminants Subjected to Heat Stress. **J Anim Behav Biometereol**, v 5, p 7-12, 2017.