



UNIVERSIDADE DOS AÇORES

Departamento de Ciências Agrárias

**EFEITOS DO CLIMA NA *PERFORMANCE* REPRODUTIVA
DE BOVINOS LEITEIROS NOS AÇORES**

Tese de Mestrado em Engenharia Zootécnica

Sara Rodrigues Sieuve de Menezes

Angra do Heroísmo

2010



UNIVERSIDADE DOS AÇORES

Departamento de Ciências Agrárias

**EFEITOS DO CLIMA NA *PERFORMANCE* REPRODUTIVA
DE BOVINOS LEITEIROS NOS AÇORES**

Tese de Mestrado em Engenharia Zootécnica

Sara Rodrigues Sieuve de Menezes

Orientador: Prof. Doutor Joaquim Fernando Moreira da Silva

Angra do Heroísmo

2010

Ao meu tio Agostinho

*“Posso ter defeitos, viver ansioso e ficar irritado algumas vezes,
mas não esqueço que a minha vida é a maior empresa do
mundo. E que posso evitar que ela vá à falência.
Ser feliz é reconhecer que vale a pena viver, apesar de todos os
desafios.
Ser feliz é deixar de ser a vítima dos problemas e tornar-se
autor da própria história.
É atravessar desertos fora de si, mas ser capaz de encontrar um
oásis no recôndito da alma.
É agradecer a Deus a cada manhã pelo milagre da vida.
Ser feliz é não ter medo dos próprios sentimentos.
É saber falar de si mesmo. É ter coragem para ouvir um “não”.
É ter segurança para receber uma crítica, mesmo que injusta.
Pedras no caminho? Guardo-as todas,
um dia vou construir um castelo...”*

Fernando Pessoa

“A felicidade por vezes é uma bênção –
mas geralmente é uma conquista”

Nas margens do Rio Piedra eu sentei e chorei de Paulo Coelho

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Doutor Joaquim Moreira da Silva por ter aceitado ser meu orientador da tese de mestrado. Por todos os conhecimentos partilhados, toda a disponibilidade, amizade, simpatia e vontade de ajudar.

Ao Dr. Luís Rendeiro por continuar a estar disponível sempre que necessário.

À Eng^a. Beatriz Afonso, por tão prontamente me ter fornecido as informações da base de dados da Associação Agrícola de São Miguel.

À Alexandrina, Ana Padilha, Cândida, Lisete, Maria João e Patrícia, minhas grandes amigas.

Aos meus colegas de trabalho, Sofia, Xana, Marwa e António pela ajuda, disponibilidade e boa disposição diárias.

À Filipa e ao Márcio por toda a amizade.

A toda minha família, tios e primos, pelo apoio dado ao longo do tempo.

À minha Avó Alda, Avô José, Avó Henriqueta e Avô Ernesto por todo o amor.

À minha irmã Solange por todo o apoio nos momentos difíceis que passámos e por estar sempre disponível para ajudar.

À minha sobrinha, Martinha, por ter trazido uma grande felicidade e união para a nossa vida.

A todos aqueles que em alguma altura me deram força para continuar.

Aos meus pais, Carlos e Salomé, por continuarem a ser as pessoas que mais acreditam em mim! Pela ajuda, por todo o amor e compreensão.

E por fim, ao Gonçalo. Pelo seu amor e grande paciência. Por acreditar em mim e me transmitir esperança diariamente.

A todos um MUITO OBRIGADO!!!

Resumo:

Estudos realizados mostram que em bovinos leiteiros, a fertilidade está negativamente associada à temperatura e humidade relativa do ar. Este trabalho teve como objectivo a análise do comportamento reprodutivo destes animais durante todo ano. Para esse efeito, estudou-se o efeito das condições climáticas na *performance* reprodutiva de animais em duas ilhas do arquipélago dos Açores em Portugal, nomeadamente a Ilha Terceira e a Ilha de São Miguel. Propôs-se também verificar se as tecnologias de produção de embriões tendiam a reduzir esse efeito.

Desse modo, foram recolhidos dados provenientes do resultado das IA efectuadas por dois sub-centros de Inseminação Artificial (IA), estando um localizado na Ilha Terceira e o outro na Ilha de São Miguel. Compilaram-se dados de 230 explorações inscritas no contraste leiteiro da Associação Agrícola de São Miguel as quais utilizassem os seus serviços em exclusivo, num total de 12197 IA, distribuídas entre 1 de Janeiro e 31 de Dezembro de 2008. Para a Ilha Terceira recolheram-se dados provenientes de 4 explorações com um total de 630 IA distribuídas entre 1 de Janeiro e 31 de Dezembro de 2009, as quais não recorressem aos serviços de outro subcentro de IA.

Todas as IA foram efectuadas por Inseminadores Públicos destes dois subcentros, 8 a 12 horas depois da detecção do cio observação visual. A taxa de concepção de cada Inseminador não foi considerada como factor de variação. O sémen utilizado era proveniente do respectivo subcentro, não se tendo entrado em conta com as possíveis diferenças de fertilidade de cada touro. Os registos de animais com informações incompletas foram excluídos.

Reuniram-se informações meteorológicas de duas estações meteorológicas, uma de cada ilha, utilizando a temperatura máxima (T_{max} , °C) e a humidade relativa mínima

(*HRmin*) para calcular o Índice de Temperatura-Humidade (THI) diário, e respectiva média mensal, através da seguinte fórmula:

$$THI = (0,8 \times T_{max} + (HR_{min}(\%)/100) \times (T_{max} - 14,4) + 46,4)$$

Os dados demonstraram, para ambas as ilhas, que a temperatura do ar tal como o THI foram máximos no mês de Agosto, com média, respectivamente, de 25,5°C ($\pm 1,0^\circ\text{C}$) e 74 para São Miguel, bem como 24,8°C ($\pm 1,0^\circ\text{C}$) e 73 para a ilha Terceira. No mesmo mês a humidade relativa máxima alcançou médias de 93,3% para São Miguel e 86,4% para a Terceira.

De acordo com os dados, esta região não pode ser considerada de altas temperaturas. No entanto, uma análise de correlação do THI com a taxa de concepção mensal demonstrou que a fertilidade pode ser afectada pelos períodos quentes, em ambas as ilhas, especialmente devido ao nível de humidade próprio desta região. Os resultados da Ilha de São Miguel demonstraram que a taxa de fertilidade em novilhas não parece estar relacionada com a época do ano; pelo contrário, em relação às vacas lactantes, está patente um efeito deste tipo de condições ambientais na sua fertilidade, uma vez que em Agosto o THI atingiu o seu máximo sendo este o mês em que se observaram menores taxas de concepção, na ordem dos 53,8%. Nos restantes meses do ano as taxas de concepção situam-se nos 60,1% e 64,9%. Quanto aos procedimentos de transferência de embriões, não foi possível relacionar o seu sucesso com a época do ano, uma vez que não tivemos acesso a um número significativo de dados.

Palavras-chave: vacas leiteiras, novilhas, taxa de concepção, *stress* térmico, variáveis climáticas

Abstract:

Reports agree that fertility is related negatively to environmental temperature and humidity. The aim of the present study is to analyze reproductive performances of dairy cows throughout the year. It is our suggestion that we determine if climatic conditions affects reproduction performance in two Islands of the Azores, Portugal, and if the effect is equal in heifers as in cows. We propose also to verify if technologies of embryo production tend to reduce the effect of heat stress on fertility.

For such purpose, a total of 230 dairy herds distributed in Sao Miguel Island with a total of 12197 IA in dairy cows, distributed from 1st January to 31st December 2008 and 4 herds in Terceira Island with 630 Artificial Inseminations (AI) distributed from 1st January to 31st December 2009.

Herds were selected on the basis of using only AI as a breeding method. Only cows that conceived and calved were included in the analyses. All AI were performed by AI technicians 8–12 hours after estrous observation. Conception rate of each inseminator was not available so we could not eliminate this effect, and the fertility of the bull was not considered in this analyze as well.

Daily temperature (T_{max} , °C) and daily humidity (HR_{min}) data for two weather stations, one in each island were used to calculate the THI, using the following formula:

$$THI = (0,8 \times T_{max} + (HR_{min}(\%)/100) \times (T_{max} - 14,4) + 46,4)$$

Data demonstrated that, in both Islands, maximum temperature and THI observed was in August with an average of 25,5°C ($\pm 1,0^\circ\text{C}$) and 74 for São Miguel Island as well as 24,8°C ($\pm 1,0^\circ\text{C}$) and 73 for Terceira Island, respectively. In the same month, the maximum relative humidity was 93,3% to São Miguel and 86,4% to Terceira island.

As data demonstrated for these two years, this region cannot be considered a region of high temperatures. Nevertheless, for both islands, analysis of monthly THI and conception rate demonstrated that low reproductive performances of cows tend to be lower in the hot periods especially by the high RH observed in this region. For São Miguel Island we found no relationship between heifer's fertility and THI, but for cows there was a clear effect, as in August the THI was the maximum observed, 74, and this month was also the one that had the lowest conception rate of 53,8%. In the other months of the year, conception rates varied between 60,1% and 64,9%. Results between conception after embryo transfer and the climatic conditions, showed no correlation between these two parameters, which can be due the low number of data.

Key words: dairy cattle, heifers, conception rate, heat stress, climate factors

ÍNDICE GERAL

	Página
AGRADECIMENTOS.....	iv
RESUMO	v
ABSTRACT.....	vii
ÍNDICE GERAL.....	ix
ÍNDICE DE QUADROS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
ABREVIATURAS.....	xiv
I INTRODUÇÃO	1
II OBJECTIVOS.....	3
III REVISÃO DA BIBLIOGRAFIA	4
3.1. Fisiologia Reprodutiva em Bovinos: Breve Revisão.....	4
3.1.1 <u>Desenvolvimento Folicular</u>	4
3.1.2 <u>Ovulação e Formação de Corpo Lúteo</u>	8
3.1.3 <u>Gestação</u>	9
3.2. <i>Stress</i> Térmico	11
3.2.1 <u>Incremento Térmico devido à Produção Metabólica de Calor</u>	12
3.2.2 <u>Efeitos Gerais do <i>Stress</i> Térmico no Organismo Animal</u>	12
3.2.3 <u>Quantificação do <i>Stress</i> Térmico</u>	16

ÍNDICE GERAL (continuação)

	Página
3.3. Efeitos do <i>Stress</i> Térmico na Capacidade Reprodutiva.....	18
3.3.1 <u>Eixo Hipotálamo-Hipófise-Ovário</u>	19
3.3.2 <u>Desenvolvimento Embrionário</u>	22
3.4. Maneio/Melhoria da Capacidade Reprodutiva em Épocas de <i>Stress</i> Térmico...25	
3.4.1 <u>Alterações Ambientais</u>	25
3.4.2 <u>Implementação de Programas de Reprodução Agressivos</u>	27
3.4.3 <u>Utilização da TE e FIV para ultrapassar a Mortalidade Embrionária causada pelo <i>Stress</i> Térmico</u>	28
3.5. Classificação do Clima do Local de Estudo	30
IV MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
4.1. Amostras	33
4.2. Variáveis climáticas	34
4.3. Cálculo do Index Temperatura-Humidade	35
4.4. Análise Estatística.....	35
V RESULTADOS	36
5.1 Ilha Terceira.....	36
5.2 Ilha de São Miguel.....	39
VI DISCUSSÃO.....	44
VII CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS	50
VIII REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51

ÍNDICE DE QUADROS

	Página
Quadro 1: Informação meteorológica da Ilha Terceira no ano de 2009	37
Quadro 2: Informação meteorológica da Ilha de São Miguel no ano de 2008	39
Quadro 3: Taxa de concepção em novilhas, em vacas lactantes e em animais sujeitos a transferências de embriões, no ano de 2008	40

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1: Controlo reprodutivo: mecanismos de retroacção (adaptado de Stabenfeldt e Davidson, 2002).....	5
Figura 2: Constituição histológica de um folículo antral apto a ser recrutado (adaptado de Hartigan, 2004)	7
Figura 3: Ondas de crescimento folicular (adaptado de Hartigan, 2004).....	8
Figura 4: Possível relação endócrina entre o embrião precoce, endométrio e ovário (adaptado de Allcock e Peters, 2004).....	9
Figura 5: Partição de nutrientes de uma vaca em lactação. A espessura das setas indica a ordem de prioridade, e não a quantidade, de combustível metabólico mobilizado para as diferentes actividades (adaptado de Hartigan, 2004).....	19
Figura 6: Associação entre os meses do ano e a taxa de concepção observada nos animais da raça, Holstein-Frisean, em regime de pastoreio na Ilha Terceira.....	38
Figura 7: Efeito do THI na taxa de concepção em vacas leiteiras, Holstein-Frisea, de pastoreio na Ilha Terceira ($p<0,05$).....	38
Figura 8: Associação entre os meses do ano e a taxa de NR90 em novilhas (linha vermelha) e vacas lactantes (linha azul) em regime de pastoreio na Ilha de São Miguel.....	41
Figura 9: Efeito do THI na taxa de concepção em novilhas, Holstein-Friesian, de pastoreio na Ilha de São Miguel	41

Figura 10: Efeito do THI na taxa de concepção em vacas lactantes, Holstein-Friesian, de pastoreio na Ilha de São Miguel ($p < 0,05$).....	42
Figura 11: Efeito do THI na taxa de concepção de transferência de embriões em vacas leiteiras, Holstein-Friesian, de pastoreio na Ilha de São Miguel	43

ABREVIATURAS:

AASM – Associação Agrícola de São

Miguel

ACTH - Hormona adrenocorticotrófica

BEN - Balanço energético negativo

BGHI - *Black Globe Humidity Index*

CL – Corpo Lúteo

FIV – Fertilização *in vitro*

FSH - Hormona folículo-estimulante

GnRH - Hormona libertadora de

gonadotrofinas

HRmin - Humidade relativa mínima

HSP - *heat-shock protein*

HSP70 - *heat-shock protein 70*

IA - Inseminação Artificial

IFN- τ - Interferon-tau

IGF-I - Factor de crescimento

semelhante à insulina I

LH - Hormona luteinizante

l/m^2 - Litros por metro quadrado

NR90 - Não retorno ao cio em 90 dias

PAGs - Glicoproteína associada à
gestação

PGF2 α - Prostaglandina F 2 α

Km/h – Quilómetros por hora

rpm – Respirações por minuto

SNIRA – Sistema Nacional de
Informação e Registo Animal

TE – Transferência de embriões

THI - Index Temperatura-Humidade

Tmax - Temperatura máxima

TSH - Hormona estimuladora da tiróide

UNICOL - União das Cooperativas de

Lacticínios Terceirense

I. INTRODUÇÃO

As alterações climáticas são um dos muitos factores que configuram a agricultura a nível mundial, tendo conseqüentemente repercussões complexas nos processos biológicos subjacentes aos sistemas agrícolas. Assim, tais alterações irão afectar as formas de manejo animal para conseguir os objectivos de produção e reprodução tendo em conta as características e as dimensões das explorações, o tipo de produção, bem como o nível de intensidade. O aumento da concentração de CO₂ na atmosfera, as temperaturas mais elevadas, as alterações dos padrões de precipitação anuais e sazonais e da frequência de fenómenos extremos afectarão, desta forma, o volume, a qualidade e a estabilidade da produção animal. Efectivamente, nos últimos 100 anos, tem-se verificado um aumento anormal da temperatura, tanto no valor como na rapidez com que este tem ocorrido, excedendo largamente as variações climáticas naturais dos últimos 1000 anos (Solomon, 2007).

Desta forma, a eleição do tema para este trabalho teve como propósito a obtenção de informação, que possa vir a ajudar os produtores a compreenderem alguns factores que fazem parte da realidade reprodutiva dos bovinos desta região, nomeadamente o efeito do clima nas *performances* reprodutivas dos bovinos.

Variações significativas da taxa de concepção foram associadas não só à raça, cio, número de inseminações artificiais (IA), grupo etário e o inseminador, mas também o mês, o ano, a temperatura ambiente máxima tal como a precipitação no dia da IA (Badinga *et al.*, 1985).

O efeito das condições climáticas sobre o desempenho de vacas leiteiras é marcante, principalmente em regiões tropicais e subtropicais, razão pela qual o conhecimento das relações funcionais entre o animal e o meio ambiente, permite que se

adoptem procedimentos que visem a melhoria da eficiência das explorações leiteiras (Chase, 2006). É um problema mundial que causa perdas económicas graves e afecta cerca de 60% do efectivo mundial bovino. A característica mais proeminente da infertilidade do verão é a sua natureza multifactorial, uma vez que a hipertermia afecta directamente as funções celulares de várias partes/tecidos do sistema reprodutivo (Wolfenson, 2000; Berg *et al.*, 2010).

De acordo com Sartori e Dode (2008) o *stress* térmico diminui a eficiência reprodutiva particularmente em vacas lactantes, através da diminuição da expressão de cio e taxas de concepção, tal como o aumento de mortes embrionárias.

Segundo West (2003) a continuação da selecção de vacas de leite para o aumento de capacidade de ingestão de matéria seca e para a produção leiteira resulta em vacas menos tolerantes ao *stress* térmico. Este facto, conjuntamente com o aquecimento global no futuro, poderá resultar num problema de grande dimensão para as explorações leiteiras em todo o mundo.

II. OBJECTIVOS

Pretende-se com este trabalho:

- 1) Determinar se as condições climáticas desta Região, a que os animais estão expostos, estarão a afectar a capacidade reprodutiva de bovinos leiteiros;
- 2) Averiguar se as novilhas serão tão susceptíveis ao *stress* térmico como as vacas com 2 ou mais lactações;
- 3) Examinar os efeitos do *stress* térmico nos animais de um ponto de vista fisiológico e discutir quais as opções de maneio disponíveis ao produtor e;
- 4) Verificar se a utilização de tecnologias de produção de embriões (Produção de embriões *in vitro* e Transferência de Embriões), tendem a eliminar esses efeitos adversos.

III. REVISÃO DA BIBLIOGRAFIA

Vários autores estudaram o efeito do *stress* térmico sobre os factores responsáveis pelo controlo da actividade ovárica, tais como a hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH) segregada pelo hipotálamo e gonadotrofinas, hormona luteinizante (LH) e hormona folículo-estimulante (FSH) segregadas pela hipófise, e sobre o desenvolvimento embrionário.

Neste contexto e para a fundamentação deste trabalho a pesquisa bibliográfica realizada abrangeu aspectos relacionados com a fisiologia reprodutiva em bovinos, efeitos gerais e específicos do *stress* térmico bem como a sua quantificação, além do maneio reprodutivo a nível da exploração. Serão ainda discutidas algumas estratégias para a diminuição do desconforto térmico em bovinos leiteiros.

3.1. Fisiologia Reprodutiva em Bovinos: breve revisão

3.1.1 Desenvolvimento Folicular

O principal padrão de secreção de hormonas com papel na reprodução é controlado por um gerador de pulso no hipotálamo. A actividade do gerador de pulso pode ser modulada por *inputs* nervosos e por sinais de *feedback* provenientes do próprio hipotálamo, da hipófise ou das gónadas (Hafez e Hafez, 2000). O hipotálamo sintetiza GnRH, a qual estimula a hipófise a sintetizar duas gonadotrofinas, a FSH e a LH. A hipófise é responsável também pela secreção de prolactina, hormona de crescimento, hormona adrenocorticotrófica (ACTH) e hormona estimuladora da tiróide (TSH) (Stabenfeldt e Davidson, 2002; Hartigan, 2004). Como se pode observar na Figura 1, o controlo reprodutivo envolve vários mecanismos de retroacção.

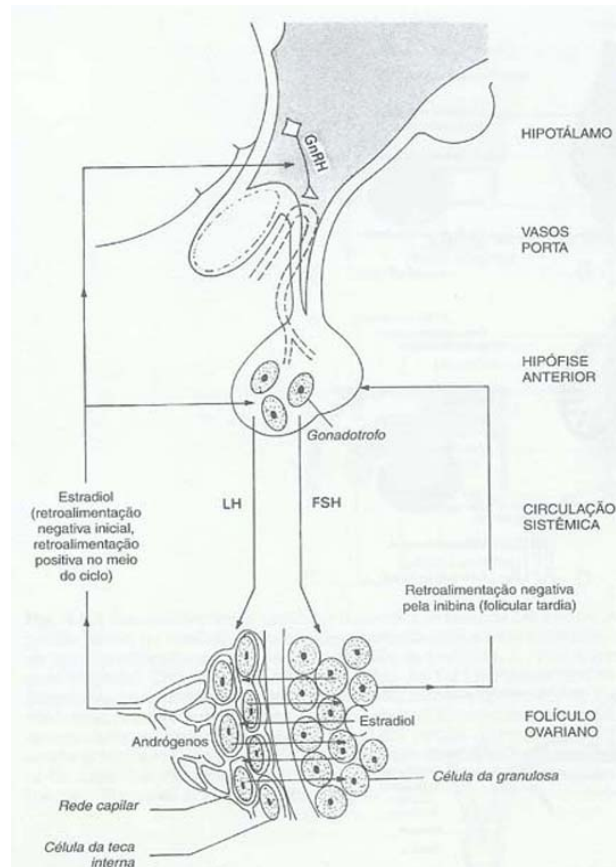


Figura 1: Controlo reprodutivo: mecanismos de retroação (adaptado de Stabenfeldt e Davidson, 2002)

A vaca é um animal poliéstrico apresentando ciclos éstricos sucessivos se não ficar gestante. A duração do ciclo éstrico varia de 18 a 24 dias, sendo em média de 21 dias. Tanto a expressão do cio como a duração do ciclo são o resultado de alterações cíclicas nos ovários que envolvem duas estruturas endócrinas temporárias – o folículo ovárico e o corpo lúteo (CL) – e as suas principais secreções – o estrogénio e a progesterona, correspondendo, respectivamente a uma fase folicular e a uma fase luteínica (Hartigan, 2004).

A fase folicular inicia-se com a regressão do CL, e conseqüente queda na concentração de progesterona, que estimula a libertação de GnRH pelo hipotálamo. As concentrações de FSH e LH aumentam na circulação, estimulando um grupo de

folículos a iniciarem a fase folicular do ciclo, cujo folículo dominante irá ovular nos 3 dias seguintes (Hafez e Hafez, 2000).

Todos os folículos crescem a uma taxa semelhante durante 2 a 3 dias seguidos sendo que o seu crescimento até aos 8 mm de diâmetro ocorre pela influência da FSH (Hartigan, 2004). A glucose, a insulina e o factor de crescimento semelhante à insulina I (IGF-I) têm um papel importante no crescimento e desenvolvimento folicular, na qualidade do ovócito e implantação do futuro embrião (Rabiee *et al.*, 1997 citado por Rensis e Scaramuzzi, 2003).

Cerca de oito horas antes do início da divergência, as células da granulosa do futuro folículo dominante adquirem receptores para a LH, a qual estimula a produção de estrogénio e IGF-I. Esse folículo torna-se dominante uma vez que os altos níveis de estrogénio e inibina, que produz, suprimem a libertação de FSH, a qual se torna incapaz de manter o crescimento dos restantes folículos, mais pequenos, que sofrem regressão (Hartigan, 2004). O folículo dominante torna-se dependente de LH para a continuação do seu crescimento e da secreção de estrogénio que será suficiente para induzir o cio e exercer um efeito de *feedback* positivo no eixo hipotálamo-hipófise, originando uma onda de LH (Hafez e Hafez, 2000).

O crescimento folicular ocorre por duas ondas (com início no dia 0 e 10) ou por 3 ondas (com início no dia 0, 8 e 16) de crescimento folicular. A emergência de cada onda folicular ocorre um dia após o pico de concentração sérica de FSH e inicia-se pelo recrutamento de vários folículos primordiais (Figura 2).

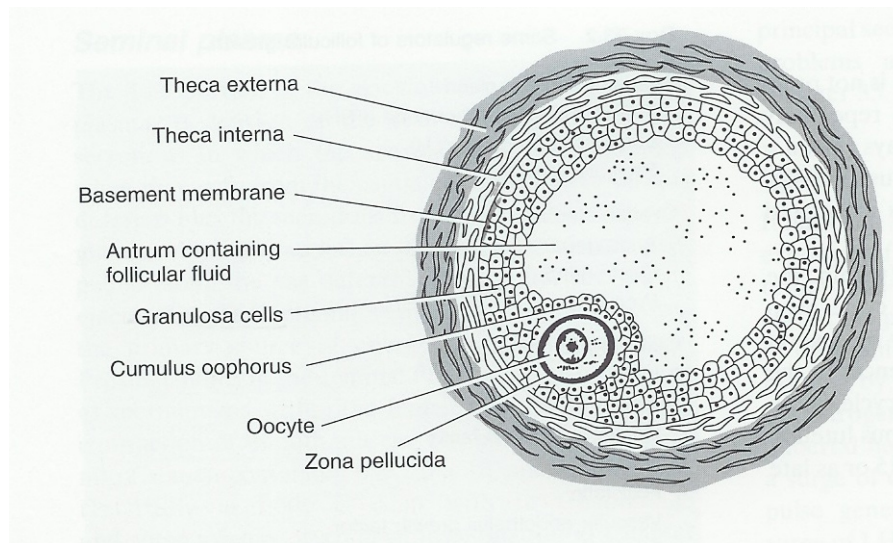


Figura 2: Constituição histológica de um folículo antral apto a ser recrutado (adaptado de Hartigan, 2004). Legenda: O folículo ovárico com 4 camadas distintas: teca externa, teca interna altamente vascularizada, membrana basal, camada de células da granulosa avascular. A membrana basal previne o acesso directo dos capilares à camada de células da granulosa.

A onda folicular tem duas fases: a de crescimento (iniciada pela FSH) e a fase de dominância (iniciada quando a FSH está próxima do seu nível mínimo; dependente da LH), tendo cada fase uma duração de 7 a 10 dias. O folículo dominante tem a capacidade funcional de despoletar a cascata neuroendócrina que culmina na ovulação estando o seu destino dependente da frequência pulsátil da LH, em função da fase do ciclo: a alta frequência durante a fase folicular permite a ovulação, e a baixa frequência durante a fase luteínica, ou anestro do pós-parto, resulta em atresia. A onda seguinte não pode emergir até o folículo dominante começar a regredir (Figura 3) (Hartigan, 2004).

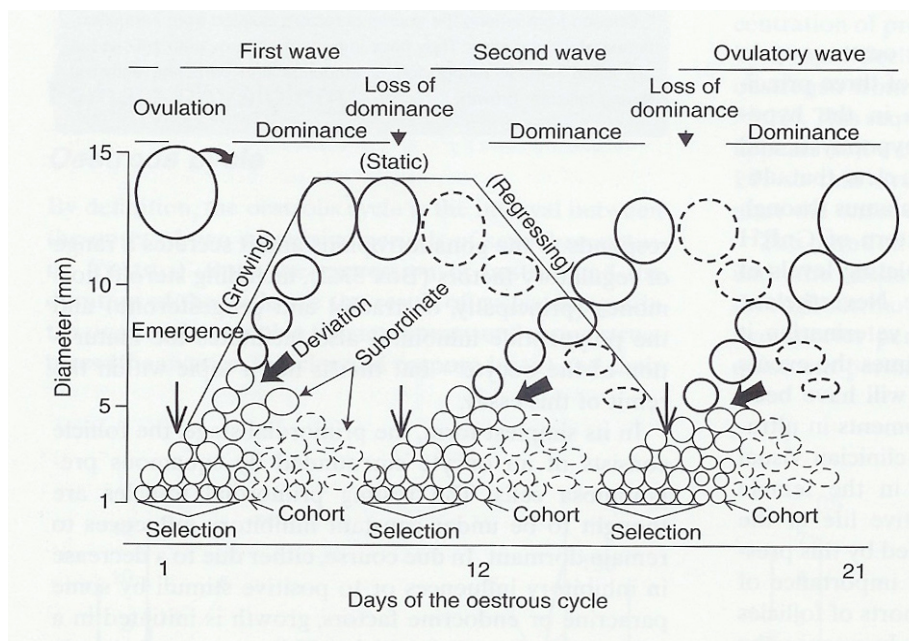


Figura 3: Ondas de crescimento folicular (adaptado de Hartigan, 2004)

3.1.2 Ovulação e formação de Corpo Lúteo

A resposta do folículo dominante à LH é morfológica (crescimento, ovulação, formação de CL) e secretora (estrogênio e progesterona), dependendo a ovulação do momento, da frequência e amplitude das alterações hormonais descritas (Hafez e Hafez, 2000).

Para que o comportamento de cio se manifeste deverá existir pré-exposição à progesterona assim como quantidades elevadas de estrogênio na circulação sanguínea. Cerca de 24 horas após o início da expressão comportamental de cio ocorre ovulação do folículo dominante formando-se o CL (Hartigan, 2004).

A LH é a luteotrofina principal na vaca e, sob circunstâncias normais, mantém o CL funcional (Howell *et al.*, 1994). A disponibilidade de glucose está directamente envolvida na modulação da secreção de LH, pelo que uma hipoglicémia severa inibirá a secreção pulsátil de LH impedindo assim a ovulação (Rensis e Scaramuzzi, 2003). Para a manutenção da gestação é necessário um CL funcional (Howell *et al.*, 1994),

mantendo esta estrutura a concentração plasmática de progesterona acima dos 10ng/ml desde a segunda semana de gestação até ao termo. Por sua vez, a progesterona bloqueia a musculatura uterina, diminui a amplitude das contracções e suprime a reactivação da oxitocina e $\text{PGF}_{2\alpha}$ (responsável pela luteólise), prevenindo assim, o desenvolvimento de contracções coordenadas e sincronizadas que poderiam expelir o embrião/feto prematuramente (Hartigan, 2004).

3.1.3 Gestação

O embrião exerce um papel importante na manutenção do CL, enviando sinais de que a gestação ocorreu (Figura 4). O principal sinal é a secreção do interferon-tau ($\text{IFN-}\tau$) pelo trofoblasto que inibe o desenvolvimento dos receptores de oxitocina no endométrio reduzindo a secreção da Prostaglandina F 2α ($\text{PGF}_{2\alpha}$) (Hafez e Hafez, 2000).

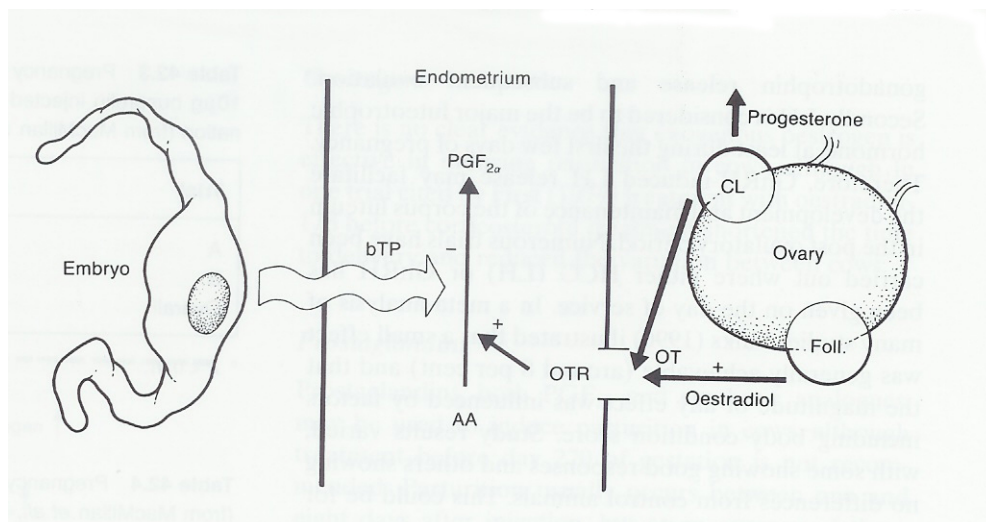


Figura 4: Possível relação endócrina entre o embrião precoce, endométrio e ovário. bTP: proteína trofoblástica bovina; AA: ácido araquidónico; OT: oxitocina; OTR: receptor de oxitocina; Foll: folículo (adaptado de Allcock e Peters, 2004)

O tamanho da vesícula amniótica também é crítico, uma vez que um embrião pequeno pode não ser capaz de libertar uma quantidade suficiente de IFN- τ para prevenir a luteólise. Se existir um embrião expandido, a mãe irá reconhecer que está gestante e o padrão pulsátil de libertação da PGF2 α será atenuado ou eliminado (Hartigan, 2004).

Este processo é denominado reconhecimento materno da gestação. Se a fêmea não ficar gestante ou se o envio de sinais falhar, o útero inicia a secreção de PGF2 α provocando a regressão morfológica do CL terminando a secreção de progesterona. Na vaca, o período crítico para a manutenção do CL ocorre durante o 15º e o 17º dia de gestação (Niswender, 2004).

Os tecidos reprodutivos – ovário, oviducto e útero - contêm receptores para a hormona de crescimento e IGF-I, sendo este último um factor de sobrevivência embrionária que protege as células de uma variedade de agressões, inclusivamente o *stress* térmico (Hansen, 2007). O endométrio produz IGF-I e proteínas de ligação da IGF-I que são favoráveis ao desenvolvimento do embrião (Risco *et al.*, 1999).

3.2. *Stress* térmico

Vários autores estudaram a associação entre a diminuição da fertilidade em vacas de leite e os meses quentes do ano (e.g. Badinga *et al.*, 1985; Rivera e Hansen, 2001; Hansen, 2002; Sartori *et al.*, 2002; Rensis e Scaramuzzi, 2003; BonDurant, 2004; García-Ispierto *et al.*, 2006; Grimard *et al.*, 2006; García-Ispierto *et al.*, 2007; Huang *et al.*, 2009) concluindo que a temperatura ambiente mais confortável para estes animais situava-se entre os 5 e os 25°C. O limite mínimo crítico de temperatura é o ponto em que o animal começará a sentir frio. Este limite depende de uma série de factores, sendo que vitelos recém-nascidos entram em *stress* térmico a temperaturas mínimas de 12,8°C enquanto vacas adultas, no pico da lactação, suportam temperaturas até -25°C. Ao contrário da variabilidade descrita para o limite mínimo, o limite máximo crítico de temperatura permanece constante nos 25°C, apesar da idade ou estado fisiológico (Shearer, 2004), sendo que vacas leiteiras em lactação têm capacidade reduzida para responder a aumentos de temperatura ambiente ou outras formas de *stress* (Wolfenson *et al.*, 2000) uma vez que as temperaturas altas associadas a uma humidade relativa elevada comprometem a capacidade destes animais dissiparem o calor (West, 2003).

O *stress* térmico pode ser definido como o ponto em que o animal já não consegue dissipar uma quantidade adequada de calor para manter a homeostase térmica. Os factores ambientais que podem contribuir para essa situação são: temperatura e humidade elevadas e energia radiante (Chase, 2006).

3.2.1 Incremento térmico devido à produção metabólica de calor

Cada ser vivo apresenta uma temperatura corporal considerada normal. Nos animais o modo mais utilizado para obter a temperatura corporal é através da inserção de um termómetro no recto. Para os bovinos leiteiros a temperatura rectal média é de 38,6°C oscilando entre 38,0 e 39,3°C (Reece, 2009).

O aumento total da temperatura corporal resulta da soma do calor obtido do metabolismo com aquele que é recebido do meio ambiente (Shearer, 2004), sendo que o calor interno é produzido constantemente como resultado da digestão dos alimentos e do metabolismo (McDonald *et al.*, 2002^a; West, 2003). A produção de calor aumenta enquanto os processos metabólicos, a ingestão de alimento e as necessidades para a digestão aumentam com a produção de leite. A produção de calor proveniente da digestão é mais elevada quando há um consumo predominante de forragens do que quando as dietas são ricas em concentrados. A actividade física também aumenta a temperatura através do calor produzido pelos músculos esqueléticos e tecidos corporais (Dado e Allen, 1995), sendo esta superior para as vacas lactantes, uma vez que a produção de leite está associada a uma grande produção de calor metabólico sofrendo estes animais maior dificuldade em dissipar calor (West, 2003).

3.2.2. Efeitos gerais do stress térmico no organismo animal

O impacto das condições climatéricas na produção de bovinos passa pela alteração da capacidade de ingestão, aumento do intervalo "ingestão/utilização de nutrientes consumidos", aumento da ingestão de água, alterações hormonais e de crescimento/desenvolvimento, diminuição da produção leiteira e alterações no comportamento social tais como a procura de sombra e postura corporal (Wilson *et al.*, 1998; Garcia-Ispierto *et al.*, 2007; Gooch, 2010).

Sempre que a temperatura corporal de qualquer animal aumenta, imediatamente se iniciam uma série de ajustamentos fisiológicos com vista à manutenção da homeostase térmica (Reece, 2009).

Existem 4 vias para a diminuição efectiva da produção interna de calor metabólico ou da transferência de calor para o organismo da vaca. Meios não- evaporativos incluem condução, convecção e radiação e para que o arrefecimento ocorra, estes 3 processos requerem um gradiente térmico entre o animal e o meio ambiente. Quando este é elevado ocorre transferência de calor do animal para o ambiente, no entanto à medida que a temperatura exterior vai aumentando, o gradiente diminui impedindo um arrefecimento efectivo através de medidas não- evaporativas (Gooch, 2010).

Nestas condições, o arrefecimento por evaporação, a 4ª via, é o mais eficaz (Kibler e Brody citado por West, 2003). Poder-se-á ainda considerar uma outra forma de perda de calor, através das fezes e da urina, ainda que esta perda seja mínima e negligenciável (Reece, 2009). O arrefecimento por evaporação ocorre em duas regiões do animal: sistema respiratório superior – pelo aumento da frequência respiratória – e superfície corporal externa – através da transpiração (Gooch, 2010). Estes comportamentos evaporativos têm um custo energético, aumentando as necessidades da energia de manutenção diária em cerca de 7 a 25% (Shearer, 2004).

Nos bovinos, o aumento da frequência respiratória é acompanhado de aumento da secreção salivar que também contribui para a evaporação, contudo, esta eliminação de saliva para o exterior, quando em demasia, pode provocar acidose metabólica, pela perda dos tampões de fosfato e de bicarbonato (Reece, 2009). Por outro lado, o aumento da transpiração também provoca perdas elevadas de potássio porque o suor é rico em potássio e pobre em sódio. Collier *et al.* (2006) propuseram que vacas sujeitas a *stress*

térmico necessitariam de um aumento de suplementação de potássio na dieta na ordem dos 12%, problema que em animais com dietas à base de forragens, não será tão grave.

Uma das características do comportamento alimentar dos ruminantes é o seu padrão diurno, cujos períodos de pastoreio estão relacionados com o ciclo dia-noite. Os episódios de maior actividade de comportamento ingestivo, num período de 24h, ocorrem antes de amanhecer, a meio da manhã, no início da tarde e durante o pôr-do-sol. Ao nascer e ao pôr-do-sol os animais têm um pastoreio mais longo e contínuo, enquanto nos restantes períodos do dia se torna mais intermitente e alternado com períodos de descanso ou ruminação (McDonald *et al.*, 2002^b).

O comportamento alimentar é fortemente afectado pelo clima e, em geral, o consumo de alimento diminui quando a temperatura ambiente ultrapassa os 26°C; em situação de pastoreio, esse efeito é mais pronunciado (Dado e Allen, 1995). Uma vaca em lactação necessita de 10h de pastoreio diário para produzir 12 litros de leite/dia, no entanto, em épocas de desconforto térmico os animais tendem a interromper o pastoreio nas horas de maior calor e radiação solar, tendo consequentes implicações na produção de leite (Reece, 2009). Em ambientes quentes, os bovinos procuram manter-se à sombra e tendem a assumir uma postura de relaxamento para minimizar as actividades físicas, reduzindo ou cessando a ingestão e procurando uma superfície fria para se deitar (Hansen e Aréchiga, 1999).

A frequência da ingestão de água depende da temperatura ambiente, da qualidade do alimento e da distribuição da água. Em zonas de pastagens verdes e abundantes, os bovinos não bebem muita água, já quando o alimento é mais seco, necessitam de água regularmente. Em condições de termoneutralidade a ingestão de água aumenta com o aumento do consumo de matéria seca. Em condições de *stress* térmico o consumo de alimentos diminui e a ingestão de água aumenta de modo a repor as perdas sudativas e

respiratórias, além de ocasionar um possível arrefecimento corporal, através do contacto da água com as mucosas do trato digestivo (Perissinotto, 2005). Além disso, para maximizar a utilização da água, os bovinos eliminam urina mais concentrada e fezes mais secas (Reece, 2009).

Perissinotto (2005) refere um estudo realizado por McDowell (1975) no qual vacas em lactação, sujeitas a uma temperatura ambiente de 21°C, consumiam cerca de 50 litros de água/dia; enquanto com o aumento da temperatura ambiental para os 32°C o consumo de água aumentou 25 a 100%.

Segundo Chase (2006), a severidade do *stress* térmico depende da temperatura e humidade, duração do período, grau de arrefecimento durante a noite, ventilação e circulação de ar, tamanho do animal, nível de produção leiteira, consumo de matéria seca antes do período, tipo de estabulação (concentração animal e tipo), disponibilidade de água, cor da pelagem, profundidade da pelagem e provavelmente da raça.

A nível celular, a exposição ao *stress* térmico desencadeia uma série de respostas bioquímicas com o intuito de proteger as células do aumento de temperatura. Esta resposta é uma indução de termotolerância permitindo que, após exposição a um choque térmico moderado, haja protecção contra um choque térmico severo. Um dos grupos de moléculas que tem um papel nesta indução é o grupo das *heat-shock proteins* (HSP), principalmente a *heat-shock protein 70* (HSP70). Estas proteínas são moléculas que protegem as células de temperaturas elevadas através da estabilização das proteínas e organelos intracelulares bem como da inibição da apoptose (Hansen, 2007).

3.2.3 Quantificação do *stress* térmico

Existe uma variedade de índices utilizados para estimar o grau de *stress* térmico a que o animal está sujeito, sendo que a termorregulação em bovinos é influenciada tanto pela temperatura ambiente como pela humidade relativa (Armstrong, 1994). O Index Temperatura-Humidade (THI) que incorpora estas duas variáveis, é amplamente utilizado para verificar o impacto do *stress* térmico em vacas de leite, contudo, não contempla o efeito da radiação solar, como se pode verificar pela seguinte fórmula de McDowell *et al.* (1976):

$$\text{THI} = \text{Temp} + 0,36 t_{\text{dp}} + 41,2$$

(Temp: temperatura média, em °C; t_{dp} : a temperatura do ponto de orvalho, em °C)

Num estudo recente, García-Ispuerto *et al.* (2007) apresentou-a de forma simplificada, eliminando a necessidade de calcular o ponto de orvalho:

$$\text{THI} = (0,8 \times T_{\text{max}} + (\text{HRmin}(\%)/100) \times (T_{\text{max}} - 14,4) + 46,4)$$

(*HRmin*: humidade mínima relativa, (em percentagem); *Tmax*: temperatura máxima, em °C)

Em alternativa, pode utilizar-se o *Black Globe Humidity Index* (BGHI) que adiciona à equação o impacto das radiações solares nas condições ambientais (Collier *et al.*, 2006). Desta forma enquanto o THI é representado como a relação entre a temperatura e a humidade, o BGHI adiciona a temperatura do globo polar onde está incluído o incremento térmico da energia radiante, sendo representado pela seguinte fórmula, desenvolvida em 1981 por Buffington e colaboradores (Zimbelman *et al.*, 2006):

$$BGHI = t_{bg} + 0,36t_{dp} + 41,5$$

(t_{bg} : temperatura do globo polar, °C; t_{dp} : temperatura do ponto de orvalho, °C)

A recolha do THI diário constitui uma boa ferramenta para calcular o efeito do *stress* térmico em bovinos de leite (García-Ispierto *et al.*, 2007). Um THI de 72 unidades é considerado o limite da zona de conforto em vacas leiteiras e o início do *stress* térmico (Casa e Ravelo, 2003). No entanto García-Ispierto *et al.*, (2007) relata que a taxa de concepção apenas é afectada com valores superiores a 75.

Na ausência de dados de temperatura, humidade e energia radiante, é possível determinar se as vacas estão em desconforto térmico e necessitam ser tomadas medidas para o seu arrefecimento, em função dos seguintes indicadores previamente publicados por West em 2003 bem como Gooch em 2010:

- Frequência respiratória superior a 80 respirações por minuto (rpm) em 7 de cada 10 animais que se observarem;
- Temperatura rectal igual ou superior a 39,7°C (102,5°F) em 7 de cada 10 animais que se observarem;
- Diminuição de 10% ou mais no consumo de matéria-seca, em períodos quentes do ano;
- Diminuição de 10% ou mais na produção de leite, em períodos quentes do ano.

3.3. Efeitos do *stress* térmico na capacidade reprodutiva

Em condições de termoneutralidade, a vaca leiteira mantém a homeostase sem a utilização excessiva de energia para a termorregulação, permitindo assim que haja energia disponível para a manutenção da saúde, das capacidades produtivas e reprodutivas (Yousef, 1985 citado por Ravagnolo e Misztal, 2002). Sabe-se que as necessidades energéticas para a reprodução são as últimas a serem satisfeitas (Figura 5), pelo que qualquer alteração no dispêndio normal de energia está negativamente associada à fertilidade.

No pós-parto, a redução do consumo de alimento em animais sujeitos a desconforto térmico, vai exacerbar o balanço energético negativo (BEN) fisiológico, que por sua vez provoca diminuição das concentrações de insulina, de glucose e de IGF-I, e aumento da hormona de crescimento e ácidos gordos não-esterificados (Butler, 2000), podendo todas estas hormonas afectar a reprodução.

Por outro lado, os machos também podem ser afectados pelo *stress* térmico, o qual causa a diminuição da qualidade e da quantidade de sémen. Esse problema pode ser eliminado através da utilização da IA com sémen recolhido e congelado de machos provenientes de ambientes frios. No entanto, é possível que os espermatozóides diminuam a sua capacidade fertilizante quando mantidos no útero ou oviducto de uma fêmea hipertérmica (Hansen *et al.*, 2001).

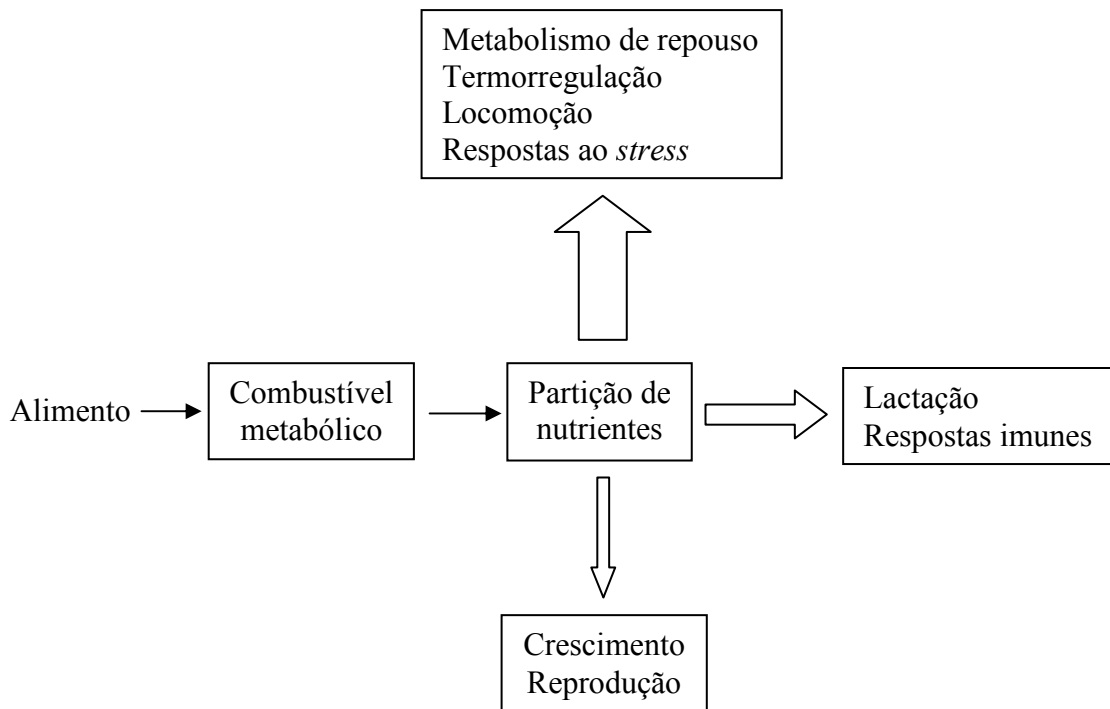


Figura 5: Partição de nutrientes de uma vaca em lactação. A espessura das setas indica a ordem de prioridade, e não a quantidade, de combustível metabólico mobilizado para as diferentes actividades (adaptado de Hartigan, 2004).

3.3.1 Eixo hipotálamo-hipófise-ovário

O *stress* térmico reduz a eficiência reprodutiva, particularmente em vacas lactantes. Howell e colaboradores (1994), não registaram nenhuma alteração na duração e intensidade do cio mas noutros estudos, um deles mais recente, registou-se uma redução da expressão/deteção de cio, anestro ou ovulação silenciosa (Younas *et al.*, 1993, Wilson *et al.*, 1998). Hansen *et al.* (2001) propôs que o mecanismo pelo qual o *stress* térmico reduz a expressão do cio pode ser hormonal devido a estudos que defendem a redução da circulação de estradiol-17 β e aumento da secreção de ACTH que por si só também pode bloquear o comportamento de cio induzido pela circulação de estradiol-17 β . Associado a este facto está a menor propensão para actividade física

nestas condições climatéricas, aumentando a probabilidade de ovulações silenciosas, contribuindo esta situação para a menor detecção de cio (Hansen e Aréchiga, 1999; West, 2003) e conseqüente redução do número de IA nesses períodos (Rensis e Scaramuzzi, 2003). A diminuição da capacidade de ingestão é também responsável por pulsos menos frequentes de LH resultando em ondas foliculares mais longas, que por sua vez levam à selecção e ovulação de folículos dominantes, múltiplos e mais pequenos, produtores de menores quantidades de estrogénios (Sartori *et al.*, 2002; West, 2003).

Apesar destes trabalhos previamente citados, estudos citados por Rensis e Scaramuzzi (2003) não encontraram uma conciliação em relação ao efeito do *stress* térmico na onda de LH associada ao desenvolvimento folicular, havendo relatos de aumento, manutenção e até diminuição das concentrações desta hormona, após períodos quentes.

A exposição dos animais ao *stress* térmico altera o desenvolvimento folicular (West, 2003), contudo não suprime completamente o padrão de ondas foliculares, mas apenas a dominância folicular (Wolfenson *et al.*, 2000). Roth *et al.* (2000) propuseram que a concentração plasmática de FSH estava elevada no período pré-ovulatório devido à diminuição da concentração plasmática de inibina. Sartori *et al.*, (2002) propuseram que as reduções na taxa de fertilidade durante os meses de Verão também poderiam ser devidas a um problema no ovócito, uma vez que, no estudo efectuado foram encontradas numerosas estruturas, pertencentes a espermatozóides, na zona pelúcida de ovócitos não fecundados, em períodos de *stress* térmico.

Os efeitos do *stress* térmico no CL têm sido pesquisados, através da medição da progesterona, existindo alguns estudos que demonstraram a sua diminuição (Wolfenson *et al.*, 2000 e Wolfenson *et al.*, 2002). As células do CL diferenciam-se das células do

folículo, pelo que a diminuição da progesterona pode ser devida a problemas no folículo (Lucy, 2001). A concentração plasmática desta hormona não depende apenas da funcionalidade do CL mas também do seu metabolismo hepático e da quantidade que atinge o útero através da circulação sanguínea. Ambas as situações são influenciadas por alterações na quantidade de alimento ingerido, tornando difícil provar o efeito do *stress* térmico nas concentrações plasmáticas de progesterona (Rensis e Scaramuzzi, 2003). Certo é que se a concentração desta hormona decrescer, em condições de *stress* térmico, terá um efeito na fertilidade, por comprometimento da maturação do ovócito, falhas na implantação do embrião e morte embrionária precoce (Sartori e Dode, 2008).

Diversos autores (e.g. Badinga *et al.*, 1985; Sartori *et al.*, 2002; López-Gatius, 2003; Rensis e Scaramuzzi, 2003; Collier *et al.*, 2006) defendem que a fertilidade de novilhas inseminadas para 1ª gestação, e portanto não-lactantes, não é influenciada pelo *stress* térmico, como vacas lactantes. Desta forma estes autores propõem que animais deste grupo etário têm, provavelmente, um intervalo maior de temperatura onde a fertilidade não seria afectada, sendo que fêmeas lactantes apresentam maior dificuldade em manter a temperatura interna normal devido à alta taxa de produção interna de calor associada à lactação. Sartori *et al.*, (2002) detectaram uma grande diferença na taxa de concepção entre novilhas e vacas lactantes, sujeitas a choque térmico. Também Howell *et al.* (1994) demonstraram que a baixa secreção de progesterona era uma característica das vacas lactantes sujeitas a exposição crónica ao *stress* térmico, os quais, tal como Collier *et al.* (2006), defenderam que a fertilidade e a capacidade de expressão de cio se encontravam diminuídas nestes animais.

Para além dos efeitos imediatos, já referidos, também se verificam efeitos não imediatos. Estes incluem a alteração da dinâmica folicular, a supressão da produção de esteróides foliculares e baixa qualidade dos ovócitos, podendo explicar que a baixa

fertilidade pode persistir algum tempo após períodos de *stress* devido a altas temperaturas (Rensis e Scaramuzzi, 2003).

3.3.2 Desenvolvimento Embrionário

De acordo com BonDurant (2004), o embrião é vulnerável ao choque térmico, principalmente durante a primeira semana de vida. A morte embrionária precoce significa a morte do embrião antes do dia 16-19 de gestação (Lucy, 2001), podendo, desta forma, ser confundida com falha na fertilização uma vez que ambas se manifestam por um retorno ao cio aos 21-24 dias pós-IA (Grimard *et al.*, 2006).

A morte do embrião depois do reconhecimento materno, mas antes da organogênese estar completa (por volta do dia 42 de gestação), designa-se morte embrionária tardia (Silke, 2002), em que muitas vezes o único sinal é também o retorno ao cio (Forar *et al.*, 1996 citado por Grimard *et al.*, 2006). Após 50 dias de gestação, as interrupções passam a ser menos frequentes e caracterizam-se por morte fetal (Santos *et al.*, 2004).

Segundo Garcia-Ispuerto *et al.* (2006) a maioria das perdas embrionárias por *stress* térmico ocorrem no início da gestação no período de pré-implantação. Não obstante, em explorações de alta produção, Santos *et al.* (2004) detectaram perdas substanciais entre o dia 42 e 56 pós-IA.

A implantação do embrião requer uma interação estreita entre este e o organismo, sendo um período crítico no desenvolvimento embrionário (Garcia-Ispuerto *et al.*, 2006). A competência do ovócito para se desenvolver num embrião viável após a fertilização depende de factores ambientais e nutricionais. Se a maturação e aquisição de competência do ovócito não for completa não se origina um embrião viável. Animais que sofrem exposição prolongada a condições de temperatura e humidade acima do

nível de conforto, durante a primeira semana de gestação, sofrem perdas significativas de embriões que não conseguem sobreviver até ao período de reconhecimento materno de gestação (Hansen, 2002).

Alguns estudos (BonDurant, 2004) mostraram que a fertilização em si não é impedida, mas que embriões criados em períodos de *stress* térmico desenvolvem-se mais lentamente, de modo a que, no dia 7, dia em que a maioria dos embriões está no estado de mórula/blastocisto primário, se encontram em estádios mais atrasados e com graves danos intracelulares. Hansen (2007) descreveu que uma das consequências da exposição a elevadas temperaturas na pré-implantação de embriões de bovinos é a indução da apoptose de alguns blastómeros. Também os resultados do estudo de Morton *et al.*, (2007) mostraram que a exposição aguda ao *stress* térmico antes ou depois da IA, mas principalmente logo após a concepção, afectava a sobrevivência embrionária.

O *stress* térmico afecta também o ambiente intrauterino, uma vez que à medida que a vaca tenta manter a homeostase térmica, o seu organismo redistribui a circulação sanguínea para a superfície, ocorrendo diminuição do suprimento sanguíneo e do aporte de sangue para o desenvolvimento fetal (Jordan, 2003), aumento de temperatura local (Garcia-Ispuerto *et al.*, 2006), diminuição da secreção de progesterona pelas células luteínicas, da sua distribuição e das secreções uterinas (que são críticas para a sobrevivência do embrião durante a pré-implantação) (Wolfenson *et al.*, 2000).

Segundo Rensis e Scaramuzzi (2003) à medida que o embrião se vai desenvolvendo torna-se mais resistente e, por volta do dia 42, no fim da organogénese, é relativamente tolerante ao aumento de temperatura.

Estudos de Grimald *et al.* (2006) não relacionaram a mortalidade embrionária tardia/fetal com *stress* térmico. Por outro lado Hansen e Aréchiga, (1999) defenderam que o *stress* térmico afecta também o crescimento fetal e a função da placenta no fim da

gestação tal como García-Ispierto *et al.* (2006), associaram a exposição de vacas a THI elevados entre o dia 21 e 30 de gestação, com aumento das mortes fetais entre os dias 34-45 e 90 de gestação. Collier e colaboradores em 2006 relataram que, apesar de não haver grandes cuidados com vacas secas, um estudo demonstrou que, este grupo de animais, quando sujeito a *stress* térmico no fim da gestação, tem vitelos com menos peso à nascença e produz menos leite na lactação seguinte.

Um estudo mais recente citado por Santolaria e colaboradores (2010) analisou as interações entre o *conceptus* e a mãe através da medição das concentrações plasmáticas das glicoproteínas associadas à gestação (PAGs). Estas estimulam a síntese das HSP e são consideradas indicadores de bem-estar feto-materno, uma vez que baixos níveis desta proteína durante o período embrionário foram associados a morte fetal subsequente.

3.4. Maneio/Melhoria da Capacidade Reprodutiva em épocas de *stress* térmico

No intuito de diminuir com sucesso os efeitos negativos que o *stress* térmico pode provocar ao nível do animal e da exploração, existe uma série de estratégias que podem ser implementadas com vista ao aumento do rendimento da exploração, tais como: 1) redução da magnitude do *stress* térmico por manipulação ambiental; 2) alteração fisiológica e genética do animal de forma a melhorar a capacidade de termorregulação nessas épocas; e 3) manipulação do animal de modo a ultrapassar os processos celulares e fisiológicos que comprometem a reprodução.

3.4.1 Alterações Ambientais

Um dos primeiros passos que devem ser tomados de forma a moderar os efeitos do *stress* térmico, é proteger o animal dos efeitos directos e indirectos da radiação solar. Ravagnolo e Misztal (2002) estimaram que o incremento total de temperatura pode ser reduzido em 30 a 50% através de uma boa sombra sendo esta uma das formas mais fáceis e económicas de minimizar a radiação solar.

Shearer (2004) demonstrou que animais com sombra apresentavam temperaturas rectais menos elevadas (38,9°C *versus* 39,4°C), menor frequência respiratória (54 *versus* 82 rpm) e ainda, de acordo com Thompson e colaboradores, 1996, maiores taxas de concepção do que animais sem sombra. Estes últimos apresentavam ainda menores contracções ruminais, temperaturas rectais elevadas e menor produção de leite.

Numerosos tipos de sombra estão disponíveis, tais como árvores, materiais de metal ou de rede, ou construção de estábulos para onde os animais se possam deslocar. Collier e colaboradores (2006) propôs que a altura da sombra deverá estar entre 3,5 e

4,5 metros, numa área mínima de 4 m²/animal, e se possível, o local onde os animais estarão à sombra seja elevado acima do nível do solo de modo a não acumular humidade.

A sombra reduz a quantidade de calor acumulado proveniente da radiação solar, mas não tem qualquer efeito no ar ambiente, por isso serão necessárias medidas adicionais, em climas quentes e húmidos (Collier *et al.*, 2006). À medida que a temperatura ambiental aumenta torna-se mais fácil perder calor através da transpiração corporal do que através da frequência respiratória, fazendo desta forma mais sentido apostar na diminuição de *stress* térmico através da evaporação que qualquer outra estratégia (Gooch, 2010), sendo para isso aconselhável distribuir, ao longo da exploração, ventoinhas, equipamentos refrigeradores por evaporação, para todas as vacas adultas (em lactação e no período seco), no local de ordenha, de alimentação bem como no de repouso (BonDurant, 2004). Deverá ter-se ainda em atenção a disponibilidade de água, permitindo o seu fornecimento, em quantidade e qualidade, para maximizar o arrefecimento e melhorar a produção de leite (Perissinotto, 2005).

Em 1992, um estudo desenvolvido por Igono *et al.* numa região desértica, onde foi relacionado o *stress* térmico com a produção de leite, demonstrou que apesar das altas temperaturas que se sentiam durante o dia bastaria um período de arrefecimento de cerca de 3 a 6 horas com temperaturas inferiores a 21°C, durante a noite, para minimizar os efeitos do calor na quantidade de leite produzido. Também West (2003) concluiu que seria crítico não só, minimizar o aumento de temperatura durante o dia, mas também aumentar a capacidade de arrefecimento corporal durante a noite.

3.4.2 Implementação de programas de reprodução agressivos

Segundo Hansen e colaboradores (2001) vários autores identificaram uma diferença genética clara, em raças oriundas de zonas tropicais ou subtropicais, em relação à sensibilidade ao *stress* térmico, quando comparadas com as raças de países temperados. No entanto, seleccionar raças europeias para a resistência ao calor é muito difícil pela relação inversa que essa característica tem com a produção de leite e pelo facto dos touros reprodutores não serem testados para o efeito do genótipo no ambiente (Hansen e Aréchiga, 1999). Por outro lado, poderá incorporar-se a sincronização deaios para IA programada em estratégias de manejo de fertilidade durante o Verão, o que, apesar de reduzir consideravelmente problemas da detecção de cio, não são suficientes para eliminar os efeitos que o *stress* térmico tem na embriogénese (Hansen e Aréchiga, 1999; Wolfenson *et al.*, 2000; Collier *et al.*, 2006).

Melhorias no manejo nutricional também são possíveis. Os produtores de leite deverão formular e fornecer rações de alta qualidade tendo em atenção a redução da capacidade de ingestão da matéria-seca. Por outro lado, se os animais não necessitarem de ingerir grandes quantidades de alimento, reduz consideravelmente o incremento térmico associado às grandes quantidades de alimentos ingeridos. Uma das possibilidades será fornecer maior quantidade de proteínas, apesar de ser conhecido existir um custo energético associado ao metabolismo da proteína tal como o efeito que esta tem na sobrevivência embrionária se fornecida em excesso (Ferguson e Chalupa, 1989; West, 2003; Tamminga, 2006).

3.4.3 Utilização da TE e FIV para ultrapassar a Mortalidade Embrionária causada pelo stress térmico

O facto de os embriões serem susceptíveis ao *stress* térmico tem pelo menos duas implicações em programas de aumento de fertilidade em épocas quentes. Primeiro, o arrefecimento selectivo nos primeiros dias de uma gestação, denominado por Hansen e colaboradores (1992) por *strategic cooling*, pode melhorar a taxa de concepção por IA (Hansen e Aréchiga, 1999). Em segundo, a TE pode ser utilizada para melhorar a fertilidade no Verão (Rutledge, 2001).

A TE consiste numa técnica reprodutiva através da qual, embriões ou ovócitos fertilizáveis *in vitro*, são recolhidos do tracto genital de uma fêmea superovulada – a Dadora – e, após processamento, colocados em local adequado do tracto genital de outras fêmeas – as Receptoras –, nas quais a gestação decorrerá até termo. O sucesso final depende especialmente da qualidade morfológica dos embriões transferidos, da qualidade da receptora bem como da perícia do técnico.

Em alguns estudos citados por Hansen *et al.* (2001), a taxa de fertilização em vacas superovuladas é mais baixa no Verão do que no Inverno, contudo a fêmea dadora e a capacidade de recuperação de embriões também são sensíveis ao *stress* térmico, tendo Rutledge (2001) proposto que se utilizassem embriões congelados recolhidos de animais provenientes de climas menos quentes. Uma das limitações deste procedimento prende-se com o custo das TE, que no entanto pode ser aliviado através da fertilização *in vitro* (FIV) de ovócitos recolhidos no matadouro. Todavia, Hansen (1997) num estudo com embriões de FIV congelados não verificou qualquer melhoria na taxa de concepção em relação à de IA (Hansen e Aréchiga, 1999).

Uma vez que o *stress* térmico diminui a competência do ovócito, torna-se bastante provável que afecte o sucesso das tecnologias de produção de embriões (Hansen *et al.*,

2001). A FIV é uma das etapas da produção *in vitro* de embriões que envolve a manipulação dos gametas e a obtenção de embriões em laboratório (Sartori e Dode, 2008), apesar da qualidade dos embriões produzidos por FIV, ainda estar longe de níveis que possam ser considerados aceitáveis.

3.5. Classificação do Clima do local de estudo

O clima define-se como a combinação de elementos que incluem temperatura, humidade, precipitação, velocidade do vento, energia radiante, pressão barométrica e ionização (Johnson, 1987 citado por West, 2003). As zonas climáticas diferem em todo o mundo e estão dependentes da latitude, ventos predominantes, condições evaporativas, disponibilidade de água, altitudes, proximidade a grandes relevos e outros factores.

Os Açores são uma região de Portugal situada em pleno Oceano Atlântico Norte, numa faixa limitada pelos paralelos 36° 55' 43'' e 39° 43' 02'' N e pelos meridianos 24° 46' 15'' e 31° 16' 02'' W. O clima dos Açores depende da posição do arquipélago no contexto da circulação atmosférica e oceânica do Atlântico Norte. A Região situa-se na zona de transição entre as massas de ar quentes e húmidas com origem sub-tropical e as massas de ar com características mais frescas e secas de proveniência sub-polar (REOT-A, 2003). De acordo com a classificação de Köppen o clima dos Açores está abrangido pela categoria dos climas *temperados quentes* (grupo C), caracterizados por apresentarem verão e inverno e a temperatura média do mês mais frio ser inferior a 18°C mas superior a -3°C (Azevedo, 2008).

O clima das ilhas apresenta uma sazonalidade medianamente marcada que se reflecte nos diferentes elementos do clima. As quatro estações do ano, típicas de climas temperados, são reconhecíveis. Os invernos, podendo ser chuvosos, não se manifestam excessivamente rigorosos. A precipitação ocorre durante todo o ano, mesmo nos meses de estio, embora nestes com muito menor expressão. Os verões são amenos e significativamente mais ensolarados do que o resto do ano. São raros no entanto, os dias de céu completamente limpo (Azevedo, 2008)

A regularidade térmica e a elevada humidade que caracterizam o clima dos Açores, podem ser explicados pelo efeito moderador da massa oceânica envolvente (REOT-A, 2003). Com base nos valores normais do clima dos Açores tiram-se as seguintes apreciações genéricas:

Temperatura do ar: a temperatura média anual varia regularmente, oscilando entre 16,8°C em Angra do Heroísmo e 17,7°C em Santa Cruz das Flores. A amplitude térmica anual é pouco acentuada, não ultrapassando 10°C. No mês de Agosto registam-se as temperaturas médias mais altas (22,1°C) e os valores mais baixos em Fevereiro (13,7°C). No período de Inverno, a temperatura média permanece nos 14°C e no Verão aproxima-se de 23°C. Os valores mínimos médios não descem abaixo de 10°C, enquanto os máximos ficam aquém de 26°C (REOT-A, 2003). Em altitude, a temperatura decresce de forma regular, à razão de 0,9°C por cada 100 metros até ser atingida a temperatura do ponto do orvalho a uma altitude que se situa, em média, próxima dos 400 metros, a partir da qual a temperatura decresce de uma forma menos brusca, à razão média de 0,6°C por cada 100 metros (Azevedo, 2008);

Precipitação: a pluviosidade é desigual entre os extremos do arquipélago, com o aumento da precipitação de Oriente para Ocidente. A precipitação média oscila entre os 748 mm em Santa Maria/Aeroporto e 1 479 mm em Santa Cruz das Flores (REOT-A, 2003). O semestre mais chuvoso estende-se de Setembro a Março, concentrando cerca de 75% do quantitativo anual. Os valores mais elevados de precipitação são registados no Inverno (Dezembro, Janeiro e Fevereiro), enquanto os meses Verão são os menos húmidos do ano (Junho, Julho e Agosto) (Azevedo, 2008);

Humidade relativa do ar: a humidade relativa do ar caracteriza-se por ser elevada ao longo do ano, com médias anuais compreendidas entre 76% em Santa Maria/Aeroporto e 80% em Ponta Delgada. Os valores médios são mais baixos no

Verão (70 a 75%) e mais elevados durante o Inverno, sempre acima de 80% (REOT-A, 2003). Os valores de humidade relativa variam longo do dia acompanhando de forma inversa a evolução diária da temperatura do ar. Em altitude, a humidade relativa do ar tende a aumentar, acompanhando de forma inversa a evolução negativa da temperatura (Azevedo, 2008).

Velocidade do vento: os ventos dos quadrantes Sul e Sudoeste são dominantes nos Grupos Ocidental e Central, enquanto no Oriental predominam os de Norte e Nordeste. A velocidade média varia entre 23,4 km/h em Santa Maria/Aeroporto e 11,0 km/h em Ponta Delgada (REOT-A, 2003);

Radiação solar e insolação: o arquipélago apresenta um índice de insolação baixo, da ordem dos 35% em média anual, quando comparado com o total de horas de insolação possíveis. Este facto traduz-se em, aproximadamente, 1600 horas de Sol descoberto por ano. A insolação é significativamente superior junto ao litoral quando comparada com a observada em altitude. A insolação é também, como seria de esperar, maior nos meses de verão, com predominância nos meses de Julho e Agosto (Azevedo, 2008).

IV. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Amostras

1) *Inseminação Artificial*

a) Foram recolhidos dados provenientes do resultado das IA efectuadas por dois sub-centros de IA, estando um localizado na Ilha Terceira – União das Cooperativas de Lacticínios Terceirense (UNICOL) e o outro na Ilha de São Miguel – Associação Agrícola de São Miguel (AASM).

- Subcentro da Ilha Terceira:

Neste subcentro foram seleccionadas 4 explorações de Concelho da Praia da Vitória, as quais utilizaram apenas a IA como método de reprodução, não tendo recorrido aos serviços de outro subcentro de IA. Nestas condições foram tratados os resultados de 630 IA efectuadas entre 1 de Janeiro a 31 de Dezembro de 2009.

- Subcentro da Ilha de São Miguel:

O subcentro da AASM cedeu os resultados de IA efectuadas em 230 explorações inscritas no contraste leiteiro daquela associação de 1 de Janeiro a 31 de Dezembro de 2008, as quais utilizaram, em exclusivo, os serviços deste subcentro. Desta forma, foram tratados os resultados de um total de 12197 IA efectuadas em 8404 fêmeas da raça Holstein-Friesian, das quais 902 eram novilhas e 7502 vacas lactantes (i.e. vacas com 2 ou mais lactações).

b) Os procedimentos do tratamento dos dados foram baseados nos métodos previamente publicados por Huang e colaboradores (Huang *et al.*, 2009).

Desta forma, os registos dos animais sem data de parto, data da IA, identificação do animal (número do SNIRA) ou número de lactação foram excluídos. Para a identificação da data da Inseminação fecundante, foi considerada a última IA e

determinado se a vaca pariu nos 280 dias subsequentes. Se para o mesmo animal, tivesse sido observado mais do que um registo de IA com um intervalo superior a 90 dias, considerou-se que o primeiro registo originou uma gestação (sucesso de IA), tendo ocorrido morte embrionária tardia, de acordo com Al-Katanani *et al.* (1999) e Ravagnolo e Misztal (2002).

- c) Todas as IA foram efectuadas por Inseminadores Públicos destes dois subcentros, 8 a 12 horas depois da detecção do cio, efectuada por observação visual. A taxa de concepção de cada Inseminador não foi considerada como factor de variação. O sémen utilizado era proveniente do respectivo subcentro, não se tendo entrado em conta com as possíveis diferenças de fertilidade de cada touro.

2) *Sucesso da produção e Transferência de Embriões (TE) efectuadas em São Miguel pelo Subcentro da AASM*

Tal como para as IA, recolheram-se os resultados das TE efectuadas pela AASM em explorações que utilizassem os seus serviços em exclusivo. Analisaram-se 214 TE efectuadas entre 1 de Janeiro e 31 de Dezembro de 2008. O tratamento de dados foi semelhante ao efectuado para as Inseminações Artificiais dessa Ilha. As recolhas e TE foram efectuadas por técnicos devidamente formados e creditados, de acordo com as exigências legais descritas por Stringfellow e Seidel (1998).

4.2. Variáveis climáticas

A informação relativa à temperatura, humidade, velocidade do vento e energia radiante diária foi recolhida a partir das estações meteorológicas próximas dos locais de estudo. Pesquisaram-se dados históricos de duas estações meteorológicas — a primeira situada na Praia da Vitória, Ilha Terceira, e a segunda em Ponta Delgada, Ilha de São

Miguel — pertencentes ao projecto CLIMAAT e CLIMARCOST do Centro do Clima, Meteorologia e Mudanças Globais da Universidade dos Açores.

4.3. Cálculo do Index Temperatura-Humidade

O stress térmico foi quantificado através do THI, de acordo com Armstrong (1994). A informação meteorológica utilizada para o cálculo do THI diário, e a respectiva média para cada mês do ano, foi efectuada de acordo com a seguinte fórmula, a qual em estudos anteriores (García-Ispierto *et al.*, 2007) foi associada a diminuições na taxa de concepção:

$$\text{THI} = (0,8 \times T_{\text{max}} + (\text{HR}_{\text{min}}(\%)/100) \times (T_{\text{max}} - 14,4) + 46,4)$$

(*HR_{min}*: humidade mínima relativa, (em percentagem); *T_{max}*: temperatura máxima, em °C)

4.4. Análise Estatística

No caso das IA e TE, o sucesso ou insucesso, foi utilizado para calcular a taxa de concepção mensal. Efectuou-se uma análise de regressão linear (*SPSS Statistics 17.0*) em que a taxa de concepção mensal foi a variável dependente e o THI mensal a independente. Os efeitos da variável independente foram testados no grupo de novilhas e no grupo das vacas lactantes, de modo a avaliar a significância estatística (valor de $p < 0,05$). As análises de regressão e de correlação foram utilizadas de modo a determinar a relação entre o THI e a taxa de concepção.

V. RESULTADOS

Os resultados, em seguida apresentados, foram organizados por ilha. Em primeiro lugar são apresentadas as médias mensais das variáveis climáticas no período de estudo (Quadros 1 e 2), respectivamente para a Ilha Terceira e para a Ilha de São Miguel.

Nas Figuras 6 a 11 encontram-se representadas a associação entre o THI mensal e a taxa de concepção de IA e TE efectuadas em novilhas e/ou vacas lactantes durante o respectivo mês. Cada ponto representa a taxa de concepção (razão entre o número de animais que não retornaram ao cio em 90 dias e número total de IA) de cada mês.

5.1. Ilha Terceira

De acordo com os dados obtidos (Quadro 1) observou-se um aumento do THI nos meses de Verão quando comparado com os restantes meses, sendo que Agosto foi o mês que apresentou um valor mais elevado ($p < 0.05$). As temperaturas mínimas deste mês oscilam entre 17,5°C e 22,7°C com média de 20°C.

O mês de Agosto foi também o que teve uma velocidade média do vento menor (7,9 km/h). Quanto à pluviosidade, a precipitação total anual foi de 290,6 mm. Outubro foi o mês em que se verificou menos precipitação e Janeiro o mais chuvoso, respectivamente 0,2 mm e 104,6 mm.

Utilizou-se a informação meteorológica para calcular o THI (Quadro 1) para todos os meses, de acordo com o seguinte exemplo:

$$\text{THI Janeiro} = (0,8 \times 18,2 + (71,6/100) \times (18,2 - 14,4) + 46,4) \Leftrightarrow$$

$$\text{THI Janeiro} = (14,56 + 0,716 \times 3,8 + 46,4) \Leftrightarrow$$

$$\text{THI Janeiro} = (14,56 + 2.7208 + 46,4) \Leftrightarrow$$

$$\text{THI Janeiro} = 63,6808$$

Quadro 1: Informação meteorológica da Ilha Terceira no ano de 2009.

Mês	Tmax	RHmin	THI	RHmax	vv_med	prec_total
Janeiro	18,2±1,8	71,6±9,8	63,7±2,7	86,6	16,2	104,6
Fevereiro	16,5±1,4	74,1±9,1	61,2±2,3	88,5	17,7	71,0
Março	16,4±1,3	68,5±13,0	61,0±2,1	82,0	17,8	14,0
Abril	17,9±1,8	74,0±8,1	63,3±2,9	86,1	17,7	3,0
Maiο	18,7±1,7	65,3±19,7	64,2±2,7	84,3	14,8	34,2
Junho	20,1±1,5	54,8±24,4	65,7±2,7	89,3	14,4	11,4
Julho	22,8±1,7	63,7±11,7	69,9±2,7	93,6	11,8	1,2
Agosto	24,8±1,7	67,1±9,4	73,2±2,2	93,5	7,9	0,6
Setembro	23,5±2,0	69,0±11,0	71,5±2,9	93,5	11,2	0,6
Outubro	21,8±1,4	70,9±12,7	69,2±2,4	93,3	14,6	0,2
Novembro	18,3±1,5	63,1±12,6	63,6±2,5	87,9	13,8	1,0
Dezembro	16,3±1,8	65,5±9,7	60,7±2,7	92,3	18,4	48,8

Legenda: **T_max:** Média da Temperatura Máxima (°C); **RH_min:** Média da Humidade Relativa Mínima (%); **THI:** Index Temperatura-Humidade; **RH_max:** Média da Humidade Relativa Máxima (%); **VV_med:** Velocidade Média do Vento (km/h) **Prec_tot:** Precipitação mensal total (mm)

Para a Ilha Terceira, nas 4 explorações em que decorreu o estudo a taxa de concepção anual foi de 54,1%. Pela análise do gráfico da Figura 6 é possível constatar que nos meses de Verão se observou um decréscimo da taxa de concepção, ($p<0,05$), de 50-60% nos meses da Primavera para 35-45% nos meses de Verão.

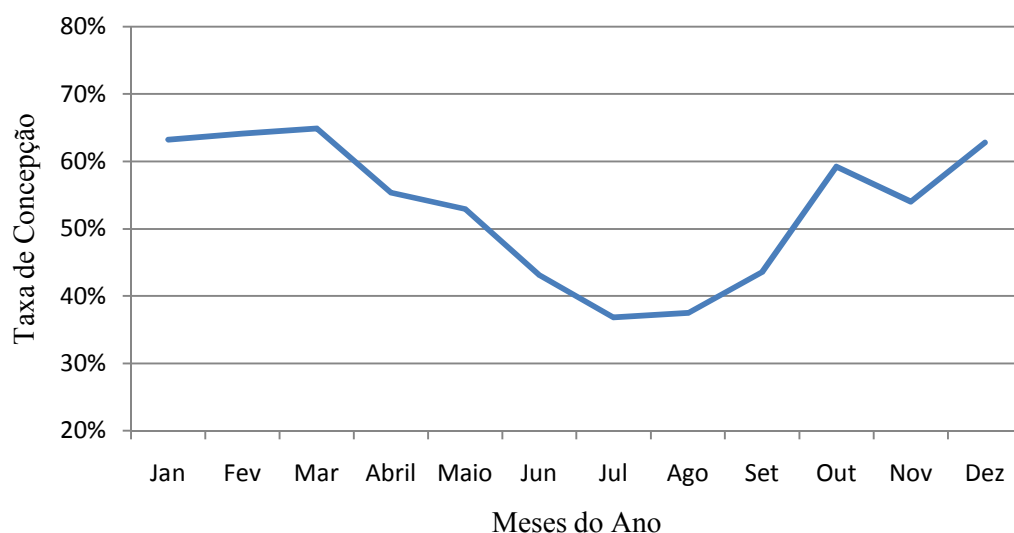


Figura 6: Associação entre os meses do ano e a taxa de concepção observada nos animais da raça, Holstein-Frisean, em regime de pastoreio na Ilha Terceira.

Quando relacionados os valores da taxa de concepção com os valores obtidos para o THI, observou-se uma taxa de correlação de 0,67 ($p<0,05$).

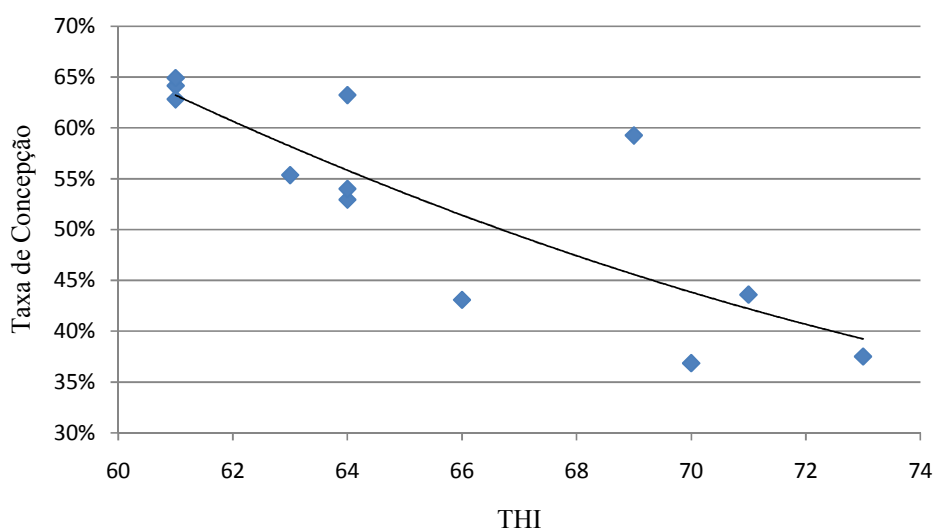


Figura 7: Efeito do THI na taxa de concepção em vacas leiteiras, Holstein-Frisean, de pastoreio na Ilha Terceira ($p<0,05$).

5.2. Ilha de São Miguel

Os dados do Quadro 2, permitem verificar que também para esta ilha, existe uma ligeira diferença no THI dos meses de Verão e dos restantes meses do ano ($p < 0.05$), sendo que Agosto foi o mês que apresentou um THI mais elevado. As temperaturas mínimas deste mês oscilam entre 19,1°C e 23,2°C sendo a média 21,1°C.

O mês de Agosto foi também o que teve uma velocidade média do vento menor (9,3 km/h). Quanto à pluviosidade, a precipitação total anual foi de 710,4 mm, sendo Março o mês em que se verificou menos precipitação e Abril o mais chuvoso, respectivamente 20,4 mm e 162,2 mm.

Quadro 2: Informação meteorológica da Ilha de São Miguel no ano de 2008.

Mês	Tmax	RHmin	THI	RHmax	vv_med	prec_total
Janeiro	17,9±0,7	76,9±0,7	63,4±1,0	90,8	16,1	112,0
Fevereiro	17,3±1,0	68,8±9,9	62,3±1,7	87,9	13,5	71,2
Março	17,8±0,7	58,9±7,4	62,6±1,1	82,1	13,6	20,4
Abril	17,3±1,3	65,0±12,8	62,1±2,0	86,4	16,5	162,2
Maiο	19,7±1,4	66,7±12,2	65,7±2,0	88,5	11,3	79,6
Junho	22,4±1,0	66,9±10,1	69,7±1,7	85,6	11,2	28,0
Julho	23,8±1,1	62,3±16,4	71,3±2,2	84,0	12,1	39,8
Agosto	25,5±1,0	63,4±29,1	73,8±1,9	86,4	9,3	36,8
Setembro	23,8±1,1	59,5±10,6	71,1±2,9	84,5	13,2	44,4
Outubro	23,0±1,7	65,7±14,1	70,6±3,3	88,9	9,9	42,2
Novembro	19,7±1,3	61,4±9,7	65,5±2,2	86,5	15,2	15,0
Dezembro	18,1±1,0	61,2±7,7	63,1±1,6	86,2	14,6	58,8

Legenda: **T_max:** Média da Temperatura Máxima (°C); **RH_min:** Média da Humidade Relativa Mínima (%); **THI:** Index Temperatura-Humidade; **RH_max:** Média da Humidade Relativa Máxima (%); **VV_med:** Velocidade Média do Vento (Km/h) **Prec_tot:** Precipitação mensal total (mm)

Conforme os dados do Quadro 3, nas explorações da Ilha de São Miguel em que decorreu o estudo, a taxa de concepção anual do grupo de novilhas foi de 69,1%, sendo que Setembro foi o mês em que se verificou menor taxa de concepção e Janeiro o de maior, respectivamente 59,6% e 80,2%. Em relação ao grupo de vacas lactantes a taxa de concepção mantém-se relativamente estável ao longo do ano (Figura 8), com média anual de 60,6% sendo Agosto o mês de menor fertilidade 53,9%.

Quadro 3: Taxa de concepção em novilhas, em vacas lactantes e em animais sujeitos a transferências de embriões, no ano de 2008.

Mês	Novilhas			Vacas lactantes			Transferência de Embriões		
	NR90	nºIA	TC	NR90	nºIA	TC	NR90	nºIA	TC
Janeiro	89	111	80,2%	613	945	64,9%	5	13	38,5%
Fevereiro	79	113	69,9%	608	1005	60,5%	9	21	42,9%
Março	81	130	62,3%	626	1008	62,1%	11	22	50,0%
Abril	57	79	72,2%	596	1007	59,2%	15	21	71,4%
Mai	46	69	66,7%	622	1031	60,3%	18	33	54,6%
Junho	75	105	71,4%	643	1075	59,8%	5	7	71,4%
Julho	71	97	73,2%	568	938	60,6%	5	15	33,3%
Agosto	39	58	67,2%	459	851	53,9%	10	19	52,6%
Setembro	31	52	59,6%	495	818	60,5%	10	11	90,9%
Outubro	31	50	62,0%	445	740	60,1%	14	18	77,8%
Novembro	75	104	72,1%	504	793	63,6%	7	15	46,7%
Dezembro	52	82	63,4%	572	936	61,1%	9	18	50,0%
TOTAIS	726	1050	69,1%	6751	11147	60,6%	118	213	55,4%

Legenda: **NR90:** não retorno ao cio m 90 dias; **nºIA:** número total de Inseminações Artificiais; **TC:** taxa de concepção

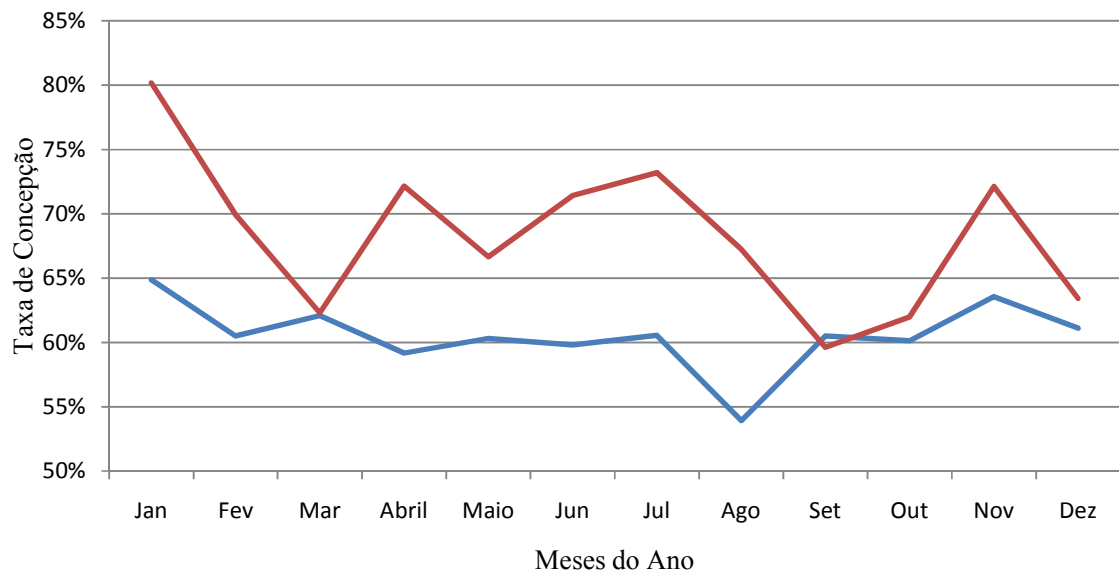


Figura 8: Associação entre os meses do ano e a taxa de concepção em novilhas (linha vermelha) e vacas lactantes (linha azul) em regime de pastoreio na Ilha de São Miguel.

Através das Figuras 9 e 10 é possível observar o efeito do *stress* térmico na fertilidade das novilhas e vacas lactantes, respectivamente.

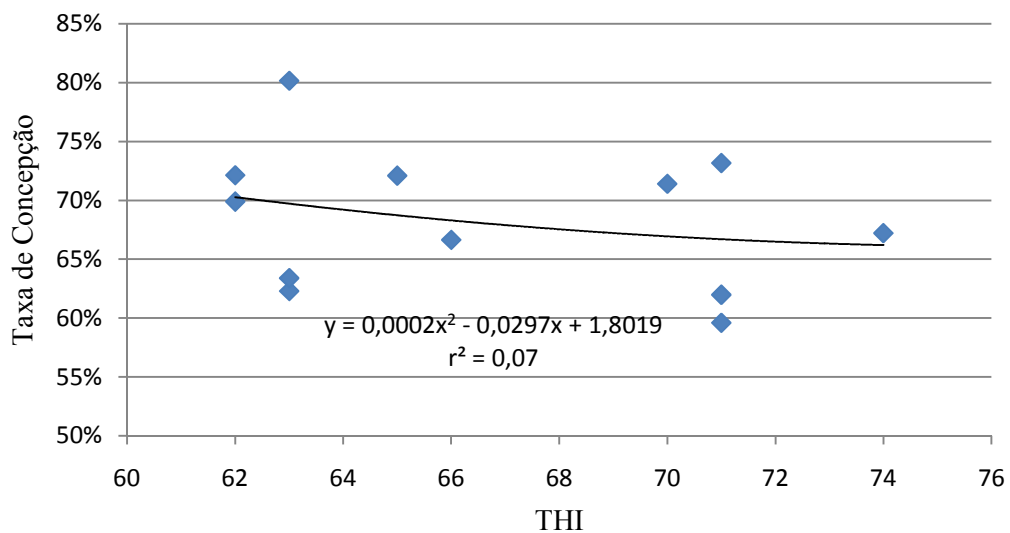


Figura 9: Efeito do THI na taxa de concepção em novilhas, Holstein-Friesian, de pastoreio na Ilha de São Miguel.

Em vacas lactantes encontrou-se uma relação entre o THI e a taxa de concepção ($p < 0,05$) ao contrário das novilhas em que não foi possível relacionar os meses quentes de Verão com a taxa de concepção.

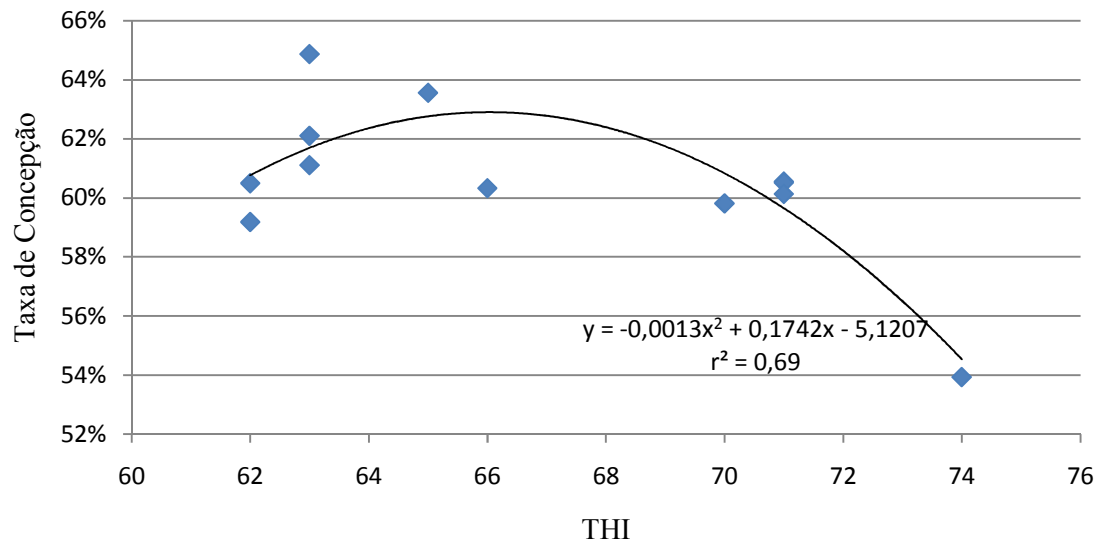


Figura 10: Efeito do THI na taxa de concepção em vacas lactantes, Holstein-Friesian, de pastoreio na Ilha de São Miguel ($p < 0,05$).

Em relação aos procedimentos de TE (Quadro 4), a taxa de concepção oscilou durante todo o ano, Julho foi o mês que apresentou menor fertilidade e Setembro o de maior sucesso, respectivamente 33,3% e 90,9% não se encontrando qualquer relação com o THI (Figura 11).

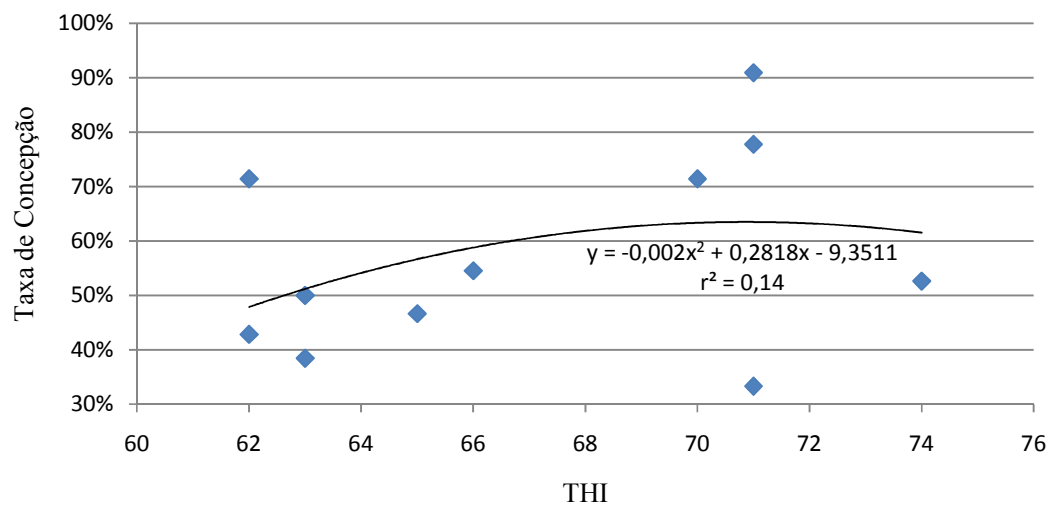


Figura 11: Efeito do THI na taxa de concepção de transferência de embriões em vacas leiteiras, Holstein-Friesian, de pastoreio na Ilha de São Miguel.

VI. DISCUSSÃO

Neste trabalho foram avaliados os efeitos dos factores climáticos nas *performances* reprodutivas de bovinos leiteiros, nomeadamente na taxa de concepção após a inseminação artificial e a transferência de embriões.

Tal como é conhecido, o *stress* térmico tem efeitos directos e indirectos na reprodução, os quais podem ser prolongados no tempo, de tal forma que o animal poderá sentir esse impacto durante meses após exposição a condições térmicas adversas (Rensis e Scaramuzzi, 2003). Esses efeitos poderão estar relacionados com a ocorrência de alterações nas frequências dos pulsos da LH e consequente diminuição da resposta ovárica com menores taxas de crescimento folicular, diminuição do diâmetro do folículo dominante, bem como alterações no processo de ovulação e formação do CL com diminuição nas concentrações de progesterona e de estrogénios (Wilson *et al.*, 1997; Beam e Butler, 1998; Tamming, 2006), aumento do risco de morte embrionária e diminuição do crescimento fetal e tamanho do vitelo à nascença (Collier *et al.*, 2006).

Existem várias formas de quantificar o desconforto térmico. No presente estudo foi quantificado através do THI uma vez que a termorregulação em bovinos é influenciada tanto pela temperatura ambiente como pela humidade relativa (Armstrong, 1994). Esta fórmula (García-Ispuerto *et al.*, 2007) classifica o desconforto térmico de forma unidimensional, quantificando a situação térmica num determinado ponto do tempo (apenas a intensidade), não tendo em conta o efeito da duração da exposição. Os valores de temperatura e a humidade relativa diferem consoante o relevo do solo. Associado a este facto, e considerando também que de acordo com Igono *et al.* (1992) e West (2003) as temperaturas nocturnas do mês mais quente do ano nesta região são amenas/quentes, considera-se que o *stress* térmico não foi sobrestimado. Contudo

deverá ainda ser considerado que a temperatura diminui, em altitude. No entanto, a humidade relativa acompanha de forma inversa a evolução negativa dessa variável (Azevedo, 2008).

As taxas de concepção calculadas neste estudo poderão ter sido sobrestimadas, uma vez que as vacas com informação incompleta foram excluídas do estudo.

Não foi possível retirar conclusões acerca do efeito do *stress* térmico na expressão e intensidade do cio, uma vez que por definição todos os dados recolhidos provinham de animais que tinha sido inseminados e, como tal, expressaram sinais de cio. Por outro lado, não seria viável efectuar uma colheita de sangue para eventualmente determinar os níveis de estrogénios circulantes a uma determinada hora após o início do cio.

Em relação ao número de IA, no nosso estudo, para ambas as ilhas, o mês de Outubro foi aquele em que se efectuaram menos IA. Poderá supor-se que este facto será resultado dos efeitos indirectos do *stress* térmico, e como tal houve uma tendência para que menos folículos dominantes nesse mês tivessem capacidade suficiente para produzir sinais claros de cio. No entanto, em ambas as ilhas, a taxa de concepção deste mês — 59,3% para Ilha Terceira e 60,1% para a Ilha de São Miguel — recupera em relação aos meses de Verão, não sendo possível concluir que tenha existido um efeito do *stress* térmico associado.

Os dados da taxa de concepção ao longo do ano mostram ainda variações mensais que poderão estar associadas a factores fisiológicos, de manejo ou a outros que não são considerados nesta análise. Badinga e colaboradores em 1985 consideraram que aproximadamente 4% da variação total da taxa de concepção estaria associada a factores genéticos e de manejo.

Os dados do presente estudo, tal como de outros (e.g. Badinga *et al.*, 1985; Sartori *et al.* 2002), sugerem uma relação negativa entre a taxa de concepção e as épocas quentes do ano.

Os resultados da Ilha Terceira mostram um decréscimo significativo ($p < 0,05$) da taxa de concepção nos meses de Verão (Junho, Julho e Agosto) e Setembro, alcançando o seu mínimo no mês de Julho e Agosto, respectivamente 36,8% e 37,5% em que o THI se situava em $69,9 \pm 2,7$ e $73,2 \pm 2,2$, respectivamente. No mês de Setembro, com um THI de $71,5 \pm 2,9$ a taxa de concepção ainda se encontrava em valores de 43,6%. Nos meses subsequentes a taxa de fertilidade recupera para valores entre 62,8 e 64,9%, juntamente com a descida do THI para valores inferiores a 70. De acordo com REOT-A (2003) Azevedo (2008), o ano de 2009 na Ilha Terceira pode ser considerado um ano de baixa pluviosidade (pluviosidade anual de 290mm) que por sua vez poderá explicar o facto de as taxas de concepção nos meses de Verão terem sido mais baixas do que as encontradas na Ilha de São Miguel, uma vez que a chuva tem um efeito de arrefecimento e nesta ilha houve uma pluviosidade praticamente nula nos meses de Julho a Novembro.

Para a Ilha de São Miguel, as taxas de concepção de novilhas e de vacas lactantes foram comparadas separadamente com o THI, observando-se uma diferença considerável entre as duas. Tal como esperado e de acordo com os autores estudados, as novilhas apresentaram maior concepção anual (69,1%) do que vacas lactantes (60,6%). Tal como para outros estudos (Badinga *et al.*, 1985, Sartori *et al.*, 2002, López-Gatius, 2003, Rensis e Scaramuzzi, 2003 e Collier *et al.*, 2006) não foi possível correlacionar a fertilidade das novilhas com a época do ano, nomeadamente com os meses quentes do ano. Em relação à taxa de concepção das vacas lactantes, constatou-se que esta diminuiu claramente ($p < 0,05$) em Agosto, passando de 60,6% em Julho, para 53,9% no mês de

Agosto, mês em que o THI atingiu em média, o seu valor mais alto de 74 unidades. No Outono e já com THI inferiores a taxa de concepção recupera para valores de 60%, em contraste com a de novilhas que não sofreu alteração relacionada com o aumento do desconforto térmico. A diminuição da fertilidade em vacas lactantes estará provavelmente associada à alta taxa de produção interna de calor associada à lactação, ao *stress* da lactação e aos problemas subsequentes associados ao parto em vacas múltíparas. Uma vez que as novilhas não sofrem incremento térmico associado à lactação, poderemos especular que as temperaturas de Verão nesta região não serão suficientes para influenciar a capacidade reprodutiva deste grupo de animais. A pluviosidade no ano de 2008 na Ilha de São Miguel (710,4mm) está dentro dos valores considerados normais para REOT-A (2003) e Azevedo (2008) e distribuiu-se ao longo do ano, o que poderá, contrariamente ao que aconteceu na Terceira, explicar a não redução significativa da fertilidade observada nos meses de Verão.

Os resultados diferem em relação às duas ilhas. Se por um lado, na Ilha Terceira o número de IA não é muito elevado, as explorações apresentam características relativamente homogêneas, quanto à localização e ao nível de produção. Já para a ilha de São Miguel, tivemos acesso a um grande número de dados, o qual pode ser considerado mais representativo da realidade reprodutiva desta região. No entanto, corre-se o risco de fazer uma análise muito grosseira, uma vez que poderão existir uma série de factores, dos quais não tivemos conhecimento, que poderão influenciar a fertilidade, tais como baixos níveis de produção de leite, proveniência ou não de explorações livres de brucelose, vacinação para outras doenças que afectam a reprodução, etc.

Assim, torna-se difícil retirar maiores elações deste estudo uma vez que seriam necessários dados de fertilidade de maior qualidade para se fazer uma avaliação mais

concreta do efeito da época do ano na fertilidade, nomeadamente o nível de produção leiteira, pois uma grande parte dos estudos consultados (Wilson *et al.*, 1998; Roth *et al.*, 2000; Ravagnolo e Misztal, 2002; Sartori *et al.*, 2002; Wolfenson *et al.*, 2002; García-Ispierto *et al.*, 2006; Grimard *et al.*, 2006; Huang *et al.*, 2009) tinha acesso ao nível de produção leiteira dos animais, separando os animais por nível de produção, ou escolhendo apenas os de alta produção.

O cálculo do THI mensal mostra que, em ambas as ilhas, apenas no mês de Agosto é que o desconforto térmico alcança níveis superiores a 72 unidades, conhecidos por afectarem capacidade reprodutiva de bovinos leiteiros. No entanto, pela avaliação dos dados do presente estudo, foi possível determinar uma tendência, nesta região, para a diminuição da fertilidade nos meses quentes do ano.

Quer para a Ilha Terceira, quer para a Ilha de S. Miguel, percebe-se que esta região não poderá ser considerada uma região de temperaturas elevadas, sendo sim considerada uma região de humidade relativa (HR) elevada tendo atingido valores máximos muito elevados em Agosto (93,3% para São Miguel e 86,4% para a Terceira). Existem ainda algumas características quanto ao tipo de exploração da ilha que podem exacerbar os efeitos da temperatura.

Embora já apareçam explorações com parques e salas de ordenha, na grande maioria das vezes, os animais não são sujeitos a regimes de estabulação, sendo o regime de exploração predominante na região, o de pastoreio. Ao longo do ano, os bovinos vão sendo mudados de pastagem em pastagem, para que haja sempre quantidade suficiente de alimento. Torna-se óbvio que esta actividade, provocada pelas “mudas”, aumenta o gasto energético e a temperatura corporal exacerbando os sintomas e os efeitos do *stress* térmico (Dado e Allen, 1995).

Durante o período do dia, nomeadamente no pico de calor, em que a radiação solar é mais intensa, as vacas em lactação devem, obrigatoriamente, ir para locais sombreados. Nas explorações que ainda não possuem locais específicos de sombra, existe uma tendência para a disputa pelas sombras disponíveis nos pastos. Assim, se o desconforto térmico não ocorresse, as vacas estariam a consumir alimento e não a disputar a sombra. Neste tipo de exploração os animais acabam também por estarem todo o dia sujeitos à radiação solar, a qual mesmo não sendo intensa (Azevedo, 2008) terá algum efeito de incremento de temperatura corporal se não houver sombra disponível.

Uma boa estratégia, em explorações de pastoreio, será a construção de zonas de sombra para onde as vacas se poderão deslocar se sentirem necessidade, sobretudo na zona de espera pela ordenha. Nesta área é normal que haja uma grande concentração animal que pode dificultar o arrefecimento corporal que por sua vez, associada à incapacidade dos animais se deslocarem de forma a provocar algum arrefecimento pela circulação de ar à superfície da pele, pode conduzir a uma grande incremento da temperatura corporal.

Quanto aos procedimentos de TE, não foi possível ter acesso a dados suficientes para correlacionar o sucesso ou insucesso com a época do ano. Não foi encontrada nenhuma tendência de aumento ou diminuição da taxa de concepção associada ao *stress* térmico, possivelmente devido ao número reduzido de transferências realizadas.

VII. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

Neste estudo foi possível determinar que: 1) o *stress* térmico do verão poderá estar a afectar a fertilidade nos bovinos leiteiros desta região, mas não de forma exuberante; 2) as novilhas são mais resistentes a aumentos de temperatura do que vacas lactantes e; 3) os produtores deverão preparar as suas explorações de forma a protegerem os seus animais destas condições adversas.

Concluiu-se ainda que será difícil, num futuro próximo, nesta região, conseguir relacionar as tecnologias de produção de embriões com a época do ano, visto que estes procedimentos são dispendiosos, não estão totalmente disseminados na região, sendo difícil obter um número suficiente de resultados mensais de forma a fazer uma análise do seu sucesso ao longo do ano.

Propõe-se que em próximos trabalhos, mesmo em detrimento do grande número de dados a que tivemos acesso, se seleccionem as explorações e se visitem os produtores, de forma a escolher dados provenientes de animais/explorações mais homogéneas. Poderá optar-se por utilizar BGHI que adiciona à equação o impacto da radiação solar nas condições ambientais sendo possível colocar em cada exploração um globo polar que irá recolher as informações climáticas da exploração e permitir um maior conhecimento acerca do *stress* térmico a que os animais estarão efectivamente sujeitos.

VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Al Katanani Y.M., D.W Webb e P.J. Hansen** (1999). *Factors affecting seasonal variation in 90-Day nonreturn rate to first service in Lactating Holstein cows in a hot climate I*. Journal of Dairy Science 82:2611-2616
- Allcock, J. G., A. R. Peters** (2004). *Pharmacological Manipulation of Reproduction*. Pp 685 in *Bovine Medicine – Diseases and Husbandry of Cattle*, 2ª edição. A. H. Andrews, R. W. Blowey, H. Boyd, R.G. Eddy, ed. Blackwell Publishing.
- Armstrong, D.V** (1994). *Heat stress interaction with shade and cooling*. Journal of Dairy Science 77:2044-2050
- Azevedo, E.B.** (2008). *O Clima dos Açores*. Disponível: http://www.angra.uac.pt/ggcn/downloads/mgcn_pico_2007_dg4.pdf Acedido em Novembro 10, 2010.
- Badinga, L., R.J. Collier, W.W. Thatcher e C.J. Wilcox** (1985). *Effects of climatic and management factors on conception rate of dairy cattle in subtropical environment*. Journal of Dairy Science 68:78-85
- Beam, S.W. e W.R. Butler** (1998). *Energy Balance, metabolic hormones, and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid*. Journal of Dairy Science 81:121-131
- Berg, D.K., J. van Leeuwen, S. Beaumont, M. Berg e P.L. Pfeffer** (2010). *Embryo loss in cattle between Days 7 and 16 of pregnancy*. Theriogenology 73:250-260

- BonDurant, R.H.** (2004). *Controlling what we can control: Limiting Embryonic/Fetal Losses*. Pp 97-111 in Proceedings of the 37th Annual Convention of American Association of Bovine Practitioners, Texas, Estados Unidos da América.
- Butler, W.R** (2000). *Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle*. Animal Reproduction Science (60-61):449-457
- Casa, A.C. e A.C. Ravelo** (2003). *Assessing temperature and humidity conditions for dairy cattle in Córdoba, Argentina*. International Journal of Biometeorology 48:6-9
- Chase, L.E** (2006). *Climate Change Impacts on Dairy Cattle*. Disponível: <http://www.climateandfarming.org/pdfs/FactSheets/III.3Cattle.pdf> Acedido em Março 4, 2010
- Collier, R.J., G.E. Dahl e M.J. VanBaale** (2006). *Major advances associated with environmental effects on Dairy Cattle*. Journal of Dairy Science 89:1244-1253
- Colier, R.J., J.L. Colier, R.P. Rhoads e L.H. Baumgard** (2008). *Invited Review: Genes involved in the bovine heat stress response*. Journal of Dairy Science 91:445-454
- Dado R.G. e M.S. Allen** (1995). *Intake limitations, feeding behaviour, and rumen function of cows challenged with rumen fill from dietary fiber of inert bulk*. Journal of Dairy Science 78:118-133
- Ferguson, J.D. e W. Chalupa** (1989). *Impact of protein nutrition on reproduction in dairy cows*. Journal of Dairy Science 72:746-766
- Forar, A.L., J.M. Gay, D.D. Hancock, C.C. Gay** (1996). *Fetal loss frequency in ten Holstein dairy herds*. Theriogenology 45:1505–1513

- García-Ispuerto I., F. López-Gatius, P. Santolaria, J.L. Yániz, C. Nogareda, M. López-Béjar e F. De Rensis** (2006). *Relationship between heat stress during the peri-implantation period and early fetal loss in dairy cattle*. *Theriogenology* 67:1379-1385
- García-Ispuerto I., F. López-Gatius, G. Bech-Sabat, P. Santolaria, J.L. Yániz, C. Nogareda, F. De Rensis e M. López-Béjar** (2007). *Climate factors affecting conception rate of high producing dairy cows in northeastern Spain*. *Theriogenology* 67:1379-1385
- Gooch, C** (2010). *Supplemental cooling to provide heat stress relief for northeast dairy cows, you can't afford not to do it!* Disponível: <http://cce.cornell.edu/Ag/ProductionAgriculture/Pages/DairyCattle.aspx> Acedido em 22 de Outubro de 2010
- Grimard B., S. Freret, A. Chevallier, A. Pinto, C. Ponsart e P. Humblot** (2006). *Genetic and environmental factors influencing first service conception rate and late embryonic/foetal mortality in low fertility herds*. *Animal Reproduction Science* 91:31-44
- Hafez, E. S. E. e B. Hafez** (2000). *Foliculogénesis, maduración del óvulo y ovulación*. Pp 70-83 in *Reproducción e Inseminación Artificial en animales*, 7ª edição traduzida e publicada em 2002. B. Hafez e E. S. E Hafez, ed. McGraw-Hill Companies, México
- Hahn G.L.** (1969). *Predicted vs. measured production differences using summer air conditioning for lactating cows*. *Journal of Dairy Science* 52:800-801
- Hansen, P.J.** (2002). *Embryonic mortality in cattle from the embryo's perspective*. *Journal of Animal Science* 84:E33-E44

- Hansen, P.J.** (2007). *To be or not to be—Determinants of embryonic survival following heat shock*. Theriogenology 68S:S40-S48
- Hansen, P.J. e C.F. Aréchiga** (1999). *Strategies for managing reproduction in the heat-stressed dairy cow*. Journal of Animal Science 77:36-50
- Hansen P.J., M. Drost, R.M Rivera, F.F. Paula-Lopes, Y.M Al Katanani, C.E. Krininger III e C.C. Chase Jr.** (2001). *Adverse impact of heat stress on embryo production: causes and strategies for mitigation*. Theriogenology 55:91-103
- Hartigan, P.J.** (2004). *Reproductive Physiology in Cattle*. Pp 471-507 in Bovine Medicine – Diseases and Husbandry of Cattle, 2ª edição. A. H. Andrews, R. W. Blowey, H. Boyd, R.G. Eddy, ed. Blackwell Publishing.
- Howell, J.L., J.W. Fuquay e A.E. Smith** (1994). *Corpus luteum growth and function in lactating Holstein cows during spring and summer*. Journal of Dairy Science 77:735-739
- Huang C., S. Tsuruta, J.K. Bertrand, I. Misztal, T.J. Lawlor e J.S. Clay** (2009). *Trends for conception rate of Holstein over time in the southeastern United States*. Journal of Dairy Science 92:4641-4647.
- Jordan, E.R** (2003). *Effects of heat stress on reproduction*. Journal of Dairy Science 86:104-114
- López-Gatiús F.** (2003). *Is fertility declining in dairy cattle? A retrospective study in northeastern Spain*. Theriogenology 60:89-99
- Lucy, M.C.** (2001). *Reproductive loss in high producing dairy cattle: where will it end?* Journal of Dairy Science 84:1277-1293

- McDonald, P., R.A. Edwards, J.F.D. Greenhalgh e C.A. Morgan (2002^a).** *Metabolism*. Pp 199-244 in *Animal Nutrition*. 6^a edição. Pearson Education Limited, Harlow, England.
- McDonald, P., R.A. Edwards, J.F.D. Greenhalgh e C.A. Morgan (2002^b).** *Voluntary intake of food*. Pp 199-244 in *Animal Nutrition*. 6^a edição. Pearson Education Limited, Harlow, England.
- McDowell D., N. Hooven, K.Cameron (1976).** *Effects of climate on performance of Holsteins in first lactation*. *Journal of Dairy Science* 59:965-971
- Morton J.M., W.P. Tranter, D.G. Mayer e N.N. Jonsson (2007).** *Effects of environmental heat on conception rates in lactating dairy cows: critical periods of exposure*. *Journal of Dairy Science* 90:2271-2278
- Niswender, G.D. (2004).** *Getting cows pregnant and keeping them pregnant requires progesterone*. Pp 73-77 in *Proceedings of the 37th Annual Convention of American Association of Bovine Practitioners, Texas, Estados Unidos da América*.
- Perissinotto, M., D.J. Moura, I.J.O. Silva e S.V. Matarazzo (2005).** *Influência do ambiente no consumo de água de bebida de vacas leiteiras*. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, vol.9, n^o2
- Ravagnolo O. e I. Misztal (2002).** *Effect of heat stress on nonreturn rate in Holsteins: Fixed-Model Analyses*. *Journal of Dairy Science* 85:3101-3106
- Reece. W.O. (2009).** *Body heat and temperature regulation*. Pp 421-429 in *Functional Anatomy and Physiological of Domestic Animals*, 4^a edição. William O. Reece, ed. Wilwy-Blakwell

- Rensis, F.D. e R.J. Scaramuzzi.** (2003). *Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow – a review*. Theriogenology 60(6):1139-1151
- REOT-A** (2003). Relatório do Estado do Ordenamento do Território – Açores (Anexo: ENQUADRAMENTO). Disponível:
http://www.azores.gov.pt/Portal/pt/entidades/sram/textoImagem/part_publica_reot_a_2003.htm Acedido em Outubro 16, 2010
- Risco, C. A., W. W. Thatcher, F. Moreira, C. R. Staples e H. H. Van Horn** (1999). *Effect of calcium and energy status during the postpartum period on reproductive performance in dairy cows*. Pp 138-147 in Proceedings of the 32nd Annual Convention of American Association of Bovine Practitioners, Tennessee, Estados Unidos da América.
- Rivera, R.M. e P.J. Hansen** (2001). *Development of cultured bovine embryos after exposure to high temperatures in the physiological range*. Reproduction 121:107-115
- Roth Z., R. Meidan, R. Braw-Tal e D. Wolfenson** (2000). *Immediate and delayed effects of heat stress on follicular development and its association with plasma FSH and inhibin concentration in cows*. Journal of Reproduction and Fertility 120, 83–90
- Rutledge J.J.** (2001). *Use of embryo transfer and IVF to bypass effects of heat stress*. Theriogenology 55(1):105-11
- Santos, J.E.P., W.W. Tatcher, R.C. Chebel, R.L.A Cerri e K.N. Galvão** (2004). *The effect of embryonic death in cattle on the efficacy of oestrus synchronization programs*. Animal Reproduction Science 82-83:513-535 (abstract)
- Santolaria, P., F. López-Gatius, I. García-Ispuerto, G. Bech-Sàbat, E. Angulo, T. Carretero, J.A. Sánchez-Nadal e J. Yániz** (2010). *Effects of cumulative stressful*

- and acute variation episodes of farm climate conditions on late embryo/early fetal loss in high producing dairy cows. International Journal of Biometeorology 54:93-98*
- Sartori, R. e M.A.N. Dode** (2008). *Mortalidade Embrionária na IA, TE, FIV e clonagem*. Pp 175-194 in III Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, Paraná, Brasil.
- Sartori, R., R. Sartor-Bergfelt, S.A. Mertens, J.N. Guenther, J.J. Parrish e M.C. Wiltbank** (2002). *Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in Summer and lactating and dry cows in Winter*. Journal of Dairy Science 85:2803-2812
- Sartori, R., A. Gumen, J.N. Guenther, A.H. Souza, D.Z. Caraviello, M.C. Wiltbank** (2006). *Comparison of artificial insemination versus embryo transfer in lactating dairy cows*. Theriogenology 65:1311-1321
- Seegers, H.**(2006). *Economics of the reproductive performance of dairy herds*. Proceedings of the XXIV World Buiatrics Congress, Nice, França.
- Shearer, J. K.** (2004). *Heat Stress in Dairy Cattle*. Pp 88-94 in Bovine Medicine – Diseases and Husbandry of Cattle, 2ª edição. A. H. Andrews, R. W. Blowey, H. Boyd, R.G. Eddy, ed. Blackwell Publishing.
- Silke, V, M.G. Diskin, D.A. Kenny, M.P. Boland, P. Dillon, J.F. Mee e J.M. Sreenan** (2002). *Extent, pattern and factors associated with late embryonic loss in dairy cows*. Animal Reproduction Science 71:1-12
- SOLOMON, S.** (2007). *Climate change 2007: the physical science basis: fourth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change Working Group I*. Cambridge University Press. Disponível: <http://www.ipcc.ch/ipccreports/ar4-wg1.htm>.

- Stabenfeldt, G.H. e A.P. Davidson** (2002). *Controlo do desenvolvimento gonadal e dos gâmetas*. Pp 385-391 in Tratado de Fisiologia Veterinária, 3ª edição traduzida e publicada em 2004. J. A. S, Veiga, ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, RJ.
- Stringfellow, D.A. e S.M. Seidel** (1998). *A procedural guide and general information for the use of embryo transfer technology emphasizing sanitary procedure*, 3ª edição, ed. Manual of the International Embryo Transfer Society
- Tamming, S.** (2006). *The effect of the supply of rumen degradable protein and metabolisable protein on negative energy balance and fertility in dairy cows*. Animal Reproduction Science 96:227-239
- Thompson, J.A., D.D. Magee, M.A. Tomaszewski, D.L. Wilks e R.H. Fourdraine** (1996). *Management of summer infertility in Texas holstein dairy cattle*. Theriogenology 46:547-558
- West, J.W.** (2003). *Effects of heat-stress on production in dairy cattle*. Journal of Dairy Science 86:2131-2144
- Wilson S.J., R.S. Marion, J.N. Spain, D.E. Spiers, D.H. Keisler e M.C. Lucy** (1998). *Effects of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle 1. Lactating cows*. Journal of Dairy Science 81:2124-2131
- Wolfenson, D., Z. Roth e R. Meidan** (2000). *Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects*. Animal Reproduction Science 60(1):535-547
- Wolfenson, D., H. Sonogo, A. Bloch, A. Shaham-Albalancy, M. Kaim, Y. Folman e R. Meidan** (2002). *Seasonal differences in progesterone production by luteinized bovine thecal and granulosa cells*. Domestic Animal endocrinology 22:81-90

Younas M., J.W. Fuquay, A.E. Smith, A.B. Moore (1993). *Estrous and endocrine responses of lactating holsteins to forced ventilation during summer*. Journal of Dairy Science 76:430-434

Zimbelman R.B., R.P. Rhoads, M.L. Rhoads, G.C. Duff, L.H. Baumgard e R.J. Collier (2006). *A Re-Evaluation of the Impact of Temperature Humidity Index (THI) and Black Globe Humidity Index (BGHI) on Milk Production in High Producing Dairy Cows*. Disponível: http://animal.cals.arizona.edu/swnmc/Proceedings/2009/14Collier_09.pdf Acedido em Novembro 10, 2010