



EDUARDO ALVES LIMA

**ESTRESSE CALÓRICO MATERNO EM DIFERENTES FASES
DA GESTAÇÃO DE VACAS HOLANDESAS SOBRE O
DESEMPENHO REPRODUTIVO E CONTAGEM DE
FOLÍCULOS ANTRAIS DA PROGÊNIE**

LAVRAS – MG

2019

EDUARDO ALVES LIMA

**ESTRESSE CALÓRICO MATERNO EM DIFERENTES FASES DA GESTAÇÃO DE
VACAS HOLANDESAS SOBRE O DESEMPENHO REPRODUTIVO E CONTAGEM
DE FOLÍCULOS ANTRAIS DA PROGÊNIE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Produção e Reprodução Animal, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. José Nélio de Sousa Sales
Orientador

**LAVRAS – MG
2019**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Lima, Eduardo Alves.

Estresse calórico materno em diferentes fases da gestação de vacas Holandesas sobre o desempenho reprodutivo e contagem de folículos antrais da progênie / Eduardo Alves Lima. - 2019.

43 p. : il.

Orientador(a): José Nélio de Sousa Sales.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2019.

Bibliografia.

1. Fertilidade. 2. CFA. 3. Bovino. I. Sales, José Nélio de Sousa.
II. Título.

EDUARDO ALVES LIMA

**ESTRESSE CALÓRICO MATERNO EM DIFERENTES FASES DA GESTAÇÃO DE
VACAS HOLANDESAS SOBRE O DESEMPENHO REPRODUTIVO E CONTAGEM
DE FOLÍCULOS ANTRAIS DA PROGÊNIE**

**MATERNAL HEAT STRESS IN DIFFERENT PHASES OF GESTATION OF
HOLSTEIN COWS ON REPRODUCTIVE PERFORMANCE AND ANTRAL
FOLLICLE COUNT OF OFFSPRING**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Produção e Reprodução Animal, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADO em 29 de Abril de 2019.

Profa. Dra. Nadja Gomes Alves

UFLA

Dr. Bruno Campos de Carvalho

EMBRAPA

Prof. Dr. José Nélio de Sousa Sales
Orientador

LAVRAS - MG

2019

Aos meus pais que tudo fizeram de forma espetacular com todo amor e carinho e que tanto batalharam para que eu pudesse chegar aonde cheguei.

À minha esposa pelo amor e todo apoio em cada momento da realização desse sonho.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por permitir a realização deste sonho e por estar sempre ao meu lado me guiando e protegendo

À minha mãe, Elizabete, por toda dedicação, carinho, amor e orações ao longo de todos esses anos.

Ao meu pai, Élio, por todo apoio e por mostrar que batalhar com honestidade é o caminho para atingir os objetivos.

À minha esposa, Alice, pelo companheirismo, carinho, amor, amizade e por sua presença especial e insubstituível em minha vida. Agradeço seus pais, Valentim e Rosa, pelo carinho e apoio em todos os momentos.

Aos colegas pós-graduandos, pela grande ajuda na realização desse experimento e pelo excelente convívio durante estes anos, que tornaram este caminho mais tranquilo de ser trilhado.

Ao professor Zé Nélio, pela orientação, paciência e ensinamentos que vão muito além dos objetivos deste trabalho.

À Universidade Federal de Lavras, por todos os anos de acolhida. Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias e aos professores, por todos os ensinamentos transmitidos.

Às Fazendas parceiras, por permitirem a realização do experimento de maneira tão solícita.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO GERAL

O estresse calórico materno pode prejudicar a função placentária, o desenvolvimento fetal e o desempenho subsequente da prole bovina. O número de folículos presente no ovário é determinado durante a vida fetal e pode ser influenciado pela nutrição e saúde da mãe durante a gestação. A quantidade de folículos antrais está associado com a fertilidade em vacas. No entanto, ainda são limitadas as informações sobre o impacto do estresse calórico durante a gestação sobre a fertilidade e a contagem de folículos antrais na prole. Dessa forma, o objetivo do estudo foi avaliar o efeito da exposição materna a condições de estresse calórico em diferentes fases da gestação no desempenho reprodutivo e contagem de folículos antrais da progênie. Para isso, dados retrospectivos de índices reprodutivos de filhas de vacas Holandesas que foram expostas a condições de estresse calórico no primeiro, segundo ou terceiro trimestre da gestação e filhas de vacas não expostas a condições de estresse calórico foram analisados. As datas de concepção para inclusão dos animais nos diferentes grupos foram estimadas subtraindo 280 dias da data de nascimento. Em um subgrupo de animais foi realizado exame ultrassonográfico transretal para contagem de folículos antrais e mensuração do tamanho dos ovários. O número de serviços por concepção foi menor nas filhas de vacas não expostas a condições de estresse calórico do que nas expostas nos diferentes trimestres da gestação. O intervalo entre partos foi maior para as filhas de vacas expostas a condições de estresse calórico no segundo e terceiro trimestre da gestação em comparação com as não expostas. Além disso, a taxa de prenhez ao primeiro serviço e a contagem de folículos antrais foram maiores nas filhas de vacas não expostas a condições de estresse calórico comparadas com as expostas nas diferentes fases do período gestacional. Conclui-se que a condição de estresse calórico materno nas diferentes fases da gestação interfere negativamente na fertilidade futura e na contagem de folículos antrais da prole bovina.

Palavras-chave: Fertilidade, CFA, Bovino.

GENERAL ABSTRACT

Maternal heat stress can impair placental function, fetal development and subsequent performance of bovine offspring. The number of follicles present in the ovary is determined during fetal life and can be influenced by the mother's nutrition and health during gestation. The amount of antral follicles is associated with fertility in cows. However, information on the impact of heat stress during gestation on fertility and antral follicle count on offspring is still limited. Thus, the objective of the study was to evaluate the effect of maternal exposure to heat stress conditions in different phases of gestation on reproductive performance and antral follicle count of offspring. For this, retrospective data on the reproductive indexes of daughters of Holstein cows who were exposed to heat stress conditions in the first, second or third trimester of gestation and daughters of cows not exposed to heat stress conditions were analyzed. Conception dates for inclusion of the animals in the different groups were estimated subtracting 280 days from the date of birth. In a subgroup of animals transrectal ultrasonography was performed for antral follicle count and ovarian size measurement. The number of services per conception was lower in the daughters of cows not exposed to heat stress conditions than those exposed in the different trimesters of gestation. The interval between calving was higher for the daughters of cows exposed to heat stress conditions in the second and third trimester of gestation compared to those not exposed. In addition, pregnancy rate at the first service and antral follicle count were higher in the daughters of cows not exposed to heat stress conditions compared to those exposed in different phases of the gestational period. It is concluded that the condition of maternal heat stress in the different phases of gestation interferes negatively in the future fertility and in the antral follicle count of the bovine offspring.

Keywords: Fertility, AFC, Bovine.

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE	9
1	INTRODUÇÃO	9
2	REFERENCIAL TEÓRICO	11
2.1	Estresse calórico em vacas leiteiras	11
2.2	Estresse calórico na reprodução de vacas leiteiras	12
2.2.1	Efeito no sistema metabólico	12
2.2.2	Efeito no sistema endócrino reprodutivo	13
2.2.2.1	GnRH, LH, FSH e inibina	13
2.2.2.2	Estradiol e androstenediona	14
2.2.2.3	Progesterona	14
2.2.3	Efeito no desenvolvimento folicular, oocitário e embrionário	15
2.2.3.1	Folículo	15
2.2.3.2	Oócito	16
2.2.3.3	Embrião	17
2.2.4	Efeito no desenvolvimento fetal e na prole	17
	REFERÊNCIAS	19
	SEGUNDA PARTE - ARTIGO	27
	ESTRESSE CALÓRICO MATERNO EM DIFERENTES FASES DA GESTAÇÃO DE VACAS HOLANDESAS SOBRE O DESEMPENHO REPRODUTIVO E CONTAGEM DE FOLÍCULOS ANTRAIS DA PROGÊNIE	27

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

Os bovinos são animais homeotérmicos e possuem zona de conforto térmico entre 5 e 25 °C, temperaturas acima de 25°C (estresse calórico) podem interferir na fisiologia geral e no desempenho reprodutivo de vacas (DE RENSIS; SCARAMUZZI, 2003; GARCÍA-ISPIERTO *et al.*, 2007). O estresse calórico é potencializado com o aumento da umidade, especialmente em vacas leiteiras de alta produção (GARCÍA-ISPIERTO *et al.*, 2007; JOHNSON; VANJONACK, 1976). Devido essa associação, o estresse calórico em bovinos de leite é mensurado pelo índice de temperatura e umidade (ITU; (BOHMANOVA; MISZTAL; COLE, 2007; IGONO; JOHNSON, 1990; MADER *et al.*, 2006; MORTON *et al.*, 2007). O valor de ITU acima de 68 promove estresse calórico nos animais reduzindo a produção de leite (ZIMBELMAN *et al.*, 2009).

O estresse calórico na reprodução de vacas leiteiras é multifatorial e atua por vários mecanismos diretos sobre a fertilidade e indiretos como metabólicos e nutricionais. Durante os períodos de estresse calórico, as concentrações sanguíneas dos principais hormônios metabólicos e fatores de crescimento necessários para o desenvolvimento folicular normal são reduzidos a concentrações abaixo do ideal devido a menor ingestão de matéria seca (IGONO *et al.*, 1988). No entanto, existem evidências de que os efeitos do estresse calórico sobre a função reprodutiva não são apenas influenciados pela redução da ingestão de matéria seca, mas também por existirem ligações diretas entre o sistema endócrino reprodutivo e a exposição ao estresse calórico (RONCHI *et al.*, 2001). O estresse calórico pode afetar a atividade do eixo hipotálamo-hipófise-ovário por uma cascata de eventos relacionados principalmente à redução da secreção de GnRH e conseqüentemente, de FSH e LH, que resulta na inibição da atividade ovariana (DE RENSIS *et al.*, 2017).

O estresse calórico pode interferir na qualidade do oócito, principalmente em vacas leiteiras em lactação, que são mais sensíveis ao estresse devido às demandas metabólicas para a lactação. Em função disso, a competência do oócito para fertilização e o desenvolvimento embrionário subsequente são reduzidos durante as épocas do ano associadas ao estresse calórico (SARTORI *et al.*, 2002; ZERON *et al.*, 2001). Além disso, o estresse calórico materno está associado à redução do peso placentário (COLLIER *et al.*, 1982) e redução da produção hormonal pela placenta (THOMPSON *et al.*, 2013). Além dos efeitos negativos do estresse calórico sobre parâmetros reprodutivos das fêmeas bovinas, tem-se observado que o estresse calórico materno no final da gestação exerce efeito negativo sobre o crescimento e a

competência imunológica da prole (LAPORTA *et al.*, 2017; TAO *et al.*, 2012). Ainda, filhas de vacas expostas ao estresse calórico durante as últimas seis semanas de gestação tiveram maior número de serviços por concepção e menor produção de leite (MONTEIRO *et al.*, 2016). Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da exposição materna a condições de estresse calórico em diferentes fases da gestação no desempenho reprodutivo e contagem de folículos antrais da progênie.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Estresse calórico em vacas leiteiras

Os bovinos são animais homeotérmicos e possuem zona de temperatura ótima para produção quando nenhuma energia adicional, além da manutenção é gasta para resfriar ou aquecer o corpo. Quando a temperatura ambiente oscila fora do intervalo de 5 a 25 °C ocorre mudanças significativas na ingestão de alimento e nos processos fisiológicos (MCDOWELL; HOOVEN; CAMOENS, 1976). Vacas produzindo 30kg/dia, mantem a temperatura corporal estável até temperatura ambiente de 25 °C (BERMAN *et al.*, 1985). Com valores acima desse, as vacas passam por alterações fisiológicas que interferem diretamente na reprodução (DE RENSIS; SCARAMUZZI, 2003; GARCÍA-ISPIERTO *et al.*, 2007). Além disso, o efeito adverso de altas temperaturas é exacerbado pela alta umidade, especialmente em vacas leiteiras de alta produção (GARCÍA-ISPIERTO *et al.*, 2007; JOHNSON; VANJONACK, 1976). Assim, o estresse calórico é causado principalmente pela combinação de fatores ambientais, como a temperatura e umidade relativa do ar, radiação solar, velocidade do ar e precipitação (BOHMANOVA; MISZTAL; COLE, 2007). O índice de temperatura e umidade (ITU), valor que combina esses fatores, foi desenvolvido por Thom (1959) para estimar a percepção do calor em humanos e validado por Berry, Shanklin e Johnson (1964) para vacas. Essa variável tem sido utilizada amplamente para estimar o grau de estresse calórico em gado de leite (BOHMANOVA; MISZTAL; COLE, 2007; DE RENSIS *et al.*, 2017; DE RENSIS; GARCIA-ISPIERTO; LÓPEZ-GATIUS, 2015; IGONO; JOHNSON, 1990; MADER *et al.*, 2006; MORTON *et al.*, 2007; SCHÜLLER; BURFEIND; HEUWIESER, 2014).

O valor de ITU de 72 foi proposto como sendo o limite entre a zona termo neutra e ambiente de estresse calórico (BERRY; SHANKLIN; JOHNSON, 1964). Porém, este limiar foi baseado em estudos com vacas de produção média diária de 15 kg de leite. Considerando que o calor a ser dissipado por vacas em lactação é oriundo do incremento calórico, determinado pela ingestão de matéria seca (PURWANTO *et al.*, 1990), o ITU limite entre a zona de conforto e o estresse pode ser mais baixo que 72 (BERMAN, 2005). Diante de tais informações, um estudo foi desenvolvido com base em dados de oito experimentos ao longo de três anos, utilizando 100 vacas multíparas em lactação, com média de produção de 35 kg de leite dia. Nesse estudo verificaram que ITU acima de 68 promove estresse calórico nos animais interferindo na produção de leite. Os autores observaram que ITU acima de 68 por período maior que 17 horas por dia reduziu a produção diária de leite em 2,2 kg. Nesses

animais observou-se aumento na temperatura retal, na frequência respiratória e na perda evaporativa de calor pela pele (ZIMBELMAN *et al.*, 2009).

2.2 Estresse calórico na reprodução de vacas leiteiras

O estresse calórico na reprodução de vacas leiteiras é multifatorial e atua por vários mecanismos diretos sobre a fertilidade e indiretos como metabólicos e nutricionais (DE RENSIS *et al.*, 2017).

2.2.1 Efeito no sistema metabólico

Um importante efeito do estresse calórico é a redução no consumo de matéria seca, que exacerba o balanço energético negativo no pós-parto (LUCY *et al.*, 1992). Em novilhas (RONCHI *et al.*, 2001; WEST; MULLINIX; BERNARD, 2003) e em vacas em lactação (WILSON *et al.*, 1998), verificou-se redução significativa na ingestão de matéria seca durante o período de estresse calórico. Devido a uma maior exigência de consumo para produção e uma alta taxa metabólica o efeito negativo da redução do consumo de alimento é exacerbado em vacas leiteiras de alta produção (SARTORI *et al.*, 2002).

Vacas em produção de leite sob condições de estresse calórico geralmente têm alteração metabólica do equilíbrio ácido-base sanguíneo devido à mudança na dissipação de calor por radiação e convecção, que são os principais mecanismos de troca de calor em ambientes de temperaturas amenas, para evaporação, mecanismo de resfriamento utilizado em ambientes de alta temperatura (BERMAN *et al.*, 1985; KIBLER; BRODY, 1950). Devido a essa dependência do resfriamento evaporativo, a frequência respiratória aumenta em intensidade e amplitude alterando o balanço crítico de carbonato para bicarbonato, que é necessário para a manutenção do pH sanguíneo (WEST; MULLINIX; SANDIFER, 1991). Além disso, a respiração ofegante também induz perda de bicarbonato na saliva reduzindo o efeito tamponante da saliva na fermentação ruminal. Diante disso, o equilíbrio ácido-básico altera-se podendo ocasionar efeitos negativos na fertilidade (DE RENSIS *et al.*, 2017).

Durante o período de estresse calórico, as concentrações sanguíneas dos principais hormônios metabólicos e fatores de crescimento necessários para o desenvolvimento folicular normal, reduzem a concentrações abaixo do ideal, isso se deve principalmente a redução da ingestão de matéria seca (IGONO *et al.*, 1988). Alguns autores verificaram que as concentrações plasmáticas de insulina, IGF-I e glicose reduzem durante o período de verão (DE RENSIS *et al.*, 2002). Com a redução desses hormônios, principalmente a insulina, verifica-se comprometimento no desenvolvimento normal dos folículos e redução da qualidade do oócito (O'CALLAGHAN; BOLAND, 1999; RABIEE *et al.*, 1997). Além disso,

a baixa concentração de glicose no hipotálamo pode interferir na secreção pulsátil de LH (BUCHOLTZ *et al.*, 1996). Além dos efeitos negativos sobre a produção hormonal, o estresse calórico aumenta a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) que pode alterar o metabolismo e influenciar de forma negativa a reprodução (CELI; GABAI, 2015). As ROS podem interferir na maturação do oócito e no desenvolvimento inicial do embrião (BERNABUCCI *et al.*, 2002; SAKATANI; ALVAREZ; *et al.*, 2012).

2.2.2 Efeito no sistema endócrino reprodutivo

Há evidências de que os efeitos do estresse calórico sobre a função reprodutiva não são influenciados apenas pela redução do consumo de matéria seca e o efeito metabólico que está associado com essa diminuição de consumo alimentar, mas também por existirem ligações diretas entre o sistema endócrino reprodutivo e a exposição ao estresse calórico (RONCHI *et al.*, 2001).

2.2.2.1 GnRH, LH, FSH e inibina

Durante o período de verão, o estresse calórico pode afetar a atividade do eixo hipotálamo-hipófise-ovário por uma cascata de eventos relacionados principalmente à redução da secreção de gonadotrofinas, presumivelmente devido à diminuição da secreção de GnRH, que resulta na inibição da atividade ovariana (DE RENSIS *et al.*, 2017). Estudos relatam a supressão da liberação pulsátil de LH e um pico pré-ovulatório mais precoce desse hormônio na estação quente do ano (GILAD *et al.*, 1993; KADOKAWA, 2007; WISE *et al.*, 1988). Isso pode estar relacionado ao efeito direto do aumento da temperatura no eixo reprodutivo ou indireto devido a alterações nas concentrações circulantes de cortisol, prolactina, estradiol e progesterona associado à redução do consumo alimentar e consequente potencialização do balanço energético negativo (DE RENSIS *et al.*, 2017). O efeito negativo do estresse calórico na secreção de LH pode acarretar falha no mecanismo da ovulação e aumentar a variabilidade do intervalo entre o estro e a ovulação. Dessa forma, é possível especular que, proporção maior de inseminações é realizada em momento inadequado durante o verão (DE RENSIS *et al.*, 2017). Além disso, a redução dos pulsos de LH aumenta o risco de ciclos anovulatórios (LÓPEZ-GATIUS *et al.*, 2005) e de desenvolvimento de cistos ovarianos (LOPEZ-DIAZ; BOSU, 1992).

Em relação à concentração plasmática de FSH, estudos demonstraram concentrações elevadas durante o período de calor devido à redução da secreção de inibina ovariana (ROTH *et al.*, 2000). Tal alteração na concentração de FSH interfere no mecanismo de dominância folicular (WOLFENSON *et al.*, 1997), resultando em maior número de vacas com doença

ovariana cística, com folículos anovulatórios, com duplas ovulações e gestações gemelares (LOPEZ-DIAZ; BOSU, 1992; LÓPEZ-GATIUS *et al.*, 2005; RYAN; BOLAND, 1991).

2.2.2.2 Estradiol e androstenediona

O estresse térmico reduz a capacidade esteroidogênica da teca e células da granulosa *in vitro*, além de acarretar diminuição das concentrações de estradiol no sangue (BRIDGES; BRUSIE; FORTUNE, 2005). Tal redução nas concentrações de estradiol ocorre devido a falhas na produção e secreção de androstenediona (WOLFENSON *et al.*, 1997). Em vacas Holandesas em lactação, o estresse calórico por 12 horas promoveu menor produção *in vitro* de androstenediona de tecido tecal isolado a partir de folículos pré-ovulatórios coletados 28 dias após o estresse calórico (ROTH; MEIDAN; *et al.*, 2001). A diminuição da concentração plasmática de estradiol compromete o desenvolvimento folicular, interfere no mecanismo da ovulação e reduz a qualidade de oócitos e embriões (BADINGA *et al.*, 1993; SAKATANI; BALBOULA; *et al.*, 2012; WOLFENSON; FLAMENBAUM; BERMAN, 1988).

Além dos efeitos sobre o desenvolvimento folicular, a redução da produção de estradiol pelo estresse calórico reduz o comprimento e a intensidade do estro, aumenta a incidência de animais em anestro ou com ovulação sem manifestação de estro (HANSEN; ARÉCHIGA, 1999; ROTH; HANSEN, 2004a).

2.2.2.3 Progesterona

Estudos que avaliaram os efeitos do estresse calórico sobre as concentrações plasmáticas de progesterona em vacas leiteiras possuem resultados contraditórios, observando-se aumento (ABILAY; JOHNSON; MADAN, 1975), redução (ROSENBERG *et al.*, 1977) ou sem modificações nas concentrações desse esteróide (ROTH; MEIDAN; *et al.*, 2001). Essas diferenças podem estar relacionadas ao tipo de estresse (agudo ou crônico), ao estágio do ciclo estral ou ao estado metabólico do animal (DE RENSIS *et al.*, 2017).

Nos estudos que verificaram redução na concentração de progesterona devido ao estresse calórico, parte da diminuição da fertilidade provocada por esse estresse, pode ser devido ao comprometimento da função lútea e preparação do ambiente uterino para o desenvolvimento inicial do embrião (WIEBOLD, 1988). Isso se torna mais evidente em vacas leiteiras de alta produção, onde a concentração de progesterona no sangue é ainda mais reduzida (BECH-SABAT *et al.*, 2008), por causa de sua alta demanda metabólica durante a lactação e o consequente aumento da taxa de catabolismo hepático (SANGSRITAVONG *et al.*, 2002). Além disso, em vacas com baixa concentração de progesterona devido ao estresse

calórico, observa-se maior secreção endometrial de $\text{PGF2}\alpha$, promovendo luteólise prematura (EALY; DROST; HANSEN, 1993).

2.2.3 Efeito no desenvolvimento folicular, oocitário e embrionário

O estresse calórico pode interferir no desenvolvimento e na qualidade do oócito, principalmente em vacas produtoras de leite em lactação. Nessas vacas, que são particularmente sensíveis ao calor devido às demandas metabólicas para a lactação, a competência do oócito para fertilização e o desenvolvimento subsequente do embrião formado são afetados negativamente durante as épocas do ano associadas ao estresse calórico (SARTORI *et al.*, 2002; ZERON *et al.*, 2001). O estresse calórico pode comprometer tanto o desenvolvimento folicular quanto o oócito, e o mecanismo que compromete a função do oócito durante a oogênese provavelmente envolve alterações na função folicular (HANSEN, 2009).

2.2.3.1 Folículo

O padrão de secreção hormonal modifica-se com o estresse calórico em vacas leiteiras, promovendo efeitos negativos sobre o desenvolvimento folicular. Em vacas sob estresse calórico, a dominância e o tamanho do folículo dominante reduzem (WOLFENSON *et al.*, 1995) e o número de folículos subordinados de tamanho médio aumentam (BADINGA *et al.*, 1993). O efeito de temperaturas elevadas no desenvolvimento de pequenos folículos (2-5 mm) permanece incerto, enquanto alguns autores relataram redução no seu número (WILSON *et al.*, 1998; WOLFENSON *et al.*, 1995), outros observaram aumento (TROUT; MCDOWELL; HANSEN, 1998). No entanto, todos esses efeitos do estresse calórico na foliculogênese podem reduzir a qualidade dos oócitos (GUZELOGLU *et al.*, 2001; ROTH; MEIDAN; *et al.*, 2001; SHEHAB-EL-DEEN *et al.*, 2010).

Mudanças na dominância folicular induzida pelo estresse calórico foram associadas à emergência precoce de um folículo dominante na segunda onda (WOLFENSON *et al.*, 1995). Esse surgimento prematuro do folículo dominante na segunda onda resultou em período prolongado de dominância folicular com ovulação de folículos envelhecidos (AUSTIN *et al.*, 1999). Tal condição aumentou o risco de inseminações não sincronizadas em relação à ovulação (RYAN; BOLAND, 1991), acarretando aumento do insucesso nas inseminações (CERRI *et al.*, 2009).

A foliculogênese completa leva em torno de 100 dias (WEBB; CAMPBELL, 2007). Dessa forma, em vacas que passaram por um período de estresses calórico, o restabelecimento da fertilidade ocorre de forma gradual no período de outono. Tais condições sugerem que o

estresse calórico pode agir durante o início da foliculogênese e comprometer o desenvolvimento adequado do folículo e do oócito. Visto que, o restabelecimento da competência oocitária no outono foi acelerado pelo aumento do turnover dos folículos usando aspiração folicular repetida (ROTH; ARAV; *et al.*, 2001), pela estimulação do crescimento folicular com FSH ou pelo uso de somatotropina bovina (ROTH *et al.*, 2002).

2.2.3.2 Oócito

O estresse calórico pode afetar o desenvolvimento e a qualidade do oócito pela redução da secreção de GnRH (HANSEN *et al.*, 2001; ROTH; MEIDAN; *et al.*, 2001; WOLFENSON *et al.*, 1995, 1997), e por ações diretas na maturação de oócitos por interromper os processos nucleares e citoplasmáticos de oócitos imaturos (GENDELMAN; ROTH, 2012a; PAYTON *et al.*, 2004). No entanto, os danos causados em oócitos durante o período pré-ovulatório pelo choque térmico parecem envolver a geração de espécies reativas de oxigênio, já que tanto os efeitos do estresse calórico *in vivo* (ROTH *et al.*, 2008) quanto *in vitro* (LAWRENCE *et al.*, 2004) foram reduzidos pela administração de antioxidantes.

Temperaturas elevadas também agem diretamente em oócitos em maturação (FERREIRA *et al.*, 2011) induzindo apoptose e interrupção da maturação nuclear e do citoesqueleto (PAYTON *et al.*, 2004; ROTH; HANSEN, 2004a). A apoptose desempenha papel crítico nos efeitos do estresse calórico sobre o oócito bovino em maturação. Pela avaliação de Tunel, uma porcentagem de oócitos expostos à temperatura elevada entra em processo de apoptose (ROTH; HANSEN, 2004a, b, 2005; SOTO; SMITH, 2009). A inibição da apoptose induzida por choque térmico com inibidor de caspase (ROTH; HANSEN, 2004a), esfingosina 1-fosfato (ROTH; HANSEN, 2004b, 2005) ou um peptídeo BH4 (SOTO; SMITH, 2009) reduziu o efeito da alta temperatura sobre a competência do oócito para a fertilização e o desenvolvimento embrionário subsequente.

Oócitos de vacas Holandesas coletados durante os períodos quentes do ano e submetidos à maturação e fertilização *in vitro*, foram menos capazes de levar o desenvolvimento até o estágio de blastocisto quando comparados com oócitos coletados durante os períodos de frio (GENDELMAN *et al.*, 2010; GENDELMAN; ROTH, 2012b).

Os efeitos do estresse calórico sobre a qualidade oocitária podem perdurar por períodos prolongados. Em vacas Gir submetidas à 28 dias de estresse calórico, verificou-se redução da competência do oócito em tornar-se blastocisto por até 105 dias após o período de estresse (TORRES-JÚNIOR *et al.*, 2008). Além disso, exposição de 10 horas ao estresse

calórico durante o período pré-ovulatório reduziu a proporção de embriões fertilizados classificados como normais, mesmo sem afetar a taxa de fertilização (PUTNEY *et al.*, 1989).

2.2.3.3 Embrião

Apesar do efeito prolongado do estresse calórico sobre o oócito, o efeito no embrião ocorre principalmente durante o período de pré-implantação (GARCÍA-ISPIERTO *et al.*, 2006). A exposição ao estresse calórico *in vivo* (EALY; DROST; HANSEN, 1993) ou a temperaturas elevadas *in vitro* tiveram pouca influência sobre a sobrevivência embrionária (SAKATANI; ALVAREZ; *et al.*, 2012). O período de pré-implantação embrionária é crítico para a sua fixação ao endométrio (BULMAN; LAMMING, 1979) e como a implantação requer interações complexas de sinalização entre os tecidos fetal e materno, qualquer fator de estresse tem potencial de interromper esse processo (HANSEN, 2002).

Entre as primeiras proteínas produzidas durante o desenvolvimento embrionário, estão as proteínas de choque térmico que são essenciais para o desempenho da função celular (DRIVER; KHATIB, 2013). A síntese da proteína de choque térmico 70 (HSP70) está envolvida na aquisição da capacidade de termotolerância. Essa proteína estabiliza proteínas e organelas intracelulares e inibe a apoptose (BRODSKY; CHIOSIS, 2006) e pode ser induzida por temperaturas elevadas no estágio de duas células em bovinos (EDWARDS; HANSEN, 1996).

Basiricò *et al.* (2011) investigaram os mecanismos genéticos associados à produção celular individual de proteínas de choque térmico em vacas, para desenvolver métodos de proteção do embrião contra as ações prejudiciais do estresse calórico. Além dos efeitos no início da gestação, o estresse calórico entre os dias 21 e 30 pós-concepção aumentou o risco de perda gestacional até 90 dias de gestação. (GARCÍA-ISPIERTO *et al.*, 2006).

2.2.4 Efeito no desenvolvimento fetal e na prole

O estresse calórico durante a gestação causa redução do crescimento fetal. Os mecanismos envolvidos nesse fenômeno foram bem caracterizados em ovinos. A exposição ao estresse calórico ao longo da gestação de ovelhas promoveu redução do peso fetal e da placenta e das concentrações de hormônios placentários no sangue (WALLACE *et al.*, 2005). Alguns efeitos do estresse calórico na função placentária são devido à redistribuição do sangue para a periferia e redução da vascularização placentária (ALEXANDER *et al.*, 1987). No entanto, a redução da perfusão para a placenta não é a única causa de redução do peso fetal, pois o fluxo sanguíneo placentário por grama de feto foi similar entre ovelhas sob estresse ou não (WALLACE *et al.*, 2005).

Outro fator que pode influir tal condição induzida pelo estresse calórico seria o aumento da resistência vascular na placenta devido à alterações na angiogênese (GALAN *et al.*, 2005). Tais efeitos sobre a formação de vasos podem ocorrer por erros na expressão de genes como o fator de crescimento endotelial vascular e seus receptores e fator de crescimento placentário (REGNAULT *et al.*, 2002). Associado a isso, verifica-se redução da capacidade de transporte de glicose pela placenta em animais sob estresse calórico (THUREEN *et al.*, 1992) devido a menor expressão dos genes GLUT8 na placenta (LIMESAND; REGNAULT; HAY, 2004).

Nos bovinos, os efeitos do estresse calórico materno também estão associados à redução do peso placentário (COLLIER *et al.*, 1982) e diminuição dos hormônios produzidos pela placenta (THOMPSON *et al.*, 2013). Além de comprometer o desenvolvimento placentário e o crescimento fetal, o estresse calórico materno no final da gestação exerce efeito negativo sobre a competência imunológica da prole, visto que bezerras nascidas de vacas que passaram por estresse calórico nos últimos 45 dias de gestação tiveram menor peso ao nascimento e ao desmame. Além disso, a quantidade de proteína plasmática total, IgG sérica total e a proliferação de células mononucleares no sangue periférico foram menores em filhas de vacas que passaram pelo estresse calórico durante a gestação (TAO *et al.*, 2012).

Além dos efeitos agudos do estresse calórico durante o final da gestação, foram encontrados efeitos prolongados nos padrões de imunidade passiva, crescimento e atividade de bezerras leiteiras. (LAPORTA *et al.*, 2017). Ainda, as filhas de vacas expostas ao estresse calórico durante as últimas seis semanas de gestação tiveram maior número de serviço por concepção e menor produção de leite na primeira lactação, demonstrando efeito negativo sobre a fertilidade e a produção leiteira (MONTEIRO *et al.*, 2016). Além disso, estudos relatam que tanto a nutrição quanto a saúde da vaca durante a gestação afetam o número de folículos em suas filhas (EVANS *et al.*, 2012). O aumento no número de folículos antrais em novilhas e vacas foi associado ao aumento da fertilidade (CUSHMAN *et al.*, 2009; CUSHMAN; MCNEEL; FREETLY, 2014; MOSSA *et al.*, 2012).

REFERÊNCIAS

- ABILAY, T. A.; JOHNSON, H. D.; MADAN, M. Influence of environmental heat on peripheral plasma progesterone and cortisol during the bovine estrous cycle. **Journal of Dairy Science**, v. 58, n. 12, p. 1836–1840, 1975.
- ALEXANDER, G. *et al.* Effects of acute and prolonged exposure to heat on regional blood flows in pregnant sheep. **Journal of developmental physiology**, v. 9, n. 1, p. 1—15, 1987.
- AUSTIN, E. J. *et al.* Effect of Duration of Dominance of the Ovulatory Follicle on Onset of Estrus and Fertility in Heifers. **Journal of Animal Science**, v. 77, n. 8, p. 2219–2226, 1999.
- BADINGA, L. *et al.* Effect of environmental heat stress on follicular development and steroidogenesis in lactating holstein cows. **Theriogenology**, v. 39, p. 797–810, 1993.
- BASIRICÒ, L. *et al.* Cellular thermotolerance is associated with heat shock protein 70.1 genetic polymorphisms in Holstein lactating cows. **Cell Stress and Chaperones**, v. 16, n. 4, p. 441–448, 2011.
- BECH-SABAT, G. *et al.* Factors affecting plasma progesterone in the early fetal period in high producing dairy cows. **Theriogenology**, v. 69, p. 426–432, 2008.
- BERMAN, A. Estimates of heat stress relief needs for Holstein dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 83, n. 6, p. 1377–1384, 2005.
- BERMAN, A. *et al.* Upper Critical Temperatures and Forced Ventilation Effects for High-Yielding Dairy Cows in a Subtropical Climate. **Journal of Dairy Science**, v. 68, n. 6, p. 1488–1495, 1985.
- BERNABUCCI, U. *et al.* Markers of Oxidative Status in Plasma and Erythrocytes of Transition Dairy Cows During Hot Season. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 9, p. 2173–2179, 2002.
- BERRY, I. L.; SHANKLIN, M. D.; JOHNSON, H. D. Dairy shelter design based on milk production decline as affected by temperature and humidity. **Transactions of the American Society of Agricultural Engineers**, v. 7, p. 329–331, 1964.
- BOHMANOVA, J.; MISZTAL, I.; COLE, J. B. Temperature-Humidity Indices as Indicators of Milk Production Losses due to Heat Stress. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 4, p. 1947–1956, 2007.
- BRIDGES, P. J.; BRUSIE, M. A.; FORTUNE, J. E. Elevated temperature (heat stress) in vitro reduces androstenedione and estradiol and increases progesterone secretion by follicular cells from bovine dominant follicles. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 29, n. 3, p. 508–522, 2005.
- BRODSKY, J.; CHIOSIS, G. Hsp70 Molecular Chaperones: Emerging Roles in Human Disease and Identification of Small Molecule Modulators. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 6, n. 11, p. 1215–1225, 2006.

BUCHOLTZ, D. C. *et al.* Metabolic Interfaces between Growth and Reproduction.V. Pulsatile Luteinizing Hormone Secretion Is Dependent on Glucose Availability*. **The Endocrine Society**, v. 137, n. 2, p. 601–607, 1996.

BULMAN, D. C.; LAMMING, G. E. The use of milk progesterone analysis in the study of oestrus detection, herd fertility and embryonic mortality in dairy cows. **The British veterinary journal**, v. 135, n. 6, p. 559–567, 1979.

CELI, P.; GABAI, G. Oxidant/antioxidant balance in animal nutrition and health: the role of protein oxidation. **Front. Vet. Sci**, v. 2, n. 48, p. 1–13, 2015.

CERRI, R. L. A. *et al.* Period of dominance of the ovulatory follicle influences embryo quality in lactating dairy cows. **Reproduction**, v. 137, n. 5, p. 813–823, 2009.

COLLIER, R. J. *et al.* Effects of heat stress during pregnancy on maternal hormone concentrations, calf birth weight and postpartum milk yield of Holstein cows. **Journal of animal science**, v. 54, n. 2, p. 309–319, 1982.

CUSHMAN, R. A. *et al.* Evaluation of antral follicle count and ovarian morphology in crossbred beef cows: investigation of influence of stage of the estrous cycle, age, and birth weight. **Journal of animal science**, v. 87, n. 6, p. 1971–1980, 2009.

CUSHMAN, R. A.; MCNEEL, A. K.; FREELY, H. C. The impact of cow nutrient status during the second and third trimesters on age at puberty, antral follicle count, and fertility of daughters. **Livestock Science**, v. 162, n. 1, p. 252–258, 2014.

DE RENSIS, F. *et al.* Causes of declining fertility in dairy cows during the warm season. **Theriogenology**, v. 91, p. 145–153, 2017.

DE RENSIS, F. *et al.* Fertility in postpartum dairy cows in winter or summer following estrus synchronization and fixed time AI after the induction of an LH surge with GnRH or hCG. **Theriogenology**, v. 58, p. 1675–1687, 2002.

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

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

DRIVER, A. M.; KHATIB, H. Physiology and endocrinology symposium: Heat shock proteins: Potentially powerful markers for preimplantation embryonic development and fertility in livestock species. **Journal of Animal Science**, v. 91, n. 3, p. 1154–1161, 2013.

EALY, A. D.; DROST, M.; HANSEN, P. J. Developmental Changes In Embryonic Resistance to Adverse Effects of Maternal Heat Stress In Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 10, p. 2899–2905, 1993.

EDWARDS, J. L.; HANSEN, P. J. Elevated temperature increases heat shock protein 70 synthesis in bovine two-cell embryos and compromises function of maturing oocytes. **Biology**

of Reproduction, v. 55, n. 2, p. 340–346, 1996.

EVANS, A. C. O. *et al.* Effects of maternal environment during gestation on ovarian folliculogenesis and consequences for fertility in bovine offspring. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 47, n. SUPPL.4, p. 31–37, 2012.

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

GALAN, H. L. *et al.* Fetal hypertension and abnormal Doppler velocimetry in an ovine model of intrauterine growth restriction. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 192, n. 1, p. 272–279, 2005.

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

GARCÍA-ISPIERTO, I. *et al.* Relationship between heat stress during the peri-implantation period and early fetal loss in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 65, n. 4, p. 799–807, 2006.

GENDELMAN, M. *et al.* Seasonal effects on gene expression, cleavage timing, and developmental competence of bovine preimplantation embryos. **Reproduction**, v. 140, n. 1, p. 73–82, 2010.

GENDELMAN, M.; ROTH, Z. In vivo vs. in vitro models for studying the effects of elevated temperature on the GV-stage oocyte, subsequent developmental competence and gene expression. **Animal Reproduction Science**, v. 134, n. 3–4, p. 125–134, 2012a.

GENDELMAN, M.; ROTH, Z. Seasonal Effect on Germinal Vesicle-Stage Bovine Oocytes Is Further Expressed by Alterations in Transcript Levels in the Developing Embryos Associated with Reduced Developmental Competence. **Biology of Reproduction**, v. 86, n. 1, p. 1–9, 2012b.

GILAD, E. *et al.* Effect of heat stress on tonic and GnRH-induced gonadotrophin secretion in relation to concentration of oestradiol in plasma of cyclic cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 99, p. 315–321, 1993.

GUZELOGLU, A. *et al.* Long-term follicular dynamics and biochemical characteristics of dominant follicles in dairy cows subjected to acute heat stress. **Animal Reproduction Science**, v. 66, p. 15–34, 2001.

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

HANSEN, P. J. Effects of heat stress on mammalian reproduction. **Phil. Trans. R. Soc. B**, v. 364, p. 3341–3350, 2009.

HANSEN, P. J. Embryonic mortality in cattle from the embryo's perspective. **J. Anim. Sci.**, v. 80, n. 2, p. 33–44, 2002.

HANSEN, P. J.; ARÉCHIGA, C. F. Strategies for managing reproduction in the heat-stressed dairy cow. **Journal of animal science**, v. 77, n. 2, p. 36–50, 1999.

IGONO, M. O. *et al.* Effect of season on milk temperature, milk growth hormone, prolactin, and somatic cell counts of lactating cattle. **International Journal of Biometeorology**, v. 32, p. 194–200, 1988.

IGONO, M. O.; JOHNSON, H. D. Physiologic stress index of lactating dairy cows based on diurnal pattern of rectal temperature. **Journal of interdisciplinary cycle research**, v. 21, n. 4, p. 303–319, 1990.

JOHNSON, H. D.; VANJONACK, W. J. Effects of Environmental and Other Stressors on Blood Hormone Patterns in Lactating Animals. **Journal of Dairy Science**, v. 59, n. 9, p. 1603–1617, 1976.

KADOKAWA, H. Seasonal differences in the parameters of luteinizing hormone release to exogenous gonadotropin releasing hormone in prepubertal Holstein heifers in Sapporo. **The Journal of reproduction and development**, v. 53, n. 1, p. 121–125, 2007.

KIBLER, H. H.; BRODY, S. Environmental Physiology With Special Reference to Domestic Animals x. Influence of Temperature, 50 to 950 F, on Evaporative Cooling From the Respiratory and Exterior Body Surfaces in Jersey and Holstein Cows. **MISSOURI AGRICULTURAL EXPERIMENT STATION**, p. 461, 1950.

LAPORTA, J. *et al.* In utero exposure to heat stress during late gestation has prolonged effects on the activity patterns and growth of dairy calves. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 4, p. 2976–2984, 2017.

LAWRENCE, J. L. *et al.* Retinol Improves Development of Bovine Oocytes Compromised by Heat Stress During Maturation. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 8, p. 2449–2454, 2004.

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

LOPEZ-DIAZ, M. C.; BOSU, W. T. K. A review and an update of cystic ovarian degeneration in ruminants. **Theriogenology**, v. 37, p. 1163–1183, 1992.

LÓPEZ-GATIUS, F. *et al.* Ovulation failure and double ovulation in dairy cattle: Risk factors and effects. **Theriogenology**, v. 63, n. 5, p. 1298–1307, 2005.

LUCY, M. C. *et al.* Factors That Affect Ovarian Follicular Dynamics in Cattle'. **J. Anim. Sci.**, v. 70, p. 3615–3626, 1992.

MADER, T. L. *et al.* Environmental Factors Influencing Heat Stress in Feedlot Cattle. **J. Anim. Sci.**, v. 84, p. 712–719, 2006.

MCDOWELL, R. E.; HOOVEN, N. W.; CAMOENS, J. K. Effect of Climate on Performance of Holsteins in First Lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 59, n. 5, p. 965–971, 1976.

MONTEIRO, A. P. A. *et al.* In utero heat stress decreases calf survival and performance through the first lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 10, p. 8443–8450, 2016.

MORTON, J. M. *et al.* Effects of Environmental Heat on Conception Rates in Lactating Dairy Cows: Critical Periods of Exposure. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 5, p. 2271–2278, 2007.

MOSSA, F. *et al.* Low numbers of ovarian follicles ≥ 3 mm in diameter are associated with low fertility in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 5, p. 2355–2361, 2012.

O'CALLAGHAN, D.; BOLAND, M. P. Nutritional effects on ovulation, embryo development and the establishment of pregnancy in ruminants. **Animal Science**, v. 68, n. 2, p. 299–314, 1999.

PAYTON, R. R. *et al.* Susceptibility of Bovine Germinal Vesicle-Stage Oocytes from Antral Follicles to Direct Effects of Heat Stress In Vitro1. **Biology of Reproduction**, v. 71, n. 4, p. 1303–1308, 2004.

PURWANTO, B. P. *et al.* Diurnal patterns of heat production and heart rate under thermoneutral conditions in Holstein Friesian cows differing in milk production. **The Journal of Agricultural Science**, v. 114, n. 2, p. 139–142, 1990.

PUTNEY, D. J. *et al.* Embryonic development in superovulated dairy cattle exposed to elevated ambient temperatures between the onset of estrus and insemination. **Animal Reproduction Science**, v. 19, n. 1–2, p. 37–51, 1989.

RABIEE, A. R. *et al.* An evaluation of transovarian uptake of metabolites using arterio-venous difference methods in dairy cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 48, n. 1, p. 9–25, 1997.

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

RONCHI, B. *et al.* Influence of heat stress or feed restriction on plasma progesterone, oestradiol-17 β , LH, FSH, prolactin and cortisol in Holstein heifers. **Livestock Production Science**, v. 68, p. 231–241, 2001.

ROSENBERG, M. *et al.* Seasonal variations in post-partum plasma progesterone levels and conception in primiparous and multiparous dairy cows. **J. Reprod. Fert.**, v. 51, p. 363–367, 1977.

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

ROTH, Z. *et al.* Effect of Treatment with Follicle-Stimulating Hormone or Bovine Somatotropin on the Quality of Oocytes Aspirated in the Autumn from Previously Heat-Stressed Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 6, p. 1398–1405, 2002.

ROTH, Z. *et al.* Immediate and delayed effects of heat stress on follicular development and its association with plasma FSH and inhibin concentration in cows. **J Reprod Fertil**, v. 120, n. 1, p. 83–90, 2000.

ROTH, Z.; ARAV, A.; *et al.* Improvement of quality of oocytes collected in the autumn by enhanced removal of impaired follicles from previously heat-stressed cows. **Reproduction**, v. 122, n. 5, p. 737–744, 2001.

ROTH, Z. *et al.* The antioxidant epigallocatechin gallate (EGCG) moderates the deleterious effects of maternal hyperthermia on follicle-enclosed oocytes in mice. **Theriogenology**, v. 70, n. 6, p. 887–897, 2008.

ROTH, Z.; HANSEN, P. J. Disruption of nuclear maturation and rearrangement of cytoskeletal elements in bovine oocytes exposed to heat shock during maturation. **Reproduction**, v. 129, n. 2, p. 235–244, 2005.

ROTH, Z.; HANSEN, P. J. Involvement of Apoptosis in Disruption of Developmental Competence of Bovine Oocytes by Heat Shock During Maturation. **Biology of Reproduction**, v. 71, n. 6, p. 1898–1906, 2004a.

ROTH, Z.; HANSEN, P. J. Sphingosine 1-Phosphate Protects Bovine Oocytes from Heat Shock During Maturation. **Biology of Reproduction**, v. 71, n. 6, p. 2072–2078, 2004b.

RYAN, D. P.; BOLAND, M. P. Frequency of twin births among Holstein-Friesian cows in a warm dry climate. **Theriogenology**, v. 36, n. 1, p. 1–10, 1991.

SAKATANI, M.; ALVAREZ, N. V; *et al.* Consequences of physiological heat shock beginning at the zygote stage on embryonic development and expression of stress response genes in cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 6, p. 3080–3091, 2012.

SAKATANI, M.; BALBOULA, A. Z.; *et al.* Effect of summer heat environment on body temperature, estrous cycles and blood antioxidant levels in Japanese Black cow. **Animal Science Journal**, v. 83, n. 5, p. 394–402, 2012.

SANGSRITAVONG, S. *et al.* High Feed Intake Increases Liver Blood Flow and Metabolism of Progesterone and Estradiol-17 β in Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 11, p. 2831–2842, 2002.

SARTORI, R. *et al.* Fertilization and Early Embryonic Development in Heifers and Lactating Cows in Summer and Lactating and Dry Cows in Winter. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 11, p. 2803–2812, 2002.

SCHÜLLER, L. K.; BURFEIND, O.; HEUWIESER, W. Impact of heat stress on conception rate of dairy cows in the moderate climate considering different temperature-humidity index thresholds, periods relative to breeding, and heat load indices. **Theriogenology**, v. 81, n. 8, p. 1050–1057, 2014.

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

SOTO, P.; SMITH, L. C. BH4 peptide derived from Bcl-xL and Bax-inhibitor peptide suppresses apoptotic mitochondrial changes in heat stressed bovine oocytes. **Molecular Reproduction and Development**, v. 76, n. 7, p. 637–646, 2009.

TAO, S. *et al.* Effect of late-gestation maternal heat stress on growth and immune function of dairy calves. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 12, p. 7128–7136, 2012.

THOM, E. C. The Discomfort Index. **Weatherwise**, v. 12, n. 2, p. 57–61, 1959.

THOMPSON, I. M. *et al.* Environmental regulation of pregnancy-specific protein B concentrations during late pregnancy in dairy cattle. **Journal of Animal Science**, v. 91, n. 1, p. 168–173, 2013.

THUREEN, P. J. *et al.* Placental glucose transport in heat-induced fetal growth retardation. **The American Journal of Physiology**, v. 263, p. R578-585, 1992.

TORRES-JÚNIOR, J. R. D. S. *et al.* Effect of maternal heat-stress on follicular growth and oocyte competence in *Bos indicus* cattle. **Theriogenology**, v. 69, n. 2, p. 155–166, 2008.

TROUT, J. P.; MCDOWELL, L. R.; HANSEN, P. J. Characteristics of the Estrous Cycle and Antioxidant Status of Lactating Holstein Cows Exposed to Heat Stress. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 5, p. 1244–1250, 1998.

WALLACE, J. M. *et al.* Investigating the causes of low birth weight in contrasting ovine paradigms. **Journal of Physiology**, v. 565, n. 1, p. 19–26, 2005.

WEBB, R.; CAMPBELL, B. Development of the dominant follicle: mechanisms of selection and maintenance of oocyte quality. **Reproduction in Domestic Ruminants**, v. 6, n. 1, p. 141–163, 2007.

WEST, J. W.; MULLINIX, B. G.; BERNARD, J. K. Effects of Hot, Humid Weather on Milk Temperature, Dry Matter Intake, and Milk Yield of Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 1, p. 232–242, 2003.

WEST, J. W.; MULLINIX, B. G.; SANDIFER, T. G. Changing Dietary Electrolyte Balance for Dairy Cows in Cool and Hot Environments. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 5, p. 1662–1674, 1991.

WIEBOLD, J. L. Embryonic mortality and the uterine environment in first-service lactating dairy cows. **J. Reprod. Fert.**, v. 84, p. 393–399, 1988.

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

WISE, M. E. *et al.* Hormonal Alterations in the Lactating Dairy Cow in Response to Thermal Stress. **Journal of Dairy Science**, v. 71, n. 9, p. 2480–2485, 1988.

WOLFENSON, D. *et al.* Effect of Heat Stress on Follicular Development during the Estrous Cycle in Lactating Dairy Cattle. **Biology of Reproduction**, v. 52, p. 1106–1113, 1995.

WOLFENSON, D. *et al.* Seasonal and acute heat stress effects on steroid production by dominant follicles in cows. **Animal Reproduction Science**, v. 47, n. 1–2, p. 9–19, 1997.

WOLFENSON, D.; FLAMENBAUM, I.; BERMAN, A. Hyperthermia and Body Energy Store Effects on Estrous Behavior, Conception Rate, and Corpus Luteum Function in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 71, n. 12, p. 3497–3504, 1988.

ZERON, Y. *et al.* Seasonal changes in bovine fertility : relation to developmental competence of oocytes , membrane properties and fatty acid composition of follicles. **Reproduction**, v. 121, p. 447–454, 2001.

ZIMBELMAN, R. B. *et al.* 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. **The American Registry of Professional Animal Scientists**, p. 158–169, 2009.

SEGUNDA PARTE - ARTIGO**ESTRESSE CALÓRICO MATERNO EM DIFERENTES FASES DA GESTAÇÃO DE
VACAS HOLANDESAS SOBRE O DESEMPENHO REPRODUTIVO E CONTAGEM
DE FOLÍCULOS ANTRAIS DA PROGÊNIE**

Resumo

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da exposição materna a condições de estresse calórico em diferentes fases da gestação no desempenho reprodutivo e contagem de folículos antrais da progênie. Dados retrospectivos de índices reprodutivos de filhas de vacas Holandesas que foram expostas a condições de estresse calórico no primeiro (n=447), segundo (n=729) ou terceiro (n=746) trimestre da gestação e filhas de vacas não expostas a condições de estresse calórico (n=359) foram analisados. As datas de concepção para inclusão dos animais nos diferentes grupos foram estimadas subtraindo 280 dias da data de nascimento. Em um subgrupo de animais (n=242) foi realizado exame ultrassonográfico transretal para contagem de folículos antrais e mensuração do tamanho dos ovários. O estudo foi realizado em cinco fazendas comerciais produtoras de leite localizadas no sudeste do Brasil. Foram utilizados dados de vacas Holandesas concebidas entre os anos de 2002 e 2015, mantidas em sistema *free-stall*, produção média de 30 kg de leite, período voluntário de espera médio de 47 dias e inseminadas após protocolo de sincronização da ovulação ou observação de cio. A análise estatística foi realizada pelo procedimento GLIMMIX do SAS. O número de serviços por concepção foi menor nas filhas de vacas não expostas a condições de estresse calórico do que nas expostas nos diferentes trimestres da gestação (P=0,03). O intervalo entre partos foi maior para as filhas de vacas expostas a condições de estresse calórico no segundo e terceiro trimestre da gestação em comparação com as não expostas (P=0,01). Além disso, a taxa de prenhez ao primeiro serviço (P=0,01) e a contagem de folículos antrais (P=0,001) foram maiores nas filhas de vacas não expostas a condições de estresse calórico comparadas com as expostas nas diferentes fases do período gestacional. Conclui-se que a condição de estresse calórico materno nas diferentes fases da gestação interfere negativamente na fertilidade futura e na contagem de folículos antrais da prole bovina.

Palavras-chave: estresse calórico, fertilidade, CFA, bovino.

Abstract

The objective of this study was to evaluate the effect of maternal exposure to heat stress conditions in different phases of gestation on reproductive performance and antral follicle count of offspring. Retrospective data on the reproductive indexes of daughters of Holstein cows who were exposed to heat stress conditions in the first (n=447), second (n=729) or third (n=746) trimester of gestation and daughters of cows not exposed to conditions of heat stress (n=359) were analyzed. Conception dates for inclusion of the animals in the different groups were estimated subtracting 280 days from the date of birth. In a subgroup of animals (n=242) transrectal ultrasonography was performed to antral follicle count and ovarian size measurement. The study was carried out in five commercial dairy farms located in southeastern Brazil. Data from Holstein cows conceived between 2002 and 2015, kept in a free-stall system, average production of 30 kg of milk, average waiting period of 47 days and inseminated after protocol of ovulation synchronization or estrus observation. Statistical analysis was performed using the GLIMMIX SAS procedure. The number of services per conception was lower in the daughters of cows not exposed to heat stress conditions than those exposed in the different trimesters of gestation (P=0.03). The interval between calving was higher for the daughters of cows exposed to heat stress conditions in the second and third trimesters of gestation compared to those not exposed (P=0.01). In addition, pregnancy rate at the first service (P=0.01) and the antral follicle count (P=0.001) were higher in the daughters of cows not exposed to heat stress conditions compared to those exposed in the different phases of the gestational period. It is concluded that the condition of maternal heat stress in the different phases of gestation interferes negatively in the future fertility and in the antral follicle count of the bovine offspring.

Keywords: heat stress, fertility, AFC, bovine.

1. Introdução

Os bovinos são animais homeotérmicos e possuem zona de conforto térmico entre 5 e 25 °C, temperaturas acima de 25°C (estresse calórico) podem interferir na fisiologia geral e no desempenho reprodutivo de vacas [1,2]. O estresse calórico é potencializado com o aumento da umidade, especialmente em vacas leiteiras de alta produção [2,3]. Devido essa associação, o estresse calórico em bovinos de leite é mensurado pelo índice de temperatura e umidade (ITU; [4]) [5–8]. O valor de ITU acima de 68 promove estresse calórico nos animais reduzindo a produção de leite [9].

O estresse calórico interfere negativamente na reprodução de vacas leiteiras sendo multifatorial [10] e atuando por vários mecanismos diretos sobre a fertilidade [11] e indiretos como metabólicos e nutricionais [12]. Durante os períodos de estresse calórico ocorre redução das concentrações sanguíneas dos principais hormônios metabólicos e fatores de crescimento necessários para o desenvolvimento folicular normal devido a menor ingestão de matéria seca [13]. Além disso, o estresse calórico interfere diretamente no eixo hipotálamo-hipófise-ovário reduzindo a secreção de GnRH, conseqüentemente, de FSH e LH, que resulta na inibição da atividade ovariana [10,11].

O estresse calórico pode interferir na qualidade do oócito [14], principalmente em vacas leiteiras em lactação, que são mais sensíveis ao estresse devido às demandas metabólicas para a lactação [15]. Em função disso, a competência do oócito para fertilização e o desenvolvimento embrionário subsequente são afetados durante as épocas do ano associadas ao estresse calórico [16,17]. Além disso, o estresse calórico materno está associado à redução do peso placentário [18] e redução da produção hormonal pela placenta [19].

Além dos efeitos negativos do estresse calórico sobre parâmetros reprodutivos das fêmeas bovinas, tem-se observado que o estresse calórico materno no final da gestação exerce efeito negativo sobre o crescimento e a competência imunológica da prole [20,21]. Ainda, filhas de vacas expostas ao estresse calórico durante as últimas seis semanas de gestação tiveram maior número de serviços por concepção e menor produção de leite [22]. A exposição materna ao estresse calórico durante o segundo trimestre da gestação reduziu a concentração de hormônio anti-Mülleriano nas filhas [23]. Além disso, a nutrição e a saúde da vaca durante a gestação podem afetar a quantidade de folículos nas filhas [24]. Essa quantidade de folículos está associada com a fertilidade em fêmeas bovinas [25–27]. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da exposição materna a condições de estresse calórico em diferentes fases da gestação no desempenho reprodutivo e contagem de folículos antrais da progênie. A

hipótese levantada é que filhas de vacas que foram expostas a condições de estresse calórico no primeiro trimestre da gestação, período de formação das gônadas e das células germinativas primordiais, possuem comprometimento nos índices reprodutivos futuros e menor contagem folicular.

2. Material e Métodos

2.1. Local, animais e dados climáticos

O estudo foi realizado em cinco fazendas comerciais produtoras de leite localizadas no estado de Minas Gerais. Foram utilizados dados de vacas Holandesas concebidas entre os anos de 2002 e 2015, mantidas em sistema *free-stall*, com camas de areia, telhado de metal e sistema de refrigeração composto por ventiladores e aspersores. As vacas receberam dieta a base de silagem de milho, caroço de algodão, polpa cítrica, farelo de soja, milho e núcleo com minerais e vitaminas balanceada para atender as exigências de manutenção e produção. A média de produção diária de leite foi de 30 kg/animal. As bezerras foram criadas em bezerreiro individual até 80 dias de idade e receberam 8 litros de leite por dia, após o desmame foram alocadas em piquetes coletivos de acordo com o peso e idade e suplementadas para atender as necessidades de manutenção e crescimento. Nos rebanhos, o período voluntário de espera médio foi de 47 dias e as vacas foram inseminadas após protocolo de sincronização da ovulação ou observação de cio. Com base em dados climáticos da estação meteorológica mais próxima das fazendas, as vacas foram expostas a condições de estresse calórico (índice de temperatura e umidade - ITU > 68 [9]) entre os meses de novembro e março (Figura 1). O ITU foi calculado por mês a partir dos dados diários fornecidos pelo site do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) para os anos de 2010 a 2015, por meio da fórmula: $[ITU = \text{temperatura do bulbo seco} + (0,36 * \text{temperatura do ponto de orvalho}) + 41,2]$.

2.2. Delineamento Experimental

Dados retrospectivos de índices reprodutivos de vacas holandesas (n=2281) foram coletados do banco de dados de 5 fazendas. A duração da gestação considerada no estudo foi 280 dias, sendo as fases de gestação utilizadas divididas em início (0 a 93 dias), meio (94 a 186 dias) e fim (187 a 280 dias). O tempo de exposição a condições de estresse calórico foi utilizado como critério de inclusão. Assim, foram selecionadas vacas que foram expostas a condições de estresse calórico por no mínimo 90 dias durante o primeiro, segundo ou terceiro

trimestre da gestação. Dessa forma, quatro grupos experimentais (Estresse no início da gestação, Estresse no meio da gestação, Estresse no fim da gestação e Não estresse) foram formados. O grupo Estresse na fase início da gestação foi formado por vacas que tiveram desenvolvimento embrionário inicial durante os meses de novembro e dezembro (n=447). O grupo Estresse na fase meio da gestação foi formado por vacas que tiveram desenvolvimento embrionário inicial durante os meses de agosto e setembro (n=729). O grupo Estresse na fase fim da gestação foi formado por vacas que tiveram desenvolvimento embrionário inicial durante os meses de maio e junho (n=746). O grupo Não estresse foi formado por vacas que tiveram desenvolvimento embrionário inicial durante os meses de fevereiro e março (n=359). As datas de concepção foram estimadas subtraindo 280 dias da data de nascimento. Na divisão dos grupos foram considerados meses de estresses ITU acima de 68 (Figura 1).

2.3. Parâmetros reprodutivos

Os parâmetros reprodutivos avaliados a partir dos dados retrospectivos foram idade à primeira inseminação (IA), serviços por concepção para o primeiro parto, taxa de prenhez a primeira IA, idade ao primeiro parto, dias para o primeiro serviço, serviços por concepção, taxa de prenhez ao primeiro serviço e intervalo entre partos. A idade a primeira inseminação foi definida como a quantidade de dias do nascimento até a realização da primeira inseminação artificial. Os serviços por concepção para o primeiro parto foram definidos como o número de inseminações necessárias para a concepção que resultou no primeiro parto. A taxa de prenhez a primeira IA foi definida como a porcentagem de novilhas diagnosticadas gestantes após a primeira inseminação artificial. A idade ao primeiro parto foi definida como o número de dias do nascimento até o primeiro parto. Os dias para o primeiro serviço foram definidos como o número de dias entre o parto e a primeira IA. Os serviços por concepção foram definidos como número de inseminações necessárias para a concepção que resultou no segundo parto. A taxa de prenhez ao primeiro serviço foi definida como a porcentagem de vacas diagnosticadas gestantes após a primeira IA após o parto. O intervalo entre partos foi definido como a quantidade de dias entre o primeiro e segundo parto.

2.4. Contagem folicular

Em um subgrupo de animais (n=242) foi realizado exame ultrassonográfico transretal (Mindray 4900, probe linear de 5MHz) para contagem de todos os folículos maiores que 2mm de diâmetro em dia aleatório do ciclo estral, das quais 51, 78, 75 e 38 vacas pertenciam aos

grupos Estresse no início da gestação, Estresse no meio da gestação, Estresse no fim da gestação e Não estresse, respectivamente. Os animais foram contidos em tronco apropriado para manejo reprodutivo e ambos os ovários foram escaneados por via transretal, sendo realizada a contagem dos folículos antrais em tempo real por um único técnico e a mensuração do diâmetro ovariano.

2.5. Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do software Statistical Analysis System for Windows SAS® [28]. As variáveis independentes incluídas na análise foram fazenda, ano de concepção e período de estresse calórico. Mês do parto foi utilizado como covariável para os parâmetros avaliados no pós parto. As variáveis contínuas foram avaliadas quanto à normalidade dos resíduos pelo procedimento UNIVARIATE e submetidas ao teste de Bartlett para análise da homogeneidade das variâncias. Após essa avaliação, o procedimento GLIMMIX foi utilizado para análise de variância e para determinar a diferença de médias entre os tratamentos. As variáveis binomiais foram avaliadas por regressão logística utilizando o procedimento GLIMMIX com a função logit e distribuição binomial. As variáveis dependentes contínuas foram expressas em média e erro padrão da média (média \pm EPM) e as binomiais em porcentagem.

3. Resultados

3.1. Índices reprodutivos

Não houve interação entre fazendas, ano de concepção e período de estresse calórico para as variáveis estudadas ($P > 0,05$). A taxa de prenhez à primeira inseminação foi menor nas filhas de vacas expostas a condições de estresse calórico no terceiro trimestre de gestação comparada com as expostas no primeiro trimestre ($P = 0,05$), mas não diferiu das filhas de vacas não expostas a condições de estresse calórico. O número de serviços por concepção foi menor nas filhas de vacas não expostas a condições de estresse calórico do que nas expostas nos diferentes trimestres da gestação ($P = 0,03$). O intervalo entre partos foi maior para as filhas de vacas expostas a condições de estresse calórico no segundo e terceiro trimestre da gestação em comparação com as não expostas ($P = 0,01$). Além disso, a taxa de prenhez ao primeiro serviço foi maior para as filhas de vacas não expostas a condições de estresse calórico comparada com as expostas nas diferentes fases da gestação ($P = 0,01$). A exposição a

condições de estresse calórico não interferiu na idade à primeira inseminação ($P=0,10$), número de serviços por concepção para o primeiro parto ($P=0,09$), idade ao primeiro parto ($P=0,28$) e dias para o primeiro serviço ($P=0,64$; Tabela 1).

3.2. Contagem de folículos antrais

A contagem de folículos antrais foi maior nas filhas de vacas não expostas a condições de estresse calórico em comparação com os grupos expostos nas diferentes fases do período gestacional ($P=0,001$). Além disso, a contagem de folículos antrais foi menor nas filhas de vacas expostas a condições de estresse calórico no primeiro e segundo trimestre da gestação do que as expostas ao terceiro trimestre. O tamanho médio dos ovários não diferiu entre os grupos ($P=0,40$; Tabela 1) e houve baixa correlação com o número total de folículos presente nos ovários ($r=0,31$; $P<0,0001$).

4. Discussão

A exposição materna a condições de estresse calórico nos diferentes trimestres de gestação interferiu negativamente nos índices reprodutivos e contagem de folículos antrais das filhas. Além disso, a condição de estresse calórico materno no primeiro e segundo trimestre de gestação reduziu de forma mais acentuada a contagem de folículos antrais na prole bovina. Tais achados confirmam parcialmente a hipótese do estudo. A exposição ao estresse calórico ao longo da gestação de ovelhas promoveu redução do peso fetal e da placenta e das concentrações de hormônios placentários no sangue [29]. Alguns efeitos do estresse calórico na função placentária são devido à redistribuição do sangue para a periferia e redução da vascularização placentária [30]. Além disso, o estresse calórico promove alterações na angiogênese que aumenta a resistência vascular na placenta [31]. Tais efeitos sobre a formação de vasos podem ocorrer por erros na expressão de genes como o fator de crescimento endotelial vascular e seus receptores e fator de crescimento placentário [32]. Associado a isso, verifica-se redução da capacidade de transporte de glicose pela placenta em animais sob estresse calórico [33] devido a menor expressão dos genes GLUT8 na placenta [34]. Além disso, há relatos que a restrição nutricional materna durante o terço inicial da gestação aumenta as concentrações circulantes de testosterona materna durante a gestação e diminui a reserva ovariana da prole em bovinos [35]. Ainda, observou-se que a desnutrição materna induz a apoptose nos ovários e reduz a vascularização ovariana na prole de ratos [36].

Dessa forma, é possível que a menor contagem de folículos antrais nas filhas de vacas expostas a condições de estresse calórico ocorra devido a alterações na função placentária, resultando em menor formação de folículos no ovário fetal.

Em bovinos o número de folículos primordiais ao nascimento está sob a influência de vários processos que ocorrem durante o desenvolvimento embrionário e fetal, incluindo o número de células germinativas primordiais presentes nas cristas gonadais, a taxa de proliferação e apoptose até o final da mitose dessas células, divisão das células germinativas para a formação dos folículos primordiais e a transição para folículos primários [37]. A migração e proliferação de células germinativas primordiais e sua diferenciação para oogonia ocorrem durante o primeiro trimestre de gestação [38]. No entanto, a formação completa dos folículos primordiais ocorre entre 80 e 210 dias de gestação [39,40]. A transição do folículo primordial para folículo primário começa a partir dos 140 dias de gestação e folículos secundários foram observados no ovário pela primeira vez a partir de 210 dias de gestação [40]. Além disso, filhas de vacas expostas ao estresse calórico no segundo e terceiro trimestre da gestação tiveram menor concentração de hormônio anti-Mülleriano [23]. Dados da literatura demonstram que existe alta correlação entre a reserva ovariana, a contagem folicular e a concentração de AMH [41–43], corroborando assim, com os achados do presente estudo. Portanto, a menor contagem de folículos antrais das filhas de vacas expostas a condições de estresse calórico nos primeiros 180 dias de gestação sugere que o estresse calórico materno nesse período gestacional pode induzir apoptose de parte das células germinativas levando a menor quantidade de folículos primordiais na prole bovina.

A contagem de folículos antrais (CFA) é altamente variável entre os animais, porém, possui alta repetibilidade entre os ciclos do mesmo indivíduo [44]. Na literatura observou-se que maior CFA estava associada com aumento da fertilidade em novilhas e vacas [25–27,45], confirmando os achados do presente estudo. Além disso, novilhas com baixa CFA (<15 folículos) possuíam ovários menores e menores taxas de prenhez quando comparadas à novilhas com contagem superior a 25 folículos [25]. Ainda, vacas com alta CFA tiveram 3,3 vezes mais chances de se tornarem gestantes até o final da estação reprodutiva e o intervalo parto/concepção e número de serviços por concepção foram menores [27]. Em outro estudo verificou-se menor intervalo parto/concepção e maiores taxas de prenhez em vacas com alta CFA [45]. Fêmeas bovinas com baixa CFA possuíam ovários menores, baixa reserva ovariana e menor quantidade de folículos e oócitos morfologicamente saudáveis [42]. Como existe correlação positiva entre o número de folículos antrais e o número de folículos primordiais [46–48], o melhor desempenho reprodutivo das filhas de vacas não expostas a condições de

estresse calórico na gestação pode estar associada a maior reserva ovariana. Por fim, variações fenotípicas devido a alterações no ambiente uterino durante o desenvolvimento inicial do indivíduo podem promover modificações epigenéticas que regulam a expressão gênica [49]. Em estudo recente, o estresse calórico intrauterino alterou o perfil de metilação do DNA da glândula mamária de novilhas leiteiras, o que pode contribuir para a redução do desempenho produtivo de bezerras expostas ao estresse calórico no útero [50]. Padrões de metilação aberrantes que ocorrem durante o desenvolvimento inicial podem ser mantidos por toda a vida do animal e alterar permanentemente a expressão gênica e a função específica do tecido [51]. Assim, a exposição ao estresse calórico materno poderia potencialmente alterar a epigenética das filhas, resultando em índices reprodutivos menores na vida adulta. Dessa forma, conclui-se que a condição de estresse calórico materno nas diferentes fases da gestação interfere negativamente na fertilidade futura e na contagem de folículos antrais da prole bovina.

REFERÊNCIAS

- [1] De Rensis F, Scaramuzzi RJ. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow - A review. *Theriogenology* 2003;60:1139–51. doi:10.1016/S0093-691X(03)00126-2.
- [2] García-Ispuerto I, López-Gatius F, Santolaria P, Yániz JL, Nogareda C, López-Béjar M. Climate factors affecting conception rate of high producing dairy cows in northeastern Spain. *Theriogenology* 2007;67:1379–85. doi:10.1016/j.theriogenology.2007.02.009.
- [3] Johnson HD, Vanjonack WJ. Effects of Environmental and Other Stressors on Blood Hormone Patterns in Lactating Animals. *J Dairy Sci* 1976;59:1603–17. doi:10.3168/jds.S0022-0302(76)84413-X.
- [4] Thom EC. The Discomfort Index. *Weatherwise* 1959;12:57–61. doi:10.1080/00431672.1959.9926960.
- [5] Bohmanova J, Misztal I, Cole JB. Temperature-Humidity Indices as Indicators of Milk Production Losses due to Heat Stress. *J Dairy Sci* 2007;90:1947–56. doi:10.3168/jds.2006-513.
- [6] Igono MO, Johnson HD. Physiologic stress index of lactating dairy cows based on diurnal pattern of rectal temperature. *J Interdiscipl Cycle Res* 1990;21:303–19. doi:10.1080/09291019009360091.
- [7] Mader TL, Davis MS, Brown-Brandl T, Mader TL, Brown-Brandl T. Environmental Factors Influencing Heat Stress in Feedlot Cattle. *J Anim Sci* 2006;84:712–9. doi:10.2527/2006.843712x.
- [8] Morton JM, Tranter WP, Mayer DG, Jonsson NN. Effects of Environmental Heat on Conception Rates in Lactating Dairy Cows: Critical Periods of Exposure. *J Dairy Sci* 2007;90:2271–8. doi:10.3168/jds.2006-574.
- [9] Zimbelman RB, Rhoads RP, Rhoads ML, Duff GC, Baumgard LG, Collier RJ. 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. *Am Regist Prof Anim Sci* 2009;158–69. doi:https://doi.org/10.1016/j.jvoice.2010.10.021.
- [10] De Rensis F, Lopez-Gatius F, García-Ispuerto I, Morini G, Scaramuzzi RJ. Causes of declining fertility in dairy cows during the warm season. *Theriogenology* 2017;91:145–53. doi:10.1016/j.theriogenology.2016.12.024.
- [11] Ronchi B, Stradioli G, Verini Supplizi A, Bernabucci U, Lacetera N, Accorsi PA, et al. Influence of heat stress or feed restriction on plasma progesterone, oestradiol-17b, LH, FSH, prolactin and cortisol in Holstein heifers. *Livest Prod Sci* 2001;68:231–41. doi:10.1177/1469787402003001005.
- [12] O’Callaghan D, Boland MP. Nutritional effects on ovulation, embryo development and the establishment of pregnancy in ruminants. *Anim Sci* 1999;68:299–314. doi:10.1017/S1357729800050311.
- [13] Igono MO, Johnson HD, Steevens BJ, Hainen WA, Shanklin MD. Effect of season on

- milk temperature, milk growth hormone, prolactin, and somatic cell counts of lactating cattle. *Int J Biometeorol* 1988;32:194–200.
- [14] Zeron Y, Ocheretny A, Kedar O, Borochoy A, Sklan D, Arav A. Seasonal changes in bovine fertility : relation to developmental competence of oocytes , membrane properties and fatty acid composition of follicles. *Reproduction* 2001;121:447–54.
- [15] Hansen PJ. Effects of heat stress on mammalian reproduction. *Phil Trans R Soc B* 2009;364:3341–50. doi:10.1098/rstb.2009.0131.
- [16] Al-katanani YM, Paula-Lopes FF, Hansen PJ. Effect of Season and Exposure to Heat Stress on Oocyte Competence in Holstein Cows 1. *J Dairy Sci* 2002;85:390–6. doi:10.3168/jds.S0022-0302(02)74086-1.
- [17] Sartori R, Sartor-Bergfelt R, Mertens SA, Guenther JN, Parrish JJ, Wiltbank MC. Fertilization and Early Embryonic Development in Heifers and Lactating Cows in Summer and Lactating and Dry Cows in Winter. *J Dairy Sci* 2002;85:2803–12. doi:10.3168/jds.S0022-0302(02)74367-1.
- [18] Collier RJ, Doelger SG, Head HH, Thatcher WW, Wilcox CJ. Effects of heat stress during pregnancy on maternal hormone concentrations, calf birth weight and postpartum milk yield of Holstein cows. *J Anim Sci* 1982;54:309–19. doi:10.2527/jas1982.542309x.
- [19] Thompson IM, Tao S, Branen J, Ealy AD, Dahl GE. Environmental regulation of pregnancy-specific protein B concentrations during late pregnancy in dairy cattle. *J Anim Sci* 2013;91:168–73. doi:10.2527/jas.2012-5730.
- [20] Tao S, Monteiro APA, Thompson IM, Hayen MJ, Dahl GE. Effect of late-gestation maternal heat stress on growth and immune function of dairy calves. *J Dairy Sci* 2012;95:7128–36. doi:10.3168/jds.2012-5697.
- [21] Laporta J, Fabris TF, Skibieli AL, Powell JL, Hayen MJ, Horvath K, et al. In utero exposure to heat stress during late gestation has prolonged effects on the activity patterns and growth of dairy calves. *J Dairy Sci* 2017;100:2976–84. doi:10.3168/jds.2016-11993.
- [22] Monteiro APA, Tao S, Thompson IMT, Dahl GE. In utero heat stress decreases calf survival and performance through the first lactation. *J Dairy Sci* 2016;99:8443–50. doi:10.3168/jds.2016-11072.
- [23] Akbarinejad V, Gharagozlou F, Vojgani M. Temporal effect of maternal heat stress during gestation on the fertility and anti-Müllerian hormone concentration of offspring in bovine. *Theriogenology* 2017;99:69–78. doi:10.1016/j.theriogenology.2017.05.018.
- [24] Evans ACO, Mossa F, Walsh SW, Scheetz D, Jimenez-Krassel F, Ireland JLH, et al. Effects of maternal environment during gestation on ovarian folliculogenesis and consequences for fertility in bovine offspring. *Reprod Domest Anim* 2012;47:31–7. doi:10.1111/j.1439-0531.2012.02052.x.
- [25] Cushman RA, Allan MF, Kuehn LA, Snelling WM, Cupp AS, Freetly HC. Evaluation of antral follicle count and ovarian morphology in crossbred beef cows: investigation of influence of stage of the estrous cycle, age, and birth weight. *J Anim Sci* 2009;87:1971–80. doi:10.2527/jas.2008-1728.

- [26] Cushman RA, McNeel AK, Freetly HC. The impact of cow nutrient status during the second and third trimesters on age at puberty, antral follicle count, and fertility of daughters. *Livest Sci* 2014;162:252–8. doi:10.1016/j.livsci.2014.01.033.
- [27] Mossa F, Walsh SW, Butler ST, Berry DP, Carter F, Lonergan P, et al. Low numbers of ovarian follicles ≥ 3 mm in diameter are associated with low fertility in dairy cows. *J Dairy Sci* 2012;95:2355–61. doi:10.3168/jds.2011-4325.
- [28] SAS. STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. SAS user's guide: statistics. Versão 8.0. Cary: SAS. 2000.
- [29] Wallace JM, Regnault TRH, Limesand SW, Hay WW, Anthony R V. Investigating the causes of low birth weight in contrasting ovine paradigms. *J Physiol* 2005;565:19–26. doi:10.1113/jphysiol.2004.082032.
- [30] Alexander G, Hales JR, Stevens D, Donnelly JB. Effects of acute and prolonged exposure to heat on regional blood flows in pregnant sheep. *J Dev Physiol* 1987;9:1—15.
- [31] Galan HL, Anthony R V., Rigano S, Parker TA, De Vrijer B, Ferrazzi E, et al. Fetal hypertension and abnormal Doppler velocimetry in an ovine model of intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol* 2005;192:272–9. doi:10.1016/j.ajog.2004.05.088.
- [32] Regnault TRH, Orbus RJ, De Vrijer B, Davidsen ML, Galan HL, Wilkening RB, et al. Placental Expression of VEGF, PlGF and their Receptors in a Model of Placental Insufficiency—Intrauterine Growth Restriction (PI-IUGR). *Placenta* 2002;23:132–44.
- [33] Thureen PJ, Trembler KA, Meschia G, Makowski EL, Wilkening RB. Placental glucose transport in heat-induced fetal growth retardation. *Am J Physiol* 1992;263:R578-585. doi:10.1152/ajpregu.1992.263.3.R578.
- [34] Limesand SW, Regnault TRH, Hay WW. Characterization of glucose transporter 8 (GLUT8) in the ovine placenta of normal and growth restricted fetuses. *Placenta* 2004;25:70–7. doi:10.1016/j.placenta.2003.08.012.
- [35] Mossa F, Carter F, Walsh SW, Kenny DA, Smith GW, Ireland JLH, et al. Maternal Undernutrition in Cows Impairs Ovarian and Cardiovascular Systems in Their Offspring. *Biol Reprod* 2013;88:1–9. doi:10.1095/biolreprod.112.107235.
- [36] Chan KA, Bernal AB, Vickers MH, Gohir W, Petrik JJ, Sloboda DM. Early Life Exposure to Undernutrition Induces ER Stress , Apoptosis , and Reduced Vascularization in Ovaries of Adult Rat Offspring. *Biol Reprod* 2015;92:1–14. doi:10.1095/biolreprod.114.124149.
- [37] Findlay JK, Hutt KJ, Hickey M, Anderson RA. How Is the Number of Primordial Follicles in the Ovarian Reserve Established? *Biol Reprod* 2015;93:1–7. doi:10.1095/biolreprod.115.133652.
- [38] H Wrobel K, Süß F. Identification and temporospatial distribution of bovine primordial germ cells prior to gonadal sexual differentiation. vol. 197. 1998. doi:10.1007/s004290050156.
- [39] Nilsson EE, Skinner MK. Progesterone regulation of primordial follicle assembly in

- bovine fetal ovaries. *Mol Cell Endocrinol* 2009;313:9–16.
doi:10.1016/j.mce.2009.09.004.
- [40] Yang MY, Fortune JE. The Capacity of Primordial Follicles in Fetal Bovine Ovaries to Initiate Growth In Vitro Develops During Mid-Gestation and Is Associated with Meiotic Arrest of Oocytes. *Biol Reprod* 2008;78:1153–61.
doi:10.1095/biolreprod.107.066688.
- [41] Mossa F, Ireland JJ. Anti-Müllerian hormone: a biomarker for the ovarian reserve, ovarian function, and fertility in dairy cows. *J Anim Sci* 2019;97:1446–55.
- [42] Ireland JJ, Smith GW, Scheetz D, Jimenez-Krassel F, Folger JK, Ireland JLH, et al. Does size matter in females? An overview of the impact of the high variation in the ovarian reserve on ovarian function and fertility, utility of anti-Mullerian hormone as a diagnostic marker for fertility and causes of variation in the ovarian reserve in. *Reprod Fertil Dev* 2011;23:1–14.
- [43] Maculan R, Pinto TLC, Moreira GM, Vasconcelos GL, Sanches JA, Rosa RG, et al. Anti-Müllerian Hormone (AMH), antral follicle count (AFC), external morphometrics and fertility in Tabapuã cows. *Anim Reprod Sci* 2018;189:84–92.
doi:10.1016/j.anireprosci.2017.12.011.
- [44] Burns DS, Jimenez-Krassel F, Ireland JLH, Knight PG, Ireland JJ. Numbers of Antral Follicles During Follicular Waves in Cattle: Evidence for High Variation Among Animals, Very High Repeatability in Individuals, and an Inverse Association with Serum Follicle-Stimulating Hormone Concentrations. *Biol Reprod* 2005;73:54–62.
doi:10.1095/biolreprod.104.036277.
- [45] Martinez MF, Sanderson N, Quirke LD, Lawrence SB, Juengel JL. Association between antral follicle count and reproductive measures in New Zealand lactating dairy cows maintained in a pasture-based production system. *Theriogenology* 2016;85:466–75. doi:10.1016/j.theriogenology.2015.09.026.
- [46] Silva-santos KC, Santos GM, Oliveira ER, Machado FZ, Rosa C o, Seneda MM. The correlation between the number of antral follicles and ovarian reserves (preantral follicles) in purebred *Bos indicus* and *Bos taurus* cows. *Anim Reprod Sci* 2014;151:119–25. doi:10.1016/j.anireprosci.2014.10.016.
- [47] Cushman RA, DeSouza JC, Hedgpeth VS, Britt JH. Superovulatory Response of One Ovary Is Related to the Micro- and Macroscopic Population of Follicles in the Contralateral Ovary of the Cow. *Biol Reprod* 1999;60:349–54.
doi:10.1095/biolreprod60.2.349.
- [48] Ireland JLH, Scheetz D, Jimenez-Krassel F, Themmen APN, Ward F, Lonergan P, et al. Antral Follicle Count Reliably Predicts Number of Morphologically Healthy Oocytes and Follicles in Ovaries of Young Adult Cattle. *Biol Reprod* 2008;79:1219–25. doi:10.1095/biolreprod.108.071670.
- [49] Bird A. DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes Dev* 2002;16:6–21.
doi:10.1101/gad.947102.6.
- [50] Skibił AL, Peñagaricano F, Amorín R, Ahmed BM, Dahl GE, Laporta J. In Utero Heat Stress Alters the Offspring Epigenome. *Nat Sci Reports* 2018;8:14609.

doi:10.1038/s41598-018-32975-1.

- [51] Jirtle RL, Skinner MK. Environmental epigenomics and disease susceptibility. *Nat Rev Genet* 2007;8:253–62. doi:10.1038/nrg2045.

Tabela 1

Índices reprodutivos, contagem de folículos antrais e tamanho médio dos ovários de filhas de vacas Holandesas não expostas e expostas a condições de estresse calórico durante diferentes trimestres da gestação.

Parâmetros	Não estresse	Estresse			P
		1º trimestre	2º trimestre	3º trimestre	
IPIA (dias)	502,2±5,3	503,9±6,6	490,5±4,2	503,1±3,7	0,10
SPCPP	2,1±0,1	1,9±0,1	2,0±0,1	2,0±0,1	0,09
TPPIA (%)	49,0 (176/359) ^{ab}	51,9 (232/447) ^a	48,2 (351/729) ^{ab}	46,3 (345/746) ^b	0,05
IPP (dias)	823,0±6,6	827,0±7,7	815,5±5,0	825,1±4,6	0,28
1ª lactação					
DPS (dias)	75,5±2,3	72,1±1,8	67,7±1,1	68,4±1,5	0,64
SPC	2,6±0,1 ^b	3,0±0,1 ^a	3,2±0,1 ^a	3,3±0,1 ^a	0,03
TPPS (%)	41,6 (97/233) ^a	28,6 (78/273) ^b	33,1 (156/472) ^b	30,7 (153/499) ^b	0,01
IEP (dias)	433,1±8,4 ^c	454,5±8,9 ^{bc}	477,9±8,8 ^a	459,8±6,8 ^{ab}	0,01
CFA (folículos)	47,8±3,3 ^a	36,1±3,8 ^c	37,2±2,9 ^c	41,7±3,0 ^b	0,001
TMOV (mm)	31,6±0,7	30,4±0,9	30,4±0,6	30,1±0,5	0,40

IPIA: Idade à 1ª IA; SPCPP: Serviços/concepção 1º parto; TPPIA: Taxa de prenhez 1ª IA; IPP: Idade ao 1º parto; DPS: Dias para 1º serviço; SPC: Serviços/concepção; TPPS: Taxa de prenhez 1º serviço; IEP: Intervalo entre partos; CFA: Contagem de folículos antrais; TMOV: Tamanho médio dos ovários.

^{a,b,c} Letras diferentes nas linhas diferem estatisticamente (P<0,05).

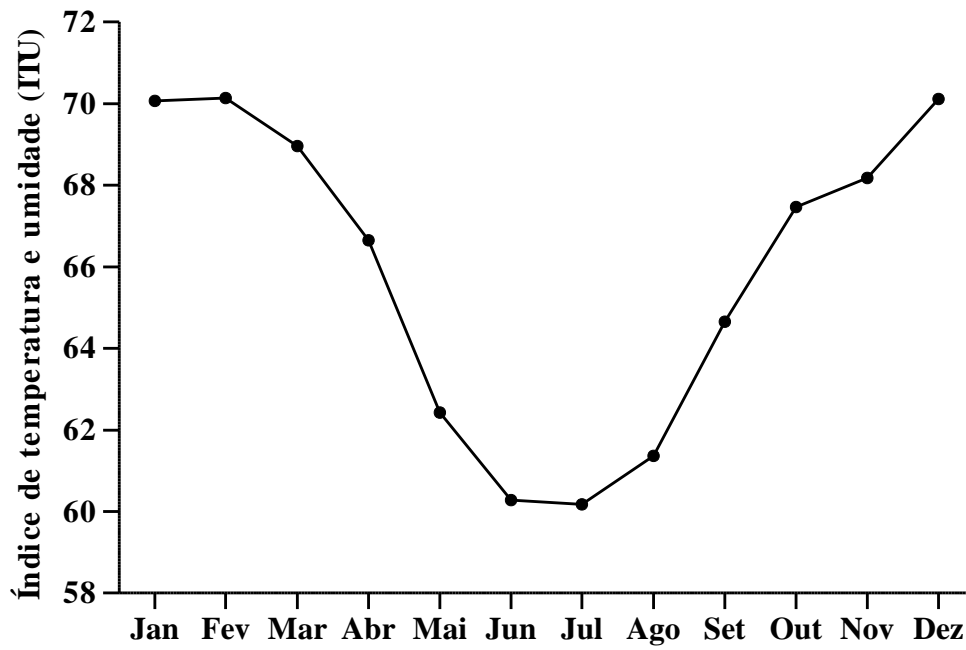


Figura 1: Valores médios para índice de temperatura e umidade (ITU) em diferentes meses, de 2010 a 2015 da estação meteorológica mais próxima das fazendas.